Aus der Poliklinik für Kieferorthopädie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dieter Drescher

Standardisierte Methode zur volumetrischen Messung von Zahnwurzel- und periradikulären Knochenresorptionen sowie Bestimmung der dreidimensionalen Zahnbewegung bei orthodontischer Zahnbewegung mithilfe der Wasserscheidentransformation

- eine Mikrocomputertomographie-Studie am Mäusemodell

Dissertation

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

vorgelegt von
Viktoria Trelenberg-Stoll
2022

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

gez.:
Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker
Erstgutachter: Prof. Dr. med. dent. Dieter Drescher
Zweitgutachter: Prof. Dr. med. dent. Jürgen Becker

Meiner lieben Familie in Dankbarkeit gewidmet

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Trelenberg-Stoll, V., Drescher, D., Wolf, M., Becker, K., (2021), “Automated tooth segmentation as an innovative tool to assess 3D-tooth movement and root resorption in rodents.” *Head Face Med.* 17(1): 3 (1).

Trelenberg-Stoll, V., Wolf, M., Busch, C., Drescher, D., Becker, K., (2021), “Standardized assessment of bone micromorphometry around teeth following orthodontic tooth movement: A µCT split-mouth study in mice. *J Orofac Orthop* (2).

Zusammenfassung

Diese kumulative Dissertation basiert auf den Publikationen "*Automated tooth segmentation as an innovative tool to assess 3D-tooth movement and root resorption in rodents*" veröffentlicht 2021 im Journal *Head and Face medicine* und "*Standardized assessment of bone micro-morphometry around teeth following orthodontic tooth movement: A µCT split-mouth study in mice*" veröffentlicht 2021 im Journal of Orofacial Orthopedics (1, 2). Ziel dieser Arbeit war der Vergleich von Reliabilität und Effizienz der neuen Methode „automated tooth segmentation" (ATS) basierend auf der Wasserscheidentransformation zur Segmentierung von Zähnen in mikrocomputertomographischen (µCT) Aufnahmen im Vergleich zur manuellen Segmentierung (MA). Zusätzlich wurde validiert, ob die mit ATS segmentierten Zähne und Knochenanteile in Endpunktanalysen zur Bestimmung von Zahnwurzelresorptionen (RR), Knochenfraktionen (BV/TV) und dreidimensionalen (3D) orthodontischen Zahnbewegungen (OTM) geeignet sind. Zur Methodenvalidierung wurden drei Mäuseköpfe mit µCT digitalisiert und alle ersten Molaren jeweils mit ATS (Testgruppe) und MA (Kontrollgruppe) segmentiert (drei Wiederholungen). Für die volumetrische Analyse der Zahnwurzeln wurden diese unterhalb der Schmelzzementgrenze von der Zahnkrone separiert. Um das BV/TV zu messen, wurde zusätzlich mit ATS der Kieferknochen segmentiert und eine standardisierte, zirkuläre Maske um die Zahnwurzeln generiert, die das *volume of interest* (VOI) zur BV/TV-Bestimmung beinhaltet. Die Segmentierungsprozessdauer wurde gemessen, und es wurden die Zahnvolumen, Zahnwurzelvolumen sowie BV/TV bestimmt. ATS wurde zusätzlich auf (n = 14) µCT-Aufnahmen aus einer anderen Studie, bei der im Split-Mouth Design der linke Oberkiefermolar protrahiert wurde, angewendet. Es wurden bestimmt: BV/TV, RR und OTM. Die Messung von OTM erfolge durch Spiegelung und Überlagerung des kontralateralen Knochens und der Zähne. Die Ergebnisse zeigen, dass Segmentierung mit ATS signifikant und um 81% zeitsparender ist als die manuelle Segmentierung. Die Reliabilität für ATS war hoch (Zahnwurzeln: ICC = 1,0; BV/TV: ICC = 0,99), mit einer hohen Vergleichbarkeit zwischen ATS und MA für Zahnvolumen, Zahnwurzelvolumen und BV/TV. Die protrahierten Zahnwurzeln wiesen signifikant geringere Zahnwurzelvolumen auf (P = 0,03). Die Messung der OTM ergab eine durchschnittliche, anteriore Bewegung der Zähne mit mesialer (0,04 mm) und palatinaler (0,06 mm) Kippung sowie einer Intrusion (0,08 mm). Signifikante Unterschiede waren zwischen dem BV/TV der protrahierten Molaren und der unbehandelten Kontrollseite festzustellen (P < 0,001) jedoch nicht zwischen OTM und RR. ATS stellt mit der Registrierung der kontralateralen Kieferseiten eine standardisierte Methode zur volumetrischen Analyse von RR, BV/TV sowie OTM in Endpunktanalyse dar.

Abstract

This cumulative doctoral thesis is based on the publications "*Automated tooth segmentation as an innovative tool to assess 3D-tooth movement and root resorption in rodents*" published in the *Head and Face medicine* in 2021 and "*Standardized assessment of bone micro-morphometry around teeth following orthodontic tooth movement: A µCT split-mouth study in mice*" published in the Journal of Orofacial Orthopedics in 2021 (1, 2).

The publications aimed to compare the reliability and efficiency of the new method "automated tooth segmentation" (ATS) based on the Watershed Algorithm for the segmentation of teeth in microcomputed tomography (µCT) images in comparison to manual segmentation (MA). In addition, the teeth and bone segmented with ATS were validated for volumetric measurements of root resorption (RR), bone volume fraction (BV/TV) and three-dimensional (3D) orthodontic tooth movement (OTM) in end-point analyses. For method validation, three mice skulls were digitalized with µCT and all first molars were segmented with ATS (test group) and MA (control group) respectively (three iterations). For volumetric root volume calculations, the roots of the teeth were separated from the crown below the cementum-enamel junction. In order to measure BV/TV, the jawbone was additionally segmented with ATS and a standardized circular mask was generated around the tooth roots containing the volume of interest (VOI) for BV/TV evaluation. The segmentation time was measured and the tooth volumes, the root volumes and the BV/TV were calculated. ATS was additionally applied to (n = 14) µCT images from another study in which the left maxillary molar was protracted in a split-mouth design. BV/TV, RR and OTM were measured. OTM were analyzed using the mirror operation and superimposition of the contralateral bone and teeth. The results show that segmentation with ATS is 81% time-saving ($P < 0.01$). Reliability for ATS was high (roots: ICC = 1.0; BV/TV: ICC = 0.99), with high comparability between ATS and MA for tooth volumes, root volumes and BV/TV. The protracted tooth roots had significantly lower root volumes ($P = 0.03$). Measurement of the OTM revealed an average anterior movement of the teeth (mesial (0.04 mm), palatal (0.06 mm), intrusion (0.08 mm)). Significant differences were observed between the BV/TV of the protracted molars and the untreated control side ($P < 0.001$) but not between OTM and RR. ATS with the registration of contralateral jaw parts is a standardized method for volumetric analysis of roots, BV/TV and OTM in end point analysis.

Abkürzungsverzeichnis

2D	zweidimensional, two-dimensional
3D	dreidimensional, three-dimensional
µCT	Mikrocomputertomographie, micro-computed tomography
ATS	automated tooth segmentation
BV/TV	Knochenfraktion, bone volume fraction
CT	Computertomographie
DVT	digitale Volumentomographie
ICC	Interclass correlation coefficient
MA	manuelle Segmentierung, manual segmentation
OTM	orthodontische Zahnbewegungen, orthodontic tooth movement
ROI	region of interest
RR	Zahnwurzelresorption, tooth root resorption
VOI	volume of interest

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1
1.1 Methoden zur Bestimmung von Wurzelresorptionen in der Klinik und im Tiermodell ... 1
1.2 Messung und Quantifizierung orthodontischer Zahnbewegungen 3
1.3 Studiendesigns zur Messung von Wurzelresorptionen und Zahnbewegungen 4
1.4 Messung und Quantifizierung der periradikulären Knochenstruktur 4

2 Ziele 7

3 Publikationen 8

4 Diskussion 27
4.1 Bewertung der Methode 27
4.2 Eignung von *Split-Mouth Designs* 31
4.3 Bewertung der Reliabilität 31
4.4 Bewertung der Effizienz 32
4.5 3D-Quantifzierung von Zahnbewegungen im *Split-Mouth Design* 33
4.6 Limitationen 33
4.7 Schlussfolgerungen 35

5 Literaturverzeichnis 36

1 Einleitung

Zahnwurzelresorptionen stellen einen Verlust der radikulären Zahnhartsubstanz dar. Dieser Substanzverlust kann entweder auf das Zahnwurzelzement begrenzt sein oder bis in das Dentin reichen (3). Unterschiedliche Klassifikationen von Zahnwurzelresorptionen wie die Unterscheidung zwischen externer und interner Zahnwurzelresorption sowie nach der Lokalisation (lateral, apikal, zervikal), Schweregrad oder Infektionsstatus wurden in der Literatur beschrieben (3, 4). Physiologisch treten Zahnwurzelresorptionen in der ersten Dentition im Rahmen des Durchbruchs der zweiten Dentition auf (5-7). In der zweiten Dentition können leichte Veränderungen der Zahnwurzeloberfläche durch physiologische Umbauprozesse des Knochengewebes auftreten (8).
In der Kieferorthopädie sind Zahnwurzelresorptionen eine unerwünschte aber verbreitete Folge der Behandlung (9). Durch den Einsatz mechanischer Kräfte, wie sie bei kieferorthopädischen Apparaturen zum Einsatz kommen, entstehen Druck- und Zugzonen, die ischämische Nekrosen durch lokale, vasale Kompressionen sowie Resorptions- und Appositionsvorgänge im knöchernen Teil des Parodonts initiieren (7, 10). Greifen die Resorptionsvorgänge auf das resorptionsresistentere Zahnwurzelzement über und werden sie klinisch und röntgenologisch messbar, gelten sie als pathologisch. Der genaue Mechanismus ist aber bis heute noch nicht vollständig verstanden. Bestimmte Verlagerungsrichtungen der kieferorthopädisch bewegten Zähne, insbesondere die Intrusion, scheinen häufiger Zahnwurzelresorptionen hervorzurufen (9, 11). In der Literatur wird die Ätiologie der Zahnwurzelresorptionen als Kombination aus biologischen, genetischen und mechanischen Faktoren beschrieben (9).
Die meisten kieferorthopädisch bedingten Zahnwurzelresorptionen sind von untergeordneter klinischer Bedeutung für den Attachmentverlust und bis zu einem gewissen Grad reparabel (7, 9, 12-14). In 1% bis 3% können sie aber mehr als einen Drittel der Zahnwurzel betreffen und damit die Langzeitprognose dieser Zähne deutlich reduzieren (15-19).

1.1 Methoden zur Bestimmung von Wurzelresorptionen in der Klinik und im Tiermodell

In der Literatur sind unterschiedliche Methoden zur Zahnwurzelresorptionsmessung beschrieben (9). Einige basieren auf Analysen der Zahnwurzelresorptionskrater entsprechend ihrer Oberfläche, Tiefe, Rauheit und/oder ihrem Volumen. Andere Methoden basieren auf volumetrischen Messungen. Dabei werden sie als Volumendifferenz der Zahnwurzelvolumen vor und nach einer Behandlung oder im Vergleich zu den Referenzzahnwurzelvolumen definiert und gemessen.

Die in-vitro und in-vivo-Diagnostik von Zahnwurzelresorptionen basiert auf unterschiedlichen Verfahren wie beispielsweise der Histologie, den mikroskopischen Techniken (Lichtmikroskopie, Rasterelektronenmikroskopie (REM), Transmissionselektromikroskopie (TEM)) oder röntgenologischer Bildgebung (Zahnfilme, Orthopantomogramme (OPG), digitale Volumentomografie (DVT), Mikrocomputertomographie (µCT)) (8, 9, 20-23).

Die als Goldstandard geltende Histologie ermöglicht die Untersuchung von Geweben auf makroskopischer Ebene. Durch die Einführung des REM und des TEM wurden hohe Auflösungen in Nanometer-Bereich möglich. Für die Quantifizierung von Zahnwurzelresorptionen sind die begrenzten Schichtdicken, die Zweidimensionalität und die Notwendigkeit von Zahnextraktionen nachteilig. Dadurch sind longitudinale Evaluationen undurchführbar.

Die röntgenologischen Verfahren sind hingegen nicht-destruktiv und bieten momentan die einzige Möglichkeit für eine Zahnwurzelresorptionsdetektion in der Klinik an (22, 24-26). Sie können in 2D-Verfahren wie beispielsweise Zahnfilme oder OPG oder in 3D-Verfahren wie beispielsweise. DVT oder µCT unterteilt werden. Die 2D-röntgenologischen Verfahren machen eine Quantifizierung der Zahnwurzelresorptionen möglich, scheitern aber an bukkalen oder oralen Flächen (7, 27, 28). Auch Fehler in der Projektion können zu verzerrten und inkorrekten Darstellungen und damit zu falschen Ergebnissen führen (29).

Erst mit den 3D-röntgenologischen Verfahren wurde eine volumetrische Quantifizierung möglich. Das µCT generiert in dieser Gruppe die höchste Auflösung und wird deshalb gerne als Referenz in Studien genutzt (30). Doch aufgrund der limitierten Objektgröße und der hohen Strahlenbelastung ist ihre Anwendung nur für Kleintiermodelle zugelassen (31).

Die mit dem µCT generierten 3D-Datensätze erfordern zur Visualisierung und Weiterverarbeitung Nachbearbeitungsmethoden (32). Sollen relevante anatomische Strukturen aus den Datensätzen abgegrenzt werden, ist eine Segmentierung erforderlich. Dabei werden Voxel aus den Daten entsprechend ihrer Intensität und Dichte extrahiert (33, 34). Die Segmentierungsverfahren sind vielfältig und können eingeteilt werden nach dem Grad des *Modellwissens*, welches ein a-priori Wissen über beispielsweise Zahnmorphologien nutzt (35). Ohne *Modellwissen* muss der Anwender die entsprechenden Regionen manuell markieren. Bei Verfahren mit *Modelwissen* können Informationen für die Segmentierung aus der Bildaufnahme, der erwarteten Gestalt und Grauwertverteilung sowie Berücksichtigung durchgehender Konturen einbezogen werden (35). Mit einfachem *Modellwissen* arbeiten beispielsweise die Schwellenwertverfahren und die Wasserscheidentransformation (35). Auch eine Einteilung nach der Durchführung in automatische, semiautomatische und manuelle Segmentierung ist möglich (34).

Die manuelle Segmentierung von Zähnen und umgebenen Geweben ist in der Literatur beschrieben und wird als besonders akkurat angesehen (26, 36, 37). Bei diesem Verfahren müssen die anatomischen Strukturen manuell vom Anwender, meistens in jeder Schicht des 3D-Datensatzes,

markiert werden. Der dafür benötigte Zeitaufwand ist sehr hoch und erfordert ein ausreichendes Wissen über die zu segmentierenden Objekte.
Auch das Schwellwertverfahren ist für die Segmentierung von Zahnschmelz, Dentin und Pulpa in der Literatur beschrieben (38). Dieses Verfahren führt jedoch nur bei extrahierten Zähnen ohne umgebenes Gewebe zu guten Ergebnissen. Eine Abgrenzung zwischen Zahnwurzelzement und Knochen ist aufgrund des ähnlichen Grauwertbereichs schwierig oder sogar unmöglich.
Bessere Ergebnisse sind mit der kantenbasierten Wasserscheidentransformation in der Literatur beschrieben (34). Bei der Segmentierung mithilfe der Wasserscheidentransformation wird zuerst ein Gradient vom Ursprungsbild erzeugt. Dieses Gradient-Bild bildet die Kontrastunterschiede ab. Im nächsten Schritt werden die Grauwerte als Höhenunterschiede gedeutet und geflutet. Das führt zur Aufteilung der Bildbereiche. Bei manchen Bildern sind Vorbearbeitungen sinnvoll, um aussagekräftige Objektgrenzen zu erhalten und Übersegmentierung zu vermeiden (39). Durch einen kantenerhaltenden Glättungsfilter können, trotz Bildrauschens, aussagekräftige Objektgrenzen definiert und somit irrelevante Minima eliminiert werden (40-42). Eine besondere Form der Wasserscheidentransformation ist die markerbasierte Wasserscheidentransformation. Sie ermöglicht durch manuelle Platzierung von Markern die Ausgangspunkte der Flutung individuell festzulegen, um damit den Übergang zwischen zwei Strukturen hervorzuheben und damit zu optimieren (43).

1.2 Messung und Quantifizierung orthodontischer Zahnbewegungen

Neben der Zahnwurzelresorptionsevaluation ist die Quantifizierung von orthodontischen Zahnbewegungen ein weiterer wichtiger Bereich der Kieferorthopädie. Durch die Applikation eines Kraftsystems wird bei der orthodontischen Zahnbewegung eine körperliche Zahnbewegung erzielt. Wie bereits erwähnt, entstehen durch die applizierten Kräfte Druck- und Zugzonen im Parodont, die essentiell für diese Bewegung sind (44).
Die Quantifizierung orthodontischer Zahnbewegungen sind zahlreich in der Literatur beschrieben (45-50). Sie basieren größtenteils auf 2D-Verfahren. Dabei wird die kürzeste Entfernung zwischen dem orthodontisch bewegten und meistens dem benachbarten, scheinbar unbewegten Zahn gemessen. Dieses Verfahren wird sowohl in der 2D- als auch in der 3D-Bildgebung eingesetzt. Die Zahnbewegungen fallen durch diese Methode geringer aus, weil sich der zweite Molar, durch die *Mesialdrift*, mitbewegt (49). Weitere Möglichkeiten der linearen Messungen von orthodontischen Zahnbewegungen können durch Hinzuziehen anderer Referenzpunkte, wie Höckerspitzen, Fossae oder knöcherne Strukturen, sein (49).

Eine 3D-Quantifizierung der orthodontischen Zahnbewegungen bestimmt die Zahnbewegung in alle drei Richtungen des Koordinatensystems. Dafür sind 3D-Datensätze notwendig. In der Literatur wurden 3D-Quantifizierungen von orthodontischen Zahnbewegungen mithilfe von überlagerten, digitalisierten Gipsmodellen beschrieben (50-54). Die dafür ausgewählten Datensätze sind in den Studien von mindestens zwei Zeitpunkten, wie beispielsweise vor und nach einer Behandlung mit einer bestimmten kieferorthopädischen Apparatur, vorhanden. Auch mit Abstand- und Winkelmessungen in den unterschiedlichen Schnittebenen des 3D-Datensatzes konnten Angaben zur räumlichen Bewegung der kieferorthopädisch bewegten Zähne gegeben werden (47).

1.3 Studiendesigns zur Messung von Wurzelresorptionen und Zahnbewegungen

Ein häufig verwendetes Studiendesign in klinischen, kieferorthopädischen Studien ist das *Split-Mouth Design*. Ein wesentlicher Vorteil dieses Designs ist die Kombination einer geringen Stichprobengröße im Vergleich zu einem Parallelgruppendesign (55). In der Literatur ist das *Split-Mouth Design* auch für Quantifizierungen von orthodontischen Zahnbewegungen beschrieben (49, 55). Die im Rahmen solcher Studien erzeugten Datensätze liegen zu unterschiedlichen Zeitpunkten vor und können, wie bereits oben beschrieben, ausgewertet werden. Auch die Quantifizierung von Zahnwurzelresorptionen und Untersuchung der Knochenstruktur ist möglich (22, 56-59).
Eine große Herausforderung stellen vor allem Endpunktanalysen dieser Studiendesigns dar, wenn die Datensätze nur von einem Zeitpunkt vorliegen (49).

1.4 Messung und Quantifizierung der periradikulären Knochenstruktur

Die Knochenremodellierung, die ein Gleichgewicht zwischen Knochenresorption und -apposition anstrebt, ist Voraussetzung für die orthodontische Zahnbewegung. Deshalb ist die Untersuchung der Knochenstrukturveränderungen im Zusammenhang mit den orthodontischen Zahnbewegungen interessant. Die 2D-Verfahren können nicht den gesamten relevanten Bereich um die Zahnwurzeln lückenlos analysieren. Erst mit dem vermehrten Einsatz der 3D-Bildgebung in der zahnmedizinischen Forschung wurden 3D-Analysen der Knochenmikrostruktur möglich. Vor allem mithilfe von µCT können hochauflösende Datensätze generiert werden, die longitudinale Untersuchungen ermöglichen. Der relevante Bereich, also die „*region of interest*“ (ROI) ist dementsprechend der knöcherne Bereich (Fläche) um die Zahnwurzeln, in dem Veränderungen der Knochenstruktur durch die orthodontischen Zahnbewegungen zu erwarten sind. Die Festlegung einer ROI

ist nicht immer einfach und schwierig zu standardisieren. Es sollte idealerweise die knöcherne Region der Druck- und Zugzone umfassen. In 3D-Datensätzen wird analog ein „*volume of interest*“ (VOI) anstelle einer ROI verwendet.
In der Literatur sind kubische, zylindische und zirkuläre VOI beschrieben (49, 60-62). Sie grenzen teilweise direkt an das Parodont oder sind in der unmittelbaren Umgebung platziert. Es gibt eine große Anzahl an Parametern zur Bewertung des Knochens. Sie unterscheiden sich je nach Knochenstruktur. Die wichtigsten Parameter für den trabekulären Knochen sind die Knochenfraktion (BV/TV), trabekuläre Anzahl (Tb.N), trabekuläre Dicke (Tb.Th) und trabekulärer Abstand (Tb.Sp) (63). Sie können aber je nach Fragestellung um weitere Parameter erweitert werden. Die Knochenfraktion gibt das Verhältnis zwischen dem Knochen- und dem Gesamtvolumen eines VOI an. Die restlichen Parameter beschreiben die Trabekel in ihrer Anzahl, Dicke und Abstand zueinander.
In der Literatur wird eine Abnahme der Knochenfraktion durch die Knochenremodellierung bei orthodontischen Zahnbewegungen beschrieben (49, 58, 60, 64). Erfolgt eine Unterteilung des VOI, deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die gemessenen Knochenfraktionswerte in der Druckzone zu und in der Zugzone abnehmen (58). Ist durch das Studiendesign bedingt keine longitudinale Untersuchung der Knochenstruktur möglich, wird das Hinzuziehen der kontralaterale Seite als Kontrolle in einigen Studien beschrieben (49, 58, 65).
Komplexer werden volumetrische Analysen von Zahnbewegungen und Wurzelresorptionen, wenn 3D-Datensätze einer Zahnbewegung im Tiermodell nur vom Endzeitpunkt (Endpunktanalyse) vorliegen. In diesem Fall fehlt die Ausgangsposition der Zähne, so dass nur von der Kontrollseite das vorhandene Knochenvolumen und die Zahnposition abgeleitet werden kann (*Split-Mouth Design*). Obwohl dies in einigen Studien gemacht wurde, ist unklar, in welchem Ausmaß Kleintiere symmetrisch sind und solche Analysen zulassen.

Das Ziel dieser kumulativen Dissertation war die Prüfung der Symmetrie von murinen Kiefern im Hinblick auf die Fragestellung, ob *Split-Mouth Designs* für die Berechnung von 3D-Zahnbewegungen, Wurzelresorptionen und umliegender Knochenremodellierung grundsätzlich geeignet sind. Ein weiteres Ziel war die Entwicklung und Validierung einer standardisierten Methode zur volumetrischen Messung von Zahnwurzel- und periradikulären Knochenresorptionen sowie zur Bestimmung der 3D Zahnbewegung bei orthodontischen Zahnbewegungen.
Zur Methodenvalidierung wurden Mäusekadaver, die für Organentnahmen getötet wurden, mit dem µCT gescannt. Zur Methodenapplikation wurden bereits vorliegende µCT-Datensätze einer anderen Studie, bei der im *Split-Mouth Design* die ersten Oberkiefermäusemolaren protrahiert wurden, verwendet (66).
Im folgenden Kapitel 2 werden die Ziele der Publikationen erläutert, im anschließenden

Kapitel 3 sind die originalen Publikationen abgedruckt. Im Kapitel 4 erfolgt eine Diskussion der Ergebnisse und eine Einordnung in den wissenschaftlichen Kontext.

2 Ziele

Die vorgelegte Arbeit verfolgt die Zielsetzungen:

1 Prüfung der Symmetrie von Mauskiefern von Endpunkt-µCT-Aufnahmen aus *Split-Mouth Designs*.

2 Überprüfung deren Eignung für die Bestimmung orthodontischer Zahnbewegungen und zur Analyse des periradikulären Knochens sowie der Molarenwurzeln.

3 Entwicklung und Validierung einer neuen automatisierten Methode zur Zahnsegmentierung und zur volumetrischen Messung von Zahnwurzel- und periradikulären Knochenresorptionen sowie zur Bestimmung der orthodontischen Zahnbewegung.

4 Applikation der Methode auf µCT-Scans von Mäusen, bei denen der erste obere rechte Molar mesialisiert worden war.

3 Publikationen

Diese Dissertation wurde kumulativ zu folgenden Literaturstellen verfasst:

Trelenberg-Stoll *et al. Head & Face Medicine* (2021) 17:3
https://doi.org/10.1186/s13005-020-00254-y

Head & Face Medicine

RESEARCH Open Access

Automated tooth segmentation as an innovative tool to assess 3D-tooth movement and root resorption in rodents

Viktoria Trelenberg-Stoll[1], Dieter Drescher[2], Michael Wolf[3†] and Kathrin Becker[2,4*†]

Abstract

Background: Orthodontic root resorptions are frequently investigated in small animals, and micro-computed tomography (μCT) enables volumetric comparison. Despite, due to overlapping histograms from dentine and bone, accurate quantification of root resorption is challenging. The present study aims at (i) validating a novel automated approach for tooth segmentation (ATS), (ii) to indicate that matching of contralateral teeth is eligible to assess orthodontic tooth movement (OTM) and root resorption (RR), (iii) and to apply the novel approach in an animal trial performing orthodontic tooth movement.

Methods: The oral apparatus of three female mice were scanned with a μCT. The first molars of each jaw and animal were segmented using ATS (test) and manually (control), and contralateral volumes were compared. Agreement in root volumes and time efficiency were assessed for method validation. In another $n = 14$ animals, the left first upper molar was protracted for 11 days at 0.5 N, whereas the contralateral molar served as control. Following ATS, OTM and RR were estimated.

Results: ATS was significantly more time efficient compared to the manual approach (81% faster, $P < 0.01$), accurate (volume differences: $-0.01 \pm 0.04\ mm^3$), and contralateral roots had comparable volumes. Protracted molars had significantly lower root volumes ($P = 0.03$), whereas the amount of OTM failed to reveal linear association with RR ($P > 0.05$).

Conclusions: Within the limits of the study, it was demonstrated that the combination of ATS and registration of contralateral jaws enables measurements of OTS and associated RR in μCT scans.

Keywords: Tooth segmentation, Micro computed tomography, Animal experiment, Orthodontic tooth movement

Background

Root resorptions (RR) are an undesired side effect of orthodontic treatment, and apical shortening of more than 3 mm was estimated to affect 30–35% of the patients. [1, 2].

The current biological concepts of RR have been mainly derived from small animal studies and end-point histology. [3–6]. Major drawbacks of this approach, however, are the high information loss during histological processing and the limitation to two dimensions. [7].

Micro computed tomography (μCT) is a complementary tool enabling high-resolution volumetric analyses of bone and tooth micro-morphometry. [8–14] In principle, the 3D-orthodontic tooth movement (OTM) can be computed even from end-point analyses, and they

* Correspondence: kathrin.becker@med.uni-duesseldorf.de
†Michael Wolf and Kathrin Becker contributed equally to this work.
[2]Department of Orthodontics, Universitätsklinikum Düsseldorf, Düsseldorf, Germany
[4]Department of Oral Surgery and Implantology, Goethe University, Frankfurt am Main, Germany
Full list of author information is available at the end of the article

© The Author(s). 2021 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

can also be correlated with the associated local hard tissue changes. However, at the time being, the majority of studies performed 2D linear measurements in the volumetric data sets, comparable to 2D histology, or they mechanically separated murine teeth from bone prior to scanning. [15].

3D evaluation premises reliable image segmentation which can be particularly challenging when metal artifacts are present, or when histograms overlap. [16–20] Since mineral contents of cementum and bone were reported to be likewise [21], reliable approaches to segment tooth roots in μCT are an inevitable premise for volumetric assessment of OTM and RR in μCT.

Marker-based Watershed algorithms (WS) have been successfully used to segment computed tomography images with overlapping histograms. [22, 23] Hence, this approach may also be applicable in the orthodontic field.

The present study aims at (1) assessing the eligibility of a WS algorithm for 3D automated tooth segmentation (ATS), (2) evaluating whether symmetry is sufficient to use contralateral hemi-maxillae to compute OTM and RR in mice, and (3) to apply the novel methodology to μCT scans from a previous animal study as prove of concept.

Methods

Animals

Two separate sets of specimens (mice) were used for the present investigation.

For the method part, i.e. aim (i) and (ii) specified in the background, skulls from three female mice (BALB/c strain, age 5.2–5.6 month) were obtained for μCT scanning from the local animal facility of the University Hospital of Düsseldorf. For the application part, i.e. aim (iii), μCT scans from a previously described and published animal experiment analyzing the effect of orthodontic tooth movement in mice were used [24]. For that purpose, a nickel titanium spring was attached between the left upper first molar and the incisor, and molar protraction was conducted at 0.5 N for 11 days (Fig. 1). According to the study protocol the included animals had an age 60 days (9 females, 5 males) and different genetic profiles, which were out of the scope for the present investigation. A total of 14 μCT scans were available for the present investigation. All experiments were done in accordance with the appropriate animal care committees and laws (Central institution for animal research and scientific research protection tasks, University hospital of Düsseldorf, Germany; National Institute of Athritis and Musculoskeletal and Ski Diseases (NIAMS) Animal Care and Use Committee, reference number: A016–12-09).

Micro computed tomographic analysis

For the method part, the samples were scanned with a μCT (Viva CT 80; Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland) operated at 70 kVp, 114 μA, 8-W, 31.9 mm FOV, 1500 projections, and an integration time of 500 ms. The data sets were reconstructed into three-dimensional (3D) volumes with an isotropic nominal resolution of 10.4 μm voxel size.

For the application part, the samples were scanned with a μCT 50 (Viva CT 80; Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland) operated at 70 kVp, 76 μA, 300–900 ms integration time and 9-to-10 μm voxel size.

Image processing

Image processing was performed using Amira software (v6.5, FEI Visualization Science Group, Burlington, MA, USA) by a trained investigator (VTS) and validated by another author (KB).

Automated tooth segmentation

Segmentation of teeth and their roots was achieved in three steps (Fig. 2). First, the image was prepared by

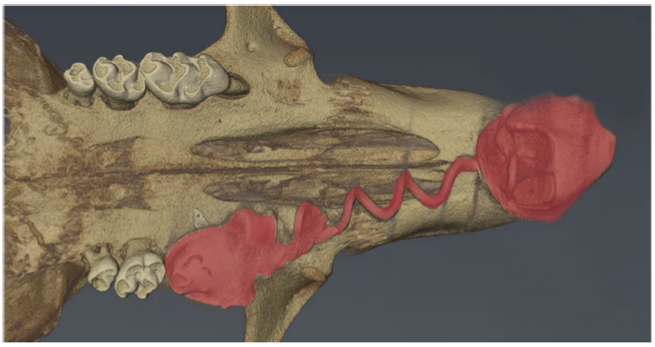

Fig. 1 Volumetric rendering of the upper jaw from one animal. The image shows μCT scans from an animal experiment analyzing the effect of orthodontic tooth movement in mice with a nickel titanium spring (red) installed between the left upper first molar and the incisor to induce anterior movement of the first molar. Orthodontic tooth movement was conducted at 0.5 N for 11 days

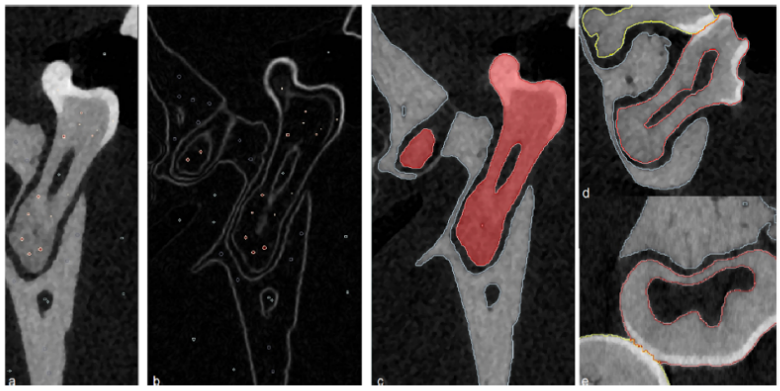

Fig. 2 The image shows how the segmentation procedure of tooth, bone and roots were performed. **a** First, the image was prepared by marking the structures to be identified with different colors (labels). **b** Second, the edges of the structures were filtered (Sobel operator). **c** Third, each label was grown until reaching an edge (Watershed algorithm). (D/E) If no clear edge was found (e.g. at contact points between teeth), manual correction was performed. Different labels were used for "molar", "bone", "nickel titanium spring" and "air"

marking the structures to be identified with different colors (labels). Second, the edges of the structures were filtered (Sobel operator). Third, each label was grown until reaching an edge (Watershed algorithm). If no clear edge was found (e.g. at contact points between teeth), manual correction was performed. Different labels were used for "molar", "bone", "nickel titanium spring" and "air".

Adjustment of the teeth to a uniform coordinate system

The segmented molars were aligned such that the cementum-enamel junction (CEJ) coincided with the occlusion plane (Euclidean XY-plane), and that the line connecting the mesial and distal contact points formed a 45-degree angle with the X- and Y- axis, respectively.

Measurement of the root volumes (mm^3)

To calculate the volume of the tooth roots, the roots were digitally separated from the teeth. This was achieved by adding a cutting plane 30 voxels (approx. 300 μm) below CEJ.

Method validation

To assess eligibility and reliability of the ATS method, the manual approach (MA) served as reference. Therefore, each tooth was segmented one more time by labelling it slice-wise in the μCT scans. The roots were again separated as described above.

Both methods, i.e. ATS and MA, were repeated three times, and the respective time requirements were recorded.

Comparison of root volumes between hemi-maxillae

In end point analyses with split-mouth design, values from contralateral sites are compared. This premises comparability. To validate this assumption, the volumes of roots from contralateral molars were compared (see statistics section).

Measurement of orthodontic tooth movement and root resorption (application)

To assess OTM, the contralateral site was used as reference. Since this site is mirror-symmetric, it had to be transformed accordingly (mirror-operation, Fig. 3a). After this, image registration was performed using the bone tissue as reference (Fig. 3b). Then, OTM was computed by using the unprotracted control-molar as reference structure (Fig. 3c). To estimate RR, the respective root volumes from the test and control site were subtracted to assess the absolute hard tissue loss, whereas their fraction was computed to assess the relative hard tissue loss.

Statistical analysis

The statistical analysis was performed using the software program R. [25].

For descriptive purposes, medians and quartile ranges were computed for each variable and group, and either represented in text or in boxplots.

To perform method validation, Bland-Altman analyses were employed to assess agreement between ATS and MA, and the three repeated measurements are represented by equal color and symbol in the respective Bland-Altman plots. Reliability of the segmentation procedures was analyzed by computing the respective intra class correlation coefficients (ICC). The time needed for

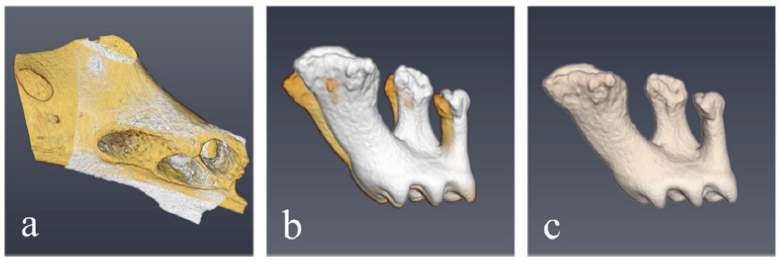

Fig. 3 Superimposition process used to analyze tooth movement of upper first molar with the contralateral molar as internal reference. **a** First the control site had to be transformed using a mirror operation. **b** Second, the transformed image was superimposed using the bone as reference (only the registered teeth are shown) (Fig. 3b). **c** Then, OTM was quantified using the reference tooth as control reference structure for another image registration (due to high symmetry, the contralateral roots are overlapping, the figure also represents the symmetry of contralateral teeth)

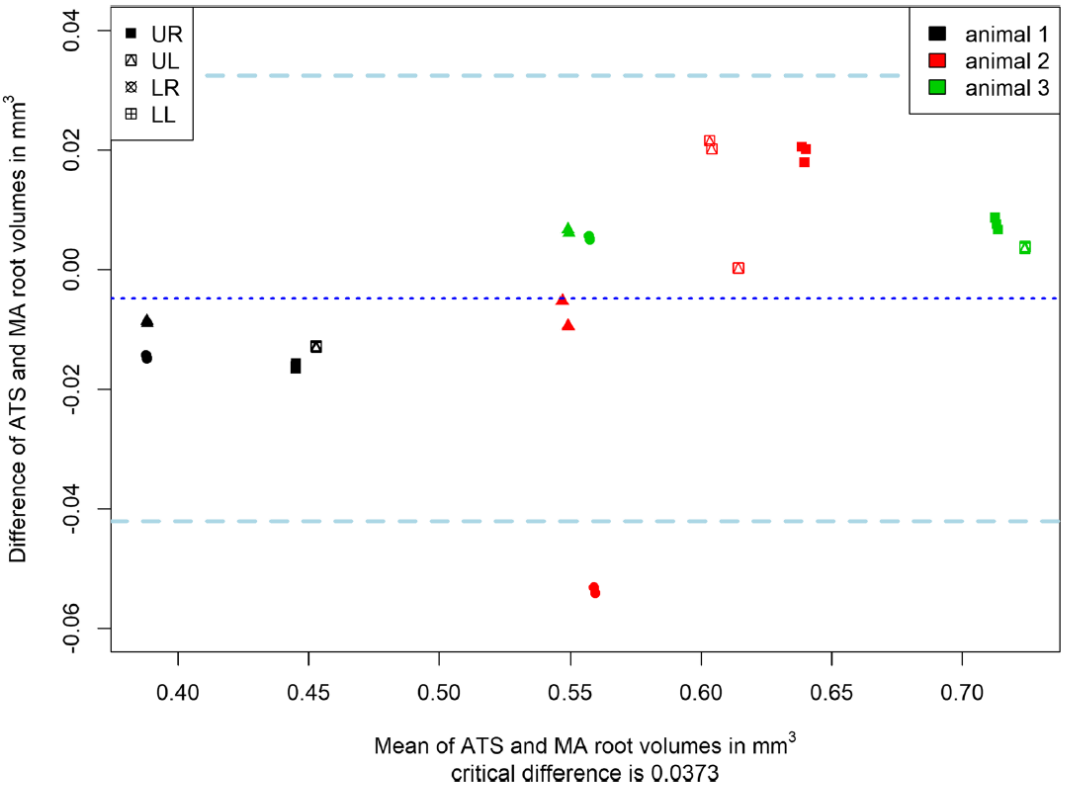

Fig. 4 Bland-Altman analysis was performed to compare root volumes between the two segmentation approaches (ATS vs. MA). Measurements from the same animal are labelled with equal colour, and the position of the teeth (upper right UR, upper left UL, lower left LL, lower right LR) is labeled by icons. Median tooth segmentation time amounted to 8.93 min (quartiles: 8.13–11.76 min) for ATS, and to 55.26 min (quartiles: 49.62–62.76 min) for MA. Tooth segmentation was by 81% significantly faster using ATS ($P < 0.01$)

segmentation (efficiency) was compared using the Wilcoxon signed rank test.

The Wilcoxon signed rank test was also used to compare contralateral root volumes.

The paired t-test was used to compare OTM and RR following tooth protraction (normal distribution was validated in advance). Linear regression was employed to assess linear association between tooth movement and root resorption (variance homogeneity and normal distribution of residuals were validated in advance). Results were found significant at $P < 0.05$.

Results

Eligibility of ATS for automated tooth segmentation

Automated tooth segmentation was successfully achieved in all animals. For unprotracted teeth, manual correction had to be used in the interproximal contact areas.

When comparing the tooth and root volumes with the respective reference value from MA segmentation, the Bland-Altman analyses revealed a mean difference of 0.01 mm^3 (critical difference: 0.04 mm^3) for tooth roots and 0.03 mm^3 (critical difference: 0.06 mm^3) for the teeth (Fig. 4). Reliability of repeated measurements was high (ATS: ICC = 1.00, MA: ICC = 0.998).

Median segmentation time amounted to 8.93 min (quartiles: 8.13–11.76 min) for ATS, and to 55.26 min (quartiles: 49.62–62.76 min) for MA. Tooth segmentation was 81% faster using ATS ($P < 0.01$).

Volume comparison for contralateral molars

The total volumes of the left and right first molars amounted to 0.548 ± 0.117 mm^3 and 0.543 ± 0.114 mm^3, respectively (ATS segmentation). Comparison of contralateral sites did not reveal any significant difference (ATS segmentation: $P = 1.0$, MA segmentation: P=0.41).

In addition, visual examination by flipping the right molar along the sagittal plane and subsequent registration with the contralateral tooth confirmed symmetry (the same approach was used to assess tooth movement in the application part, see Fig. 3).

OTM and associated RR

The mean tooth movements in all 3 dimensions mainly occurred to the mesial, palatal and intrusion direction. Following the 3D analyses the analyzed tooth movement could be interpreted as an anterior movement with mesial and palatal tipping and molar intrusion (intrusion: 0.08 mm, mesial: 0.04 mm, palatal: 0.06 mm) (Fig. 5).

Comparison of root volumes of upper first molars after 11 days of experimental tooth movement revealed a minor but significant loss of hard tissue at the mesial (control: 2,085,540, Q1-Q3 1,904,077-2,555,135 μm^3 vs. test: 1,986,680, Q1-Q3: 1,717,100-2,411,930 μm^3 (P = 0.003)), distal (control: 775,220, Q1-Q3: 646,835–973, 610 μm^3 vs. test: 659,925, Q1-Q3: 617,975–894,055 μm^3 (P = 0.012)), and palatal root (control 1,139,960, Q1-Q3: 881,375-1,454,115 μm^3 vs. test 1,109,430, Q1-Q3: 868, 145-1,299,900 μm^3 (P=0.033)) (Fig. 6). Interestingly, the absolute loss of hard tissue was highest in the mesial root, whereas relative reduction **(%)** of root volume compared to the none treated control site was comparable in the mesial and distal root (mesial: 6.08 ± 5.85%, distal: 5.66 ± 7.78%, palatal: 3.65 ± 6.75%).

Linear regression analysis did not reveal association between OTM and root resorption (P = 0.69, R^2 = − 0.06).

Discussion

Micro-CT is frequently used for evaluation of hard-tissue biopsies. Whereas open access software is available to assess bone micro-structural parameters [26], calculation of orthodontic tooth movements and volumetric assessment of hard tissue loss has been rarely investigated. In the orthodontic field, 2D-measurements between contact points are most commonly assessed to quantify tooth movements in µCT, even though they do not reflect the true 3D movement. This may own to the fact that segmentation of teeth in µCT scans is challenging because grey values from dentine and bone hardly differ. [21].

Therefore, the present study aimed at assessing whether a Watershed Algorithm is efficient for tooth segmentation, whether a split-mouth design is applicable to estimate the absolute and relative hard tissue loss following tooth protraction, and to apply the novel approach to µCT scans obtained from a previous animal study to compute orthodontic tooth movement (OTM) and root resorption (RR). [24].

In each animal, automated tooth segmentation was successfully achieved. Accuracy of the method was confirmed by the high agreement of tooth- and root volumes assessed with ATS and MA. It has to be noted that slice-wise manual segmentation was considered to be the most accurate reference. (27, 28) Careful extraction of the molars prior to (repeated) µCT scanning has also been proposed in literature [29, 30], but due to potential detrimental effects this approach was considered to be not sufficiently reliable.

When comparing the time requirement of the automated approach with the manual reference, ATS was about 81% faster. Giving the high number of biopsies that is frequently analyzed in small animal studies, this appears to be a relevant benefit of the presented approach. At this point, it has to be noted that the term *automated* specifies "procedures operated by machines or human to reduce the work done by humans" [31].

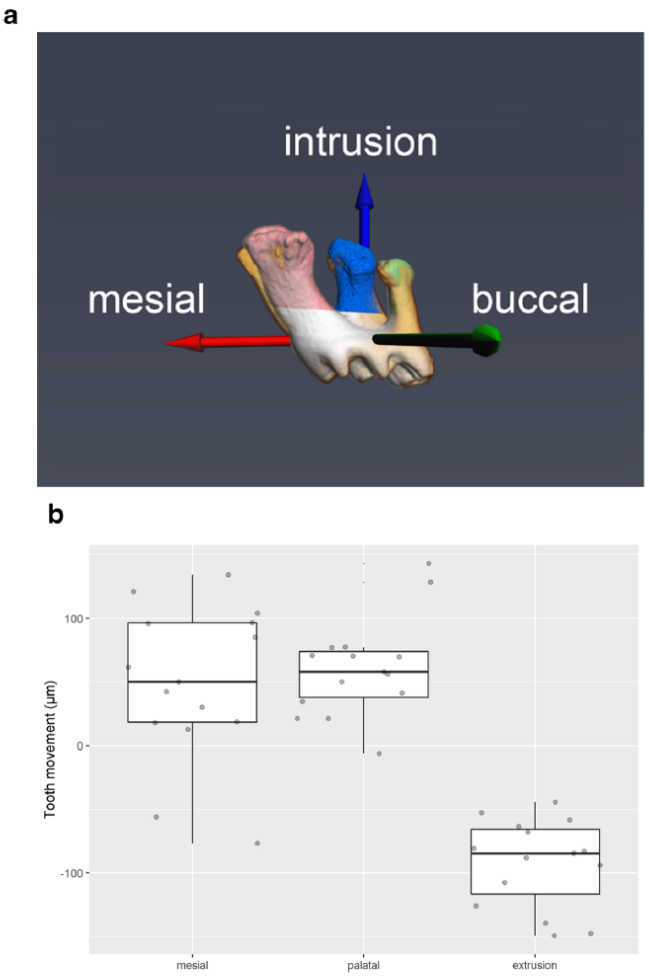

Fig. 5 **a** Schematic drawing representing the mean amount of orthodontic tooth movement in the mesial, buccal and vertical dimension (intrusion: 0.08 mm, mesial displacement: 0.04 mm, palatal displacement: 0.06 mm). **b** Boxplot representing the amount of experimental orthodontic tooth movement of the upper molar in all 3 dimensions. A significant amount of tooth movement in mesial direction associated with palatal rotation and intrusion could be observed

Hence, automatic and/or fully automated approaches may further increase efficiency in the future.

Split mouth designs have been frequently employed in orthodontics. [32–34] They rely on the assumption that high agreements exist between the left and right site. However, this assumption has been rarely validated, even though comparability was suggested. [35–39] For this purpose, the tooth and root volumes were compared in the untreated animals. Intra-animal agreement between contralateral sites was high, whereas marked differences were found among the animals (Fig. 4). This indicates that calculation of the relative hard tissue loss (volume of the test root divided by the volume of the control root) may be more accurate then comparing absolute values between groups. It has to be emphasized that this volumetric computation of RR is not possible from 2D images, e.g. projection radiographs or histology.

Assessing orthodontic tooth movements using the other maxilla as reference required a series of steps. First, the contralateral site had to be reversed (as it is mirror symmetric) and registered with the test site. Adjustment to an intraoral coordinate system was also required to measure OTM in all three dimensions, as reported previously [29, 40]. In contrast, the subsequent

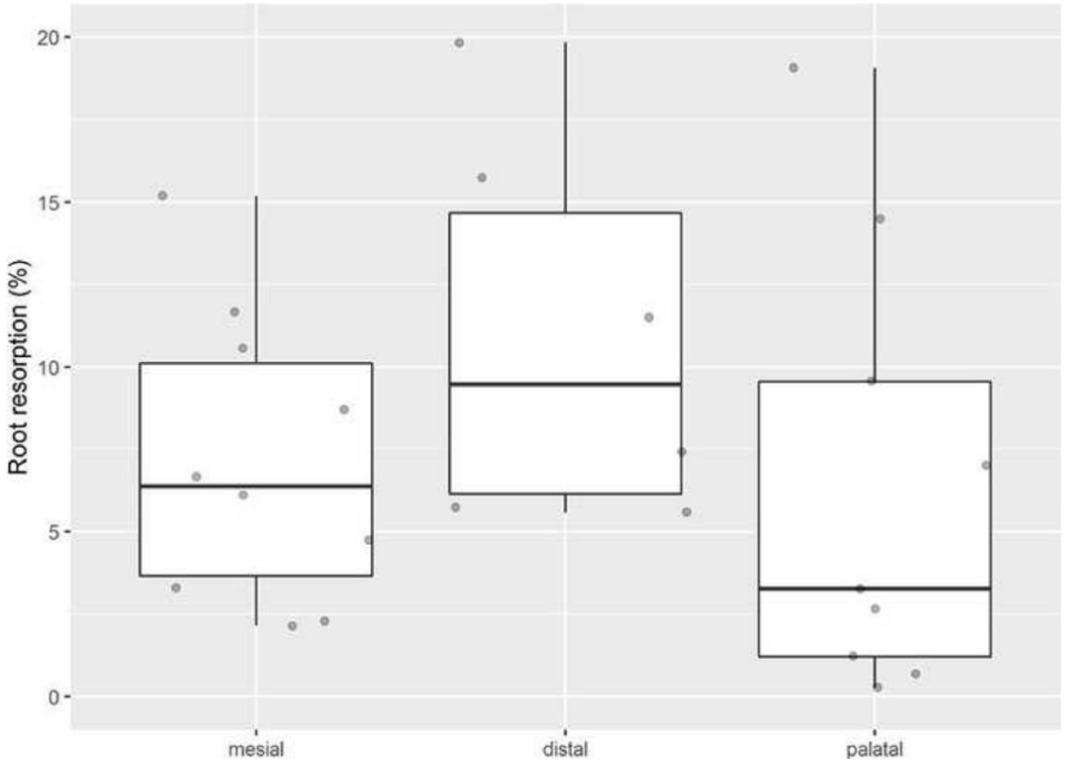

Fig. 6 Effect of tooth movement on tooth root resorption (%). The graph shows the relative volumetric differences for each root in relation to the non-treated reference site

second molar would enable only linear distance measurements in the interproximal area. To what extent second molars remain stationary while the first molar is protracted remains to be investigated.

In the present study, measurements of RR revealed that all roots were affected by volume loss (Fig. 6). Whereas the highest amount (mm^3) of hard tissue loss occurred at the mesial, the greatest relative volume loss was observed at the distal root. Even though association of RR and the tooth movement has been postulated [41], no significant association was found in the present study. This is in line with a recent systematic review on clinical trials, which also failed to reveal association of RR and tooth movement. [42].

Some limitations are associated with the present investigation. In the method part, only few animals were used. Assessing OTM by means of the opposite hemi-maxilla requires symmetry, which may not always be perfect. Longitudinal in vivo μCT would overcome this limitation. Since scanning time has to be shorter for living animals scanned with an in vivo μCT, the images would be more affected by metal artifacts from the nickel titanium spring.

In the future, automatic tooth segmentation using artificial intelligence (AI) might become a fast and accurate alternative. At the time being and according to the knowledge of the authors, recent reports mainly focused on the detection (using bounding boxes) or automatic segmentation of teeth on 2D-panoramic x-rays. [43, 44] For volumetric data, very few reports exist as they require reliable 3D training data. It has to be noted that creation of training data including accurate 3D-segmentation of a huge number of data sets can be extremely time consuming. [45] Therefore, the present approach may also be used for efficient creation of training data for AI based segmentation using convolutional neural networks in future studies.

Conclusions

The present study demonstrated that the Watershed Algorithm is applicable for tooth root segmentation in μCT images. Comparable root volumes and shapes were

found between contralateral teeth, suggesting that estimating root resorption in split-mouth studies is eligible. Application to an animal experiment analyzing molar protraction revealed that the contralateral site may also serve as reference to compute OTM in end-point analyses.

Acknowledgements
The authors acknowledge the kind help of Prof. Martin Sager (Director of the central institution for animal research and scientific research protection tasks, University of Dusseldorf) who provided the murine skulls for the methodological part of this study. The authors thank the group of Martha Somerman (NIH) for supporting the study.

Authors' contributions
Viktoria Trelenberg-Stoll: Data-analysis, image processing, manuscript drafting. Dieter Drescher: Critical revision of the manuscript. Michael Wolf: Performed the animal experiment, conceptualization and design of the study, drafting and critical revision of the manuscript. Kathrin Becker: Data analysis, image processing, conceptualization and design of the study, statistical analysis, drafting and critical revision of the manuscript. The authors read and approved the final manuscript.

Funding
Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. This work was supported by a grant from the Interdisciplinary Centre for Clinical Research within the faculty of Medicine at the RWTH Aachen University (OC1-2) and the German orthodontic society.

Availability of data and materials
Due to the size, the Micro CT- Scans will be available upon request to the authors. All other data is included in the publication.

Ethics approval and consent to participate
No consent to participate was required since no human were included. The animal experiments were conducted in accordance with the appropriate animal care committees and laws (Landesamt für Natur- und Verbraucherschutz NRW/ Central institution for animal research and scientific research protection tasks, University hospital of Düsseldorf, Germany; National Institute of Athritis and Musculoskeletal and Ski Diseases (NIAMS) Animal Care and Use Committee, reference number: A016–12-09).

Consent for publication
Consent for publication was retrieved from all authors.

Competing interests
All authors declare that they have no conflict of interest related to the study.

Author details
[1]Department of Oral Surgery, Universitätsklinikum Düsseldorf, Düsseldorf, Germany. [2]Department of Orthodontics, Universitätsklinikum Düsseldorf, Düsseldorf, Germany. [3]Department of Orthodontics, Universitätsklinikum RWTH Aachen, Aachen, Germany. [4]Department of Oral Surgery and Implantology, Goethe University, Frankfurt am Main, Germany.

Received: 23 April 2020 Accepted: 21 December 2020
Published online: 03 February 2021

References

1. Weltman B, Vig KWL, Fields HW, Shanker S, Kaizar EE. Root resorption associated with orthodontic tooth movement: a systematic review. Am J Orthod Dentofac Orthop. 2010;137(4):462–76.
2. Killiany DM. Root Resorption caused by orthodontic treatment: an evidence-based review of literature. 1999.
3. Mehta SA, Deshmukh SV, Sable RB, Patil AS. Comparison of 4 and 6 weeks of rest period for repair of root resorption. Progress Orthodontics. 2017;(1):18.
4. Cuoghi OA, Aiello CA, Consolaro A, Tondelli PM. Mendonça MRd. Resorption of roots of different dimension induced by different types of forces. Braz Oral Res. 2014;28:1–7.
5. Lu LH, Lee K, Imoto S, Kyomen S, Tanne K. Histological and histochemical quantification of root resorption incident to the application of intrusive force to rat molars. Eur J Orthod. 1999;21(1):57–63.
6. Kurol J, Owman-Moll P, Lundgren D. Time-related root resorption after application. Am J Orthod Dentofac Orthop. 1996;110:303–10.
7. Becker K, Stauber M, Schwarz F, Beissbarth T. Automated 3D-2D registration of X-ray microcomputed tomography with histological sections for dental implants in bone using chamfer matching and simulated annealing. Comput Med Imaging Graph. 2015;44:62–8.
8. Ajmera S, Shivanand V, Ganeshkar SV. Volumetric evaluation of root resorption during orthodontic treatment. J Clin Orthod. 2014;48(2):113–9.
9. Chan EKM, Darendeliler MA. Exploring the third dimension in root resorption. Orthod Craniofacial Res. 2004;7(2):64–70.
10. Wu ATJ, Turk T, Colak C, Elekdağ-Turk S, Jones AS, Petocz P, et al. Physical properties of root cementum: part 18. The extent of root resorption after the application of light and heavy controlled rotational orthodontic forces for 4 weeks: a microcomputed tomography study. Am J Orthod Dentofac Orthop. 2011;139(5):e495–503.
11. Paetyangkul A, Türk T, Elekdağ-Türk S, Jones AS, Petocz P, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 14. The amount of root resorption after force application for 12 weeks on maxillary and mandibular premolars: A microcomputed-tomography study. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2009;136(4):492.e1-.e9.
12. Ballard DJ, Jones AS, Petocz P, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 11. Continuous vs intermittent controlled orthodontic forces on root resorption. A microcomputed-tomography study. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2009;136(1):8.e1–8.e.
13. Crowther L, Shen G, Almuzian M, Jones A, Walsh W, Oliver R, et al. Does systemic administration of casein phosphopeptides affect orthodontic movement and root resorption in rats? Eur J Orthod. 2017;39(5):541–6.
14. Sawicka M, Bedini R, Pecci R, Parneijer CH, Kmiec Z. The application of X-ray microtomography for the assessement of root resorption caused by the orthodontic treatment of premolars. Ann Ist Super Sanità. 2012;48(1):71–4.
15. Lu C, Chen L, Hua Y. Cystathionine gamma lyase aggravates orthodontic root resorption in mice. Ann Transl Med. 2019;7(23):787.
16. Sharma N, Aggarwal LM. Automated medical image segmentation techniques. J Med Phys. 2010;35(1):3–14.
17. Friedrichsdorf SP, Chavez VEA, Bradaschia-Correa V, Cattaneo PM, Dominguez GC. Infrared light-emitting diode (LED) effects on orthodontic tooth movement. Braz Dent J. 2019;30(4):410–6.
18. Holland R, Bain C, Utreja A. Osteoblast differentiation during orthodontic tooth movement. Orthod Craniofac Res. 2019;22(3):177–82.
19. Kraiwattanapong K, Samruajbenjakun B. Effects of different force magnitudes on corticotomy-assisted orthodontic tooth movement in rats. Angle Orthodontist. 2018;88(5):632–7.
20. Wang C, Cao L, Yang C, Fan Y. A novel method to quantify longitudinal orthodontic bone changes with in vivo micro-CT data. J Healthc Eng. 2018; 2018:1651097.
21. Djomehri SI, Candell S, Case T, Browning A, Marshall GW, Yun W, et al. Mineral density volume gradients in normal and diseased human tissues. PLoS One. 2015;10(4):e0121611-e.
22. Sepehrian M, Deylami AM, Zoroofi RA, editors. Individual teeth segmentation in CBCT and MSCT dental images using watershed. 2013.
23. Naumovich SS, Naumovich SA, Goncharenko VG. Three-dimensional reconstruction of teeth and jaws based on segmentation of CT images using watershed transformation. Dentomaxillofac Radiol 2015;44(4): 20140313. https://doi.org/10.1259/dmfr.20140313.
24. Wolf M, Ao M, Chavez MB, Kolli TN, Thumbigere-Math V, Becker K, et al. Reduced orthodontic tooth movement in Enpp1 mutant mice with Hypercementosis. J Dent Res. 2018;97(8):937–45.
25. Team RC. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018.
26. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro–computed tomography. J Bone Miner Res. 2010;25(7):1468–86.
27. Wang Y, He S, Yu L, Li J, Chen S. Accuracy of volumetric measurement of teeth in vivo based on cone beam computer tomography. Orthod Craniofacial Res. 2011;14(4):206–12.
28. Xia Z, Gan Y, Chang L, Xiong J, Zhao Q. Individual tooth segmentation from CT images scanned with contacts of maxillary and mandible teeth. Comput Methods Prog Biomed. 2017;138:1–12.

29. Li W, Chen F, Zhang F, Ding W, Ye Q, Shi J, et al. Volumetric Measurement of Root Resorption following Molar Mini-Screw Implant Intrusion Using Cone Beam Computed Tomography. PLoS One. 2013;8(4):e60962-e.
30. Sang Y-H, Hu H-C, Lu S-H, Wu Y-W, Li W-R, Tang Z-H. Accuracy Assessment of Three-dimensional Surface Reconstructions of In vivo Teeth from Cone-beam Computed Tomography. Chin Med J. 2016;129(12):1464.
31. Cambridge Dictionary. Meaning of automated in English 2020 [Available from: https://dictionary.cambridge.org/dictionary/english/automated.
32. Iglesias-Linares A, Yanez-Vico RM, Moreno-Fernandez AM, Mendoza-Mendoza A, Solano-Reina E. Corticotomy-assisted orthodontic enhancement by bone morphogenetic protein-2 administration. J Oral Maxillofac Surg. 2012;70(2):e124–32.
33. Kraiwattanapong K, Samruajbenjakun B. Tissue response resulting from different force magnitudes combined with corticotomy in rats. Angle Orthod. 2019;89(5):797–803.
34. Gudhimella S, Ibrahim AY, Karanth D, Kluemper AM, Westgate PM, Puleo DA, et al. A rodent model using skeletal anchorage and low forces for orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofac Orthop. 2019;155(2):254–63.
35. Chan E, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: part 5. Volumetric analysis of root resorption craters after application of light and heavy orthodontic forces. Am J Orthod Dentofac Orthop. 2005;127(2):186–95.
36. Ho C, Tüurk T, Elekdaüğ-Türk S, Jones AS, Petocz P, Cheng LL, et al. Erratum: Physical properties of root cementum: Part 19. Comparison of the amounts of root resorption between the right and left first premolars after application of buccally directed heavy orthodontictipping forces (American Journal of Orthodontics and De. 2011. p. 602-.
37. Chan E, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: part 7. Extent of root resorption under areas of compression and tension. Am J Orthod Dentofac Orthop. 2006;129(4):504–10.
38. Owman-Moli P, Kurol J, Lundgren D. Effects of a doubled orthodontic force magnitude on tooth movement and root resorptions. An inter-individual study in adolescents. Eur J Orthod. 1996;18:141–50.
39. Barbagallo LJ, Jones AS, Petocz P, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: part 10. Comparison of the effects of invisible removable thermoplastic appliances with light and heavy orthodontic forces on premolar cementum. A microcomputed-tomography study. Am J Orthod Dentofac Orthop. 2008;133(2):218–27.
40. Baysal A, Karadede I, Hekimoglu S, Ucar F, Ozer T, Veli İ, et al. Evaluation of root resorption following rapid maxillary expansion using cone-beam computed tomography. Angle Orthod. 2012;82(3):488–94.
41. Weltman B, Vig KW, Fields HW, Shanker S, Kaizar EE. Root resorption associated with orthodontic tooth movement: a systematic review. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2010;137(4):462–476; discussion 12A.
42. Sivarajan S, Ringgingon LP, Fayed MMS, Wey MC. The effect of micro-osteoperforations on the rate of orthodontic tooth movement: a systematic review and meta-analysis. Am J Orthod Dentofac Orthop. 2020;157(3):290–304.
43. Leite AF, Gerven AV, Willems H, Beznik T, Lahoud P, Gaêta-Araujo H, et al. Artificial intelligence-driven novel tool for tooth detection and segmentation on panoramic radiographs. Clinical Oral Investigations. 2020.
44. Chen H, Zhang K, Lyu P, Li H, Zhang L, Wu J, et al. A deep learning approach to automatic teeth detection and numbering based on object detection in dental periapical films. Sci Rep. 2019;9(1):3840.
45. Minnema J, van Eijnatten M, Hendriksen AA, Liberton N, Pelt DM, Batenburg KJ, et al. Segmentation of dental cone-beam CT scans affected by metal artifacts using a mixed-scale dense convolutional neural network. Med Phys. 2019;46(11):5027–35.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions

J Orofac Orthop
https://doi.org/10.1007/s00056-021-00336-9

ORIGINAL ARTICLE

Standardized assessment of bone micromorphometry around teeth following orthodontic tooth movement

A µCT split-mouth study in mice

Viktoria Trelenberg-Stoll[1] · Michael Wolf[2] · Caroline Busch[1] · Dieter Drescher[3] · Kathrin Becker[3]

Received: 11 November 2020 / Accepted: 25 May 2021
© The Author(s) 2021

Abstract

Purpose Volumetric quantitative analyses of bone micromorphometry changes following orthodontic tooth movements are hardly standardizable. The present study aimed at validating and applying a novel microcomputed tomography (CT)-based approach that enables the segmentation of teeth and definition of a standardized volume of interest (VOI) around the roots to assess local bone micromorphometry.

Methods The jaws of 3 untreated and 14 orthodontically treated mice (protraction of the upper right molar for 11 days with 0.5N; untreated left upper molar) were scanned with a micro-CT. The first molars and the alveolar bone were segmented, and a standardized VOI was defined around the teeth. The bone volume per total volume (BV/TV) was assessed within the VOI, and BV/TV values were compared between contralateral sites in both untreated (method validation) and treated animals (method application).

Results The intraclass correlation coefficient of 0.99 revealed high reliability of the method. In the untreated animals, Bland–Altman analysis confirmed comparable BV/TV fractions (mean difference: –1.93, critical difference: 1.91, Wilcoxon: $p = 0.03$). In the orthodontically treated animals, BV/TV values were significantly lower at the test compared to the control site (test: 33.23% ± 5.74%, control: 41.33% ± 4.91%, Wilcoxon: $p < 0.001$).

Conclusion Within the limits of the study, the novel approach demonstrated the applicability to evaluate bone micromorphometry around teeth subjected to orthodontic treatment.

Keywords Watershed algorithm · Periodontal bone analysis · Microcomputed tomography · Tooth protraction · Volumetric analysis

The authors Viktoria Trelenberg-Stoll and Michael Wolf contributed equally to the manuscript.
Availability of data and material: The micro-CT scans can be provided on request.

✉ PD Dr. Kathrin Becker
kathrin.becker@med.uni-duesseldorf.de

[1] Department of Oral Surgery, Universitätsklinikum Düsseldorf, Düsseldorf, Germany
[2] Department of Orthodontics, Universitätsklinikum RWTH Aachen, Aachen, Germany
[3] Department of Orthodontics, Universitätsklinikum Düsseldorf, 40225 Düsseldorf, Germany

Published online: 03 August 2021

Standardisierte Bewertung der peri-dentalen Knochenmikrostruktur um Molaren nach kieferorthopädischer Zahnbewegung

Eine µCT-Split-mouth-Studie an Mäusen

Zusammenfassung

Hintergrund Volumetrische quantitative Analysen von Veränderungen der Knochenmikrostruktur nach kieferorthopädischen Zahnbewegungen sind schwer standardisierbar. Ziel der vorliegenden Studie war die Validierung und Anwendung eines neuartigen mikro-computertomographie(µ-CT)-basierten Ansatzes, der die Segmentierung von Zähnen und die Definition eines standardisierten „volume of interest" (VOI) um die Wurzeln herum ermöglicht, um die lokale Knochenmikrostruktur zu beurteilen.

Methoden Die Kiefer von 3 unbehandelten und 14 kieferorthopädisch behandelten Mäusen (Protraktion des oberen rechten Molaren für 11 Tage mit 0,5N; unbehandelter linker oberer Molar) wurden mit einem Mikro-CT gescannt. Die ersten Molaren und der Alveolarknochen wurden segmentiert und ein standardisiertes VOI um die Zähne definiert. Das Knochenvolumen pro Gesamtvolumen (BV/TV) wurde innerhalb des VOIs bestimmt. Die BV/TV-Werte wurden zwischen den kontralateralen Seiten sowohl bei unbehandelten (Methodenvalidierung) als auch bei kieferorthopädisch behandelten Tieren (Methodenanwendung) verglichen.

Ergebnisse Der Intraklassenkorrelationskoeffizient von 0,99 zeigte eine hohe Reliabilität der Methode. Bei den unbehandelten Tieren bestätigte die Bland-Altman-Analyse vergleichbare BV/TV-Werte (mittlere Differenz: –1,93, kritische Differenz: 1,91, Wilcoxon-Test: $p = 0{,}03$). Bei den kieferorthopädisch behandelten Tieren waren die BV/TV-Werte in der Test- im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant niedriger (Test: 33,23 % ± 5,74 %, Kontrolle: 41,33 % ± 4,91 %, Wilcoxon-Test: $p < 0{,}001$).

Schlussfolgerung Im Rahmen der Studie zeigte der neuartige Ansatz die Anwendbarkeit zur Bewertung der Knochenmikrostruktur um Zahnwurzeln von Molaren, die einer kieferorthopädischen Behandlung unterzogen wurden.

Schlüsselwörter Wasserscheidentransformation · Parodontale Knochenanalyse · Mikro-Computertomographie · Zahnbewegung · Volumetrische Analyse

Introduction

Bone regeneration around teeth is a consequence of complex bone remodeling which involves a balance of resorption of mineralized bone and formation of new bone matrix [1–3]. Evaluation and quantification of bone micromorphometry around teeth can be of interest in the orthodontic field, but also to assess bone regeneration at periodontally compromised teeth [4]. For this purpose, histological examinations were frequently employed [5–9]. Major drawbacks of histological approaches, however, are the limitation to two dimensions and information loss during undecalcified sectioning. In addition, bone microstructure may largely vary with respect to the cutting position. Eventually, most histological analyses are limited to end-point analyses [10–12].

In contrast, microcomputed tomography (micro-CT) is a nondestructive alternative overcoming the above-mentioned limitations. It provides high-resolution volumetric images and enables three-dimensional (3D) analyses of bone microstructural properties [13–15]. For small animals, the dynamics of bone remodeling can be studied even longitudinally by means of in vivo micro-CT. If only end-point analyses are possible, corresponding contralateral sites can be compared instead [16, 17].

To perform 3D quantitative and qualitative analyses of hard tissue around teeth, segmentation of the alveolar bone and definition of standardized volumes of interest (VOIs) is mandatory. This step can be challenging when histograms from bone, cement and dentin overlap [18]. Therefore, the majority of previous micro-CT studies performed linear measurements in two-dimensional (2D) slices around teeth or defined a rectangular VOIs between tooth roots to analyze the alveolar bone microstructural properties [19, 20]. To the best knowledge of the authors, no methods have been reported for standardized automated analyses of the alveolar bone around teeth/periodontal ligament space.

The marker-based Watershed algorithm (WS) has been described in the literature as a tool to segment tissues with overlapping histograms in volumetric radiographic images [21, 22]. After placement of different markers at each anatomical structure, they will be enlarged until reaching the closest edge. Eventually, a labeled image is created that can be used for standardized definitions of VOIs and microstructural analyses.

Therefore, the present study aimed at presenting and validating a novel WS-based method for automated and standardized assessment of bone micromorphometry around tooth roots following orthodontic tooth movement in split-mouth preclinical animal studies.

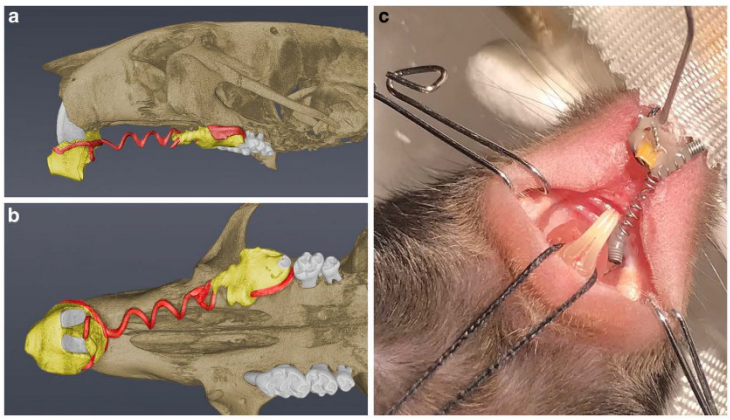

Fig. 1 Volumetric rendering of a microcomputed tomography (CT) scan showing the orthodontic appliance from sagittal (**a**) and occlusal (**b**) view. The activated nickel–titanium coil spring (force: 0.5 N) is *red*; the composite is *yellow*. **c** Clinical photograph showing the installation of the orthodontic appliance between the left incisor and upper left first molar

Abb. 1 Die volumetrische Darstellung eines Mikrocomputertomographie(µ-CT)-Scans zeigt die kieferorthopädische Apparatur aus sagittaler (**a**) und okklusaler (**b**) Ansicht. Die aktivierte Nickel-Titan-Feder (Kraft: 0,5 N) ist *rot* eingefärbt, das Komposit *gelb*. **c** Das klinische Foto veranschaulicht die Insertion der kieferorthopädischen Apparatur zwischen dem linken Schneidezahn und dem oberen linken ersten Molaren

Materials and methods

Animals

For method validation (Method part), 3 female mice (BALB/c strain, age 5.2–5.6 months) that did not retrieve any orthodontic treatment were included. For method application (Application part), assessment of the bone volume fraction (BV/TV) was carried out in 14 mice (11 animals: *Enpp1*$^{asj-2J}$ (BALB/cJ-*Enpp1*$^{asj-2J}$/GrsrJ) deficient, 3 animals: littermate wild type; 9 females, 5 males). In these animals, a stretched 0.012-inch nickel–titanium closed coil spring (force: 0.5 N) was attached between the left upper first molar and the incisors for 11 days (Fig. 1). According to the previously published protocols [20, 23], the animals had an age of 60 days when orthodontic treatment was initiated. A 2D analysis of micro-CT scans (distance measurement between protracted molar and second molar, vertical bone loss, periodontal ligament space width), immunohistochemistry and histological findings have been reported previously for the same animals (and additional animals not included in the present study due to lacking micro-CT scans) [20]. All experiments were conducted in accordance with the appropriate animal care committees and law (Central institution for animal research and scientific research protection tasks, University hospital of Düsseldorf, Germany. National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Ski Diseases [NIAMS] Animal Care and Use Committee, reference number: A016-12-09).

Microcomputed tomographic analysis

Method part After sacrificing the animals, the skulls were harvested and the jaws were scanned with a micro-CT (Viva CT 80; Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland) operated at 70 kVp, 114 µA, 8 W, 31.9 mm FOV, 1500 projections, and an integration time of 500 ms. The data sets were reconstructed into three-dimensional (3D) volumes with an isotropic nominal resolution of 10.4 µm voxel size.

Application part The samples were scanned with a micro-CT 50 (Micro-CT 50; Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland) operated at 70 kVp, 76 µA, 300–900 ms integration time and 9–10 µm voxel size.

Image processing

Image processing was performed using Amira software (v6.5, FEI Visualization Science Group, Burlington, MA, USA) by a trained investigator (V. T.-S.) and validated by another author (C. B.). All steps for the Method part, which are described below, were performed in triplicate for validation purposes.

Bone and tooth segmentation

Method part All first molars and the surrounding bone were segmented using a marker-based Watershed algorithm (WS). In detail, a median filter ($n = 3$ iterations) was applied,

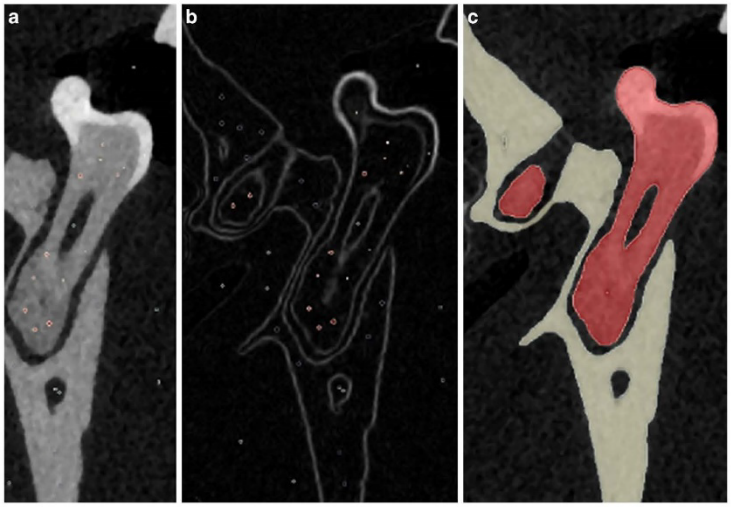

Fig. 2 The three steps of the marker-based Watershed segmentation procedure are shown. Manually placed seed points label each tissue that is going to be segmented. The algorithm enlarges each label until it touches the edges of the respective material. **a** Placement of the seed points (materials: teeth, air, and bone). **b** Application of an edge filter (i.e., creation of the gradient image), seed points still have their initial size. **c** Growing of the seed points to the boundaries of the gradient image. The seed points now label the respective materials. Color convention: Bone (*beige*), tooth (*red*), air (*black*)

Abb. 2 Die 3 Schritte des markerbasierten Wasserscheidentransformationssegmentierungsverfahrens. Manuell platzierte Marker definieren jedes zu segmentierende Gewebe. Der Algorithmus vergrößert jede Markierung, bis sie die Kanten des jeweiligen Materials berührt. **a** Platzierung der Marker (Materialien: Zähne, Luft und Knochen). **b** Anwendung eines Kantenfilters (zur Erstellung des Gradientenbildes), die Marker haben noch ihre Anfangsgröße. **c** Wachsen der Marker an die Grenzen des Gradientenbildes. Die Marker kennzeichnen nun die jeweiligen Materialien. Farbkonvention: Knochen (*beige*), Zahn (*rot*), Luft (*schwarz*)

and a gradient image was computed using the Sobel operator for edge detection. Then, the following classification labels were defined per jaw and quadrant: first molar, bone, and air. For each label, seed points were located manually by marking voxels belonging to the respective tissue. The seed points were subject to automated growing towards the edges of the gradient image (Fig. 2).

Application part The described WS method was used to segment the first upper molars, the adjacent bone, and the background (air).

Alignment of bone and molars to the axes of the coordinate system

Method part Each segmented molar was aligned such that the normal vector of the plane containing the cementoenamel junction (CEJ) coincided with the z-axis from the Euclidean coordinate system. For this purpose, three coordinate vectors from the CEJ plane were selected manually and aligned to the xy-plane by means of a principal component analysis which was performed in Matlab (Matlab R2015a 64-bit, The Mathworks Inc., MA, USA). After aligning the segmented molar, the calculated translation and rotation coordinates were transferred to the segmented bone tissue.

Application part In the application part, the alignment was applied to the upper molars and the alveolar bone only.

Separating the molar roots

Method part After alignment of the CEJ of each upper and lower first molar to the xy-plane of the coordinate system, roots were separated from the teeth by cropping them at 30 voxels apical to the CEJ (Fig. 3a).

Applaction part After alignment of the CEJ from each upper first molar to the xy-plane of the coordinate system, roots were separated from the teeth by cropping them at 30 voxels apical to the CEJ.

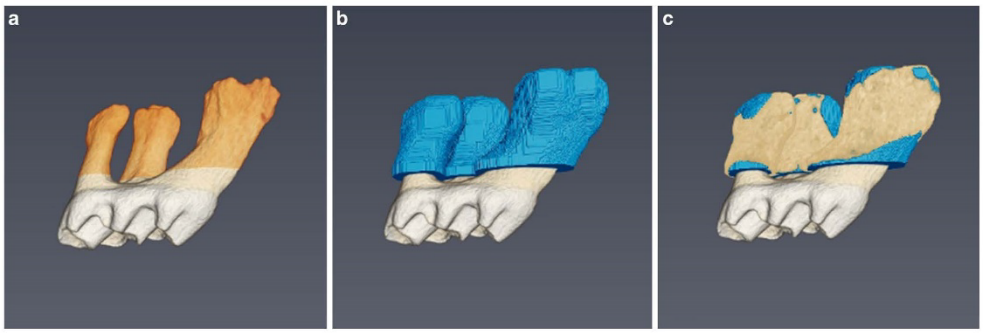

Fig. 3 Definition of a standardized volume of interest (VOI) around the tooth roots for calculation of the bone fraction (BV/TV) values. **a** Definition of the height of the VOI (*orange*). **b** Definition of the width (color: *blue*, distance of 100 µm). **c** Visualization of the entire volume of interest (VOI) showing also the fraction of periodontal bone. Color convention: Periodontal bone (*beige*), nondecalcified space of VOI (*blue*)
Abb. 3 Definition eines standardisierten „volume of interest" (VOI) um die Zahnwurzeln zur Berechnung der Knochenfraktion (BV/TV). **a** Veranschaulichung der VOI-Höhe (*orange*). **b** Veranschaulichung der Breite (Farbe: *blau*, Abstand von 100 µm). **c** Visualisierung des gesamten VOI einschließlich des parodontalen Knochenanteils. Farbkonvention: parodontaler Knochen (*beige*), nichtentkalkter Bereich des VOI (*blau*)

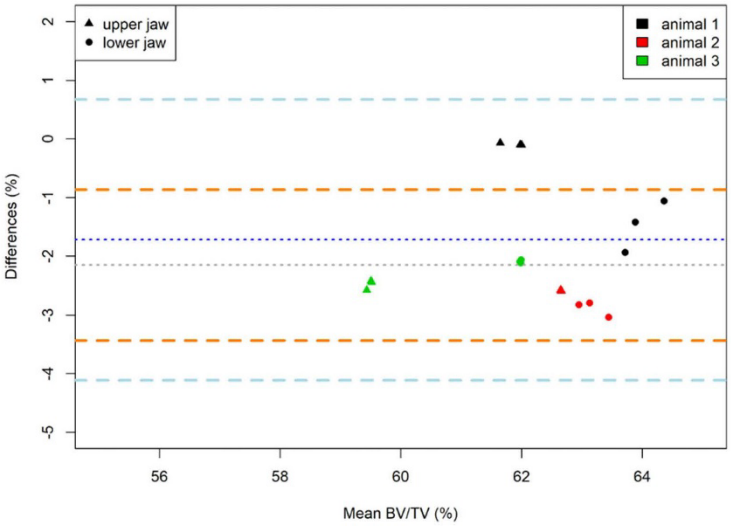

Fig. 4 Bland–Altman plots showing the BV/TV values from repeated measurements in the upper and lower jaw as well as the right and left side in the untreated animals (Method part). The difference of repeated measurements in the upper jaw were low and amounted to –1.72%, agreement limits: 0.68% and –4.11% (upper jaw) and –2.15%, agreement limits –0.86% and –3.43% (lower jaw)
Abb. 4 Der Bland-Altman-Plot zeigt die BV/TV-Werte aus wiederholten Messungen im Ober- und Unterkiefer sowie der rechten und linken Seite bei den unbehandelten Tieren (Methodenteil). Die Differenz der Wiederholungsmessungen im Oberkiefer war mit –1,72% gering, Übereinstimmungsgrenzen: 0,68% und –4,11% (Oberkiefer), im Vergleich zum Unterkiefer –2,15%, Übereinstimmungsgrenzen –0,86% und –3,43% (Unterkiefer)

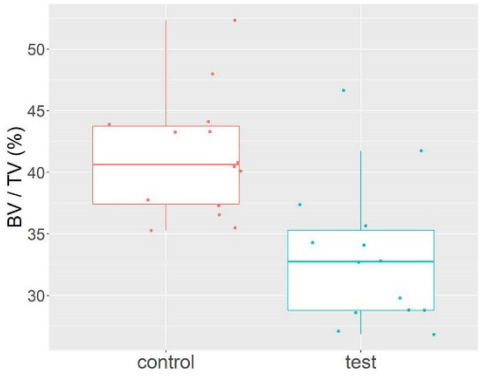

Fig. 5 Boxplot showing the differences in BV/TV values between the control (*left*) and the orthodontically treated test side (*right*). BV/TV values were significantly lower after 11 days of molar protraction (BV/TV: $p = 0.001$, test: 33.23 ± 5.74%, control 41.33 ± 4.91%)
Abb. 5 Der Boxplot stellt die BV/TV-Wert-Unterschiede der Kontrolle (*links*) und der kieferorthopädisch behandelten Testgruppe (*rechts*) dar. Die BV/TV-Werte waren nach 11 Tagen Molarenprotraktion signifikant niedriger (BV/TV: $p = 0{,}001$, Test: 33,23 ± 5,74%, Kontrolle 41,33 ± 4,91%)

Bone volumes

Method part and application part After separation of the molar roots, standardized VOIs were created as follows: All "holes" (corresponding to the root canals) were filled virtually, and a dilation filter was applied to increase the size of the roots by 100 µm. The originally sized roots were then subtracted from the enlarged ones to retrieve the standardized VOI (Fig. 3b). To assess the bone volume per tissue volume (BV/TV) within VOI, the amount of calcified within VOI was quantified (Fig. 3c).

Statistical analysis

The statistical analysis was performed using the software program R [24].

Method part Reliability of the segmentation procedures was analyzed by computing the respective intraclass correlation coefficients (ICC). For descriptive purposes, the means and standard deviations were computed. To assess agreement among repeated measurements, Bland–Altman analyses were employed [25]. Contralateral BV/TV values were compared using the Wilcoxon signed rank test. Results were considered significant at $p < 0.05$.

Application part For descriptive purposes, the means and standard deviations as well as boxplots were created. The Wilcoxon signed rank test was used to assess differences in BV/TV values between the test and control sites. Results were considered significant at $p < 0.05$.

Results

Method part

The presented approach allowed to segment teeth and bone tissue, and to define standardized volumes of interest (VOI) around teeth for micromorphometrical analyses of alveolar bone.

Reliability of the method

Repetition of all procedures (image segmentation, definition of the VOI, calculation of BV/TV values) in triplicate confirmed the high reliability of the method. The respective intraclass correlation coefficient (ICC) was 0.99.

Comparability of left and right periodontal bone volumes

The overall BV/TV values amounted to 62.19% ± 1.80%. In the upper jaw, slightly lower values were identified (61.41% ± 1.73%) compared to the lower jaw (63.05% ± 1.44%).

Bland–Altman analyses confirmed high comparability of BV/TV around the left and right upper (mean difference 1.72%), and lower molars (mean difference: 2.15%) (Fig. 4). This finding is in line with the Wilcoxon signed rank test which did not reveal any significant difference in BV/TV values between the contralateral sites (upper jaw: $p = 0.25$; lower jaw: $p = 0.25$).

Application part

The overall BV/TV values at the protracted upper right molars amounted to 33.23% ± 5.74%, whereas significantly higher values were identified at the untreated left side, i.e., 41.33% ± 4.91% ($p = 0.001$; Fig. 5). Qualitative visual examination also revealed a more pronounced loss of calcified tissue around the mesial root, whereas minor differences were observed around the remaining two roots (Fig. 6).

Discussion

Microstructural analyses of bone in conventional histology are limited to two dimensions and crucially depend on the selected cutting position. Whereas histology provides valuable information on the cell level, micro-CT has been reported to be an accurate and complementary technique to assess bone remodeling in all three dimensions [11, 13].

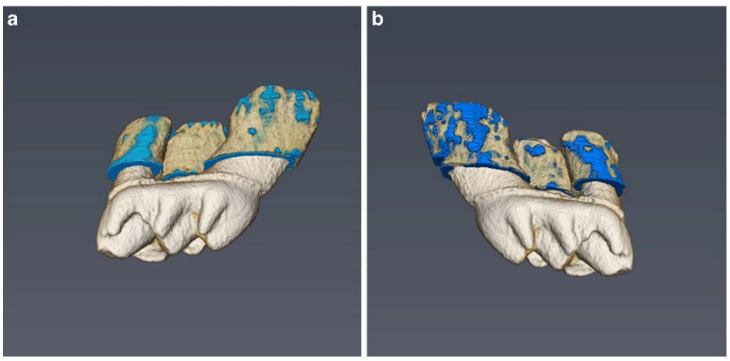

Fig. 6 Visualization of an unaffected (**a**) and orthodontically protracted (**b**) molar with its surrounding periodontal bone tissue. Lower amounts of calcified tissue can be seen around the mesial root of the protracted molar

Abb. 6 Darstellung eines unbewegten (**a**) und eines kieferorthopädisch protrahierten (**b**) Molaren mit dem umgebenden parodontalen Knochengewebe. Um die mesiale Wurzel des protrahierten Molaren sind geringere Mengen an kalzifiziertem Gewebe zu erkennen

In case of overlapping histograms from bone and teeth, bone segmentation can be challenging and may require advanced methodologies. To allow quantitative comparisons, standardized definition of a volume of interest (VOI) is required. In previous studies, linear 2D measurements and cubic VOIs have been frequently applied. However, no automated and standardized approaches have been reported for reliable segmentation and definition of standardized VOIs around tooth roots. Therefore, the present study aimed at presenting and validating a method for automated and standardized assessment of bone micromorphometry around tooth roots, and to apply the novel method to micro-CT scans from a preclinical animal study performing orthodontic tooth protraction in mice. The respective 2D measurements have been published previously [20].

The intraclass correlation coefficient amounted to 0.99 and confirmed the high reliability of the novel approach.

When comparing BV/TV values between contralateral sites in the untreated animals (Method part), Bland–Altman analyses revealed negligible differences of 1.72% in the upper, and of 2.15% in the lower jaw. Nevertheless, it has to be noted that BV/TV values were slightly more heterogeneous in the lower jaw. The differences between animals were greater than differences between contralateral sites and amounted to 3.17% ± 1.23% in the upper jaw and 2.00% ± 0.71% in the lower jaw.

Application of the novel method (Application part) revealed significantly lower BV/TV values at protracted molars compared to the contralateral control sites, probably resulting from bone resorption in the pressure zones, and less mineralized newly formed bone at the tension zones.

Undecalcified regions were mostly found in proximity to the tooth root and decreased towards the borders of the 100 µm VOI, suggesting that bone resorption was highest in close proximity to the roots but still present in the selected region. In addition, bone resorption was highest at the mesial roots which is in line with a recent 3D analysis showing that intrusion and mesial–palatal tipping was the most common movement of the protracted teeth [26].

Nonetheless, definition of a reliable VOI is challenging. It has to be large enough to be representative, whereas on the other hand, it must not exceed the jawbone. Furthermore, it should be limited to the areas in which bone remodeling occurs. In the present study, a diameter of 100 µm was found to be optimal, as this was the maximum possible size giving the boundaries of the jawbone. The Application part confirmed that bone remodeling occurred in the VOIs, which demonstrated that the analyzed regions were not too small.

When comparing the present findings with the previously published data, it has to be noted that no significant differences in vertical bone loss could be found in the previously published 2D measurements [20]. In contrast, the present analysis revealed a significant decrease of BV/TV at the test site. In addition, it revealed that bone loss was most pronounced at the mesial root and decreased towards periphery. Hence, we believe that this novel approach is a valuable tool to better understand volumetric changes in bone micromorphology following orthodontic tooth movements.

Limitations of the present investigation include the lack of longitudinal data; thus, different animals were used for method validation, and the comparison of the test and control sites after 11 days of molar protraction. Furthermore, the study design did not allow differentiation of whether the minor BV/TV differences between animals from the Method part resulted from differences in genetic background, age, or were related to the orthodontic appliance which might have impaired food intake. In addition, analyses were limited to assessment of BV/TV values. Additional parameters such as trabecular thickness, bone mineral density, bone surface area or trabecular spacing

may be calculated in future studies utilizing the presented approach to understand the impact of genetic disorders, metabolic diseases or drug intake on bone remodeling during orthodontic treatments.

Conclusion

Within its limitations, the present study provides a novel approach to assess bone micromorphometry in micro-CT scans within a standardized volume of interest around murine teeth. It confirmed high agreement of BV/TV values between contralateral sites in untreated animals. Application of the method to animals subjected to orthodontic tooth protraction confirmed significant reduction of mineral content at the test site which was most pronounced at the mesial root.

Funding The animal experiment received funding by the German Orthodontic Association (DGKFO) and Medical Faculty University of Bonn, Germany, by the IKZF unit of the RWTH Aachen medical faculty (#OC1-2) as well as grants AR 066110 and AR 069643 from the National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases (NIAMS) and National Institutes of Health (NIH, Bethesda, MD).

Funding Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

Declarations

Conflict of interest V. Trelenberg-Stoll, M. Wolf, C. Busch, D. Drescher and K. Becker declare that they have no competing interests.

Ethical standards All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed. All experiments were conducted in accordance with the appropriate animal care committees and law (Central institution for animal research and scientific research protection tasks, University hospital of Düsseldorf, Germany. National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Ski Diseases (NIAMS) Animal Care and Use Committee, reference number: A016-12-09).

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

References

1. Bourne GH (1972) The biochemistry and physiology of bone: development and growth. Academic Press,
2. Krishnan V, Davidovitch Z (2006) Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. Amer J Orthodontics Dentofacial Orthopedics 129(4):469.e1–69.e32
3. Vignery A, Baron R (1980) Dynamic histomorphometry of alveolar bone remodeling in the adult rat. Anat Rec 196(2):191–200. https://doi.org/10.1002/ar.1091960210
4. Harvold EP (1985) Bone remodelling and orthodontics. Eur J Orthod 7(4):217–230
5. Wagner D et al (2018) Periodontal ligament histology for orthodontic bone remodeling: first quantification. J Cell Immunother 4(1):41–43
6. King GJ, Keeling SD, Wronski TJ (1991) Histomorphometric study of alveolar bone turnover in orthodontic tooth movement. Bone 12(6):401–409
7. Meikle MC (2006) The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. Eur J Orthod 28(3):221–240
8. Verna C, Zaffe D, Siciliani G (1999) Histomorphometric study of bone reactions during orthodontic tooth movement in rats. Bone 24(4):371–379
9. Milne TJ et al (2009) Induction of osteopenia during experimental tooth movement in the rat: alveolar bone remodelling and the mechanostat theory. Eur J Orthod 31(3):221–231
10. Becker K et al (2015) Automated 3D-2D registration of X-ray microcomputed tomography with histological sections for dental implants in bone using chamfer matching and simulated annealing. Comput Med Imaging Graph 44:62–68
11. Thomsen JS et al (2005) Stereological measures of trabecular bone structure: comparison of 3D micro computed tomography with 2D histological sections in human proximal tibial bone biopsies. J Microsc 218(Pt 2):171–179
12. Bernhardt R et al (2012) Comparison of bone-implant contact and bone-implant volume between 2D-histological sections and 3D-SRμCT slices. Eur Cell Mater 23:237–247 (discussion 247–8)
13. Müller R et al (1998) Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparison of histological sections and micro-computed tomography. Bone 23(1):59–66
14. Bouxsein ML et al (2010) Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. J Bone Miner Res 25(7):1468–1486
15. Faot F et al (2015) Micro-CT analysis of the rodent jaw bone microarchitecture: a systematic review. Bone Rep 2:14–24
16. Zhuang L, Bai Y, Meng X (2011) Three-dimensional morphology of root and alveolar trabecular bone during tooth movement using micro-computed tomography. Angle Orthod 81(3):420–425
17. Ru N et al (2012) In vivo microcomputed tomography evaluation of rat alveolar bone and root resorption during orthodontic tooth movement. Angle Orthod 83(3):402–409
18. Nakamura Y et al (2008) Time-lapse observation of rat periodontal ligament during function and tooth movement, using microcomputed tomography. Eur J Orthod 30(3):320–326
19. Vicente A et al (2021) Effects of diabetes on oxidative stress, periodontal ligament fiber orientation, and matrix metalloproteinase 8 and 9 expressions during orthodontic tooth movement. Clin Oral Invest 25(3):1383–1394
20. Wolf M et al (2018) Reduced orthodontic tooth movement in Enpp1 mutant mice with hypercementosis. J Dent Res 97(8):937–945
21. Lantuéjoul C (1978) La Squelettisatoin et son Application aux Mesures Topologiques des Mosaiques Polycristalines. Ph.D. dissertation. School of Mines, Paris
22. Beucher S, Meyer F (1993) The morphological approach to segmentation: the watershed transformation. Mathematical morphology in image processing, pp 433–481
23. Abass SK et al (2008) Inheritance of susceptibility to root resorption associated with orthodontic force in mice. Am J Orthod Dentofacial Orthop 134(6):742–750

24. R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. https://www.R-project.org/
25. Giavarina D (2015) Understanding Bland Altman analysis. Biochem Med 25(2):141–151
26. Trelenberg-Stoll V et al (2021) Automated tooth segmentation as an innovative tool to assess 3D-tooth movement and root resorption in rodents. Head Face Med 17(1):3

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

4 Diskussion

In der kieferorthopädischen Forschung sind Quantifizierungen von Zahnwurzelresorptionen und orthodontischen Zahnbewegungen von großem Interesse. Durch den vermehrten Einsatz der Mikrocomputertomographie (µCT) steigt das Interesse an dreidimensionalen (3D) Analysen in Kleintiermodellen. Auch andere Bereiche wie die Parodontologie oder Endontologie können von volumetrischen Analysen von Zahn- und Knochenstrukturen profitieren.

4.1 Bewertung der Methode

Die vorgestellte *Automated Tooth Segmentation* (ATS)-Methode ermöglichte eine effiziente Segmentierung von Hartgeweben, wie Zähnen und Knochen aus Mäuse-µCT-Aufnahmen. Damit können volumetrische Messungen von Zahnwurzelresorptionen und Resorptionen des periradikulären Knochens in Endpunktanalysen vorgenommen werden. Zusätzlich können die segmentierten Hartgewebe zur Bestimmung von 3D orthodontischen Zahnbewegungen verwendet werden.
Eine große Herausforderung der Hartgewebssegmentierung in µCT-Aufnahmen ist der geringe Kontrast zwischen dem Zahnwurzelzement und dem Knochengewebe.
Die Segmentierung ist entscheidend und bildet die Basis für die Genauigkeit weiterer volumetrischer Analysen. In der Literatur wird der manuellen Zahnsegmentierung eine hohe Genauigkeit zugeschrieben. Li et al., Sang et al. und Wang et al. verglichen die manuell segmentierten Zahnvolumen aus Röntgenbildern, aufgenommen mit digitaler Volumentomographie (DVT), mit Zahnvolumen der entsprechenden Zähne nach der Extraktion (26, 36, 37). Li et al. und Sang et al. verwendeten einen Laserscanner für die Digitalisierung des Referenzvolumens wohingegen Wang et al. das µCT nutzte. Die genannten Studien beschreiben die manuelle Segmentierung als besonders akkurat ohne eine signifikante Differenz zwischen dem segmentierten Volumen und dem Referenzvolumen. Eine suffiziente Segmentierung war durch die manuelle Bearbeitung jeder einzelnen Schicht in den µCT-Aufnahmen in dieser Arbeit ebenfalls möglich und diente der ATS-Methodenvalidierung als Referenz. Doch der Segmentierungsaufwand war für die manuelle Segmentierung um das 6-fache höher als für die Segmentierung mit ATS.
Ru et al. untersucht in seiner Studie die Zahnwurzelresorption der mesialen Zahnwurzel und die Mikrostruktur des umgebenen Knochens von zehn Wochen alten Ratten anhand von in-vivo µCT (58). Diese Studie machte jedoch keine genauen Angaben zu dem Segmentierungsverfahren der Zahnwurzeln. Die Zahnwurzelresorptionskrater waren in der siebten Woche am höchsten. Zusätz-

lich wurden Angaben zu der genauen Lokalisation der Resorption gegeben. Die meisten Zahnwurzelresorptionskrater wurden im apikalen Drittel gemessen. In der vorliegenden Arbeit konnten mittels ATS alle drei Molarenwurzeln separat voneinander untersucht werden. Absolut wurde die größte Zahnwurzelresorption an der mesialen Zahnwurzel gemessen. Bei der relativen Betrachtung waren die Zahnwurzelresorptionen an der mesialen und distalen Zahnwurzel vergleichbar. Eine Unterteilung der Zahnwurzel in ein apikales, mittleres und zervikales Wurzeldrittel, wie sie bei Ru et al. erfolgt ist, wurde nicht vorgenommen. Dies könnte mit ATS jedoch ohne großen Aufwand nach der Separierung der Zahnwurzeln unterhalb der Furkation nachträglich erfolgen.
Neben der manuellen Segmentierung sind in der aktuellen Literatur auch vereinzelt semiautomatische Methoden zur Zahnsegmentierung beschrieben (33, 34, 40, 67, 68).
Die Segmentierung mit ATS basiert auf einer markerbasierten Wasserscheidentransformation, die als automatisiertes oder semi-automatisches Verfahren angesehen werden kann. Dabei ist eine anfängliche manuelle Zuordnung der Materialien, die segmentiert werden sollen, notwendig. Der Segmentierungsprozess im direkten Anschluss verläuft dann automatisch. Dieses Segmentationsverfahren war erfolgsversprechend, weil der geringe Kontrast zwischen Zahnwurzelzement, Knochengewebe sowie im Bereich von Approximalkontakten eine große Herausforderung darstellte. Der geringe Kontrast dieser Regionen führte bei schwellenwertbasierten Segmentierungsverfahren zu unpräzisen und unbefriedigenden Resultaten.
In der Literatur wurde die Wasserscheidentransformation für Zahnsegmentierungen aus zweidimensionalen (2D) und 3D-Aufnahmen beschrieben (33, 34, 40, 68, 69).
In der Studie von Na et al. erfolgte die Segmentierung der gesamten Zahnreihe mittels Wasserscheidentransformation an intraoralen Fotografien in der Frontalansicht (69).
Die Segmentierung wird als akkurat beschrieben, beschränke sich aber nur auf Zahnkronen einer 2D-Aufnahme. Eine Einzelzahnsegmentierung war nicht Gegenstand der Studie.
Sepehrian et al. nutzte die Wasserscheidentransformation für die Segmentierung von Zähnen aus DVT nur in einer Schicht des 3D-Datensatzes (68). Die Studie beschrieb eine hohe Genauigkeit für die Zahnsegmentierung. Dafür wurde eine Schicht im DVT ausgewählt, welche viele Pixel enthält, die den Zähnen zugeordnet werden können. Um Übersegmentierung mit der Wasserscheidentransformation zu verhindern wurden die Datensätze zur Optimierung des Kontrastes mit der Volumenrenderingtechnik „*maximum intensity projection*“ vorbereitet. Erst danach erfolgte die Segmentierung der Zähne in einer Ebene mit Wasserscheidentransformation. Eine volumetrische Segmentierung wurde nicht durchgeführt.
Mit ATS war eine volumetrische Segmentierung des Zahnes und weiterer Gewebe wie beispielsweise Knochen mithilfe der markerbasierten Wasserscheidentransformation möglich.
Auch die Studien von Naumovich et al. und Galibourg et al. beschreiben eine Methode zur Zahnsegmentierung basierend auf der Wasserscheidentransformation (33, 34).

Bei Naumowich et al. erfolgte zuerst eine grobe Vorsegmentierung der Zähne und des umgebenen Gewebes mittels schwellenwertbasierter Segmentierung (33). Im nächsten Schritt wurden die Zähne mithilfe der Wasserscheidentransformation segmentiert und abschließend manuell zugeschnitten. Mit ATS war keine Vorsegmentierung basierend auf manuellen Schwellenwerten notwendig, könnte aber gegebenenfalls eine vereinfachte Ausgangssituation für die Hauptsegmentierung bieten. Zur Reduktion der Datengröße wurden als vorbereitender Schritt bei ATS die zu segmentierenden Molaren aus dem Gesamtdatensatz zugeschnitten. Eine Einzelzahnsegmentierung wurde bei Naumowich et al. nicht mit der Wasserscheidentransformation durchgeführt, sondern die gesamte Zahnreihe segmentiert und dann jeder Zahn mit einem einfachen Schneidewerkzeug separiert.

Durch die markerbasierte Wasserscheidentransformation, wie sie bei ATS zum Einsatz kam, konnte der für die weitere Analyse benötigte einzelne Zahn direkt segmentiert werden. Nur vereinzelt waren manuelle Korrekturen im Bereich der Approximalkontakte nötig.

Auf die Genauigkeit der Methode geht die Studie von Naumowich et al. nicht ein.

Die Arbeit von Galibourg et al. nutzte die Wasserscheidentransformation für die Segmentierung von Zahnkeimen (34). In dieser Studie wurden Mandibulae von anatomischen Präparaten junger Kinder (14-64 Monate) mit DVT und CT (Auflösung 41µm) digitalisiert und die Zahnkeime im Vergleich manuell und mithilfe der Wasserscheidentransformation segmentiert. Der Segmentierungsvorteil von Zahnkeimen ist der deutliche Kontrast zwischen dem transluzenten Zahnsäckchen und der opaken Krone.

Bei ATS gehörte besonders die Grenzfläche zwischen Knochen und Zahnwurzeloberfläche sowie die Kontaktfläche zu den Nachbarzähnen zu den herausfordernden Bereichen für den Segmentierungsprozess, der bei Zahnkeimen nicht gegeben ist.

Xia et al. stellt eine Methode zur Zahnsegmentierung mit Okklusionskontakten aus CT-Aufnahmen vor (67). Die Segmentierung der Zähne erfolgte in mehreren Schritten. Die Zahnkonturen werden mit der *Radon-Transformation* und der *Hybrid-Level-Set-Methode* Schicht für Schicht segmentiert. Im Anschluss wurde ein *Mesh-Modell* rekonstruiert und eine Segmentierung basierend auf dem Schwellenwert und der Wasserscheidentransformation zur Separierung der in Okklusion stehenden Zähne angewendet. Diese Methode wird als präzise und effizient beschrieben. Die vorgestellte Methode nutzt ebenfalls die Wasserscheidentransformation, wie sie auch bei ATS zum Einsatz kommt. Die mit ATS segmentieren Mäusemolaren wiesen keine Okklusionskontakte aber Approximalkontakte zu den Nachbarzähnen auf. Wären Okklusionskontakte vorhanden, könnte eine manuelle Bearbeitung der lokalen Bereiche, wie sie bei den Approximalkontakten erforderlich war, vorgenommen werden, wenn ATS in diesen Bereichen zu unzureichenden Ergebnissen führen.

In einer neueren Arbeit von Kakehbaraei et al. wurde eine Methode für Zahn- und Pulpasegmentierung basierend auf der Wasserscheidentransformation sowie der Schwellenwertmethode für Zahnschmelzsegmentierung aus neunundsechzig DVT-Datensätzen vorgestellt (40). Mithilfe der markerbasierten Wasserscheidentransformation wurden pro Kiefer alle Zähne und Zahnpulpen segmentiert. Der Zahnschmelz konnte aufgrund der hohen Opazität schwellenwertbasiert segmentiert werden. Die Studie beschreibt eine hohe Genauigkeit, Spezifität, Sensitivität und Präzision für die untersuchten Gewebe Zahn, Schmelz und Pulpa. Vorbereitend für den Segmentierungsprozess verwendete die Studie zur Bildprozessierung, wie die ATS-Methode auch, einen Medianfilter.

Bei der ATS-Methodenvalidierung war ein Bildrauschen unerheblich. Die Anwendung von ATS auf die µCT-Aufnahmen der protrahierten Molaren wiesen Metallapparatur bedingte Artefakte auf. Dieses konnte durch die Verwendung des Median-Filters reduziert werden, ohne die Objektgrenzen (Kanten) zu verändern. Auch eine Verlängerung der Scanzeit sowie eine Wiederholung von Messungen und Bildung von Mittelwerten (*frame averaging*) kann sich positiv auf das Bildrauschen auswirken. Eine Analyse der Effektivität dieser Parameter war jedoch nicht Gegenstand der vorliegenden Studie.

Für volumetrische Zahnwurzelmessungen waren nach der Segmentierung standardisierte Separierungen der Zahnwurzeln von der Zahnkrone notwendig.

In den Studien von Li et al. und Baysal et al. erfolgte die Separierung der Zahnwurzeln von menschlichen ersten Oberkiefermolaren durch die Ausrichtung der Zahnhöcker parallel zu einer horizontalen Ebene und Abtrennung der Zahnkrone entlang des tiefsten Punktes der Furkation (36, 70). Dadurch war eine individuelle Analyse jeder einzelnen Zahnwurzel möglich. Die Ausrichtung der Zähne mithilfe der Höckerspitzen kann problematisch sein, wenn die Zähne Abnutzungserscheinungen durch Abrasion oder Attrition aufweisen oder die Zahnhöcker durch die kieferorthopädische Apparatur verdeckt sind, wie bei den protrahierten Molaren in der ATS-Methodenapplikation. Bei ATS waren drei individuell festgelegte Punkte auf der Schmelzzementgrenze zur Zahnausrichtung notwendig, die in den µCT-Aufnahmen deutlich erkennbar waren. Diese bildeten auch die Schnittfläche für die Separierung der Zahnwurzeln von der Zahnkrone. Die Schnittfläche musste aber um dreißig Voxel nach apikal verlagert werden, weil auf der Schmelzzementgrenzenhöhe alle drei Zahnwurzeln noch im Furkationsbereich durch den Pulpaboden verbunden waren. Dieser Voxel-Wert wurde nur für die in der Studie eingeschlossenen Mäusemolaren definiert. Bei andern Zahntypen oder Spezies muss dieser Wert gegebenenfalls angepasst werden. Damit waren die segmentierten und separierten Zahnwurzeln für die anschließenden volumetrischen Analysen vorbereitet.

Die Studien von Li et al. und Dindaroglu et al. quantifizierten die Zahnwurzelresorptionen als Zahnwurzelvolumendifferenz vor und nach der kieferorthopädischen Behandlung anhand von

DVT-Aufnahmen (36, 71). Die mit ATS ausgewerteten µCT-Aufnahmen waren nur von einem Zeitpunkt verfügbar.

4.2 Eignung von *Split-Mouth Designs*

Wenn longitudinale Röntgendiagnostik nicht möglich sind, wurden alternativ *Split-Mouth Designs* herangezogen (57, 72-75). Dabei werden die kontralateralen, nicht kieferorthopädisch behandelten Zähne als Referenz genutzt. Im Validierungsteil der vorliegenden Arbeit wurde mit ATS eine hohe Symmetrie der kontralateralen Zähne und der Kieferknochen innerhalb der Tiere festgestellt. Zwischen den unbehandelten Tieren wurden hingegen größere Unterschiede gemessen. Dies deutet an, dass *Split-Mouth Designs* von Endzeitpunkten grundsätzlich geeignet sind, um Zahnbewegungen und periradikuläre Knochenremodellierung zu quantifizieren. Weiterhin erscheint die Berechnung von relativen Volumenwerten genauer als der Vergleich absoluter Werte zwischen den Gruppen.

4.3 Bewertung der Reliabilität

Auch in longitudinalen in-vivo µCT-Kleintiermodellen ist die Anwendung von ATS für volumetrischen Messungen und 3D-Zahnbewegungsquantifizierung denkbar.
Die Knochenfraktion wurde nur im Bereich der Molarenwurzeln untersucht. Dafür wurde ein „*volume of interest*“ (VOI) mit 100 µm Durchmesser definiert, welches den lokalen, zirkulär zahnwurzelumfassenden Knochen beinhaltet. Dieser Wert wurde gewählt, weil er bei den Versuchstieren genug Knochengewebe umfasst, ohne über die Knochenanteile hinauszuragen. Die Methodenvalidierung bestätigte eine hohe Reliabilität von ATS mit der Generierung des standardisierten VOI zur Bestimmung der Knochenfraktion. Die Unterschiede waren zwischen den kontralateralen Seiten kleiner als zwischen den Tieren. Bei der Methodenapplikation sind signifikant niedrigere Knochenfraktionen auf der Testseite gemessen worden. Die Ursache könnte ein reduzierter Mineralgehalt durch den Knochenremodellierungsprozess in der Druckzone nach der orthodontischen Zahnbewegung sein. Visuell konnte die größte Knochenresorption um die mesiale Zahnwurzel detektiert werden. Sie kann vor allem durch die Intrusion des protrahierten Zahnes initiiert sein. Da es sich bei den Daten um eine Endpunktanalyse handelt, konnten keine Angaben über die Veränderungen des Mineralgehalts über die Behandlungsdauer gegeben werden. Der Vergleich zwischen den unbehandelten Tieren, die für die Methodenvalidierung verwendet wurden und den Tie-

ren mit protrahierten Molaren (Methodenapplikation) zeigt eine dreißig Prozent niedrigeres Knochenfraktion bei den kieferorthopädisch behandelten Tieren. Die Ursache ist unklar und müsste durch eine größere Fallzahl mit homogenen Versuchstieren weiter untersucht werden.

4.4 Bewertung der Effizienz

Die Untersuchung der Effizienz von ATS bildet einen weiteren Kern der vorgestellten Studie. Es war zu diesem Zeitpunkt keine Untersuchung der Effizienz zwischen manueller Segmentierung und Wasserscheidentransformation für Zähne und Knochengewebe in der Literatur bekannt.
In der vorgestellten Studie war ATS einundachtzig Prozent zeitsparender als die manuelle Segmentierung. Die Zeitersparnis fällt tatsächlich deutlich höher aus, wenn berücksichtig wird, dass mit der markerbasierten Wasserscheidentransformation mehrere Objekte zeitgleich und ohne erheblichen Zeitaufwand segmentiert werden können, die dann für weitere Analysen zur Verfügung stehen. So wurde mit ATS neben den Zähnen auch das Knochengewebe segmentiert und volumetrisch analysiert. Die Effizienz von ATS kann noch weiter erhöht werden, wenn kritische Bildbereiche, wie die Approximalkontaktregion, die teilweise manuelle Nachbearbeitung erforderte, ausgeschlossen wird. Voraussetzung ist, dass die Zahnkrone für weitere Analysen nicht benötigt wird. Dann kann der Datensatz für die Segmentierung so vorbereitet werden, dass er unterhalb der Approximalkontaktregion zuschnitten wird und damit den kritischen Bereich exkludiert.
Die Studie von Naumowich et al. untersucht im Gegensatz zu der vorgestellten Studie nicht die Genauigkeit der Methode, macht aber Angaben zu der Segmentierungszeit basierend auf der Wasserscheidentransformation (33). Die Segmentierung des Unterkieferzahnbogens betrug 10-15 Minuten bei Computertomographieaufnahmen und 20 Minuten bei DVT-Aufnahmen. Im Oberkiefer dauerte die Segmentierung 5-10 Minuten länger. Die Zeit für die Zahnseparierung wurde nicht berücksichtigt. Mit ATS wurden kürzere Zeiten für die Zahnsegmentierung mit Ausnahme des Unterkiefermolar rechts erreicht (Oberkiefermolar rechts 8,20 Minuten, Oberkiefermolar links 8,28 Minuten, Unterkiefermolar rechts 13,12 Minuten, Unterkiefermolar links 9,00 Minuten).
Die Zeiten sind jedoch nicht vergleichbar, weil mit ATS nicht der gesamte Zahnbogen sondern eine Einzelzahnsegmentierung durchgeführt wurde. Bei der Einzelzahnsegmentierung ist die Zeit der manuellen Nachbearbeitung der Approximalkontakte enthalten. Auch die Zähne unterscheiden sich in Größe und Spezies.
Die Studie von Sepehrian et al. gibt ebenfalls Angaben zu der Segmentierungszeit vom 2,03 s für die Maxilla und 2,04 s für die Mandibula an (68). Jedoch bezieht sich die Segmentierungszeit nur auf eine Schicht aus einem 3D-Datensatz, die vorher manuell herausgesucht wurde.

4.5 3D-Quantifzierung von Zahnbewegungen im *Split-Mouth Design*

Die 3D-Quantifikation der orthodontischen Zahnbewegung ist ein weiterer, wichtiger Aspekt der vorgestellten Methode. In der Literatur sind 3D-Quantifikationen der orthodontischen Zahnbewegung beschrieben und basieren auf Überlagerungen der digitalisierten Zahnbögen zweier Zeitpunkte (50-54). Auch lineare Messungen zwischen Zähnen oder knöchernen Referenzpunkten werden genutzt (47, 49, 62, 66). Eine 3D-Quantifizierung der orthodontischen Zahnbewegung in Endpunktanalysen ist bisher nicht beschrieben worden. Diese war aber mit ATS möglich. Voraussetzung dafür war eine Symmetrie der kontralateralen Zähne. Zur Vorbereitung wurde der Knochen, der zu dem protrahierten Molaren gehört, mit dem Knochen der unbehandelten kontralateralen Seite registriert und dann die Knochentransformation auf den protrahierten Mäusemolaren übertragen. Durch die Bestimmung des Bewegungsvektors nach Registrierung des protrahierten Molaren mit dem unbehandelten Molaren konnte die Bewegung in alle Richtungen ermittelt werden. Mit dieser Methode sind grundsätzlich auch Analysen weiterer Zähne möglich. Eine möglicherweise auftretende Bewegung der zweiten Molaren auf der Testseite beeinträchtigt die Messungen dabei nicht, da die Gegenseite als Referenz genutzt wurde. Sind 3D-Datensätze von zwei Zeitpunkten oder mehr vorhanden, kann hingegen mit ATS die Zahn- und Knochenregistrierung der unterschiedlichen Zeitpunkte erfolgen, was zu noch genaueren Ergebnissen führen könnte. In diesem Falle wäre die Symmetrie der kontralateralen Seite irrelevant.
Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Zahnbewegung und Zahnwurzelresorption wurde von Weltmann et al. beschrieben (9). Die Anwendung der ATS-Methode auf die Datensätze der protrahierten Molaren konnte, wie auch im Review von Sivarajan et al., keinen signifikanten Zusammenhang feststellen (76).

4.6 Limitationen

Neben den beschriebenen Vorteilen weist die Methode auch einige Limitationen auf. Für die Methodenvalidierung wurden eine geringe Anzahl an Mäusekiefern herangezogen, die keine Metallapparaturen in situ aufwiesen. Im Falle einer kieferorthopädischen Behandlung, sind in den Röntgenaufnahmen kieferorthopädische Metallapparaturen zu erwarten, die durch die Strahlenaufhärtung zu vermehrten Artefakten und damit zu einer erhöhten Segmentierungsdauer führen könnten. Um Metallartefakte zu reduzieren ist die Entfernung der Metallapparatur vor dem Röntgen oder eine Anpassung der Scanzeit empfohlen.
Die Inhomogenität der Versuchstiere für die Methodenapplikation resultiert aus der Zusammensetzung der Datensäte, die aus einer anderen Studie übernommen wurden (66).

Die Symmetrie der kontralateralen Zähne und des Knochens ist Voraussetzung für diese Methode. Longitudinale in-vivo µCT-Scans von verschiedenen Zeitpunkten können diese Limitation umgehen, weil gleiche Regionen miteinander verglichen werden.
Es wurden bei der Segmentierungszeit und für das Segmentierungsergebnis keine unterschiedlichen Voxelgrößen berücksichtigt.
Die µCT-Datensätze der gesamten Mäuseköpfe wurden vor der Segmentierung mit der Software ImageJ zugeschnitten. Der Zuschnitt umfasste nur noch den zu segmentierenden Molaren mit umgebendem Knochen und den Nachbarzahn. Dies war aufgrund der großen Dateigrößen notwendig, um die Zeit beim Hochladen in die Software Amira zu minimieren. Die kritischen Bereiche, wie Zahnwurzeln und umgebender Knochen sowie Approximalkontakte zum Nachbarzahn, waren im Zuschnitt enthalten.
Die Schmelzzementgrenze war bei allen herangezogenen Mäusemolaren gut sichtbar. Je nach Apparatur kann diese jedoch verdeckt sein und damit eine Platzierung der Landmarks erschweren oder gar unmöglich machen. Eine Alternative könnte die Platzierung der Landmarks im Furkations- oder Zahnwurzelbereich sein, problematisch ist hier jedoch, dass es keine eindeutige Ebene gibt, auf der sich die Referenzpunkte befinden. Alternative Platzierungen von Landmarks wurden in der vorliegenden Arbeit deshalb nicht untersucht.
Die Separierung der Zahnwurzeln dreißig Voxel unterhalb der Schmelzzementgrenze kann zu einem Informationsverlust, vor allem im Bereich des koronalen Anteils der mesialen Zahnwurzel der Oberkiefermolaren, führen. Wenn hingegen eine geringere Voxelzahl für die Separierung gewählt würde, blieben die Zahnwurzeln über den Pulpakammerboden miteinander verbunden und machten dadurch eine separierte Zahnwurzelvolumenmessung unmöglich.
Geringe, nicht signifikante Unterschiede der Knochenfraktionen wurden auch bei der Methodenvalidierung gemessen. Nicht geklärt werden konnte, ob diese Unterschiede biologische oder externe Ursachen haben oder im Zusammenhang mit der Separation der Wurzeln stehen. Eine Unterteilung des VOI in Zug- und Druckzonen wurde in der vorgestellten Studie nicht vorgenommen. Dies wäre aber auch nachträglich möglich, um eine separierte Betrachtung des VOI in der Druck- und Zugzone zu ermöglichen.
In dieser Studie ist nur ein Knochenparameter erhoben worden. Weitere Knochenparameter können aber mit dem standardisierten VOI bestimmt werden.

4.7 Schlussfolgerungen

Zusammenfassend stellt ATS eine sehr effiziente und akkurate Methode für die Segmentierung von Hartgeweben mit ähnlichen Grauwerten sowie volumetrische Quantifikation von Zahnwurzelvolumen und periradikulären Knochens im standardisiert festgelegten VOI dar. Aufgrund der vorhandenen Symmetrie der Mäusekiefer zeigt die vorliegende Arbeit unter Einbeziehung der genannten Limitationen, dass Zahnwurzelresorptionen und die Knochenfraktionen durch Hinzuziehen der kontralateralen Seite in Endpunktanalysen bestimmt werden können. Zusätzlich wurden mithilfe der segmentierten Zahn- und Knochenvolumen die 3D orthodontischen Zahnbewegungen gemessen und mit den Ergebnissen der Zahnwurzelresorption und Knochenfraktion verglichen. Diese Analyse zeigte, dass protrahierte Molaren ein signifikant geringeres Zahnwurzelvolumen und eine geringere periradikuläre Knochenfraktion aufwiesen als die unbewegte Kontrollseite. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Zahnwurzelresorption und der orthodontischen Zahnbewegung konnte jedoch nicht identifiziert werden.

5 Literaturverzeichnis

1. Trelenberg-Stoll V, Drescher D, Wolf M, Becker K. Automated tooth segmentation as an innovative tool to assess 3D-tooth movement and root resorption in rodents. Head Face Med. 2021;17(1):3.
2. Trelenberg-Stoll V, Wolf M, Busch C, Drescher D, Becker K. Standardized assessment of bone micromorphometry around teeth following orthodontic tooth movement : A μCT split-mouth study in mice. J Orofac Orthop. 2021.
3. Tronstad L. Root resorption - etiology, terminology and clinical manifestations. Dental Traumatology. 1988;4(6):241-52.
4. Aidos H, Diogo P, Santos JM. Root Resorption Classifications: A Narrative Review and a Clinical Aid Proposal for Routine Assessment. Eur Endod J. 2018;3(3):134-45.
5. Phillips JR. Apical Root Resorption Under Orthodontic Therapy*. The Angle Orthodontist. 1955;25(1):1-22.
6. Sasaki T, Motegi N, Suzuki H, Watanabe C, Tadokoro K, Yanagisawa T, et al. Dentin resorption mediated by odontoclasts in physiological root resorption of human deciduous teeth. American Journal of Anatomy. 1988;183(4):303-15.
7. Brezniak N, Wasserstein A. Root resorption after orthodontic treatment: Part 1. Literature review. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 1993;103(1):62-6.
8. Brezniak N, Wasserstein A. Root resorption after orthodontic treatment: Part 2. Literature review. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 1993;103(2):138-46.
9. Weltman B, Vig KWL, Fields HW, Shanker S, Kaizar EE. Root resorption associated with orthodontic tooth movement: A systematic review. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 2010;137(4):462-76.
10. Murrell EF, Yen EH, Johnson RB. Vascular changes in the periodontal ligament after removal of orthodontic forces. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1996;110(3):280-6.
11. Parker RJ, Harris EF. Directions of orthodontic tooth movements associated with external apical root resorption of the maxillary central incisor. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 1998;114(6):677-83.
12. Brudvik P, Rygh P. The repair of orthodontic root resorption: an ultrastructural study. Eur J Orthod. 1995;17(3):189-98.
13. Reitan K. Initial Tissue Behavior During Apical Root Resorption. The Angle Orthodontist. 1974;44(1):68-82.

14. Henry JL, Weinmann JP. The Pattern of Resorption and Repair of Human Cementum. The Journal of the American Dental Association. 1951;42(3):270-90.
15. Levander E, Malmgren O. Long-term follow-up of maxillary incisors with severe apical root resorption. Eur J Orthod. 2000;22(1):85-92.
16. Maués CP, do Nascimento RR, Vilella Ode V. Severe root resorption resulting from orthodontic treatment: prevalence and risk factors. Dental Press J Orthod. 2015;20(1):52-8.
17. Taithongchai R, Sookkorn K, Killiany DM. Facial and dentoalveolar structure and the prediction of apical root shortening. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1996;110(3):296-302.
18. Levander E, Malmgren O. Evaluation of the risk of root resorption during orthodontic treatment: a study of upper incisors. Eur J Orthod. 1988;10(1):30-8.
19. Killiany DM. Root resorption caused by orthodontic treatment: an evidence-based review of literature. Seminars in orthodontics. 1999;5(2):128-33.
20. Rygh P. Orthodontic root resorption studied by electron microscopy. Angle Orthod. 1977;47(1):1-16.
21. Brudvik P, Rygh P. Non-clast cells start orthodontic root resorption in the periphery of hyalinized zones. Eur J Orthod. 1993;15(6):467-80.
22. Chan EKM, Darendeliler MA. Exploring the third dimension in root resorption. Orthodontics and Craniofacial Research. 2004;7(2):64-70.
23. Samandara A, Papageorgiou SN, Ioannidou-Marathiotou I, Kavvadia-Tsatala S, Papadopoulos MA. Evaluation of orthodontically induced external root resorption following orthodontic treatment using cone beam computed tomography (CBCT): a systematic review and meta-analysis. Eur J Orthod. 2019;41(1):67-79.
24. Westphalen V, Moraes IGd, Westphalen F, Martins W, Souza PC. Conventional and digital radiographic methods in the detection of simulated external root resorptions: a comparative study. Dentomaxillofacial Radiology. 2004;33(4):233-5.
25. Sameshima GT, Asgarifar KO. Assessment of root resorption and root shape: periapical vs panoramic films. The Angle orthodontist. 2001;71(3):185-9.
26. Wang Y, He S, Yu L, Li J, Chen S. Accuracy of volumetric measurement of teeth in vivo based on cone beam computer tomography. Orthodontics and Craniofacial Research. 2011;14(4):206-12.
27. Chapnick L, Endo D. External root resorption: An experimental radiographic evaluation. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology. 1989;67(5):578-82.
28. Andreasen FM, Sewerin I, Mandel U, Andreasen JO. Radiographic assessment of simulated root resorption cavities. Dental Traumatology. 1987;3(1):21-7.

29. Leach HA, Ireland AJ, Whaites EJ. Radiographic diagnosis of root resorption in relation to orthodontics. Br Dent J. 2001;190(1):16-22.
30. Dudic A, Giannopoulou C, Martinez M, Montet X, Kiliaridis S. Diagnostic accuracy of digitized periapical radiographs validated against micro-computed tomography scanning in evaluating orthodontically induced apical root resorption. European Journal of Oral Sciences. 2008;116(5):467-72.
31. Knudsen T, Chandler KJ. Predictive Models and Computational Toxicology Cosmetics Europe View project ExpoCast View project. Article in Methods in molecular biology. 2013.
32. Baumann T. 3D-Bildprozessierung und CAD. Rofo. 2011;183(S 01):RK212_1.
33. Naumovich SS, Naumovich SA, Goncharenko VG. Three-dimensional reconstruction of teeth and jaws based on segmentation of CT images using watershed transformation. Dentomaxillofacial Radiology. 2015;44(4):20140313-.
34. Galibourg A, Dumoncel J, Telmon N, Calvet A, Michetti J, Maret D. Assessment of automatic segmentation of teeth using a watershed-based method. Dentomaxillofacial Radiology. 2018;47(1):20170220-.
35. Fischer M, Strauss G, Gahr S, Richter I, Mueller S, Burgert O, et al. Dreidimensionale Bildprozessierung in der HNO-Onkologie zur präoperativen Planung und Evaluierung. Laryngo-Rhino-Otologie. 2009;88:229-33.
36. Li W, Chen F, Zhang F, Ding W, Ye Q, Shi J, et al. Volumetric Measurement of Root Resorption following Molar Mini-Screw Implant Intrusion Using Cone Beam Computed Tomography. PLoS ONE. 2013;8(4):e60962-e.
37. Sang Y-H, Hu H-C, Lu S-H, Wu Y-W, Li W-R, Tang Z-H. Accuracy Assessment of Three-dimensional Surface Reconstructions of In vivo Teeth from Cone-beam Computed Tomography. Chinese Medical Journal. 2016;129(12):1464-.
38. Kato A, Ohno N. Construction of three-dimensional tooth model by micro-computed tomography and application for data sharing. Clin Oral Investig. 2009;13(1):43-6.
39. Beucher S. Watershed, hierarchical segmentation and waterfall algorithm. Mathematical morphology and its applications to image processing. 1994;2:69-76.
40. Kakehbaraei S, Seyedarabi H, Zenouz AT. Dental Segmentation in Cone-beam Computed Tomography Images Using Watershed and Morphology Operators. Journal of medical signals and sensors. 2018;8(2):119-24.
41. Kashyap Y, Vyas A, Raghuwanshi R, Sharma R. Edge Detection Using Sobel Method With Median Filter. 2015:372-9.
42. Rajasekaran A. Image Denoising Using Median Filter with Edge Detection Using Canny Operator. International Journal of Science and Research. 2014;3(2).

43. Hintze J, Cordes J, Preim B, Hertel I, Strauss G, Preim U. Bildanalyse für die präoperative Planung von Neck Dissections2005. 11-5 p.
44. Li Y, Jacox LA, Little SH, Ko CC. Orthodontic tooth movement: The biology and clinical implications. Kaohsiung J Med Sci. 2018;34(4):207-14.
45. Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. The rat as a model for orthodontic tooth movement--a critical review and a proposed solution. Eur J Orthod. 2004;26(5):483-90.
46. Kau CH, Cruz Wilma DA. 3D Analysis of Tooth Movement Using 3D Technology. Curr Osteoporos Rep. 2020.
47. Gonzales C, Hotokezaka H, Arai Y, Ninomiya T, Tominaga J, Jang I, et al. An in vivo 3D micro-CT evaluation of tooth movement after the application of different force magnitudes in rat molar. Angle Orthod. 2009;79(4):703-14.
48. Gonzales C, Hotokezaka H, Yoshimatsu M, Yozgatian JH, Darendeliler MA, Yoshida N. Force Magnitude and Duration Effects on Amount of Tooth Movement and Root Resorption in the Rat Molar. The Angle Orthodontist. 2008;78(3):502-9.
49. Fleissig O, Hazan-Molina H, Chaushu S, Aizenbud D, Klein Y, Zini A, et al. Analytical methodology to measure periodontal bone morphometry following orthodontic tooth movement in mice. Eur J Orthod. 2021;43(6):665-71.
50. Cho M-Y, Choi J-H, Lee S-P, Baek S-H. Three-dimensional analysis of the tooth movement and arch dimension changes in Class I malocclusions treated with first premolar extractions: A guideline for virtual treatment planning. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 2010;138(6):747-57.
51. Winitsky N, Naimi-Akbar A, Nedelcu R, Jemt T, Smedberg JI. 3-D tooth movement adjacent to single anterior implants and esthetic outcome. A 14- to 20-year follow-up study. Clin Oral Implants Res. 2021;32(11):1328-40.
52. Hayashi K, Araki Y, Uechi J, Ohno H, Mizoguchi I. A novel method for the three-dimensional (3-D) analysis of orthodontic tooth movement—calculation of rotation about and translation along the finite helical axis. Journal of Biomechanics. 2002;35(1):45-51.
53. Becker K, Wilmes B, Grandjean C, Vasudavan S, Drescher D. Skeletally anchored mesialization of molars using digitized casts and two surface-matching approaches : Analysis of treatment effects. J Orofac Orthop. 2018;79(1):11-8.
54. Jang I, Tanaka M, Koga Y, Iijima S, Yozgatian JH, Cha BK, et al. A novel method for the assessment of three-dimensional tooth movement during orthodontic treatment. Angle Orthod. 2009;79(3):447-53.
55. Pandis N, Walsh T, Polychronopoulou A, Katsaros C, Eliades T. Split-mouth designs in orthodontics: An overview with applications to orthodontic clinical trials. European journal of orthodontics. 2013;35.

56. Acar A, Canyurek U, Kocaaga M, Erverdi N. Continuous vs. discontinuous force application and root resorption. Angle Orthod. 1999;69(2):159-63; discussion 63-4.
57. Barbagallo LJ, Jones AS, Petocz P, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 10. Comparison of the effects of invisible removable thermoplastic appliances with light and heavy orthodontic forces on premolar cementum. A microcomputed-tomography study. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 2008;133(2):218-27.
58. Ru N, Liu SS-Y, Zhuang L, Li S, Bai Y. In vivo microcomputed tomography evaluation of rat alveolar bone and root resorption during orthodontic tooth movement. The Angle Orthodontist. 2013;83(3):402-9.
59. Han G, Huang S, Von den Hoff JW, Zeng X, Kuijpers-Jagtman AM. Root resorption after orthodontic intrusion and extrusion: an intraindividual study. The Angle orthodontist. 2005;75(6):912-8.
60. Franzen TJ, Monjo M, Rubert M, Vandevska-Radunovic V. Expression of bone markers and micro-CT analysis of alveolar bone during orthodontic relapse. Orthod Craniofac Res. 2014;17(4):249-58.
61. Faot F, Chatterjee M, de Camargos GV, Duyck J, Vandamme K. Micro-CT analysis of the rodent jaw bone micro-architecture: A systematic review. Bone Reports. 2015;2:14-24.
62. Xu X, Zhou J, Yang F, Wei S, Dai H. Using Micro-Computed Tomography to Evaluate the Dynamics of Orthodontically Induced Root Resorption Repair in a Rat Model. PLOS ONE. 2016;11(3):e0150135-e.
63. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. Journal of Bone and Mineral Research. 2010;25(7):1468-86.
64. Verna C, Zaffe D, Siciliani G. Histomorphometric study of bone reactions during orthodontic tooth movement in rats. Bone. 1999;24(4):371-9.
65. Zhuang L, Bai Y, Meng X. Three-dimensional morphology of root and alveolar trabecular bone during tooth movement using micro-computed tomography. The Angle Orthodontist. 2011;81(3):420-5.
66. Wolf M, Ao M, Chavez MB, Kolli TN, Thumbigere-Math V, Becker K, et al. Reduced Orthodontic Tooth Movement in Enpp1 Mutant Mice with Hypercementosis. J Dent Res. 2018;97(8):937-45.
67. Xia Z, Gan Y, Chang L, Xiong J, Zhao Q. Individual tooth segmentation from CT images scanned with contacts of maxillary and mandible teeth. Computer Methods and Programs in Biomedicine. 2017;138:1-12.

68. Sepehrian M, Deylami AM, Zoroofi RA, editors. Individual teeth segmentation in CBCT and MSCT dental images using watershed. 2013 20th Iranian Conference on Biomedical Engineering (ICBME); 2013 18-20 Dec. 2013.
69. Na SD, Lee G, Lee JH, Kim MN. Individual tooth region segmentation using modified watershed algorithm with morphological characteristic. Bio-Medical Materials and Engineering. 2014;24:3303-9.
70. Baysal A, Karadede I, Hekimoglu S, Ucar F, Ozer T, Veli İ, et al. Evaluation of root resorption following rapid maxillary expansion using cone-beam computed tomography. The Angle Orthodontist. 2012;82(3):488-94.
71. Dindaroglu F, Dołan S. Evaluation and comparison of root resorption between tooth-borne and tooth-tissue borne rapid maxillary expansion appliances: A CBCT study. Angle Orthodontist. 2016;86(1):46-52.
72. Chan E, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 7. Extent of root resorption under areas of compression and tension. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 2006;129(4):504-10.
73. Chan E, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 5. Volumetric analysis of root resorption craters after application of light and heavy orthodontic forces. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 2005;127(2):186-95.
74. Owman-Moli P, Kurol J, Lundgren D. Effects of a doubled orthodontic force magnitude on tooth movement and root resorptions. An inter-individual study in adolescents. European Journal of Orthodontics. 1996;18:141-50.
75. Ho C, Tüurk T, Elekdaü?-Türk S, Jones AS, Petocz P, Cheng LL, et al. Erratum: Physical properties of root cementum: Part 19. Comparison of the amounts of root resorption between the right and left first premolars after application of buccally directed heavy orthodontictipping forces (American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics (2011) 140 (e49-52)). American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 2011;140:602.
76. Sivarajan S, Ringgingon LP, Fayed MMS, Wey MC. The effect of micro-osteoperforations on the rate of orthodontic tooth movement: A systematic review and meta-analysis. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 2020;157(3):290-304.

Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dieter Drescher ganz herzlich für die Überlassung des Themas und die sehr gute Betreuung der gesamten Promotionszeit sowie Unterstützung bei den Publikationen.
Frau PD Dr. Kathrin Becker danke ich sehr herzlich für die wertvolle Unterstützung, die Mitwirkung bei der Konzeption des Projekts und bei der Erstellung des Workflows, die Einarbeitung in die Software Amira und die Verwendung des µCT, die Möglichkeit zur aktiven Teilnahme an regelmäßigen wissenschaftlichen Treffen ihrer Forschungsgruppe, den regen Austausch und die sehr gute Betreuung über die gesamte Zeit der Promotion und die Hilfestellungen bei der Berechnung der Statistik und beim Verfassen der Publikationen.
Herrn Professor Michael Wolf danke ich für den guten Austausch, die Unterstützung bei den Publikationen und die zur Verfügung gestellten µCT-Daten der Studie mit den protrahierten Mäusemolaren, die wesentlich zu der Entwicklung der publizierten Methode beigetragen haben.
Herrn Professor Sager danke ich für die Überlassung der Mäusekadaver für den µCT-Scan zur Methodenvalidierung.
Meiner gesamten Familie danke ich ganz herzlich für die liebevolle, wertvolle und geduldige Unterstützung während der gesamten Promotionszeit.