

Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin  
Klinik und Polikliniken für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Abteilung Restaurative Zahnheilkunde  
Bereich Zahnerhaltungskunde und Parodontologie  
Leiter: Prof. Dr. med. dent. A. M. Kielbassa

**Penetration und Dichtigkeit verschiedener Adhäsive in initialen  
Schmelzläsionen. In-vitro-Untersuchungen zum Einfluss der  
Applikationshäufigkeit.**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung  
der Zahnmedizinischen Doktorwürde  
der Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von  
Zahnarzt Jan Müller  
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. med. dent. A. M. Kielbassa

Koreferent: Prof. Dr. med. dent. K. R. Jahn

Gedruckt mit Genehmigung der Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

Disputation am: 1. April 2005

## Zusammenfassung

Das Ziel dieser In-vitro-Studie war die Bestimmung der Eindringtiefe und der Dichtigkeit verschiedener Adhäsive (Heliobond<sup>®</sup>, Excite<sup>®</sup>, Vivadent; Resulcin<sup>®</sup>, Merz; Solobond M<sup>®</sup>, Voco; Adper Prompt L-Pop<sup>®</sup>, 3M-Espe) und eines Fissurenversieglers (Helioseal<sup>®</sup>, Vivadent) in initiale Schmelzdemineralisationen. Aus 27 Rinderzähnen wurden 54 Schmelzproben präpariert und mit Nagellack (Kontrolle) bestrichen, so dass drei Bereiche für die Behandlung entstanden. Nach der Demineralisierung (pH 5,0; 14 d) wurden zwei Bereiche (A und B) mit Phosphorsäure (20%ig) geätzt. Der dritte Bereich (C) diente als Kontrolle des demineralisierten Schmelzes. Die Proben wurden in sechs Gruppen randomisiert aufgeteilt (N = 9) und das jeweilige Material wurde einmal (A) oder zweimal (B) appliziert (90 s) und nach jeder Applikation lichtgehärtet. Anschließend wurden die Proben zur Hälfte mit Nagellack abgedeckt und es erfolgte ein zweites Mal eine Demineralisierung der Proben für 14 Tage. Die Proben wurden senkrecht zur Oberfläche geschnitten. Nachfolgend wurde in die verbliebenen Poren der Probenhälften ein mit Rhodamin-B-Isothiocyanat gefärbter Kunststoff (*Spurr*) gepresst. Mit Hilfe des Konfokalen Laser Raster Mikroskops (CLSM) wurden die Penetrationstiefen und die Dicken der Sauerstoffinhibitionsschichten der verwendeten Materialien gemessen, sowie die Läsionstiefen nach erster und zweiter Demineralisation bestimmt (ImageJ).

Helioseal<sup>®</sup>, Heliobond<sup>®</sup>, Resulcin<sup>®</sup> Monobond, Solobond M<sup>®</sup> und Excite<sup>®</sup> penetrierten gleichmäßig die Läsionen und bildeten homogene Kunststoffschichten aus. Starke Schwankungen der Homogenität sowie der Penetration konnten dagegen bei Adper Prompt L-Pop<sup>®</sup> festgestellt werden. Keines der verwendeten Materialien härtete an den Läsionsoberflächen vollständig aus (Sauerstoffinhibitionsschicht). Die erneute Demineralisierung zeigte keinen Einfluss auf diesen qualitativen Befund. Nach einmaliger Applikation penetrierten [MW (SD)] die Adhäsive Resulcin<sup>®</sup> [89 (22) %] und Helioseal<sup>®</sup> [98 (6) %] nahezu vollständig die Läsionen. Heliobond<sup>®</sup> [126 (33) %] und Excite<sup>®</sup> [184 (40) %] penetrierten über die definierte Grenze des Läsionskörpers hinaus. Eine zweifache Applikation führte bei Excite<sup>®</sup> zu einer signifikanten Verringerung der Sauerstoffinhibitionsschicht von 34 (20) % nach einmaliger Applikation auf 5 (2) % der Penetrationstiefe. Die zweite Demineralisierung führte zu durchschnittlich 52 (31) % tieferen Läsionen. Bereits die einmalige Applikation von Helioseal<sup>®</sup>, Heliobond<sup>®</sup>, Resulcin<sup>®</sup> Monobond und Excite<sup>®</sup> verhinderte vollständig eine weitere Progression der Läsion. Die Adhäsive Adper Prompt L-Pop<sup>®</sup> und Solobond M<sup>®</sup> zeigten nach einmaligem Auftragen keine

signifikante Verringerung der Läsionsprogression ( $p > 0,05$ ; t-Test für gepaarte Stichproben). Die zweimalige Applikation von Solobond M<sup>®</sup> führte jedoch zu einer signifikant verminderten Läsionsprogression ( $p < 0,05$ ; t-Test für gepaarte Stichproben).

Mit Hilfe des vorgestellten Verfahrens konnte erstmals gezeigt werden, dass einige kommerziell erhältliche Adhäsive zur nahezu vollständigen Versiegelung von initialen Schmelzläsionen geeignet scheinen. Darüber hinaus zeigten die versiegelten Bereiche im Vergleich zu gesunder oder demineralisierter Zahnhartsubstanz eine erheblich gesteigerte Resistenz gegenüber erneuten demineralisierenden Einflüssen.

## Summary

The penetration and tightness of various adhesives into initial enamel lesions in vitro.

The aim of the present study was to evaluate the penetration depth (PD), the thickness of the oxygen inhibition layer (OIL) and the tightness of a fissure sealant (Helioseal<sup>®</sup>, Vivadent) and various adhesives (Heliobond<sup>®</sup>, Excite<sup>®</sup>, Vivadent; Resulcin<sup>®</sup>, Merz; Solobond M<sup>®</sup>, Voco; Prompt L-Pop<sup>®</sup>, 3M-Espe) applied to enamel lesions in vitro. From 27 bovine teeth 54 enamel specimens were prepared and covered with nail varnish (control), thus obtaining three windows for treatment. After demineralisation (pH 5.0, 14 d) two of the windows were etched with phosphoric acid (20%, 5 s), whereas the third area served as control. The specimens were divided randomly into six groups (n=9) and the respective adhesive was applied (90 s) either once or twice. Light-curing followed after each application. Half of the area of each specimen window was then covered with nail varnish and the samples were stored in the demineralising solution again (pH 5.0, 14 d). The specimens were cut perpendicular to the surface. A sample half served as control. Enamel slabs were studied after infiltration with a fluorescent low viscous resin using confocal microscopy (CLSM). The image of the lesion was divided into two areas with different grey values. Lesion depths were calculated (ImageJ) from the surface to that point in the lesion where the grey value clearly changed to a darker grey value. The zone with the darker grey values marked the front of demineralisation. Mean lesion depths (SD) after demineralisation (14 d) were measured at 105 (21)  $\mu\text{m}$ . After single application, Resulcin<sup>®</sup> [89 (22) %] and Helioseal<sup>®</sup> [98 (6) %] had almost completely penetrated the lesion. Heliobond<sup>®</sup> [126 (33) %] and Excite<sup>®</sup> [184 (40) %] penetrated even deeper than the defined lesion. For Excite<sup>®</sup> double application decreased the OIL significantly ( $p=0.03$ ; adjusted paired t-test).

After the second demineralisation the untreated lesions showed a mean progression of 52 (31) %. Helioseal, Heliobond, Resulcin Monobond and Excite were able to inhibit lesion progression completely ( $p<0.05$ ; t-test). These materials were capable to prevent from a further demineralisation when applied once and there was no difference between the lesion depths after one or two applications ( $p<0.05$ ; t-test) (fig. 5). In contrast, the adhesives Adper Prompt L-Pop and Solobond M were not able to inhibit further lesion progression when applied once ( $p>0.05$ ; t-test). After twice application of Solobond M a significantly decreased lesion progression ( $p<0.05$ ; t-test) could be observed. The other materials proved to be significantly better in hampering further lesion progression ( $p<0.05$ ; ANOVA, post hoc Bonferroni).

The development of such treatment strategies could offer potential noninvasive means of treating early enamel lesions. Adhesives are capable to penetrate artificial initial enamel lesions completely.

## Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
2 Literaturübersicht.....	2
2.1 Aufbau des humanen Zahnschmelzes.....	2
2.2 Bovine Zahnhartsubstanz im Vergleich zu humaner Zahnhartsubstanz.....	5
2.3 Beschreibung der Schmelzkaries.....	7
2.3.1 Ätiologie der Karies.....	7
2.3.2 Remineralisation der Schmelzkaries.....	10
2.4 Therapie der Schmelzkaries.....	13
3 Ziel der Untersuchung.....	15
4 Materialien und Methoden.....	16
4.1 Vorbereitung der Schmelzproben.....	16
4.2 Demineralisierung der Proben.....	17
4.3 Behandlung der demineralisierten Proben mit fünf verschiedenen Adhäsiven und einem Fissurenversiegler.....	17
4.3.1 Erneute Demineralisierung der behandelten Proben.....	19
4.4 Verfahren zur Visualisierung von porösen Mikrostrukturen.....	19
4.5 Darstellung mit dem Konfokalen Laser Raster Mikroskop (CLSM).....	20
4.5.1 Funktionsweise des CLSM.....	20
4.5.2 Farbstoffspezifische Einstellungen.....	21
4.5.3 Erzeugung und qualitative Auswertung der CLSM-Bilder.....	22
4.5.4 Quantitative Auswertung der CLSM-Bilder.....	24
4.5.5 Statistische Auswertung.....	26
5 Ergebnisse.....	27
5.1 Qualitative Auswertung der Adhäsiv- bzw. Fissurenversiegler-schichten.....	27
5.2 Quantitative Auswertung der Läsionstiefen, der Penetrationstiefen und der Sauerstoffinhibitionsschichten.....	28
5.2.1 Auswertung der Läsionstiefen.....	28
5.2.2 Auswertung der Penetrationstiefen nach ein- und zweimaliger Applikation der verschiedenen Adhäsive bzw. des Fissurenversieglers.....	29
5.2.3 Auswertung der Dicke der Sauerstoffinhibitionsschichten der Adhäsive bzw. des Fissurenversieglers nach ein- und zweimaliger Applikation.....	30

5.3 Auswirkung von ein- und zweimaliger Applikation auf die Dichtigkeit der verwendeten Materialien.....	31
5.3.1 Qualitative Auswertung der Adhäsiv- bzw. Fissurenversiegler-schichten nach erneuter Lagerung in der Demineralisationslösung.....	31
5.3.2 Auswertung der Progression der Läsionstiefen bei ein- und zweimaliger Applikation der verwendeten Materialien nach erneuter Lagerung in der Demineralisationslösung.....	31
5.3.3 Auswertung der Dicke der Sauerstoffinhibitionsschicht der Adhäsive bzw. des Fissurenversieglers nach ein- und zweimaliger Applikation nach Demineralisierung.....	32
6 Diskussion.....	34
6.1 Diskussion des Versuchsaufbaus.....	34
6.1.1 Versuchszähne.....	34
6.1.2 Vorbereitung der Schmelzproben.....	34
6.1.3 Demineralisationslösung.....	35
6.1.4 Methode zur Darstellung mikroporöser Strukturen in Zahnhartsubstanzen.....	35
6.1.5 Vergleich Mikroradiografie-CLSM .....	38
6.2 Diskussion der Ergebnisse.....	39
6.3 Schlussfolgerungen und Ausblick.....	45
7 Zusammenfassung.....	46
8 Englische Zusammenfassung.....	48
9 Literaturverzeichnis.....	50
10 Anhang.....	63
10.1 Materialliste.....	63
10.2 Ergebnisse.....	65
11 Danksagung.....	66
12 Lebenslauf.....	67