

7 DISKUSSION

7.1. Diskussion von Material und Methode

7.1.1. Versuche mit künstlichen Läsionen

In der vorliegenden Arbeit wurden Schmelzproben von bovinen Frontzähnen verwendet (Abschnitte 1-3). Diese haben gegenüber humanen Zähnen den Vorteil, dass sie relativ leicht in größeren Mengen zu beschaffen sind, große flache Oberflächen haben und keine kariösen Defekte aufweisen. Zudem sind humane Zähne nicht durch individuell unterschiedliche Fluoridexposition beeinflusst und reagieren somit uniformer in De- und Remineralisationsstudien [Mellberg 1992]. Hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung besteht eine sehr gute Übereinstimmung zwischen humanem und bovinem Schmelz [Esser 1998]. Boviner Schmelz ist jedoch poröser als humaner, woraus eine höhere Reaktionsfähigkeit resultiert [Edmunds et al. 1988; Featherstone und Mellberg 1981; Kielbassa et al. 2006a]. Außerdem bestehen strukturelle Differenzen in der Prismengröße, der interprismatischen Substanz sowie dem Hunter-Schräger-Muster [Whittaker et al. 1983]. Beim Vergleich von künstlich erzeugten, kariesähnlichen Läsionen zeigten humane und bovine Schmelzproben allerdings keine größeren Unterschiede in Bezug auf den Mineralgehalt von Oberflächenschicht und Läsionskörper [Kielbassa et al. 2006a].

Zur Erleichterung der mikroradiografischen Auswertung werden, wie auch in der vorliegenden Studie, oftmals polierte Proben verwendet [Mellberg 1992]. Da oberflächliche Schmelzbereiche aus größeren Kristalliten aufgebaut sind sowie höhere Konzentrationen Karbonat und Fluorid enthalten als innere Bereiche [Weatherell et al. 1973], geht man davon aus, dass eine oberflächliche Politur zu einer gleichmäßigeren Demineralisation führt, was insbesondere für bovine Proben empirisch bestätigt werden konnte [Kielbassa et al. 2006a]. Für die Vergleiche der Penetrationseigenschaften der Adhäsive sowie der Infiltranten scheint polierter, boviner Schmelz somit zur Substitution des humanen Schmelzes gut geeignet.

Vor der In-situ-Exposition wurden die Proben mit Ethylenoxid sterilisiert. Diese für thermosensitive, medizinische Geräte benutzte Methode scheint die Anzahl der Mikroorganismen in Knochentransplantaten ausreichend zu reduzieren [Kakiuchi und Ono 1996], während komplette Zähne hierdurch nicht suffizient sterilisiert werden können [White und Hays 1995]. Dennoch wird diese Methode als ausreichend effizient zur Sterilisation von Schmelzproben angesehen, und scheint darüber hinaus im Gegensatz zu anderen Methoden (Gammabestrahlung, Dampfsterilisation) das Löslichkeitsverhalten von Schmelz nicht zu beeinflussen [Chandler et al. 1995; Toro et al. 2000].

7.1.2. Versuche mit natürlichen Läsionen

Die in Abschnitt 4 und 5 verwendeten kariösen Zähne wurden von einer dentalen Entsorgungsfirma bezogen und waren in Ethanol gelagert. Dieses Lagerungsmedium scheint keinen Einfluss auf das Mineralisationsverhalten von Schmelz zu besitzen [Rieben et al. 2006]. Eine Beeinflussung des Infiltrationsverhaltens kann hingegen nicht völlig ausgeschlossen werden, ist allerdings nicht sehr wahrscheinlich. Allerdings handelte es sich wahrscheinlich vor allem um Zähne von älteren Menschen, die aus parodontologischen Gründen extrahiert wurden und somit in erster Linie inaktive Läsionen aufwiesen. Diese können im Vergleich zu aktiven Läsionen, aufgrund der dort gerade im Initialstadium der Kariesentstehung geringeren Oberflächenschichtdicken [Silverstone 1968; Thylstrup et al. 1994], wahrscheinlich wesentlich schlechter penetriert werden. Trotzdem ist die Zuordnung zu einer der genannten Gruppen nicht immer zuverlässig möglich [Ekstrand et al. 2005; Nyvad et al. 1999], so dass im klinischen Alltag unweigerlich inaktive Läsionen versiegelt würden. Deshalb sind die in der vorliegenden Arbeit an wahrscheinlich meist inaktiven Läsionen beobachteten Penetrationseigenschaften von Adhäsivsystemen und ‚Infiltranten‘ essentiell, um die dargestellte Methode der Kariesinfiltration zur klinischen Reife weiter zu entwickeln, auch wenn das eigentliche Ziel der mikroinvasiven Behandlung die Infiltration von aktiven Läsionen darstellt, die aufgrund der beschriebenen Gründe wahrscheinlich sogar leichter zu erreichen sind als bei den in dieser Studie verwendeten inaktiven Läsionen.

7.1.3 Visualisierungsmethoden

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei verschiedene Visualisierungsmethoden, die konfokale Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM) und die transversale Mikroradiografie (TMR), verwendet. Die Mikroradiografie ermöglicht die Darstellung der Mineralisationsgrade von Zahnhartgeweben und die anschließende densitometrische Quantifizierung der Läsionstiefe sowie des Mineralverlustes und stellt diesbezüglich den Goldstandard in der Kariologie dar [Arends und ten Bosch 1992]. Allerdings können hiermit nahezu radioluzente Kunststoffe, wie die in der vorliegenden Arbeit zur Infiltration der kariösen Läsionen verwendeten, nicht visualisiert werden. Deshalb wurden zunächst Methoden entwickelt, die die gleichzeitige Darstellung des infiltrierten Kunststoffes sowie der Läsionen mit Hilfe des konfokalen Laser-Raster-Mikroskops ermöglichen.

Das Einfärben von Adhäsivkomponenten mit einem Fluoreszenzfarbstoff wurde bereits 1991 beschrieben [Watson 1991] und nachfolgend von anderen Autoren angewendet [Pioch et al. 1996; Watson und Wilmot 1992]. Darüber hinaus wurden zur Visualisierung von Adhäsivstrukturen transmissionselektronenmikroskopische (TEM) [Eick et al. 1995; Nakabayashi 1985; Van Meerbeek et al. 1993] sowie rasterelektronenmikroskopische (REM) Verfahren [Swift et al. 1995; Walshaw und McComb 1994] eingesetzt. Die Visualisierung mit Hilfe des TEM erfordert jedoch einen aufwändigen Einbettungsprozess; mit dem REM können nur oberflächliche Strukturen dargestellt werden. Die konfokale Mikroskopie erlaubt hingegen die Betrachtung von Schichten, die bis zu 100 µm unterhalb der Oberfläche liegen. Ein weiterer Nachteil der genannten Verfahren gegenüber der konfokalen Mikroskopie ist, dass die Proben getrocknet werden müssen, was zu Schrumpfung und Rissbildungen innerhalb der Zahnhartsubstanzen führen kann.

In der Literatur wurde bereits mehrfach die Visualisierung kariöser Läsionen mit Hilfe des konfokalen Mikroskops nach Lagerung in wässriger oder alkoholischer RITC-Lösung beschrieben [Dorfer et al. 2000; Fontana et al. 1996; González-Cabezas et al. 1998; Mannocci et al. 2001]. Diese Methoden haben jedoch den Nachteil, dass die Markierung poröser Strukturen ungleichmäßig erfolgt, da diese abhängig von der Affinität des Farbstoffes zum Lösungsmittel und dem Apatit des Schmelzes ist. Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit zunächst die Methode A (**VI**sualization by **Re**sin **I**nfiltration, VIRIN) entwickelt, bei der ein mit RITC gefärbter Kunststoff [Spurr 1969] zur Visualisierung des Porenvolumens verwendet wurde. Durch die geringe Viskosität des Kunststoffes und seine benetzenden Eigenschaften konnte eine Infiltration des kariösen Schmelzes bei vergleichsweise geringem Druck (0,8 MPa) erreicht werden. Somit scheint diese Vorgehensweise effektiver als die beschriebene Infiltration poröser Hartgewebe mit wesentlich visköserem, gefärbtem Epoxidharz in einem eigens konstruierten Autoklaven bei 200 MPa [Uchtmann und Wilkie 1997], zumal aufgrund der hohen Viskosität des hierbei verwendeten Kunststoffes grazile Schmelzstrukturen zerstört werden könnten.

Gegenüber der Verwendung wässriger, fluoreszierender Lösungen hat die Visualisierung initialer kariöser Läsionen durch Penetration eines erhärtenden Kunststoffes den Vorteil, dass die demineralisierte Schmelzstruktur durch das Auffüllen der Porositäten gefestigt wird und somit ein Kollabieren des fragilen Gerüsts während der Präparation der Proben verhindert werden kann. Einerseits wird die Qualität der erstellten Bilder hierdurch zwar erhöht, andererseits erfordert die Methode einen wesentlichen höheren Zeitaufwand.

Zur gleichzeitigen Darstellung der Infiltrationskunststoffe wurde das zusätzliche Anfärben mit einem grün fluoreszierenden Farbstoff in Erwägung gezogen. Leider war die Darstellung der infiltrierten Kunststoffe mit keinem der in Vorversuchen verwendeten Farbstoffe (Natriumfluorescein, Fluoresceinisothiocyanat) zuverlässig möglich. Deshalb wurde auf die in der Literatur beschriebene Anfärbung der Infiltrationskunststoffe mit Rhodamin-B-isothiocyanat [Pioch et al. 1997], einem rot fluoreszierenden Farbstoff, zurückgegriffen. In Vorversuchen konnte diesbezüglich gezeigt werden, dass ein hydrophoberes, rot fluoreszierendes Farbmolekül, Tetramethylrhodaminisothiocyanat (TRITC), noch besser mit den Infiltrationskunststoffen vermischt werden konnte. Eine Beeinflussung der Penetrationseigenschaften der Infiltrationskunststoffe scheint aufgrund der geringen Molekülgröße dieses Farbstoffes unwahrscheinlich, kann allerdings nicht völlig ausgeschlossen werden.

Die unausgefüllten Läsionsbereiche wurden anschließend nach senkrechtem Schnitt durch die Läsionen mit alkoholischer Natriumfluoresceinlösung, einem grün fluoreszierendem Farbstoff, angefärbt. Somit war eine Visualisierung des Infiltrationskunststoffe und der verbliebenen Porenvolumina innerhalb eines Bildes möglich (Methode B). Zur artefaktfreien Darstellung (vor allem Doppelfluoreszenzen aufgrund überschneidender Absorptionsspektren) wurde darüber hinaus bei der Evaluierung des Infiltranten an natürlichen Läsionen (Abschnitt 5) zunächst ein Bild im TRITC-Modus und erst hiernach das grün fluoreszierende Bild generiert. Zur Erleichterung der Orientierung wurden in diesem Fall ebenfalls Bilder im „Trans-Modus“ anhand von Dünnschliffen erstellt. Diese Kombination von Visualisierungsverfahren ermöglichte eine relativ zuverlässige Abgrenzung von histologischen Schmelzstrukturen, insbesondere der Oberflächenschicht, vom relativ tief (bis zu 1000 μm) in natürliche Läsionen penetrierenden Infiltranten (Material 11). Die Darstellung des meist nur bis zu 100 μm penetrierenden Adhäsivsystems Excite® (Abschnitte 4b und 4c) war hingegen anhand von Blöcken ohne die zusätzliche Generierung eines Trans-Bildes möglich. Zur Bestimmung des Mineralgehaltes der Oberflächenschicht sowie des Läsionskörpers wurden in den Abschnitten 4a, 4c und 5 darüber hinaus mikroradiografische Bilder angefertigt.

Aufgrund der einheitlicheren Struktur der In-vitro-Läsionen wurde in den Abschnitten 3b auf eine Anfärbung der Infiltranten verzichtet. Die alleinige Visualisierung des verbliebenen Porenvolumens in Kombination mit Trans-Bildern der Kontrollhälften ermöglichte eine zuverlässige Bestimmung der Penetrationstiefen der Adhäsivsysteme sowie der Infiltranten.

Darüber hinaus wurden in Abschnitt 3b zusätzlich TMR-Aufnahmen angefertigt, so dass eine Kontrolle der mit dem CLSM ermittelten Läsionstiefen vorgenommen werden konnte.

Durch die Verwendung mehrerer Visualisierungsmethoden innerhalb eines Abschnittes (Abschnitte 3b, 4a, 4c, 5) konnten Fehlinterpretationen minimiert werden, die bei alleiniger Verwendung von CLSM-Bildern aufgrund der bei dieser Methode fehlenden Eichmöglichkeit der fluoreszierenden Farbstoffe auftreten. Die Detektion von Eigenfluoreszenzen des Schmelzes war bei allen gewählten Filtereinstellungen nicht zu erwarten und konnte bei keiner der Proben festgestellt werden. Aufgrund der beschriebenen Problematik bei der Interpretation von CLSM-Bildern bei der Doppelfärbetechnik (z. B. Methode B in der vorliegenden Arbeit) sollte neben dieser Methode möglichst eine weitere (z. B. Trans-Modus, REM, TMR) bei der Betrachtung von Kunststoff- und Zahnstrukturen genutzt werden.

7.2. Diskussion der Ergebnisse

7.2.1. Abschnitt 1: Vergleich der verschiedenen Auswertungsmethoden mit dem CLSM mit denen der TMR

In Abschnitt 1 der vorliegenden Arbeit wurden die CLSM-Methoden A (Penetration von Spurr's Kunststoff) und C (Imbibition mit Natriumfluorescein) bezüglich der Läsionstiefenbestimmung mit dem Goldstandard, der transversalen Mikroradiografie, korreliert. Methode B unterschied sich nur hinsichtlich des zusätzlichen Anfärbens des Infiltranten von C, so dass diese ebenfalls indirekt validiert wurde.

Die Läsionstiefen wurden bei Auswertungsmethode CLSM A1 als der Abstand von der Oberfläche bis zu der Schicht, in der die Prismenzentren gerade keine Fluoreszenz mehr aufwiesen, definiert. Dies entspricht dem Bereich des so genannten Läsionskörpers, da in diesem eine Demineralisation der Prismenkerne stattfindet [Frank 1990; Pearce und Nelson 1989; Shellis und Hallsworth 1987]. Bei Methode CLSM A2 konnte eine derartige Abgrenzung, aufgrund der geringeren Vergrößerung, nicht vorgenommen werden. Der Läsionskörper wurde hierbei als ein Bereich größerer Fluoreszenz von einer tiefer gelegenen Zone mit schwächerer Fluoreszenz abgegrenzt. Bei dieser zweiten Zone, der Demineralisationsfront, könnte es sich um den in der Polarisationsmikroskopie als transluzente Zone bezeichneten Bereich handeln [Silverstone et al. 1988], der bei Darstellung mit Methode CLSM A1 als eine Zone mit ausschließlicher Demineralisation der Prismenperipherie dargestellt werden konnte. Bei Methode CLSM C konnte dieser Unterschied in der Struktur nicht dargestellt werden, so dass Bereiche, die zumindest leicht fluoreszierten ebenfalls im Messbereich der Läsionstiefe lagen, was zu höheren Messwerten im Vergleich zur Methode CLSM A führte. Allerdings waren die auf diese Weise bestimmten Läsionstiefen niedriger im Vergleich zu denjenigen, die mit der Methode CLSM A2 b gemessenen wurden. Aufgrund der sehr hohen Korrelationskoeffizienten nach Pearson kann dennoch von einer großen relativen Übereinstimmung der drei Auswertungsmethoden ausgegangen werden. Da jedoch im Gegensatz zur TMR keine Standardisierung der Helligkeitswerte mit Hilfe einer externen Eichtreppe erfolgte, sollte bei Verwendung des konfokalen Mikroskops eine möglichst standardisierte Aufnahmetechnik (gleiche Photomultipliergain- sowie offseteinstellung) eingehalten werden, um Fehlinterpretationen zu vermeiden.

Die TMR definiert die Läsionstiefe als den Abstand von der Probenoberfläche bis zu der Läsionstiefe der Demineralisation, wo der mikroradiografisch bestimmte Mineralgehalt 95 %

des gesunden Schmelzes beträgt [Arends und ten Bosch 1992]. Bereits früher wurde darauf hingewiesen, dass auf diese Weise die Läsionstiefen gegenüber der lichtmikroskopischen Auswertung unterschätzt werden [Silverstone 1982], da mit der TMR nur die Ausdehnung des Läsionskörpers und eben die Bereiche der Demineralisationsfront unzureichend erfasst werden. Dies scheint mit den Methoden CLSM A1 und A2 noch in größerem Ausmaß der Fall zu sein, während bei Methode CLSM C nur leicht geringere Läsionstiefen gemessen wurden. Mit Methode CLSM A2 b wurden hingegen sämtliche demineralisierte Bereiche der Läsionen als Läsionstiefe erfasst, wodurch höhere Werte im Vergleich zur TMR resultierten, die mit der erwähnten Definition der Läsionstiefe mit dem Lichtmikroskop vergleichbar sein dürften. Dennoch konnte eine gute relative Übereinstimmung zwischen den Läsionstiefen, die anhand von CLSM- und TMR-Bildern gemessen wurden, aufgezeigt werden; dies bestätigen die Beobachtungen anderer Autoren [Fontana et al. 1996; González-Cabezas et al. 1998]. Die Penetration von Spurr's Kunststoff beeinflusste die Auswertung der Läsionstiefe und des Mineralverlustes nicht maßgeblich. Die Hypothese, dass zwischen den mit dem CLSM und der TMR bestimmten Läsionstiefen von In-vitro-Läsionen gute Korrelationen bestehen, konnte somit zumindest relativ betrachtet bestätigt werden. Die unterschiedlichen Mittelwerte und die somit niedrigeren IKK's verdeutlichen allerdings, dass die anhand von CLSM-Methoden evaluierten absoluten Messergebnisse sowohl untereinander als auch im Vergleich zur TMR differieren.

Darüber hinaus zeigte der Vergleich exemplarisch ausgewählter Grauwert-Kurven der Methode CLSM A2 mit der TMR eine deutliche Ähnlichkeit der Grafen. Eine Bestimmung des Mineralgehaltes anhand der Fluoreszenz ist dennoch nicht zuverlässig möglich [Fontana et al. 1996; González-Cabezas et al. 1998], da im Gegensatz zur TMR keine Eichtruppe vorhanden ist. Hierdurch kann bei der TMR jedem Grauwert im Mikroradiogramm ein definierter Mineralgehalt zugeordnet werden, so dass Belichtungsfehler kompensiert werden können. Eine Quantifizierung der Leuchtintensitäten wäre insbesondere für Methode A (VIRIN) denkbar, da hierbei der fluoreszierende Farbstoff mit Hilfe des Kunststoffes fixiert wird. Eine „Eichtruppe“ für VIRIN könnte hierbei aus Keramikblöcken mit unterschiedlichen, definierten offenen Porenvolumina bestehen, welche oberhalb jeder Läsion angebracht und ebenfalls mit Kunststoff infiltriert würden. Die Helligkeitsstufen dieser Keramikblöcke könnten somit als Referenzwerte für unterschiedliche Helligkeitsstufen des CLSM-Bildes dienen. Sollte eine derartige Standardisierung der VIRIN-Methode gelingen und sich der Zusammenhang zwischen Fluoreszenz und Porenvolumen bestätigen, könnte VIRIN zur Abschätzung des Mineralverlustes alternativ zur TMR verwendet werden.

7.2.2. Abschnitt 2: Penetrationsverhalten von Adhäsivsystemen sowie deren Auswirkungen auf die Läsionsprogression

Zunächst wurden künstlich erzeugte kariöse Läsionen mit 20%igem Phosphorsäuregel für 5 s geätzt. Die Oberflächenschicht einer initialen Läsion besitzt zwar 10-50-mal mehr Poren als die gesunde Schmelzoberfläche [Silverstone 1973b]; dennoch beträgt dieses Porenvolumen insgesamt nur 1 % der Oberfläche. Diese Barriere lässt ohne vorherige Ätzung der Läsion nur eine geringere Penetration eines Adhäsivs erwarten [Gray und Shellis 2002]. Frühere Studien beschrieben eine Erhöhung der Penetrationstiefen der Versiegler in künstliche Läsionen nach kurzer Ätzung (5 s) der Oberflächenschicht [Gray und Shellis 2002; Robinson et al. 1976]. Eine längere Ätzzeit führte *in vitro* neben einem größeren Substanzverlust zu einer Destabilisierung der Läsionsoberfläche der künstlichen Läsionen, jedoch zu keiner Erhöhung der Penetrationstiefen [Gray und Shellis 2002]. Die hierzu in der Regel verwendeten Gele haben aufgrund ihrer höheren Viskosität den Vorteil, dass die Säure nur schwer durch Kapillarkräfte in den Läsionskörper gelangt, wo sie den geschwächten Schmelzkörper demineralisieren und somit ein Kollabieren der Läsion begünstigen könnte. Da natürliche Läsionen aufgrund längerer Remineralisationsperioden meist jedoch stärker mineralisierte Oberflächenschichten ausbilden, scheinen bei diesen längere Ätzzeiten und stärker konzentrierte Säuren sinnvoll (siehe Abschnitt 4a).

Im Gegensatz zu bisherigen Studien zur Versiegelung initialer Schmelzläsionen [Davila et al. 1975; Garçía-Godoy et al. 1997; Goepferd und Olberding 1989; Gomez et al. 2005; Gray und Shellis 2002; Martignon et al. 2006; Robinson et al. 2001; Robinson et al. 1976; Rodda 1983; Schmidlin et al. 2004] wurde in der vorliegenden Arbeit auf eine vollständige Entfernung eines eventuell verbliebenen Überschusses des jeweiligen Kunststoffmaterials geachtet. Ein möglicher Grund für den in den genannten Studien gewählten Versuchsaufbau (teilweise ist die genaue Vorgehensweise nicht dokumentiert) könnte sein, dass der Versiegelungseffekt, analog einer Fissurenversiegelung, durch eine auf den Schmelz aufgebrachte Kunststoffschicht erzielt werden sollte, wobei dennoch der Tatsache Beachtung geschenkt wurde, dass der Kunststoff teilweise auch in die Läsionen eindrang. Andere Arbeitsgruppen favorisieren die Applikation einer Polymerfolie auf gesunde Approximalflächen [Schmidlin et al. 2002; Schmidlin et al. 2006; Schmidlin et al. 2005].

Die vorliegende Arbeit verfolgte hingegen das Konzept der Etablierung einer Diffusionsbarriere innerhalb der kariösen Läsion durch Infiltration der Karies mit Kunststoffen ohne das Belassen einer kompakten Kunststoffschicht auf der Oberfläche. Im

Gegensatz zu den erwähnten Methoden anderer Arbeitsgruppen könnten somit bei der klinischen Anwendung iatrogene Plaqueretentionsstellen, die Ausgangspunkt für kariöse und parodontopathogene Prozesse darstellen, weitestgehend vermieden werden.

Um auszuschließen, dass das unpolymerisierte Kunstharz die eingebrachten Versiegler anlösen könnte, wurden in einem Vorversuch ausgehärtete und polierte Proben der jeweiligen Materialien über mehrere Stunden in dem Kunststoff gelagert. Die anschließende Untersuchung der Oberfläche unter einem Auflichtmikroskop brachte keinen Hinweis auf Anlösungsprozesse.

Adhäsivsysteme können zwar feuchtes Dentin benetzen, da diese teilweise polare Lösungsmittel enthalten. Allerdings scheint die Penetration von Adhäsiven in künstlichen Läsionen bei nasser Oberfläche im Vergleich zur vorherigen Dehydrierung mit Ethanol verringert [Gray und Shellis 2002], da Kapillarkräfte nur bei luftgefülltem Raum wirken können. Deshalb wurden in der vorliegenden Arbeit in allen Abschnitten (2-5) die Läsionen nach Dehydrierung mit Ethanol luftgetrocknet und hiernach bei Mundtemperatur (35 °C) das jeweilige Adhäsiv appliziert. Die beobachteten Penetrationstiefen bei Heliobond[®], Helioseal[®], Resulcin Monobond[®] sowie Excite[®] nach 30 s Applikation waren hierbei vergleichbar mit den Ergebnissen für Seal and Protect[®] sowie Scotchbond[®], die Penetrationstiefen von 89 % bzw. 90 % der Läsionstiefe (80-205 µm) aufwiesen [Gray und Shellis 2002]. Heliobond[®] zeigte nach 20 s Applikation vergleichbare Penetrationstiefen wie in der vorliegenden Arbeit [Schmidlin et al. 2004].

Die vergleichbaren Ergebnisse für Helioseal[®] und Heliobond[®] in dieser Arbeit lassen sich durch die ähnliche Zusammensetzung beider Materialien erklären, auch wenn Helioseal[®], vermutlich wegen des Zusatzes von Titandioxid, etwas geringere Penetrationstiefen nach 15 s bzw. 30 s im Vergleich zu Heliobond[®] aufwies. Die geringsten Penetrationstiefen des acetonbasierenden Adhäsivsystems Solobond M[®] könnten durch das schnelle Verdunsten dieses Lösungsmittels mit der daraus resultierenden Erhöhung der Viskosität erklärt werden. Aceton wird in dentalen Adhäsiven als Lösungsmittel eingesetzt, da es eine Verringerung der Viskosität und der Oberflächenspannung bewirkt. Eine herabgesetzte Oberflächenspannung könnte sich allerdings negativ auf den Penetrationskoeffizienten auswirken, so dass entsprechende Adhäsivsysteme zur Infiltration von kariösen Läsionen auch aus diesem Grund ungeeignet erscheinen (vgl. Abschnitt 3a). Adper Prompt L-Pop[®] enthält Wasser als Lösungsmittel, scheint aber auch aufgrund der Eigenschaften der sonstigen Bestandteile nicht ausreichend auszuhärten. Die nur unzureichend gehärteten Bereiche wurden anhand der CLSM-Bilder nicht dargestellt, so dass die eigentlichen Penetrationseigenschaften

wahrscheinlich unterschätzt wurden. Die lösungsmittelfreien Materialien Resulcin Monobond[®], Helioseal[®] und Heliobond[®] waren hingegen mit Excite[®] hinsichtlich der Penetration der Läsionen vergleichbar und zeigten darüber hinaus wenig Porositäten innerhalb der Adhäsivschichten.

Die Verlängerung der Penetrationsdauer von 15 s auf 30 s bis zu 90 s resultierte bei allen Materialien in einer Erhöhung der Penetrationstiefe. Dies bestätigen die beobachteten Reduktionen des Porenvolumens nach ein- bis zu dreimaliger Applikation von Adhäsiven [Robinson et al. 2001]. Eine Verdopplung der Penetrationszeit führte jedoch nicht zu einer Verdopplung der Penetrationstiefe. Der quadratische Zusammenhang zwischen der Penetrationstiefe und dem Produkt des PK und der Zeit (Washburn-Gleichung) konnte zumindest für die beiden kürzeren Applikationszeiten (15 s und 30 s) belegt werden, da die meisten Materialien bereits nach 30 s die Läsionen nahezu vollständig penetrierten (vgl. Abschnitt 3).

Die Inhibierung der Progression kariöser Läsionen durch Kariesinfiltration wurde bisher unter Belassung von Überschüssen evaluiert, wobei keines der verwendeten Adhäsivsysteme einen weiteren Mineralverlust vollständig verhindern konnte [Robinson et al. 2001]. Andere Studien, aus denen allerdings nicht hervorgeht, ob überschüssiger Kunststoff auf der Läsionsoberfläche belassen wurde, konnten eine vollständige Inhibierung [Garçía-Godoy et al. 1997] oder zumindest eine signifikante Verminderung der Kariesprogression im Vergleich zur unbehandelten Kontrollläsion [Donly und Ruiz 1992; Goepferd und Olberding 1989] beobachten. Dies konnte im vorliegenden Abschnitt für Läsionen, auf denen keinerlei Überschuss belassen wurde, bestätigt werden und deckt sich mit Beobachtungen, dass geätzter und hiernach versiegelter Schmelz, dessen kompakte Kunststoffschicht anschließend entfernt wurde, wesentlich säureresistenter ist als unbehandelter Schmelz [Hicks und Silverstone 1982].

Die teilweise negativen Werte der Progression der Läsionstiefe sind wahrscheinlich methodisch bedingt und stellen keinesfalls eine wirkliche Remineralisation dar. Da jeweils zwei Probenhälften miteinander verglichen wurden und die Demineralisationstiefen innerhalb einer Probe nicht an allen Stellen vollkommen identisch waren, ergaben sich für die Läsionsprogression immer dann negative Werte, wenn die Läsionen der abgedeckten Kontrollhälfte schon vor der zweiten Demineralisationsperiode geringfügig tiefer waren als die der Effekthälften und aufgrund der suffizienten Versiegelung keine messbare Progression der Effekthälfte stattfand.

Die bisher verfügbaren Studien zur Versiegelung von initialen kariösen Läsionen durch Infiltration mit Kunststoffen erlauben aufgrund der gewählten Visualisierungsmethoden nur wenige Aussagen über die Beschaffenheit der Versiegelschicht [Davila et al. 1975; Garçía-Godoy et al. 1997; Goepferd und Olberding 1989; Gray und Shellis 2002; Robinson et al. 2001; Robinson et al. 1976; Rodda 1983; Schmidlin et al. 2004]. Aufgrund der qualitativen Ergebnisse wird deutlich, dass eine Erhöhung der Penetrationstiefe nicht unbedingt mit der Ausbildung einer kompakten Kunststoffschicht einhergeht. Eine möglichst kompakte Schicht scheint allerdings zur Verhinderung der Läsionsprogression vorteilhaft. Neben einer oberflächlichen Sauerstoffinhibitionsschicht bei längerer Penetrationsdauer (vor allem Excite[®] nach 90 s) sind unversiegelte Areale (vor allem Adper Prompt L-Pop[®]) für eine schlechte Versiegelungswirkung ursächlich. Bei Adper Prompt L-Pop[®] ist dies wie oben bereits beschrieben wahrscheinlich auf eine unzureichende Aushärtung zurückzuführen. Excite[®] hingegen enthält ca. 26 % Ethanol, welches bei einmaliger Applikation in die obersten Bereiche der Läsionen diffundierte und dort die Polymerisation hemmte. Durch zweimaliges Auftragen konnte allerdings eine nahezu vollständige Reduktion der Sauerstoffinhibitionsschicht erzielt werden, so dass dieses Material bevorzugt bei kurzer Verarbeitungszeit oder zweimaliger Applikation angewendet werden sollte, obwohl unter den gewählten demineralisierenden Bedingungen (14 Tage bei pH 5) auch bei ausgeprägter Sauerstoffinhibitionsschicht (Excite[®] nach 90 s) keine Läsionsprogression beobachtet werden konnte. Dies war ebenfalls bei unvollständiger Penetration (Solobond M[®] nach zweimaliger Applikation von 90 s) der Fall. Allerdings ist zu vermuten, dass partiell gefüllte Läsionen bei stärkeren demineralisierenden Einflüssen größere Läsionsprogression als tiefer penetrierte Läsionen aufweisen könnten.

Die Ergebnisse des Abschnittes 2 zeigen erstmalig, dass es möglich ist, den Läsionskörper sowie tiefere Läsionsbereiche von künstlichen Läsionen mit einem Adhäsivsystem zu penetrieren. Darüber hinaus konnten durch das Auffüllen der Poren die Läsionen bei einer gewählten Säureexposition von 14 Tagen vor einer weiteren Demineralisation geschützt werden. Die Hypothese, dass eine Verlängerung der Applikationszeit (a) zu einer erhöhten Penetrationstiefe in kariösen Läsionen und somit zu einer verbesserten Inhibierung der Kariesprogression führt, konnte zumindest für vier der verwendeten Materialien bestätigt werden. Die zweimalige Applikation bei längerer Applikation führte hingegen bei keinem Material zur Erhöhung der Penetration und nur bei einem Material zu einer Verbesserung der Kariesinhibition, so dass diese Hypothese (b) weitestgehend widerlegt wurde. Dennoch könnte eine mehrfache Applikation bei tieferen Läsionen durch ein verändertes

Penetrationsverhalten der Materialien sinnvoll sein, was in weiterführenden Studien berücksichtigt werden sollte.

7.2.3. Abschnitt 3: Penetrationskoeffizienten und -verhalten von Adhäsivsystemen sowie experimenteller Infiltranten und deren Auswirkungen auf die Läsionsprogression

Der Penetrationskoeffizient (PK) wurde bereits bei einigen dentalen Materialien als Parameter herangezogen [Asmussen 1977a; Asmussen 1977b; Bottenberg et al. 1996; Fan et al. 1975; Faust et al. 1978; Lekka et al. 1989; O'Brien et al. 1978]. Allerdings wurde dieser bisher nicht zur Evaluierung von Adhäsivsystemen, die zur Infiltration von kariösen Läsionen verwendet werden sollen, verwendet. Bisher wurden die Penetrationskoeffizienten niedrig-visköser dentaler Kunststoffe mit Hilfe der Bestimmung der Penetrationsgeschwindigkeit in Glaskapillaren untersucht [Fan et al. 1975; Faust et al. 1978; Lekka et al. 1989; O'Brien et al. 1978]; seltener wurden die Penetrationskoeffizienten von Ätzzellen anhand der einzelnen Parameter Oberflächenspannung, Kontaktwinkel und Viskosität mit analogen Geräten ermittelt [Asmussen 1977a]. In der vorliegenden Studie wurden digitale Messungen der drei Parameter vorgenommen, die sehr konstante Daten lieferten, so dass auf eine statistische Auswertung verzichtet werden konnte.

Aufgrund der besseren Verfügbarkeit und der größeren Flächen wurde boviner Schmelz dem humanen als Model zur Kontaktwinkelbestimmung vorgezogen, da aufgrund der größeren Oberfläche auf diese Weise auch gut benetzende Kunststoffe evaluiert werden konnten. Aufgrund der bereits unter 6.1.1. beschriebenen Ähnlichkeit der beiden Zahnhartsubstanzen scheinen die Messergebnisse gut auf humanen Schmelz übertragbar. Aus Gründen der Standardisierung erfolgte die Bestimmung des Kontaktwinkels auf polierten Oberflächen gesunden Schmelzes und nicht auf der Oberfläche kariöser Läsionen. Die dort vorhandenen Porositäten hätten die Tropfenbildung zeitabhängig in Richtung einer Erhöhung des Winkels beeinflusst [Buckton 1995]. Deshalb sind die gemessenen Kontaktwinkel etwas größer als diejenigen, die bei der Applikationen eines Kunststoffes auf eine Läsion erwartet würden. Darüber hinaus wurden die Kontaktwinkel auf gereinigten Oberflächen gemessen. Durch die in der klinischen Situation auftretende Kontamination der Oberfläche nimmt deren Energie ab, wodurch die Benetzbarkeit verringert wird [Baier 1992]. Deshalb sollte einerseits auf eine gründliche Reinigung der zu behandelnden Oberfläche geachtet werden. Andererseits könnten

hydrophile Monomere und Lösungsmittel verwendet werden, die auch Schmelzbereiche mit niedriger Oberflächenenergie gut benetzen.

Bei vier der in Abschnitt 2 verwendeten kommerziellen Adhäsive (Helioseal[®], Heliobond[®], Resulcin Monobond[®] und Excite[®]) korrelierte die Penetrationsgeschwindigkeit nach bis zu 30 s gut mit den in diesem Abschnitt bestimmten Penetrationskoeffizienten. Das Verdunsten des Acetons aus Solobond M[®] scheint hingegen für die schlechte Penetration des Solobond M[®] ursächlich, da die Messungen der Parameter des PK in acetonhaltigem Medium einen sehr hohen PK ergaben. Auch Adper Prompt L-Pop[®] zeigte einen höheren PK als die Bestimmung der Penetrationsgeschwindigkeit hätte vermuten lassen, was an einer Entmischung während der Penetration liegen könnte. Darüber hinaus scheint dieses Material nicht ausreichend auszuhärten. Nicht zuletzt bildet dieses Material aufgrund des enthaltenen Lösungsmittels (Wasser), welches bei Penetration in die Schmelzstruktur nicht effizient entweichen kann, nur unzureichend kompakte Schichten aus, wodurch die Penetrationstiefe eventuell unterschätzt wurde.

Allerdings vereinfacht die Berechnung des Penetrationskoeffizienten mit Hilfe der *Washburn*-Gleichung die tatsächlichen Verhältnisse bei der Infiltration von Kunststoffen in kariöse Läsionen, da es sich hierbei eben nicht um eine offene Kapillare handelt, so dass die in der Läsion befindliche Luft eine Penetration hemmen könnte [Asmussen 1977b]. Darüber hinaus hat die Oberflächenspannung eine widersprüchliche Auswirkung auf die Penetrationseigenschaften, da eine für die Penetration förderliche hohe Oberflächenspannung das Entweichen von Luft aus den Porositäten verschlechtert, weil die hiermit verbundene Vergrößerung der Flüssigkeits-Gas-Grenzfläche mit einem hohen Anstieg von Energie im System verbunden ist. Bei Flüssigkeiten mit geringer Oberflächenspannung ist dieser Energieanstieg hingegen bedeutend geringer und somit die Wahrscheinlichkeit größer, dass gefangene Luft entweichen kann. Diese Problematik wurde bereits im Zusammenhang mit der Eindringtiefe von Ätzzellen in Fissuren diskutiert [Bottenberg et al. 1996]. Darüber hinaus nimmt der Porendurchmesser mit Erhöhung der Läsionstiefe ab [Silverstone 1973a], woraus eine verringerte Penetrationsgeschwindigkeit resultieren könnte.

Im Vergleich zu den in Abschnitt 2 zur Kariesinfiltration am besten erscheinenden vier Adhäsivsystemen konnten bei Kunststoffen, die aus HEMA bzw. TEGDMA in Kombination mit Ethanol bestanden, sehr hohe Penetrationskoeffizienten bestimmt werden. Dies lag vor allem an den niedrigen Viskositäten und Kontaktwinkeln zu Zahnschmelz. Da der Kontaktwinkel allerdings nur im Kosinus in die Formel des Penetrationskoeffizienten eingeht, scheint vor allem die Viskosität für die Abschätzung des Penetrationsverhaltens von

Kunststoffen in kariöse Läsionen anhand des PK ausschlaggebend. Allerdings zeigten die aus HEMA und Ethanol bestehenden Mixturen nur eine unzureichende Härtung, so dass vor allem eine Kombination aus TEGDMA und Ethanol bzw. diesen beiden in Kombination mit niedrigeren Konzentrationen BisGMA am besten zur Kariesinfiltration geeignet erscheinen.

Die Ergebnisse des Abschnittes 3b verdeutlichen die postulierte Abhängigkeit der Penetrationstiefen vom Penetrationskoeffizienten. Allerdings erreichten die Materialien 8-12 bereits nach 22 s (8 und 9) bzw. 10 s (10-12) die maximale Läsionstiefe von 300 µm, so dass die Korrelation nur für die initiale Penetration in künstliche Läsionen bestätigt werden konnte. Die Progression der mit dem CLSM gemessenen Läsionstiefen korrelierte ebenfalls gut mit den Penetrationstiefen sowie dem -koeffizienten. Somit konnte die Hypothese betätigt werden, dass durch die Erhöhung der Penetrationstiefe eines Infiltranten die Läsionsprogression bei einer weiteren Säureexposition verringert werden kann.

Anhand der mikroradiografischen Auswertung erscheint dieses Ergebnis allerdings tendenziell nicht bestätigt zu werden, da hier das Material 9 etwas geringere Läsionsprogressionen im Vergleich zu 10-12 aufweist. Insbesondere der Mineralverlust scheint durch Materialien, die neben TEGDMA zusätzlich 25 % BisGMA und Ethanol enthalten (Materialien 8 und 9) besser inhibiert zu werden als durch die Materialien, die ausschließlich aus TEGDMA bzw. TEGDMA und Ethanol bestehen (Materialien 10-12). Dies könnte zum einen an einer höheren Polymerisationsschrumpfung liegen [Kalachandra und Kusy 1991; Kalachandra et al. 1993] und zum anderen an einer schlechteren Konversionsrate bei der Polymerisation [Peutzfeldt 1997]. Hieraus entsteht ein höherer Restmonomergehalt im Vergleich zu BisGMA oder anderen dreidimensional vernetzenden Monomeren, woraus eine größere Wasseraufnahme sowie eine schlechtere Biokompatibilität resultiert [Geurtsen 1998]. Die Unterschiede in der Läsionstiefenmessung zwischen CLSM und TMR liegen wahrscheinlich darin begründet, dass aufgrund der vollständigen Penetration der Materialien 10-12 bei der Auswertung der Läsionstiefe anhand der CLSM-Bilder oftmals die Baseline-Läsion herangezogen wurde, da aufgrund der nur geringeren Läsionsprogressionen sowie der vollständigen Infiltration der Läsion die Grenzen zwischen Läsion und gesundem Schmelz nicht zuverlässig darstellbar waren. Somit wurde das Ergebnis der Läsionsprogressionen anhand der CLSM-Bilder wahrscheinlich zu positiv beurteilt, während anhand der TMR-Darstellung diese geringen Veränderungen der Läsionstiefe visualisiert und quantifiziert werden konnten. Die deutlichen Mineralverluste der Materialien 10-12 könnten darüber hinaus darin begründet sein, dass diese Materialien aufgrund der hohen TEGDMA-Konzentration eine geringere Konversionsrate aufwiesen [Peutzfeldt 1997]. Insbesondere bei

den beiden Materialien, die zusätzlich Ethanol enthielten (Nr. 11 und 12) könnte dies zu der beobachteten tendenziell schlechteren Läsionsinhibierung geführt haben. Interessanterweise war dies insbesondere bei 40-sekündiger Applikation des mit der höchsten Konzentration an Ethanol in Kombination mit TEGDMA (Nr. 12) der Fall. Durch die längere Penetrationszeit könnte vermehrt Ethanol aus der Läsion an die Oberfläche getreten sein und dort die Polymerisation negativ beeinflusst haben.

Die in diesem In-vitro-Versuch gewählte Expositionsdauer der infiltrierten Läsionen von 50 Tagen entspricht einer In-vivo-Demineralisationszeit von ca. zwei Jahren, wenn man von sechs Demineralisationsphasen pro Tag ausgeht. Unter klinischen Bedingungen werden jedoch auch Phasen der Remineralisation erwartet. Allerdings ist unklar, ob bis an die Schmelz-Dentin-Grenze extendierte Läsionen, die meist Kavitationen aufweisen, überhaupt vollständig remineralisiert werden können, weshalb diese Läsionen bisher operativ behandelt werden [Elderton 1993; Woodward und Leake 1996]. Darüber hinaus sammelt sich Plaque im Läsionskörper vorangeschrittener Läsionen, so dass ein saures Milieu innerhalb der Läsion entsteht, was dort längerfristig bestehen bleiben kann, da weniger neutralisierende bzw. remineralisierende Effekte durch den Speichel zu erwarten sind [Kidd und van Amerongen 2003]. Deshalb scheint das gewählte In-vitro-Modell zumindest zum Vergleich verschiedener Materialien geeignet.

Die Daten des Abschnittes 3 verdeutlichen, dass vor allem die Penetration künstlicher Läsionen aber auch die Inhibierung der Kariesprogression durch die Verwendung von Infiltranten gegenüber Excite® verbessert werden können. Dennoch bedarf es weiterer Untersuchungen bezüglich der adäquaten Verwendung der entwickelten Infiltranten, um gegebenenfalls eine vollständige Inhibierung der Kariesprogression unter den gewählten In-vitro-Bedingungen erzielen zu können. Die Hypothesen, dass „Infiltranten“ mit höherem Penetrationskoeffizienten In-vitro-Läsionen in kürzerer Zeit tiefer penetrieren, wodurch eine verbesserte Inhibierung der Kariesprogression ermöglicht wird, konnten somit zumindest teilweise bestätigt werden.

7.2.4. Abschnitt 4: Einflussfaktoren bei der Behandlung natürlicher kariöser Läsionen mit einem Adhäsivsystem *in vitro*

Im Vergleich zu künstlichen weisen natürliche Schmelzläsionen dickere Oberflächenschichten auf. Darüber hinaus konnten insbesondere bei inaktiven, länger

bestehenden Läsionen aufgrund periodischer De- und Remineralisationsvorgänge sehr variable Oberflächenschichtdicken beobachtet werden [Kidd 1983]. Die in den Abschnitten 4 und 5 der vorliegenden Arbeit verwendeten natürlichen Läsionen bestätigen die große Variabilität der Ausdehnungen der Oberflächenschichten. Der Mittelwert des maximalen Mineralgehalts der Oberflächenschicht (82 Vol.%) bestätigt ebenfalls frühere Untersuchungen, wobei die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Läsionen (45-48 µm) etwas größere mittlere Oberflächenschichtdicken aufwiesen als in einer früheren Untersuchung (40 µm) [Bergman und Lind 1966]. Hierbei ist anzumerken, dass in Abschnitt 4a 42 % der Läsionen eine Oberflächenschichtdicke von mehr als 50 µm aufwiesen, während dies in Abschnitt 4c nur bei 27 % der Läsionen der Fall war.

Um eine Inhibierung der Kariesprogression durch Kunststoffinfiltration zu erzielen, könnte die Etablierung einer möglichst tief penetrierenden, kompakten Kunststoffschicht sinnvoll sein. Die Oberflächenschicht stellt hierbei allerdings eine natürliche Diffusionsbarriere dar [Larsen und Pearce 1992]. Zur Verbesserung der Penetrationsfähigkeit eines Kunststoffes in künstliche Läsionen scheint eine Ätzung mit 37%iger Phosphorsäure ausreichend [Gray und Shellis 2002]. In den Abschnitten 2 und 3 der vorliegenden Arbeit konnte ebenfalls bereits nach 5 s Phosphorsäureätzung eine Erosion der oberflächlichsten Schicht beobachtet werden. Die anschließende initiale Infiltration der Materialien wurde somit ohne Barrierewirkung einer Oberflächenschicht ermöglicht, was durch die gute Korrelation mit den Penetrationskoeffizienten bestätigt werden konnte. Aufgrund der beschriebenen morphologischen Unterschiede war dies bei natürlichen Läsionen mit dieser Säure auch bei längeren Ätzzeiten nicht zu erwarten, da das enthaltene Phosphat mit gelöstem Kalzium sehr wahrscheinlich wiederum Präzipitate bilden würde und somit eine tiefer gehende Erosion der Oberfläche verhindern könnte. Deshalb wurden in Abschnitt 4a zunächst verschiedene Konzentrationen und Einwirkzeiten eines alternativen Ätzgels hinsichtlich der Fähigkeit, eine möglichst zuverlässige Erosion der Oberfläche zu erzielen, evaluiert.

Hierbei wurde Salzsäure (HCl) verwendet, da diese Säure in vergleichbarer Konzentration bereits zur Mikroabrasion von verfärbtem Schmelz eingesetzt wird [Croll und Cavanaugh 1986; Mathewson et al. 1987; McCloskey 1984]. Da Kontaktzeiten von 30 s eines salzsäurehaltigen kommerziellen Produktes zur Mikroabrasion bereits zu Ulzerationen der Gingiva führten, scheint die Verwendung von Kofferdam bei der klinischen Anwendung ratsam [Croll et al. 1990].

Durch die Ätzung mit HCl 15 % für 90 s bzw. 120 s konnte bei ca. 70 % der Läsionen eine Reduktion der im CLSM sichtbaren Oberflächenschicht um 90 % erzielt werden, während

nach 120 s Vorbehandlung mit Phosphorsäure die Oberflächenschichtdicke im Median nur um ca. 40 % reduziert werden konnte. Deshalb scheint die Vorbehandlung mit HCl 15 % für mindestens 90 s zumindest bei der Mehrheit der untersuchten Läsionen geeignet, um einem infiltrierenden Kunststoff einen verbesserten Zugang zum Läsionskörper zu ermöglichen. Die Hypothese, dass eine Ätzung natürlicher Schmelzläsionen mit Salzsäure zu einer ausgeprägteren Erosion der pseudointakten Oberflächenschicht im Vergleich zur Phosphorsäureätzung führt, konnte somit bestätigt werden.

Da im klinischen Alltag möglichst aktive Läsionen, die geringere Oberflächenschichtdicken besitzen dürften, mit der vorgeschlagenen mikroinvasiven Therapie behandelt werden sollen, scheint die mit HCl 15 % erzielbare Erosion von 30 µm ausreichend. Allerdings ist eine Bestimmung des Aktivitätsstadiums zumindest bei einmaliger Diagnostik nicht zuverlässig möglich [Ekstrand et al. 2005], so dass davon auszugehen ist, dass bei Implementierung der Therapie in den Praxisalltag ebenfalls inaktive Läsionen mit ausgeprägten Oberflächenschichten behandelt würden. Ob deshalb eine Verlängerung der Ätzzeit mit HCl ratsam ist, bleibt weiteren Studien vorbehalten.

Die in der vorliegenden Arbeit beobachteten Erosionstiefen nach Ätzung mit Phosphorsäure waren mit denen vergleichbar, die im gesunden Schmelz [Hermsen und Vrijhoef 1993] bzw. bei künstlichen Läsionen [Hicks et al. 1984] beobachtet wurden. Die Oberflächen von Läsionen waren hierbei stabiler gegenüber einer Erosion als gesunde Bereiche [Hicks und Silverstone 1984]; dies konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden. Die Abhängigkeit des Mineralverlustes von der einwirkenden Protonenkonzentration [Hannig et al. 2005; West et al. 2001] konnte in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Darüber hinaus konnte, wie auch in früheren Studien [Hermsen und Vrijhoef 1993; Hicks und Silverstone 1984], eine nahezu lineare Abhängigkeit zwischen der Quadratwurzel der Applikationszeit und der Erosion beobachtet werden. Deshalb scheint die Erosion ein diffusionsabhängiger Prozess zu sein, der durch eine höhere Viskosität eines Ätzgels verlangsamt wird. Diese sollte jedoch aufgrund der zuverlässigeren Applizierbarkeit des Gels sowie der unwahrscheinlicheren Penetration von Protonen in den Läsionskörper, wodurch irreversible Schädigungen wie z. B. das Einbrechen der Oberfläche hervorgerufen werden könnten, angestrebt werden.

In Abschnitt 4b konnte die Hypothese, dass ohne Ätzung fast keine Penetration des Adhäsivsystems möglich ist, bestätigt werden. Durch Salzsäureätzung (120 s; 15 %) konnte hingegen ungefähr eine Verdreifachung der Eindringtiefe im Vergleich zur Phosphorsäure erzielt und somit die Hypothese dieses Abschnittes bestätigt werden. Deshalb ist davon

auszugehen, dass in den beiden bisher veröffentlichten klinischen Untersuchungen zur Versiegelung von Approximalläsionen [Gomez et al. 2005; Martignon et al. 2006] nur eine oberflächliche Versiegelungsschicht etabliert werden konnte, da in diesen Studien Phosphorsäure verwendet wurde. Die makroskopischen bzw. röntgenologischen Läsionsausdehnungen beeinflussten die Penetrationstiefe hingegen kaum, da bei unterschiedlicher histologischer Läsionsausdehnung (S1, S2, D1) vergleichbare Oberflächenschichtdicken vorlagen.

Excite[®] war in der Lage, innerhalb von 30-40 s ca. 80-100 μm in künstliche Läsionen einzudringen (Abschnitte 2a und 3b). Da die initiale Penetration einer Flüssigkeit, wie beschrieben, zeitabhängig ist, hätten theoretisch nach fünf Minuten Einwirkzeit wesentlich höhere Penetrationstiefen auftreten können. Das Adhäsivsystem penetrierte allerdings nur ca. 50-70 μm in die Läsionen, was zum einen an der unvollständigen Auflösung der Oberflächenschicht gelegen haben könnte. Da aber diejenigen Läsionen, die keinerlei Oberflächenschichten nach Ätzung aufwiesen, ebenfalls kaum höhere Penetrationstiefen aufwiesen, scheint dies nur eine geringere Rolle zu spielen. Zum anderen könnten ein höherer Mineralisationsgrad des Läsionskörpers sowie Verunreinigungen, wie z. B. durch Proteine und Lipide, einen Einfluss auf die Penetrationseigenschaften gehabt haben [Robinson et al. 1990]. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass das in den Abschnitten 2 und 3 dargestellte Model mit künstlichen Läsionen nur zu einem Materialvergleich geeignet ist aber keinerlei Rückschlüsse auf die Penetrationstiefen bei natürlichen Läsionen erlaubt.

In Abschnitt 4c wurden im Vergleich zu 4a vergleichbare Erosionen der Oberflächen (CLSM), jedoch wesentlich geringere Reduktionen des Mineralgehaltes der obersten 50 μm der Läsionen (TMR) gemessen. Dies scheint methodisch bedingt, da die Messwerte in Abschnitt 4c an korrespondierenden Läsionshälften bestimmt wurden und eben nicht anhand eines Effekt- und Kontrollbereiches innerhalb einer Läsionshälfte wie bei Abschnitt 4a. Deshalb konnte bei der mikroradiografischen Auswertung die Läsionsoberfläche aufgrund fehlender benachbarter Referenz zumindest bei den Effekthälften nicht zuverlässig bestimmt werden. Die mittlere verbliebene Oberflächenschichtdicke nach Salzsäureätzung (20 μm) war ebenso mit den beiden vorherigen Teilabschnitten vergleichbar, so dass diese Vermutung gestützt wird. Die Penetrationstiefen des Adhäsivsystems ähnelten denjenigen, die in Abschnitt 4b beobachtet wurden und waren ebenso nicht abhängig von der Läsionsausdehnung. Aus diesen Daten kann geschlussfolgert werden, dass in allen drei Teilabschnitten vergleichbare Läsionen ausgewählt wurden, auch wenn die mittleren Oberflächenschichtdicken in Abschnitt 4c etwas geringer waren als in Abschnitt 4a.

Im klinischen Alltag stellt sich eine Karies in vielschichtigen Erscheinungsformen und Stadien dar. Um die Diagnose ‚Karies‘ im Sinne einer behandlungsbedürftigen Läsion stellen zu können, bedarf es zunächst einer Erhebung der Symptome sowie der Detektion von kariösen Veränderungen. Hiernach kann durch Abwägung zahn- und patientenspezifischer Kriterien der Therapieentscheid erfolgen [Nyvad 2004]. Die klassische, rein qualitative, klinische und röntgenologische Kariesdetektion weist hierbei allerdings eine nur sehr geringe Spezifität sowie eine mittlere Sensitivität auf [Ismail 1997] und bietet somit keine gute Basis für den Therapieentscheid.

Deshalb wurde alternativ eine auf der Aktivität einer kariösen Läsion beruhende Kariesdetektion vorgeschlagen. Hierbei wird anhand von Merkmalen der Läsionsoberfläche (Farbe, Glanz, Kavitation, Rauigkeit) eine Graduierung in aktive und inaktive Läsionen vorgenommen [Thylstrup et al. 1994]. Die Reliabilität dieser Beurteilung ist bei der generellen Unterscheidung zwar relativ hoch, allerdings bei makroskopisch nicht kavitierten Läsionen geringer [Nyvad et al. 1999]. In einer weiteren Studie, an der vergleichsweise schlecht kalibrierte Zahnärzte teilnahmen, war die Reliabilität sogar noch wesentlich geringer [Ekstrand et al. 2005]. Darüber hinaus können gesunde Bereiche ebenfalls relativ schlecht von Läsionen ohne Kavität abgegrenzt werden [Ismail et al. 1992; Nyvad et al. 1999]. Bei fehlendem Goldstandard bei der Beurteilung eines diagnostischen Systems (wie im Falle der Einteilung nach Aktivitätsstadien) können anhand einer konstruierten und einer prädiktorischen Validierung Rückschlüsse auf die Validität dieses diagnostischen Systems vorgenommen werden. Die Kariesaktivitätsbestimmung scheint hiernach zur Abschätzung der Läsionsprogression anhand von Oberflächenmerkmalen geeignet [Nyvad et al. 2003]. Hieraus könnte eine verbesserte Abwägung zwischen einer non-operativen bzw. operativen Vorgehensweise abgeleitet werden [Nyvad 2004; Nyvad und Fejerskov 1997].

Nach oben Gesagtem liegt die Vermutung nahe, dass die histologische Beschaffenheit der Oberflächenschicht bei aktiven und inaktiven Läsionen differieren könnte. Im Abschnitt 4c der vorliegenden Arbeit konnte jedoch für keines der gewählten, das Aktivitätsstadium einer Karies betreffenden Läsionsmerkmale (Glanz, Verfärbung, Kavitation, Rauigkeit) eine signifikante Abhängigkeit von der Beschaffenheit der Oberflächenschicht (Dicke, Mineralgehalt) festgestellt werden. Nur die histologische Tiefe, die allerdings klinisch nicht beurteilt werden kann, erlaubte eine Abschätzung der Oberflächenschichtdicke, wobei bei diesen Ergebnissen die geringe erklärte Varianz von 2-6 % beachtet werden sollte. Dennoch bestätigen die vorliegenden Ergebnisse die beschriebenen Schwierigkeiten bei der klinischen Anwendung der Kariesdetektion anhand von Aktivitätsmerkmalen [Ekstrand et al. 2005].

Zumindest zwischen Oberflächenglanz sowie dem Vorliegen von Kavitäten und der Penetrationstiefe des Adhäsivsystems konnten signifikante Abhängigkeiten beobachtet werden. Die erklärte Varianz lag jedoch bei 9 %, so dass diese Ergebnisse allenfalls erste Hinweise geben und die Hypothese nur teilweise bestätigen. Da der Oberflächenglanz zwar die Penetrationstiefe aber nicht die Beschaffenheit der gesamten Oberfläche beeinflusste, scheinen histologische Strukturen der äußersten 10 µm der Läsionen dieses makroskopische Merkmal hervorzurufen, welches mit den verwendeten Methoden allerdings nicht dargestellt werden konnten. Hierbei könnte es sich um ähnliche Strukturen wie nach Ätzung mit Phosphorsäure handeln, da durch diese Maßnahme ebenfalls eine bessere Benetzung mit Kunststoffen bei der Adhäsivtechnik ermöglicht wird [Buonocore 1955].

Die beobachteten größeren mittleren Penetrationstiefen bei kavitierten Läsionen waren vor allem durch die bessere Penetration im Bereich der Kavitäten bedingt. Dies verdeutlicht, dass eine ‚Versiegelung‘ der Oberfläche sowie eine Infiltration mit einem Adhäsivsystem in diesen Bereichen möglich sind. Das Vorliegen einer zumindest makroskopischen Kavitation wird oftmals als Schwelle zur Durchführung einer operativen Therapie definiert [Kidd und van Amerongen 2003; Mejare et al. 1998; Nyvad 2004]. Nach den Ergebnissen dieses Abschnittes könnte somit durch die Implementierung der mikroinvasiven Therapie eine Verzögerung des Restaurationszeitpunktes erreicht werden.

7.2.5. Abschnitt 5: Vergleich der Penetrationstiefen nach Infiltration natürlicher kariöser Läsionen mit einem Adhäsivsystem sowie mit einem Infiltranten *in vitro*

Wie bereits in Abschnitt 6.1.3. beschrieben, scheint die alleinige Interpretation der Läsions- bzw. Infiltrationseigenschaften anhand von Bildern im Doppelfluoreszenzmodus zumindest bei tief penetrierenden Materialien nicht zuverlässig möglich. Aufgrund der auch nach Filterung auftretenden, überlappenden Emissionsspektren der verwendeten Farbstoffe, werden immer gewisse Anteile des jeweiligen unerwünschten Wellenlängenbereiches ebenfalls detektiert [Carlsson et al. 1994]. Der Grad dieses so genannten ‚Crosstalks‘ hängt darüber hinaus von den Photomultipliereinstellungen ab. Allerdings ist eine zuverlässige Darstellung zweier unterschiedlicher Fluoreszenzfarbstoffe nur bedingt möglich, wie anhand der beiden exemplarischen Darstellungen deutlich wird. Deshalb wurden zusätzlich Bilder im Transmissionsmodus sowie mikroradiografische Aufnahmen ausgewertet. Anhand des visuellen Vergleichs der drei Bilder konnten die verschiedenen Zonen wie die

Oberflächenschicht, der Läsionskörper sowie die Infiltrantenschicht einfacher voneinander abgegrenzt werden.

Die Entfärbung des mit TRITC versetzten Infiltranten könnte im Vergleich zum Infiltranten durch eine stärkere Affinität des Farbmoleküls zu Schmelz erklärt werden. Somit wäre TRITC vor allem im Bereich der Oberfläche verblieben, während der Infiltrant tiefere Schichten zu penetrieren vermochte. Für diese Annahme sprechen die geringeren Penetrationstiefen, die anhand von Bildern im Trans-Modus im Vergleich zur Methode B gemessen wurden. Anhand der Bilder im Trans-Modus konnte nämlich ausschließlich rot fluoreszierender Infiltrant visualisiert werden. Erst durch die darauf folgende Gegenfärbung der verbliebenen Poren des Läsionskörpers mit Natriumfluorescein und die Darstellung im Doppelfluoreszenzmodus konnten dunkle Bereiche unterhalb des rot fluoreszierenden Infiltranten detektiert werden, die nach visuellem Abgleich mit der mikroradiografischen Aufnahme sowie der korrespondierenden, mit Excite[®] behandelten Läsionshälfte zumeist als entfärbte Infiltrantenschicht identifiziert werden.

In weiterführenden Studien sollte die Visualisierung mit Hilfe der Doppelfluoreszenztechnik verbessert werden. Ein möglicher Ansatz wäre, zunächst die Läsion mit rot fluoreszierender wässriger Lösung anzufärben. Aufgrund der beschriebenen Barrierewirkung der Oberflächenschicht sollte dies nach einem Schnitt senkrecht zur Läsion von der Schnittfläche aus erfolgen. Anschließend würde die Oberfläche der Läsion geätzt, getrocknet und hiernach der Infiltrant wie bisher appliziert werden. Der lichtgehärtete Infiltrant würde nun den in der Läsion befindlichen rot fluoreszierenden Farbstoff fixieren. Anschließend würden die Bereiche des Läsionskörpers, die nicht mit Infiltranten penetriert wären, mit Wasserstoffperoxid entfärbt. Dieses verbliebene Porenvolumen könnte anschließend mit beispielsweise Natriumfluorescein ebenfalls gefärbt und visualisiert werden.

Die Ergebnisse der Penetrationseigenschaften des Infiltranten im Vergleich zu Excite[®] dieses Abschnittes bestätigen die Beobachtungen an In-vitro-Läsionen des Abschnittes 3b der vorliegenden Arbeit. Somit konnte erstmals gezeigt werden, dass eine Penetration eines Kunststoffes in den Läsionskörper einer natürlichen Karies möglich ist. Die Hypothese, dass nach Ätzung mit HCl ein Infiltrant mit höherem Penetrationskoeffizient eine Läsion tiefer penetriert als ein kommerzielles Adhäsivsystem wurde somit bestätigt.

Im Vergleich zu Abschnitt 4 wurden etwas geringere verbliebene Oberflächenschichtdicken anhand der Läsionshälften, die mit Excite[®] behandelt wurden, gemessen. Somit scheinen Läsionen ausgewählt worden zu sein, die nach der beschriebenen Aktivitätseinteilung [Thylstrup et al. 1994] als aktivere Läsionen angesehen werden könnten. Die Penetration des

Adhäsivsystems Excite[®] war aber dennoch vergleichbar, da aufgrund des niedrigen Penetrationskoeffizienten nur eine geringe Penetration zu erwarten ist und die Oberflächenschichtdicke bei diesem Material nur bedingt zur Erklärung unvorteilhafter Penetrationseigenschaften in natürliche kariöse Läsionen heran gezogen werden kann (siehe auch Abschnitt 4).

Allerdings bleibt unklar, ob die mit dem Infiltranten teilweise einige hundert Mikrometer tiefe Penetration zur Kariesinhibierung notwendig ist. Darüber hinaus erscheint die Infiltrationsschicht vor allem in tieferen Bereichen nicht immer gleichmäßig homogen. Bereits vorhandene Kavitäten scheinen nicht gleichermaßen gut mit einem niedrig-viskösen Kunststoff aufgefüllt zu werden, so dass eine oberflächliche Schicht eines visköseren Materials oder die zweimalige Applikation desselben Infiltranten ratsam erscheinen.

Zur longitudinalen Beobachtung der Kariesprogression von natürlichen Läsionen scheint die kürzlich vorgestellte mikroradiografische Methode, T-WIM (trans-wavelength independent microradiography) [Thomas et al. 2006], vorteilhaft, da hierbei Probenkörper bis zu einer Dicke von drei Millimetern visualisiert werden können, die wesentlich leichter als Dünnschliffe natürlicher Läsionen verarbeitet werden können. In Kombination mit der modifizierten CLSM-Visualisierungstechnik können somit die Penetrationseigenschaften von Infiltranten sowie die Kariesprogression longitudinal beobachtet werden.

7.3. Fallbeschreibung: Klinische Behandlung eines Prämolaren mittels der Kariesinfiltration

Ein wichtiger Aspekt ist die klinische Durchführbarkeit einer mikroinvasiven Behandlung approximaler Läsionen. Mit Hilfe von orthodontischen Gummiringen ist eine ausreichende Separation mit Aufhebung des Kontaktpunktes möglich [De Araujo et al. 1992; Pitts und Longbottom 1987; Rimmer und Pitts 1990], so dass der Zugang zur Läsion erleichtert ist. Die Patienten scheinen diese Vorgehensweise zur Verbesserung der approximalen Kariesdiagnostik auch bei gleichzeitiger multipler Anwendung größtenteils zu tolerieren [Rimmer und Pitts 1990]. Darüber hinaus wurde eine vorherige Separation zur Etablierung eines direkten approximalen Zuganges [Liebenberg 1996] sowie zur Erleichterung der Restauration nach Tunnelpräparation [Bjarnason 1996] vorgeschlagen. Die Separationszeiten betragen hierbei mehrere Stunden bis zu zwei Tagen, was bei der Planung einer mikroinvasiven Therapie zu berücksichtigen wäre.

In den beiden bisherigen klinischen Studien wurden nach relativer [Martignon et al. 2006] bzw. absoluter Trockenlegung [Gomez et al. 2005] die Nachbarzähne mit einer Matrize geschützt und nach Phosphorsäurebehandlung für 20 s [Gomez et al. 2005] die jeweiligen kommerziellen Materialien mit Pinseln [Gomez et al. 2005] bzw. bauschigen Applikatortips und Floss [Martignon et al. 2006] aufgetragen. Eine Politur erfolgte nach Lichthärtung mit Polierstreifen. Bei der in dieser Arbeit vorgestellten Salzsäureätzung sollte aufgrund der möglicherweise auftretenden Ulzerationen der Gingiva [Croll et al. 1990] zum Schutz der Weichgewebe möglichst Kofferdam verwendet werden. Darüber hinaus wurden im Rahmen dieses Projektes spezielle Applikationsstreifen entwickelt, die eine saugfähige Trägerschicht besitzen, da selbst mit kleinen Pinseln, Tips oder Kanülen keine ausreichend genaue Positionierung der Materialien möglich zu sein scheint. Darüber hinaus könnten auf dem Applikationsstreifen angebrachte Reinigungslamellen eine effiziente Entfernung von Überschüssen ermöglichen als dies mit den bisherigen Hilfsmitteln durchführbar ist. Durch die nur geringe Dicke der Streifen ist eine Separation mit einem nach okklusal abgeflachten Keil ausreichend, so dass die bisher beschriebenen Separationsinstrumente [Schmidlin und Besek 2003] nicht benötigt werden. Darüber hinaus ist eine interne Infiltration der angrenzenden approximalen Schmelzbereiche nach Präparation einer okklusalen Kavität im benachbarten Fissurengrübchen gleichzeitig mit der beschriebenen externen Infiltration denkbar [Ardu et al. 2006]. Somit könnte im Gegensatz zur Tunnelpräparation [Jinks 1963; Ratledge et al. 2002] der Schmelz im Approximalbereich vollständig erhalten bleiben.

7.4. Allgemeine Diskussion

Bei der klinischen Anwendung der mikroinvasiven Therapie werden eventuell vorhandene Bakterien innerhalb der Läsionen belassen. Inwieweit diese ohne oder bei beschränkter Substratzufuhr eine kariogene Wirkung entfalten können, lässt sich anhand von Studien zur Fissurenversiegelung abschätzen. Hierbei konnte einerseits in einer Vielzahl von Untersuchungen eine Arretierung von fissuralen bis ins Dentin reichenden kariösen Läsionen sowie eine Reduktion oder vollständige Elimination der Bakterienanzahl nach oberflächlicher Fissurenversiegelung aufgezeigt werden [Kidd 2004]. Andererseits wurden in einer (allerdings retrospektiven) Studie bei 50 % der versiegelten Läsionen kariogene Bakterien (insbesondere Streptokokkus mutans und Laktobazillen) nachgewiesen. Darüber hinaus zeigte das Dentin bei diesen Läsionen eine weiche Konsistenz sowie eine dunkle Färbung.

Interessanterweise wurden die meisten dieser Versiegelungen als randdicht beurteilt, so dass die beobachtete Kariesaktivität in der Verstoffwechslung von Bestandteilen pulpaler Flüssigkeit aus den Dentintubuli durch die kariogenen Mikroorganismen vermutet wurde [Weerheijm et al. 1992]. Eine unzureichende Randdichtigkeit scheint zudem einer der Hauptgründe für die Persistenz von Mikroorganismen innerhalb einer Läsion zu sein [Going et al. 1978]. Rein auf den Schmelz begrenzte sowie nicht kavitierte Läsionen enthalten hingegen keine oder aber nur sehr wenige Bakterien [Kidd 2004; Seppa 1984]. Darüber hinaus scheint durch eine unvollständige Kariesexkavation vor restaurativer Therapie die klinische Erfolgsrate nicht geringer als bei vollständiger Entfernung des infizierten Dentins zu sein [Kidd 2004; Mertz-Fairhurst et al. 1998]. Da die Infiltration bei der in der vorliegenden Arbeit vorgeschlagenen mikroinvasiven Therapie nicht auf sondern innerhalb der Läsion etabliert wird und somit eine Randspaltbildung zwischen Kunststoff und Schmelz im herkömmlichen Sinne nicht zu erwarten ist, könnte die für oberflächliche Fissurenversiegelungen angedeutete Problematik der Belassung von Mikroorganismen eine untergeordnete Rolle spielen. Eine möglichst tiefe Infiltration könnte dennoch sinnvoll sein, da auftretende oberflächliche Mikroporositäten ein Vordringen der Bakterien ermöglichen, was durch eine möglichst vollständige Infiltration im Weiteren verhindert werden könnte.

Darüber hinaus könnten die im Läsionskörper befindlichen bakteriellen Stoffwechselprodukte sowie Proteine und Lipide des Speichels [Featherstone et al. 1993] die Penetration der Adhäsive in natürliche Läsionen beeinflussen. Dies sollte in weiterführenden Studien beachtet werden; aus diesem Grunde sind gegebenenfalls geeignete Vorbehandlungsmaßnahmen zu evaluieren.

Bei der Implementierung der mikroinvasiven Behandlungstechnik sollte eine Risikoabschätzung hinsichtlich einer möglichen Unter- oder Überbehandlung vorgenommen werden. Bei der präventiv ausgerichteten Therapie rein auf den Schmelz begrenzter Läsionen (S1 und S2) werden bisher Fluoridierungsmaßnahmen, eine Verbesserung der Mundhygiene und eine Veränderung der Ernährungsgewohnheiten empfohlen [Anusavice 1995], da diese Läsionen nur wenige klinisch sichtbare Kavitationen aufweisen (vgl. Kapitel 2.4.3.). Allerdings konnten in einer kürzlich publizierten In-vitro-Studie unserer Arbeitsgruppe bereits im Stadium der Schmelzläsion bei Betrachtung mit Vergrößerungshilfen Diskontinuitäten der Oberfläche festgestellt werden [Kielbassa et al. 2006b]. Dies wird zumindest für D1-Läsionen von den meisten Autoren bestätigt (vgl. Kapitel 2.4.3.). Das Vorliegen einer makroskopisch sichtbaren Kavitation wird von einigen Autoren als Schwelle definiert, ab der eine operative Therapie durchgeführt werden sollte [Kidd und van

Amerongen 2003; Mejare et al. 1998; Nyvad 2004], da sich in diesem Fall ein Biofilm innerhalb der Läsion ausbilden kann. Vor allem kariesaktive Patienten scheinen ein höheres Risiko für die Ausbildung von Kavitationen aufzuweisen [Lunder und von der Fehr 1996]. Dennoch entwickeln sich nicht alle Schmelzläsionen zu einer manifesten Dentinkaries. Darüber hinaus scheint dieser Prozess relativ langsam abzulaufen und mit zunehmenden Alter [Mejare et al. 2004] sowie bei Fluoridapplikation verzögert zu sein [Mejare et al. 1998]. Deshalb scheint eine beobachtende Haltung (Monitoring) bezüglich der Durchführung der mikroinvasiven Therapie bei Schmelzläsionen ratsam. Bei unzureichender Compliance des Patienten vor allem hinsichtlich der Mundhygiene könnte jedoch eine mikroinvasive Therapie bereits bei S1- und S2-Läsionen einen Nutzen für den Patienten haben. Allerdings müssen hierbei die Risiken (Erosion der Oberfläche der Läsion) sowie die Kosten der Behandlung abgewogen werden.

Überschreitet die Karies bei röntgenologischer Betrachtung die Schmelz-Dentin-Grenze, scheint nach oben Gesagtem eine Kavitation der Läsion sehr wahrscheinlich und somit eine operative Therapie indiziert. Da, wie in Abschnitt 4c beschrieben, durch die Applikation von Kunststoffen zumindest Kavitäten mit geringer Ausdehnung aufgefüllt werden können, könnte hierdurch die Zufuhr von Substrat verhindert werden. Ein Voranschreiten der kariösen Läsionen ist nach den Ausführungen zur Kariesexkavation sowie der Fissurenversiegelung [Kidd 2004] somit nicht zu erwarten. Dies sollte im Rahmen des Kariesmonitoring anhand von Bissflügelröntgenbildern in regelmäßigen Abständen überprüft werden. Im Falle einer Kariesprogression sollten die entsprechenden Läsionen invasiv behandelt werden. Eine Implementierung der mikroinvasiven Therapie würde somit den Restaurationszeitpunkt der Erstversorgung zeitlich verschieben. Zur Verhinderung der versehentlichen Präparation bereits infiltrierter Läsionen bei einem Zahnarztwechsel sollte eine Dokumentation der mikroinvasiv behandelten Zahnflächen im Sinne eines Patientenpasses erfolgen.

Eine Verbesserung der Materialeigenschaften des Infiltranten ist weiteren In-vitro-Studien vorbehalten. Darüber hinaus ist insbesondere der Vergleich kommerzieller Materialien mit den in dieser Arbeit vorgestellten Infiltranten bei der Verhinderung der Kariesprogression bei natürlichen Läsionen *in vitro* als auch *in situ* von Interesse. Unter Berücksichtigung der bisherigen klinischen Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen [Gomez et al. 2005; Martignon et al. 2006] scheint bereits zum jetzigen Zeitpunkt die klinische Anwendung der hier vorgestellten mikroinvasiven Therapie unter Verwendung von Infiltranten nach Salzsäureätzung eine viel versprechende Ergänzung bei der Behandlung approximaler kariöser Läsionen darzustellen.

8 SCHLUSSFOLGERUNG

Die Daten der vorliegenden Arbeit lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

1. Eine Quantifizierung der Läsionstiefe ist mit den entwickelten Visualisierungsmethoden mittels CLSM bei In-vitro-Läsionen zuverlässig möglich.
2. Die Materialien Helioseal[®], Heliobond[®], Resulcin Monobond[®] sowie Excite[®] zeigen bessere Penetrations- sowie kariesinhibierende Eigenschaften in künstliche Läsionen im Vergleich zu Solobond M[®] sowie Adper Prompt L-Pop[®]. Auch ohne Belassen eines Überschusses konnte eine Kariesprogression *in vitro* verhindert werden.
3. Die entwickelten Infiltranten (PK >50 cm/s) weisen signifikant bessere Penetrationseigenschaften sowie eine größere Inhibierung der Kariesprogression als die untersuchten Materialien mit niedrigem PK auf.
4. Bei natürlichen Läsionen kann durch das in der Arbeit entwickelte Ätzverfahren mit Salzsäure (15 %) für mindestens 90 s eine Erosion der Oberfläche erzielt werden, die eine signifikant bessere Penetration eines kommerziellen Adhäsivsystems ermöglicht.
5. Eine Abschätzung der Qualität der Oberflächenschicht ist anhand von klinischen Läsionsmerkmalen nicht zuverlässig möglich. Die Penetrationstiefe eines Adhäsivsystems scheint bei glänzender Oberfläche verringert, während proximale Karies sowie Läsionen, die eine sichtbare Kavitation aufweisen, besser penetriert werden können.
6. Der entwickelte Infiltrant zeigt auch bei natürlichen Läsionen signifikant bessere Penetrationseigenschaften als das kommerzielle Adhäsivsystem.
7. Die klinische Durchführbarkeit der Infiltration approximaler Zahnflächen ist bei Verwendung von entsprechenden Separationshilfen sowie Applikationsstreifen gegeben.

Somit könnte die mikroinvasive Therapie unter Verwendung von Infiltranten nach Salzsäureätzung, eine viel versprechende Ergänzung bei der Behandlung approximaler kariöser Läsionen darstellen. Die Evaluierung der überlegenen klinischen Wirksamkeit gegenüber der oberflächlichen Versiegelung mit Adhäsiven sowie die Abgrenzung der Indikation zu den bisher durchgeführten präventiven (Mundhygieneverbesserung und Fluoridierung) sowie invasiven Maßnahmen (Restauration) bleiben weiteren Studien vorbehalten. Bis zur Zulassung von Infiltranten scheint die Implementierung der approximalen Versiegelung mit Hilfe von kommerziellen Adhäsiven bereits zum jetzigen Zeitpunkt sinnvoll.

9 ZUSAMMENFASSUNG

Anhand von In-vitro-Läsionen wurde die Möglichkeit der Versiegelung von Schmelzkaries mit Adhäsivsystemen teilweise vor Beginn dieser Arbeit untersucht. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die bisherigen Ansätze dieser ‚mikroinvasiven‘ Behandlungstechnik weiter zu entwickeln. Zunächst wurden Visualisierungsmethoden mit Hilfe des konfokalen Mikroskops (CLSM) entwickelt, die eine gleichzeitige Darstellung der Läsion sowie des penetrierenden Kunststoffes ermöglichten. Die resultierenden Läsionstiefen wurden mit denen des Goldstandards, der transversalen Mikroradiografie, korreliert. Hiernach wurden die Penetrationstiefen sowie die kariesinhibierenden Eigenschaften verschiedener kommerzieller Adhäsivsysteme anhand von *in vitro* erzeugten Läsionen verglichen. Zur Verbesserung der beiden genannten Eigenschaften wurden die Penetrationskoeffizienten (PK) 66 verschiedener experimenteller Kunststoffmonomergemische bestimmt und zwölf dieser Materialien hinsichtlich ihrer penetrierenden und kariesinhibierenden Fähigkeiten mit dem favorisierten kommerziellen Material ebenfalls anhand von In-vitro-Läsionen verglichen. Aufgrund der kompakteren Oberflächenschicht von natürlichen Läsionen, die eine Penetration von Kunststoffen verhindert, wurde ein Ätzverfahren zur Erosion dieser Schicht entwickelt und vor Applikation eines Adhäsivsystems sowie eines im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Infiltranten (PK >50 cm/s) angewendet. Anhand der validierten (gute Korrelation) Auswertungen mittels CLSM konnten größere Penetrationstiefen sowie verbesserte kariesinhibierende Eigenschaften der Infiltranten im Vergleich zu einem Adhäsivsystem evaluiert werden. Bei natürlichen Läsionen konnte durch Ätzung mit Salzsäuregel (15 %) für mindestens 90 s eine zuverlässige Erosion der Oberflächenschicht erzielt werden, die eine verbesserte Penetration eines Adhäsivsystems ermöglichte. Läsionen mit nicht glänzenden Oberflächen sowie solche mit Kavitation wurden nach Salzsäureätzung vergleichsweise besser von dem Adhäsivsystem penetriert. Infiltranten zeigten auch bei natürlichen Läsionen bessere Penetrationseigenschaften als das kommerzielle Adhäsivsystem. Die klinische Durchführung der Infiltrationsbehandlung an approximalen Läsionen konnte unter Verwendung von entsprechenden Separations- und Applikationshilfen erstmalig gezeigt werden. Die klinische Implementierung der entwickelten mikroinvasiven Therapie scheint sinnvoll. Die Abgrenzung der Indikation sowie die Evaluierung der klinischen Überlegenheit gegenüber alternativen approximalen Versiegelungsmethoden bleiben weiteren Untersuchungen vorbehalten. Bis zur Etablierung von Infiltranten im zahnärztlichen Spektrum sollten proximale Versiegelung mit Adhäsivsystemen durchgeführt werden.

10 SUMMARY

Sealing or infiltrating proximal and buccal lesions with resins might be a promising strategy to hamper further demineralization of carious lesions. Penetration abilities of commercially available adhesives have been studied priorly to the start of the present thesis using in vitro lesions. The aim of the present thesis was to continue research of this promising approach of 'micro invasive dentistry'. At first, visualization methods using confocal microscopy (CLSM) were developed to study penetration depths of the resins and the according lesion depths simultaneously. Lesion depth measurements were correlated with those of the gold standard (transversal microradiography). Subsequently, penetrating and caries inhibiting abilities of various commercially available adhesives were evaluated using in vitro lesions. To develop improved materials penetration coefficients (PC) of 66 experimental monomer mixtures were determined. Subsequently, the penetrating as well as caries inhibiting properties of twelve of these materials were compared using in vitro lesions. Due to the compact surface layers of natural lesions resin penetration was shown to be hampered. Therefore, an etching procedure to erode the surface layer of these lesions was developed. Penetration depths of the most favourable adhesive, as tested before in vitro, were measured after etching with either phosphoric or hydrochloric acid. Subsequently, penetration depths of this adhesive were compared with those of an infiltrant (PC >50 cm/s). The validated measurements with CLSM (good correlation) revealed differences in penetration depths as well as the inhibition of lesion progression between several adhesives as well as superior abilities to hamper lesion progression of the infiltrants. Natural lesions etched with hydrochloric acid (15%) for at least 90 s showed a reliable erosion of the surface that allowed improved penetration of the investigated adhesive. Lesions with dull and cavitated surfaces, respectively, showed significantly enhanced infiltration by the adhesive. Moreover, an experimental infiltrant revealed higher penetration depths than the adhesive. Clinical application to proximal surfaces could be accomplished by using separation and application tools developed for this purpose. On the basis of the results of the present thesis the clinical implementation of this so called micro invasive therapy seems to be advisable. Demarcation of the indication as well as evaluation of the clinical superiority compared to alternative treatment regimens for proximal lesions should be addressed in future studies. Until the introduction of infiltrants commercially available adhesives should be used for proximal sealing.