

## **6 DISKUSSION**

### **6.1. Diskussion von Material und Methode**

In der vorliegenden Studie sollten fünf Haftvermittler und ein Fissurenversiegler auf ihre Eignung als Versiegelungsmaterialien für initiale Schmelzläsionen nach einer Penetrationszeit von 15 s und 30 s geprüft werden. Dazu wurde zunächst die Fähigkeit der Materialien ermittelt, in künstlich erzeugte, kariöse Läsionen zu penetrieren und das Porenvolumen in den Läsionen zu verringern. In einem zweiten Schritt wurden die behandelten Läsionen einer Demineralisationslösung ausgesetzt, um ein weiterhin kariogenes Milieu vergleichbar einer weiterhin schlechten Mundhygiene des Patienten zu simulieren. Die Progression der behandelten Läsionen im Vergleich zu ihrer Tiefe vor der zweiten Demineralisationsperiode wurde ermittelt und mit der Progression unbehandelter Läsionen verglichen.

#### **1.1.1. Boviner Schmelz**

In der vorliegenden Studie wurden Schmelzproben von bovinen Frontzähnen verwendet. 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 (Mellberg 1992). Zudem sind sie nicht durch individuell unterschiedliche Fluoridexposition beeinflusst und reagieren somit uniformer auf Säureexposition. Hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung besteht eine sehr gute Kompatibilität zwischen humanem und bovinem Schmelz (Esser 1998).

Boviner Schmelz weist einige Unterschiede im Vergleich zu humanem Schmelz auf. So ist boviner Schmelz poröser, was sich in einer schnelleren Entstehung von kariösen Läsionen auswirkt (Featherstone und Mellberg 1981; Edmunds et al. 1988). Zudem bestehen leichte strukturelle Differenzen in der Prismengröße, der interprismatischen Substanz sowie dem Hunter-Schräger-Muster (Whittaker et al. 1983). Beim Vergleich von künstlich erzeugten, kariesähnlichen Läsionen zeigen humane und bovine Schmelzproben keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf den Mineralgehalt von Oberflächenschicht und Läsionskörper. Dennoch wurden auch histologische Unterschiede im Läsionskörper nachgewiesen. So war bei humanen Schmelzproben der Läsionskörper durch den Verlust an interprismatischer Substanz, bei bovinen Proben durch Mineralverlust im Prismeninneren charakterisiert (Edmunds et al. 1988). Diese am Rasterelektronenmikroskop gewonnenen Erkenntnisse

ließen sich durch die von uns entwickelte Methode nicht bestätigen. In Vorversuchen konnte sowohl in humanen, als auch in bovinen Schmelzläsionen ein Mineralverlust der Prismenkerne im Läsionskörper nachgewiesen werden.

### **6.1.2. Erzeugung künstlicher, kariesähnlicher Läsionen**

Die Bearbeitung der Proben erfolgte in Anlehnung an frühere Studien (Kielbassa et al. 2001; Meyer-Lueckel et al. 2002) durch Einbettung in Kunstharz und Standardisierung der Oberfläche durch Parallelisierung und Polieren mittels Schleifpapier aufsteigender Körnung. Das Entfernen der äußeren Schmelzschicht hat keinen wesentlichen Einfluss auf die Tiefe der entstehenden Läsion im Vergleich zu nicht abradierten Oberflächen (Featherstone und Mellberg 1981). Die Schmelzproben wurden, nachdem ihre Oberfläche standardisiert wurde, für 14 Tage einer Demineralisationslösung (Buskes et al. 1985) ausgesetzt um kariesähnliche Läsionen mit intakter Oberfläche zu erzeugen.

Die so gewonnenen Läsionen zeigen eine für initiale Schmelzläsionen typische intakte Oberflächenschicht, einen Läsionskörper, sowie eine transluzente Zone. Die mikroradiographische Untersuchung ergab ein für initiale Schmelzläsionen charakteristisches Bild. Die mittels CLSM erzeugten Bilder zeigen Charakteristika, die zuvor rasterelektronenmikroskopisch sowohl an natürlichen, als auch an künstlich erzeugten Schmelzdemineralsationen beobachtet wurden (Scott et al. 1974; Shellis und Hallsworth 1987; Pearce und Nelson 1989; Frank 1990).

### **6.1.3. Behandlung der Demineralisationen**

Die künstlich erzeugten kariösen Läsionen wurden mit 20%igem Phosphorsäuregel für 5 s geätzt. Frühere Studien haben eine starke Erhöhung der Penetrationstiefen der Versiegeler nach kurzer Anätzung der Oberflächenschicht beschrieben (Robinson et al. 1976; Gray und Shellis 2002). Die relativ kurze Ätzzeit bei niedrig konzentrierter Säure wurde gewählt, da die künstlich erzeugten Läsionen eine relativ schwach mineralisierte intakte Oberflächenschicht ausbilden. In Vorversuchen führte längeres Ätzen gelegentlich zum Kollabieren der geschädigten Schmelzstruktur. Dies deckt sich mit früheren Beobachtungen (Gray und Shellis 2002). Das verwendete Gel hat aufgrund seiner hohen Viskosität den Vorteil, dass die Säure

nicht durch Kapillarkräfte in den Läsionskörper gelangt, wo sie den stark geschwächten Schmelzkörper weiter demineralisieren und somit ein Kollabieren der Läsion begünstigen würde. Da *in vivo* entstandene Läsionen aufgrund längerer Remineralisationsperioden meist jedoch stärker mineralisierte Oberflächenschichten ausbilden, ist davon auszugehen, dass dort längere Ätzzeiten und stärker konzentrierte Säuren vorteilhaft sind.

Die Läsionen wurden im Folgenden mit den zu testenden Materialien behandelt. Vor dem Aushärten der Kunststoffe wurde die überstehende Materialschicht entfernt, um zu verhindern, dass die Abdichtung der Läsion durch eine aufliegende kompakte Schicht des Kunststoffes erreicht wird. Vielmehr sollte der Versiegelungseffekt durch die Okklusion der Porenvolumina der Läsion untersucht werden. In den verfügbaren Studien, in welchen die Versiegelung initialer Schmelzdemineralsationen untersucht wurde (Davila et al. 1975; Robinson et al. 1976; García-Godoy et al. 1997; Robinson et al. 2001; Gray und Shellis 2002; Ekstrand und Martignon 2004), wurde immer eine kompakte Schicht Kunststoff auf der Läsionsoberfläche belassen.

#### **6.1.4. Visualisierung**

Zur Visualisierung der durch Demineralisation erzeugten Poren wurden die Proben mit einem sehr niedrig viskösen Kunststoff infiltriert, der zuvor mit dem Fluoreszenzfarbstoff Rhodamin B Isothiocyanat (RITC) markiert worden war. Diese Methode wurde von unserer Arbeitsgruppe eigens für die Zwecke dieser Studie entwickelt und mit der Abkürzung VIRIN (VI)sualisation by (R)esin (I)nfiltration) benannt. Dieses Verfahren zeigt einige Vorteile gegenüber anderen Methoden zur Visualisierung poröser Hartgewebsstrukturen.

In der Literatur finden sich Methoden zur Visualisierung kariöser Läsionen durch Lagerung der Proben in wässriger oder alkoholischer RITC-Lösung (Fontana et al. 1996; González-Cabezas et al. 1998; Dorfer et al. 2000; Mannocci et al. 2001). Dies hat jedoch den Nachteil, dass die Markierung poröser Räume in der Probe ungleichmäßig (abhängig von der Affinität des Farbstoffes zum Lösungsmittel und dem Apatit des Schmelzes) ist. Zudem besteht die Möglichkeit, dass bei wassergekühlten Schneid- und Poliervorgängen Farbstoff abgespült wird. Uchtmann und Wilkie beschrieben die Infiltration poröser Hartgewebe mit angefärbtem Epoxidkunststoff in einem eigens konstruierten Autoklaven bei 200 MPa (Uchtmann und Wilkie 1997). Diese Methode umgeht die Nachteile der zuvor beschriebenen Anfärbung,

benötigt jedoch einen eigens konstruierten Hochdruckautoklaven und ist somit in den meisten Laboratorien nicht durchführbar.

Bei der von uns entwickelten VIRIN-Methode wurde ein sehr niedrig visköser Kunststoff (Spurr 1969) verwendet, der aufgrund seiner guten Penetrationseigenschaften in der Transmissionselektronenmikroskopie weit verbreitet ist. Durch die geringe Viskosität des Kunststoffes und seine benetzenden Eigenschaften ist es möglich, eine Infiltration des kariösen Schmelzes bei relativ geringen Druck (0,8 MPa) zu erreichen.

Die Visualisierung initialer kariöser Läsionen mittels Infiltration mit angefärbtem, erhärtendem Kunststoff hat bedeutende Vorteile. So liegt der im Kunststoff gelöste Farbstoff über die gesamte Läsion in gleicher Konzentration vor und kann in späteren Schneid- und Polierprozessen nicht ausgewaschen werden. Außerdem wird durch das Auffüllen der Porositäten die geschädigte Schmelzstruktur gefestigt und somit ein Kollabieren des fragilen Gerüsts während der Präparation der Proben verhindert, was die Probenherstellung erleichtert und die Qualität und Aussagekraft der gewonnenen Bilder erhöht. Auch die Herstellung hochglanzpolierter Oberflächen ist möglich. Die Proben müssen für die Einbettung zwar geringfügig getrocknet werden (ca. 5 min bei Zimmertemperatur, alternativ mit Ethanol), hieraus sind jedoch weit geringere Trocknungsartefakte zu erwarten, als beispielsweise in der Rasterelektronenmikroskopie.

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. Die Konzentration des Fluoreszenzfarbstoffes RITC betrug 100  $\mu\text{mol/l}$ , da diese Konzentration sich bei anderen Infiltrationstechniken als optimal erwiesen hatte (Fontana et al. 1996).

### **6.1.5. Auswertung**

Die präparierten Proben wurden mit einem Konfokalen Laser Raster Mikroskop (CLSM) ausgewertet. Hiermit ist die Erzeugung scharfer, hochauflösender Bilder aus Schichten unterhalb der Probenoberfläche möglich. Der gewählte Fluoreszenzmodus erlaubt die Erzeugung von Bildern, in denen nur Strukturen abgebildet werden, die von dem farbstoffmarkierten Kunststoff infiltriert sind. Somit zeigen die gewonnenen Bilder nur poröse Strukturen, deren

Leuchtintensität Rückschlüsse auf das vorhandene Porenvolumen erlaubt. Die Registrierung von Eigenfluoreszenzen des Schmelzes ist bei den gewählten Filtereinstellungen unwahrscheinlich und deshalb auszuschließen, weil in gesundem Schmelz in den beobachteten Proben keine Fluoreszenz nachzuweisen war.

Die Tiefe der Läsionen wurde definiert als der Abstand von der Oberfläche bis zu der Schicht, in der die Prismenzentren gerade keine Fluoreszenz mehr aufwiesen. Dies entspricht der Tiefe des Läsionskörpers, da hier eine Demineralisation im Prismenkern stattfindet (Shellis und Hallsworth 1987; Pearce und Nelson 1989; Frank 1990). Im Falle einer vollständigen Versiegelung des Läsionskörpers durch den Versiegler wurde die Läsionstiefe mit der Penetrationstiefe gleichgesetzt, welche durch die angrenzende Zone der beginnenden Demineralisation sichtbar war.

Mit der hier vorgestellten Methode ist es erstmals möglich, auf einem Bild sowohl die Tiefe einer kariösen Läsion, als auch die Tiefe der Penetration des versiegelnden Kunststoffes zu messen. Darüber hinaus können Aussagen über die Struktur der kariösen Zahnhartsubstanz sowie der entstandenen Versiegler-schicht getroffen werden.

Da die Penetrationstiefe keinen Aufschluss über die Kompaktheit der entstandenen Kunststoffschicht liefert, war es aufgrund der unterschiedlichen Erscheinungsbilder der Versiegler-schicht notwendig, diese zu quantifizieren. Hierfür wurde sich der Umstand zu nutze gemacht, dass vollständig versiegelte Läsionsbereiche im CLSM-Bild schwarz erscheinen, da keine Poren mehr vorhanden sind, in die RITC-gefärbter Kunststoff eindringen kann. Ausgewertet wurde ein rechteckiger Bereich mit 100 µm Breite, der gleichzeitig die zuvor gemessene Tiefe der jeweiligen Läsion erfasste. Von diesem Bereich wurde ein Histogramm erstellt, das die Anzahl der Pixel mit der jeweiligen Graustufe 0-255 darstellt. Die Anzahl der Pixel der Grauwerte 0-18 wurde addiert und zur Anzahl der gesamten ausgewerteten Pixel in Relation gesetzt. Auf diese Weise war ein Wert für den prozentualen Anteil an schwarzen (abgedichteten) Regionen einer Läsion verfügbar. Die Grauwerte 0-18 wurden gewählt, da in Vorversuchen ermittelt wurde, dass diese Grauwerte in unbehandelten Läsionen nicht vorkommen. Somit ist auszuschließen, dass im CLSM-Bild dunkel erscheinende histologische Merkmale wie z. B. die Oberflächenschicht die Messung beeinflussen.

Der ermittelte Wert „Kompaktheit“ ist jedoch nicht als absoluter Wert für die prozentuale Ausfüllung des untersuchten Bereiches anzusehen, da teilweise versiegelte Bereiche im CLSM-Bild in Graustufen >18 erscheinen können. Vielmehr ermöglicht dieser Wert den Vergleich der Fähigkeit der Abdichtung der untersuchten Materialien untereinander. Die hier vorgestellte Methode zur Auswertung der Kompaktheit der Versiegler-schicht wurde eigens

für die Zwecke dieser Studie entwickelt. Mit der VIRIN können gleichzeitig Läsionstiefe und Penetrationstiefe der Versiegler erfasst werden. Die Bestimmung des Kompaktheits-Wertes erlaubt zusätzlich eine quantitative Erfassung der „Güte“ der Versieglerschicht.

## **6.2. Diskussion der Ergebnisse**

### **6.2.1. Penetrationstiefen**

Die Penetration dentaler Adhäsive in initiale Schmelzläsionen ist ein Vorgang, welcher vornehmlich durch Kapillarkräfte angetrieben wird, da bei den geringen Mengen die Gravitation als treibende Kraft vernachlässigt werden kann. Der Läsionskörper einer initialen Schmelzkaries ist vergleichbar mit einem porösen, locker gepackten Festkörper. Ein Modell, welches die Penetration von Flüssigkeiten in solche poröse Festkörper beschreibt, ist die Washburn-Gleichung (Gl. 4). Der poröse Festkörper wird vereinfacht als Bündel offener, paralleler Kapillaren beschrieben (Buckton 1995). Der pro Zeit zurückgelegte Weg einer Flüssigkeit bei der Penetration in einen solchen Festkörper ist danach abhängig vom Radius der Kapillaren (Poren), dem Kontaktwinkel der Flüssigkeit zum Festkörper sowie der Oberflächenspannung und Viskosität der Flüssigkeit (Gl. 4).

Die penetrationsbestimmenden Eigenschaften der Flüssigkeit werden durch den Penetrationskoeffizienten beschrieben, der Teil der Washburn-Gleichung ist. Demnach sollte eine Flüssigkeit, welche in kariöse Läsionen hineinpenetrieren soll, möglichst einen geringen Kontaktwinkel (benetzende Eigenschaften), eine hohe Oberflächenspannung sowie eine geringe Viskosität aufweisen. Da aber die kariöse Läsion in der Tiefe an gesunden Schmelz grenzt, kann sie nicht als System von offenen Kapillaren angesehen werden, sondern als System geschlossener Kapillaren. Somit steht dem von der Flüssigkeit entwickelten Penetrationsdruck der Luftdruck der in den Kapillaren gefangenen Luft entgegen. Beim Fortschreiten der Flüssigkeit in den Kapillaren steigt der Luftdruck durch Komprimierung des Gases an, bis Luftdruck und Penetrationsdruck äquivalent sind. Verfügt nun die Flüssigkeit über eine hohe Oberflächenspannung, so ist ein Entweichen der gefangenen Luft aus den kapillaren Porositäten unwahrscheinlich, da die hiermit verbundene Vergrößerung der Flüssigkeits-Gas-Grenzfläche mit einem hohen Anstieg an Energie im System verbunden ist. Bei Flüssigkeiten mit geringer Oberflächenspannung ist dieser Energieanstieg bedeutend geringer und somit die Wahrscheinlichkeit größer, dass gefangene Luft entweichen kann.

Somit ist ein vollständiges Ausfüllen der Läsion bei Flüssigkeiten mit geringerer Oberflächenspannung wahrscheinlicher.

Eine hohe Oberflächenspannung wirkt sich somit theoretisch günstig auf die Penetration von Adhäsiven in kariöse Läsionen aus, verhindert aber das Entweichen eventuell eingeschlossener Luft und verhindert so ein komplettes Auffüllen der Läsion. Aufgrund der beschriebenen Umstände sind die Parameter geringe Viskosität und kleiner Kontaktwinkel zu Zahnschmelz die Größen, welche das Penetrationsverhalten von Adhäsiven in kariöse Läsionen am wahrscheinlichsten beeinflussen. Da in der vorliegenden Studie keine Messungen von Kontaktwinkel, Oberflächenspannung und Viskosität vorgenommen wurden und die Hersteller der Materialien keine Auskünfte über diese Eigenschaften geben konnten, müssen diese Überlegungen später experimentell bestätigt werden, um eventuell über eine Veränderung der chemischen Zusammensetzung der Versieglermaterialien eine Optimierung der Penetrationseigenschaften zu erzielen.

Bei 30 s Penetrationsdauer erreichte das Material Excite in der vorliegenden Studie mit durchschnittlich 105,3  $\mu\text{m}$  und 92,4 % der Läsionstiefe die höchsten Penetrationstiefen. Etwas geringere Penetrationstiefen (75,2  $\mu\text{m}$  / 80,4 %), die sich aber statistisch nicht signifikant von Excite unterschieden, zeigte Resulcin Monobond. Die ähnlichen Ergebnisse für Helioseal und Heliobond lassen sich durch die vergleichbare Zusammensetzung beider Materialien erklären, auch wenn Helioseal, vermutlich wegen des Zusatzes von Titandioxid, etwas geringere Penetrationstiefen aufwies.

Die geringsten Penetrationstiefen zeigte Solobond M. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte das schnelle Verdunsten des Lösungsmittels Aceton mit einer einhergehenden Erhöhung der Viskosität des Adhäsivs bieten. Aceton als Lösungsmittel wird in dentalen Adhäsiven als Lösungsmittel eingesetzt, da es eine starke Verringerung der Viskosität und Oberflächenspannung bewirkt. Eine herabgesetzte Oberflächenspannung könnte sich negativ auf den Penetrationskoeffizienten auswirken. Darüber hinaus verflüchtigt sich das Lösungsmittel schnell und führt so zu einer Viskositätssteigerung, die das Penetrationsverhalten ebenfalls negativ beeinflusst. Da in der vorliegenden Untersuchung weder Viskosität, noch Oberflächenspannung und Kontaktwinkel der Haftvermittler gemessen wurden sind diese Erklärungsansätze allerdings spekulativ.

Die beobachteten Penetrationstiefen nach 30 s Infiltrationsdauer sind vergleichbar mit den Ergebnissen von Gray und Shellis, die nach gleicher Einwirkzeit für die beiden getesteten Materialien Seal and Protect und Scotchbond 1 Penetrationstiefen von 89 % bzw. 90 % der Läsionstiefe (80-205  $\mu\text{m}$ ) fanden (Gray und Shellis 2002).

Die Verlängerung der Penetrationsdauer von 15 s auf 30 s ergab bei allen Materialien eine Erhöhung der Penetrationstiefe. Diese war jedoch für die Materialien Solobond M und Adper Prompt L-Pop nicht signifikant. Die Erhöhung der Penetrationstiefe bei längerer Einwirkzeit spricht für die Zeitabhängigkeit des Penetrationsvorganges (siehe Washburn-Gleichung). Mit Ausnahme von Excite führte bei allen Materialien die Verdopplung der Penetrationszeit nicht zu einer Verdopplung der Penetrationstiefe, was den quadratischen Zusammenhang der Washburn-Gleichung bestätigt.

Lediglich das Material Excite war in 66 % der Läsionen in der Lage den Läsionskörper bei 30 s Penetrationsdauer vollständig auszufüllen was voraussetzt, dass die im Läsionskörper enthaltene Luft entweichen konnte. Das Material Monobond erreichte in 33 % der Fälle eine vollständige Penetration des Läsionskörpers.

### **6.2.2. Sauerstoffinhibitionsschicht**

Die verwendeten Versiegler wiesen nach ihrer Aushärtung eine nicht polymerisierte Schicht von durchschnittlich 0,8-13,7  $\mu\text{m}$  auf. Diese Schicht machte zwischen 7,4 und 53,0 % der Penetrationstiefe aus und verringerte so besonders bei den Materialien Solobond M und Adper Prompt L-Pop aufgrund deren geringen Penetrationstiefe die Schichtstärke erheblich. Die Verlängerung der Penetrationszeit von 15 s auf 30 s beeinflusste die Stärke der oberflächlichen Sauerstoffinhibitionsschicht nur bei dem Material Excite signifikant. Während bei der konventionellen Verwendung der dentalen Haftvermittler eine sauerstoffinhibierte Schicht erwünscht ist, da sie genügend unpolymerisierte Doppelbindungen für einen adhäsiven Verbund mit der nachfolgend aufgetragenen Kompositschicht enthält (Vankerckhoven et al. 1982), wäre bei der Verwendung der Adhäsive als Versiegler initialer Schmelzdeminalisationen eine Sauerstoffinhibitionsschicht unerwünscht. Ihre Ausbildung und könnte eventuell durch Auflegen einer Matrice oder Abdeckung mit Vaseline während des Polymerisationsvorganges verhindert werden.

### **6.2.3. Kompaktheit der Versiegler-schicht**

Die verfügbaren Studien, in denen die Versiegelung von initialen kariösen Läsionen durch Infiltration mit Kunststoffen untersucht wurde (Davila et al. 1975; Robinson et al. 1976;



García-Godoy et al. 1997; Robinson et al. 2001; Gray und Shellis 2002; Schmidlin et al. 2004), machen keine exakten qualitativen oder quantitativen Aussagen über die Beschaffenheit der Versieglerschicht. Eine große Penetrationstiefe geht aber nicht notwendigerweise mit der Ausbildung einer kompakten Kunststoffschicht einher, welche die Diffusion von Säuren und Mineralien dauerhaft unterbinden würde. Neben der oberflächlichen Sauerstoffinhibitionsschicht wiesen fast alle Proben auch innerhalb der Kunststoffschicht nicht ausgeflossene oder nicht polymerisierte Areale auf, welche durch die Bestimmung des Kompaktheitswertes erfasst wurden.

Die geringen Werte für die Kompaktheit bei Solobond M lassen sich mit der im Vergleich zur Penetrationstiefe relativ starken Sauerstoffinhibitionsschicht erklären. Auch Adper Prompt L-Pop weist eine starke oberflächliche Sauerstoffinhibitionsschicht auf. Bei diesem Material sind jedoch auch innerhalb der Versieglerschicht große Areale nicht versiegelt. Dies erklärt die trotz der vergleichsweise hohen Penetrationstiefe des Materials schlechte Versiegelungswirkung.

Die übrigen Materialien weisen eine vergleichbare Kompaktheit auf, wobei Resulcin Monobond bei 30 s Penetrationsdauer die kompaktesten Versieglerschicht hervorbrachte. Eine Verdopplung der Penetrationsdauer von 15 auf 30 s führte bei allen Materialien zu einer Erhöhung der Werte. Ein Grund hierfür ist die Erhöhung der Penetrationstiefe, bei etwa gleich bleibender Sauerstoffinhibitionsschicht. Ein anderer Grund könnte im Penetrationsverhalten der Kunststoffe liegen. Die Versiegler fließen zunächst in den Prismenkernen in die Tiefe des Läsionskörpers und breiten sich erst dann auch in die Prismenperipherie aus. Dadurch sind bei zu kurzer Penetrationsdauer besonders in den tiefen Anteilen der Läsion diese Areale nicht versiegelt.

#### **6.2.4. Progression der Läsionstiefe**

In der Literatur findet sich bisher nur eine Studie, in welcher die Fähigkeit von Adhäsiven getestet wurde, die Progression initialer kariöser Läsionen durch deren Infiltration zu verhindern (Robinson et al. 2001). Wie bereits angemerkt, verfälschte in dieser Studie eine belassene kompakte Versieglerschicht an der Läsionsoberfläche allerdings die Ergebnisse, weswegen diese nicht mit denen der vorliegenden Studie vergleichbar sind.

Eine andere Studie untersuchte die Kariesprogression nach „Versiegelung“ initialer Läsionen durch einen ungefüllten Kunststoff (García-Godoy et al. 1997). Da aber auch in dieser Studie

nicht erwähnt wird, dass eine kompakte Kunststoffschicht auf der Läsionsoberfläche bewusst entfernt wurde, ist auch hier davon auszugehen, dass die oberflächliche Kunststoffschicht das Ergebnis beeinflusste.

Ein möglicher Grund für den in den genannten Studien gewählten Versuchsaufbau ist, dass die Versiegelung initialer Läsionen eher vergleichbar mit einer Fissurenversiegelung konzipiert war. Der Versiegelungseffekt sollte wahrscheinlich durch eine auf den Schmelz aufgetragene Kunststoffschicht erzielt werden, wobei dennoch der Tatsache Beachtung geschenkt wurde, dass der Kunststoff teilweise tief in die Läsion eindrang. Ähnliche Herangehensweisen sind auch in anderen Studien zu finden (Croll 1987; Gray und Shellis 2002). In einer neueren Studie wird sogar die Schaffung einer oberflächlichen Diffusionsbarriere durch Anbringung einer Polymerfolie favorisiert (Schmidlin et al. 2005). Somit ist das in der vorliegenden Studie vorgestellte Konzept der Versiegelung durch Infiltration der Karies ohne ein Belassen einer kompakten Kunststoffschicht auf der Oberfläche als Diffusionsbarriere neuartig.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Materialien Helioseal, Heliobond, Resulcin Monobond und Excite in der Lage sind, die Progression einer initialen kariösen Läsion zu vermindern. Mit nur durchschnittlich 2,9 % Zuwachs der Läsionstiefe im Vergleich zu 63,7 % bei der unbehandelten Kontrollgruppe war der Versiegelungseffekt bei Excite nach 30 s Penetrationsdauer am stärksten. Dennoch bestehen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Effizienz der Versiegelung bei den genannten vier Materialien.

Es ist festzustellen, dass eine 14tägige Exposition der Proben in der Demineralisationslösung zu Läsionen von durchschnittlich 94,3 µm Tiefe geführt hatte, wogegen eine erneute Demineralisation bei den für 30 s mit Helioseal, Heliobond, Resulcin Monobond bzw. Excite behandelten Läsionen nur zu einer geringen Progression führte. Dies lässt den Schluss zu, dass derart versiegelte Läsionen auch ohne Belassen einer kompakten Kunststoffschicht auf der Oberfläche wesentlich kariesresistenter als unbehandelter Schmelz sind. Dies deckt sich mit Beobachtungen, dass angeätzter und versiegelter Schmelz, dessen kompakte Kunststoffschicht entfernt wurde, wesentlich säureresistenter ist, als unbehandelter Schmelz (Hicks und Silverstone 1982).

Die Materialien Solobond M und Adper Prompt L-Pop waren nicht in der Lage, eine weitere Demineralisation signifikant zu verhindern. Bei Adper Prompt L-Pop fanden sich nach der Säureexposition sogar tiefere Läsionen als in der unbehandelten Kontrollgruppe. Dies könnte auf die selbststützenden Eigenschaften des Adhäsivs zurückzuführen sein, welche in der Läsion zu einem weiteren Mineralverlust führen.

Die zum Teil gemessenen negativen Werte für die Progression der Läsionstiefe (Abb. 14: Resulcin Monobond und Excite) ergeben sich aus dem Versuchsaufbau und sind nicht als Remineralisation zu werten. Da bei der vorliegenden Methode jeweils zwei Probenhälften miteinander verglichen wurden und die Demineralisationstiefe innerhalb einer Probe nicht an allen Stellen vollkommen gleich war, ergaben sich für den Wert „Progression“ dann negative Werte, wenn die Initiailläsion der abgedeckten Kontrollhälfte schon vor der zweiten Demineralisationsperiode geringfügig tiefer war als in der Effekthälfte und durch die Versiegelung keine weitere Progression in der Effekthälfte stattfand.

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass dentale Haftvermittler und ein Fissurenversiegler in künstlich erzeugte initiale Schmelzläsionen penetrieren und nach ihrer Aushärtung eine Progression der Karies unter kariogenen Bedingungen inhibieren können. Bis zur klinischen Anwendung des Verfahrens zur Behandlung von approximaler Schmelzkaries sind weitere In-vitro- und In-situ-Studien nötig, um die Übertragbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse auf eine klinische Situation zu überprüfen. Insbesondere der In-situ-Versuch wird zeigen, ob das hier vorgestellte Verfahren aus klinischer Sicht erfolgreich ist. Bei *in situ* getragenen Proben ist nämlich davon auszugehen, dass die Läsionen mit Nahrungs- und Speichelbestandteilen kontaminiert werden, was möglicherweise die Penetration der adhäsiven Materialien beeinträchtigen könnte. Dies gilt umso mehr für *in vivo* entstandene Läsionen, bei denen neben den beschriebenen Problemen die pseudointakte Oberflächenschicht unterschiedlich dick ist und darüber hinaus auch unterschiedlich stark mineralisiert sein kann. Auch hierdurch dürften die weiter oben beschriebenen Penetrationseigenschaften der adhäsiven Materialien beeinflusst werden.

#### **6.2.5. Vergleich der Auswertungsmethoden VIRIN und TMR**

Der Vergleich der mit dem CLSM über Infiltration mit fluoreszierendem Kunststoff (VIRIN) gemessenen Läsionstiefen mit den mittels Transversaler Mikroradiografie ermittelten Werten ergab eine hohe Korrelation der beiden Untersuchungsmethoden. Der Vergleich exemplarisch ausgewählter Grauwert-Kurven beider Methoden zeigte eine deutliche Ähnlichkeit beider Graphen. Diese Ergebnisse bestätigen, dass sich die konfokalmikroskopische Untersuchung mit fluoreszierendem Kunstharz infiltrierter Proben (VIRIN) zur Messung der Läsionstiefe eignet.

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. Bereits früher wurde darauf hingewiesen, dass die Läsionstiefe bei der mikroradiografischen Auswertung gegenüber der lichtmikroskopischen Auswertung unterschätzt wird, weil bei dieser Technik nur der Läsionskörper detektiert wird (Silverstone 1982). Die Läsionsfront kann bei der Tiefenmessung mit der TMR nicht mit erfasst werden.

In der vorliegenden Studie wurde die Läsionstiefe bei der VIRIN-Untersuchung als der Abstand von der Probenoberfläche zu der Tiefe, wo die Schmelzprismen keine Demineralisation, also Fluoreszenz, mehr aufweisen festgelegt. Diese Definition ergibt sich aus der Erkenntnis, dass im Läsionskörper sowohl die Prismenkerne als auch die Prismenscheiden ein erhöhtes Porenvolumen aufweisen (Pearce und Nelson 1989; Frank 1990). Zusätzlich kann mit der VIRIN-Methode ebenfalls die Ausdehnung der Demineralisationsfront dargestellt und somit die Tiefe der beginnenden Demineralisation ermittelt werden. Aus Gründen der Vergleichbarkeit wurde in der vorliegenden Studie die Läsionstiefe mit der Tiefe des Läsionskörpers gleichgesetzt.

Bei der Bestimmung der Läsionstiefe mit VIRIN kann der Übergang zwischen Läsionskörper und fortschreitender Läsionsfront nicht immer scharf abgegrenzt werden. Daher kann die Läsionstiefe von der Helligkeit des CLSM-Bildes und somit von verschiedenen Einstellungen am CLSM beeinflusst sein. Um diesen Fehler zu minimieren, wurden die Aufnahmen standardisiert aufgenommen und ausgewertet.

Bei der TMR wird mittels einer Aluminiumtreppe (step wedge), welche den gleichen Strahlenabschwächungskoeffizient wie Hydroxylapatit hat, jedem Grauwert im Mikroradiogramm ein definierter Mineralgehalt zugeordnet. Belichtungsfehler können somit kompensiert werden. Für VIRIN existiert eine solche „Eichtreppe“ noch nicht. Etwaige Messfehler können also nicht im Nachhinein korrigiert werden. Daher kann einem Grauwert (Rotwert) auf dem CLSM-Bild kein bestimmtes Porenvolumen zugeordnet werden. Folglich ist eine Bestimmung der Läsionstiefe über Prozentangaben mit VIRIN nicht sinnvoll.

Eine „Eichtreppe“ für VIRIN könnte aus Keramik- oder Hydroxylapatitblöcken mit unterschiedlichen, definierten offenen Porenvolumina bestehen, welche oberhalb jeder Läsion angebracht und ebenfalls mit Kunststoff infiltriert werden. Somit wären Referenzen für unterschiedliche Helligkeitsstufen im CLSM-Bild gegeben. Sollte eine derartige Standardisierung der VIRIN-Methode gelingen und sollte sich der Zusammenhang zwischen

Fluoreszenz und Porenvolumen bestätigen, so könnte diese Technik ebenfalls zur Abschätzung des Mineralverlustes herangezogen werden.