

Aus dem Institut für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss verschiedener Ätzgele
auf die Erosion der Oberflächenschicht
kariöser Läsionen *in vitro*

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Julia Meyer-Lückel geb. Heinrich

aus Hennigsdorf

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. H. Meyer-Lückel

2. Prof. Dr. R. J. Radlanski

3. Prof. Dr. R. Frankenberger

Datum der Promotion: 20.11.2009

"So eine Arbeit wird eigentlich nie fertig, man muss sie für fertig erklären, wenn man nach der Zeit und den Umständen das Möglichste getan hat."

J. W. Goethe

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	6
2	Literaturübersicht	7
2.1	Zahnschmelz	7
2.1.1	Chemische Merkmale des Zahnschmelzes	7
2.1.2	Biologische und mikroskopische Merkmale des Zahnschmelzes	8
2.2	Karies	9
2.2.1	Definition des Begriffs Zahnkaries	9
2.2.2	Ätiologie der Karies	10
2.2.3	Morphologie der Schmelzkaries	11
2.3	Approximalkaries	12
2.3.1	Epidemiologie der Approximalkaries	12
2.3.2	Diagnostik der Approximalkaries	13
2.4	Therapieplanung und Therapieentscheidung bei Approximalkaries	16
2.4.1	Operative Therapieoptionen	16
2.4.2	Non-operative Therapien und ihre Grenzen	17
2.4.3	Neuartige Therapiemöglichkeiten bei approximaler Karies	18
2.4.3.1	Approximale Versiegelung	18
2.4.3.2	Applikation einer Kunststoffolie	20
2.5	Säuren	21
2.5.1	Definition und Eigenschaften von Säuren	21
2.5.2	Salzsäure in der Zahnmedizin	22
3	Fragestellung	23
4	Material und Methode	24
4.1	Herstellung der Schmelzproben	24
4.1.1	Gruppeneinteilung und Säurekonditionierung	25
4.1.2	Vorbereitung für die konfokalmikroskopische Untersuchung	26
4.2	Konfokalmikroskopische Untersuchung	27
4.3	Auswertung der gewonnen Bilder	28

4.4	Mikroradiografische Auswertung.....	30
4.5	Statistische Auswertung	31
5	Ergebnisse	32
5.1	Oberflächenschichtdicken der Kontrollhälften.....	32
5.2	Auswertung der Erosionen mit dem CLSM	33
5.3	Auswertung der Veränderung des Mineralgehaltes mit der Mikroradiografie.....	38
6	Diskussion	41
6.1	Diskussion von Material und Methode.....	41
6.1.1	Versuche mit natürlichen Läsionen.....	41
6.1.2	Säuren.....	42
6.1.3	Visualisierungsmethode	43
6.2	Diskussion der Ergebnisse.....	45
7	Zusammenfassung.....	47
8	Summary	48
9	Literaturverzeichnis.....	49
10	Anhang	56
10.1	Materialliste	56
10.2	Danksagung	58
10.3	Curricululum vitae.....	59
10.4	Publikationen der vorliegenden Arbeit.....	61
10.5	Erklärung	62

1 Einleitung

Bei der Behandlung der approximalen Karies können sich Zahnärzte zwischen non-operativen Maßnahmen, wie Fluoridierung, Ernährungslenkung sowie Mundhygieneinstruktionen und der operativen Füllungstherapie entscheiden. Erstere sollen die Entstehung und Progression kariöser Läsionen möglichst verhindern. Sobald jedoch eine Kavitation der Schmelzläsion vorliegt, scheint eine invasive Füllungstherapie indiziert, da von einer zunehmenden Progressionstendenz ausgegangen werden kann. Ein entscheidender Nachteil der Füllungstherapie ist, dass zumeist gesunde Zahnhartsubstanz „geopfert“ werden muss. Besonders bei der Approximalkaries ist hierbei das Verhältnis zwischen zu entfernender, gesunder Zahnhartsubstanz und der Karies ungünstig. Darüber hinaus stellt der Rand, der nun zu inserierenden Füllung eine neue Prädilektionsstelle für Karies dar. Aufgrund von Alterungsprozessen der Füllungsmaterialien müssen diese Restaurationen in der Regel nach einigen Jahren erneuert werden, was zumeist auch eine weitere Vergrößerung der Kavität bedeutet und unter Umständen weitaus aufwändigere Versorgungen notwendig werden lässt.

Die Lücke zwischen den bekannten Behandlungsmethoden könnte durch eine neuartige Methode sinnvoll geschlossen werden. Einen viel versprechenden experimentellen Therapieansatz stellt die Behandlung der demineralisierten Schmelzstruktur mit erhärtenden Kunststoffen, analog der Fissurenversiegelung dar. Hierbei wäre eine gewisse Penetration des Kunststoffes in die Läsion durchaus wünschenswert. Die Läsionsprogression könnte hierdurch zumindest verzögert werden. Bisherige In-vitro-Studien zur Thematik wurden zumeist anhand von künstlichen Läsionen durchgeführt. Darüber hinaus liegen rein qualitative Hinweise bezüglich *in vitro* behandelte natürlicher Läsionen vor. In diesen Studien wurden aus der Füllungstherapie bekannte Materialien (Phosphorsäure sowie Adhäsive und Fissurenversiegler) verwendet. Die Penetration dieser Materialien könnte aufgrund der bei natürlichen Läsionen relativ dickeren Oberflächenschichten vermindert sein, woraus eine im Vergleich zu künstlichen Läsionen verschlechterte Verhinderung der Kariesprogression resultieren könnte.

Das Ziel dieser Arbeit war es daher, ein Ätzverfahren zu entwickeln, um die bei natürlichen Läsionen dickere Oberflächenschicht für die anschließende Behandlung mit niedrig viskösen Kunststoffen vorzubereiten. Es wurden zwei Ätzgele und unterschiedliche Applikationszeiten untersucht.

2 Literaturübersicht

2.1 Zahnschmelz

2.1.1 Chemische Merkmale des Zahnschmelzes

Die härteste Substanz des menschlichen Körpers ist der Zahnschmelz. Dieser besteht zu 95 Prozent aus anorganischer Matrix, vier Prozent Wasser und einem Prozent organischer Matrix (Gwinnett 1992; Schroeder 1992). Kalzium und Phosphate bilden in Form von Hydroxylapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ die Hauptbestandteile dieser anorganischen Substanz. Im Schmelz sind Karbonat, Fluorid, Natrium sowie anderen Ionen eingeschlossen (Berkovitz et al. 1992; ten Cate et al. 2003), deshalb kann dieses nicht als stöchiometrisch rein angesehen werden. Die Apatitkristalle sind von einer Hydratationsschale umgeben in der das vorkommende Wasser zu 75 Prozent kristallin gebunden ist (Abb. 1), 25 Prozent des Wassers ist lose an organische Materie gebunden (Gwinnett 1992; Hellwig et al. 2003a; ten Cate et al. 2003). Die organischen Substanzen des Schmelzes sind vorwiegend Proteine (58 %), Lipide (40 %) sowie Spuren von Kohlenhydraten und organischen Säuren (Schroeder 1992; Hellwig et al. 2003a). Das Porenvolumen des Schmelzes beträgt etwa 0,1 Prozent (Darling et al. 1961; Silverstone 1973).

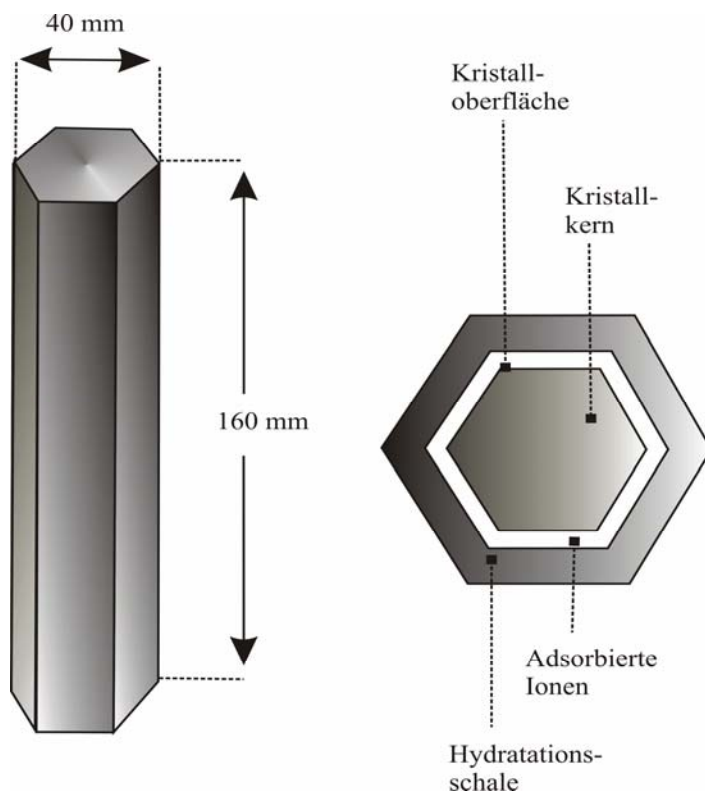


Abb. 1

Schematische Darstellung eines Hydroxylapatitkristalls (Hellwig et al. 2003b)

2.1.2 Biologische und mikroskopische Merkmale des Zahnschmelzes

Der Schmelz beeinflusst die Zahnfarbe; durch seine Transparenz lassen sich gewisse Farbnuancen der Zahnkrone erklären. Er ist in begrenztem Maß für Ionen, Wasser und Farbstoffe durchlässig, wodurch Verfärbungen des Schmelzes entstehen können. Auch wenn er keinen eigenen Stoffwechsel besitzt, laufen in ihm chemische Prozesse, wie die De- und Remineralisation ab (Schumacher 1997).

Von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Schmelzoberfläche ziehen die Tomes'schen Fortsätze der Ameloblasten. Diese scheiden eine Schmelzmatrix aus, die mineralisiert und ausreift. Etwa 100 Schmelzkristalle liegen im Querschnitt zusammengefügt und bilden die sogenannten Schmelzprismen, die histologische Grundeinheit des Schmelzes. Die Kristalle im Kern der Prismen sind dabei mit ihrer Längsachse parallel zur Längsachse des entsprechenden Prismas ausgerichtet. Zur Prismenperipherie fiedern diese auf, der Winkel zur Prismenlängsachse nähert sich 90° . Die Kristalle und ihre Hydratationsschale sind umgeben von Proteinen und Lipiden. Die Prismen als Organisationsstruktur der Kristalle sind in eine zwischenprismatische Substanz eingebettet, die auch aus ungeordneten Schmelzkristallen gebildet wird. Der Bereich, in dem die Ausrichtung der Kristallite des Prismas entlang seiner Längsachse abrupt in die quer dazu liegenden Kristallite des interprismatischen Schmelzes wechselt, wird als Prismenscheide bezeichnet (Pearce und Nelson 1989). Der Querschnitt der Apatitkristalle ist hexagonal, in der Seitenansicht stellen diese sich als Stäbchen dar (Hellwig et al. 2003a). Die erhebliche Größe der Schmelzkristalle, im Vergleich zu anderen biologischen Hartgeweben, ist charakteristisch. Der Durchmesser der Kristalle beträgt etwa 50 nm und ihre Länge oft mehr als 100 μm (Berkovitz et al. 1992; ten Cate et al. 2003). Der interkristalline Raum wird von Wasser und organischem Material ausgefüllt (Silverstone 1973; ten Cate et al. 2003).

2.2 Karies

2.2.1 Definition des Begriffs Zahnkaries

Zahnkaries ist die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanz und ist durch die Zerstörung der selbigen infolge von fortschreitendem Mineralverlust gekennzeichnet. Mit dem Begriff Karies wird ein langsam, individuell voranschreitender Prozess beschrieben, der den Schmelz, das Dentin und das Zement betreffen kann. Bei ausbleibender Veränderung des lokalen Milieus (Biofilm) breitet sich die Karies aus und es kommt in der Folge zu einer Zerstörung des Zahnes (Fejerskov et al. 2003) (Abb. 2).

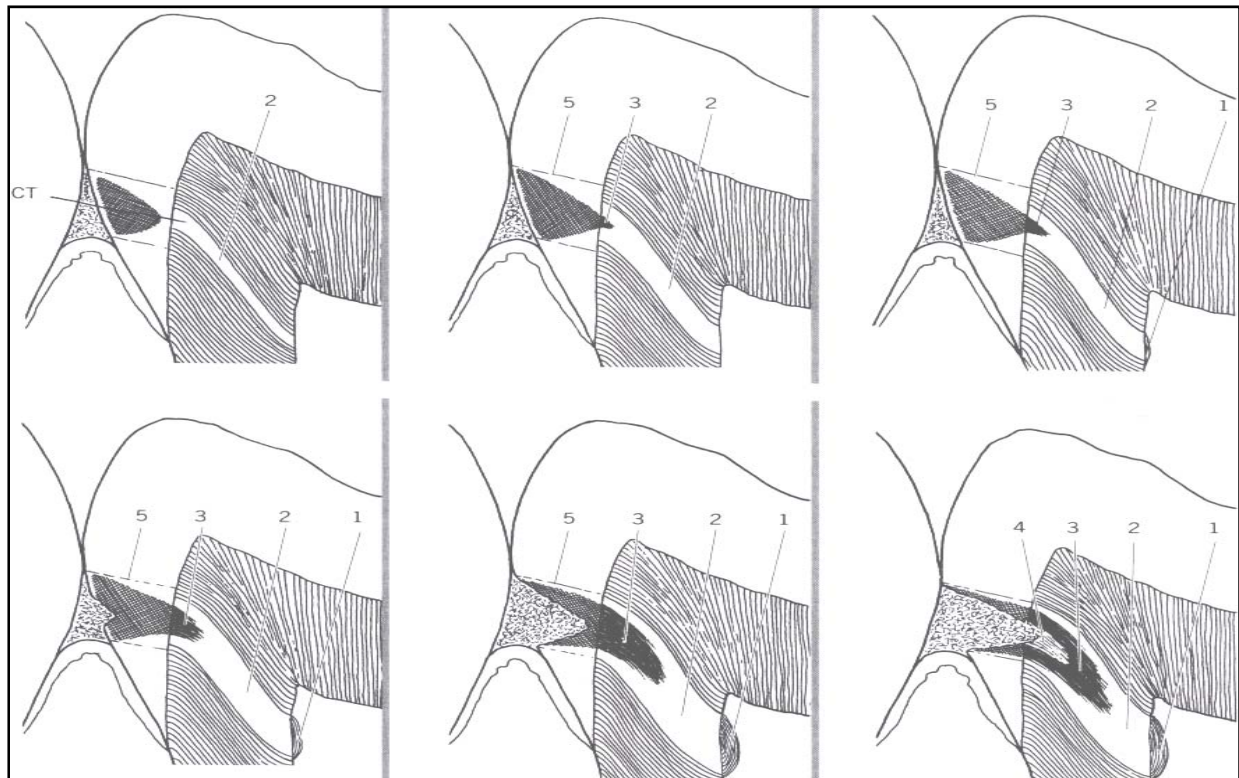


Abb. 2

Schematische Darstellung der fortschreitenden Kariesentstehung (Fejerskov et al. 2003)
 1: Tertiärdentin, 2: Sklerotische oder Transluzente Zone, 3: Zone der Demineralisation, 4: Zone der bakteriellen Invasion und Zerstörung, 5: Ausbreitungsrichtung der Karies entlang den Schmelzprismen

2.2.2 Ätiologie der Karies

Karies ist die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanz und kann durch Phasen der Stagnation, Remission und Progression gekennzeichnet sein (Hellwig et al. 2003a). Erstmals wissenschaftlich mit der Erforschung der Karies beschäftigte sich der über mehrere Jahre in Berlin als Professor für konservierende Zahnheilkunde tätige Willoughby Dayton Miller. Dabei nutzte er Arbeitsmethoden seines Lehrers Robert Koch. Er experimentierte mit vergärbaren Nahrungskohlenhydraten und wertete kariöse Zähne histologisch aus. Seine Erkenntnis hieraus war, dass es sich bei der Karies sowohl um einen chemischen als auch um einen parasitären Prozess handelt. Die Schlussfolgerungen seiner Arbeit schrieb er in der Monographie „Die Mikroorganismen der Mundhöhle“ nieder (Miller 1899). Der grundlegende Mechanismus, der auch später von anderen Wissenschaftlern untersucht wurde, ist hierbei die Demineralisierung der Zahnhartsubstanz durch kariogene Mikroorganismen. Diese produzieren bei einem Substratüberschuss von niedermolekularen Kohlenhydraten über einen längeren Zeitraum organische Säuren. Bei ausreichend langer Einwirkzeit der Säuren wird auf diese Weise der Zahnschmelz demineralisiert (Hellwig et al. 2003a).

Die Entstehung der Karies wird neben den Hauptfaktoren (Wirt, Substrat, Mikroorganismus und Zeit) von vielen sekundären Faktoren (z. B. Speichelfluss und -zusammensetzung, Zahnfehlstellungen, sozioökonomische Faktoren) beeinflusst (Fejerskov und Thylstrup 1994). Eine entscheidende Rolle bei der Kariesentstehung spielen grampositive Kokken, wie *Streptococcus mutans* und Aktinomyzeten. Diese Mikroorganismen lagern sich innerhalb weniger Stunden an den, auf einer gereinigten Zahnoberfläche entstandenen azellulären Film (acquired pellicle) an. Die so entstandene Plaque wächst durch Teilungsvorgänge und Akkumulation. Die Plaquebildung kann gehemmt (antimikrobielle Substanzen) und gefördert (verminderten Speichelfluss) werden. Eine häufige Zufuhr vergärbare Kohlenhydrate, die durch die Mikroorganismen verstoffwechselt werden, führt zu einem pH-Wert Abfall. Ab einem kritischen pH-Wert von 5,2-5,7 kommt es zu einem Mineralverlust für Zahnschmelz (Hellwig et al. 2003a).

Karies entsteht bei ansonsten gesunden Patienten bevorzugt an den so genannten Prädilektionsstellen. Diese zeichnen sich durch eine vermehrte Plaqueanlagerung infolge verminderter Selbstreinigung aus. Zu ihnen zählen die Fissuren und Grübchen, die Approximalflächen, die zervikalen Glattflächen sowie die freiliegenden Wurzeloberflächen (Hellwig et al. 2003a).

2.2.3 Morphologie der Schmelzkaries

Klinisch ist eine initiale Schmelzkaries als ein kreidiger, opaquer Fleck sichtbar. Die farbliche Abgrenzung entsteht durch Wasser- und Lufteinlagerungen in den kariös veränderten Schmelz und die damit verbundene veränderte Lichtbrechung (Kidd et al. 2003). Die auch als „white spot“ bezeichnete aktive initiale Schmelzläsion kann leicht aufgeraut sein, ist in ihrer Oberflächenkontinuität jedoch nicht unterbrochen. Als „brown spot“ wird meist eine remineralisierte initiale Läsion bezeichnet. Bei Ausbleiben weiterer kariogener Einflüsse, kommt es durch die Einlagerung von Lebensmittelfarbstoffen zu einer dunklen Verfärbung des Läsionskörpers mit harter und glänzender Oberfläche (Abb. 3)

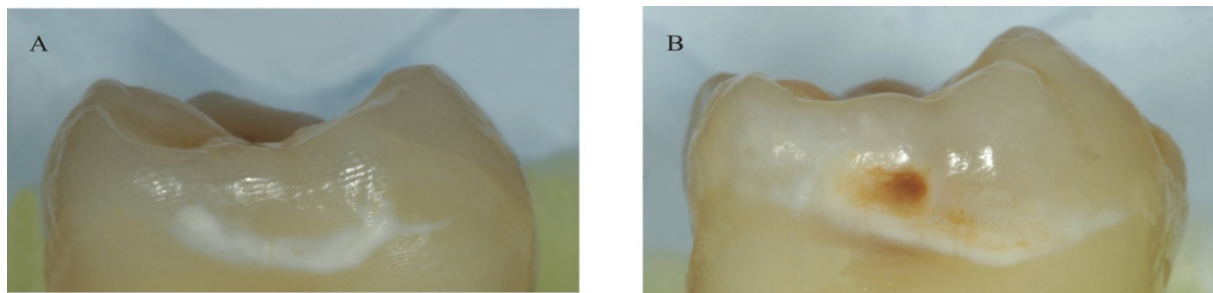


Abb. 3

Exemplarische Aufnahmen natürlicher Zähne mit einem so genannten „white spot“ (Bild A) sowie einem „brown spot“ (Bild B).

Histologisch sind im Polarisationsmikroskop vier Zonen der Schmelzkaries zu unterscheiden (Silverstone 1973; Silverstone et al. 1988). Von innen nach außen sind die Transluzente Zone, die Dunkle Zone, der Läsionskörper und die Oberflächenschicht erkennbar (Abb. 4).

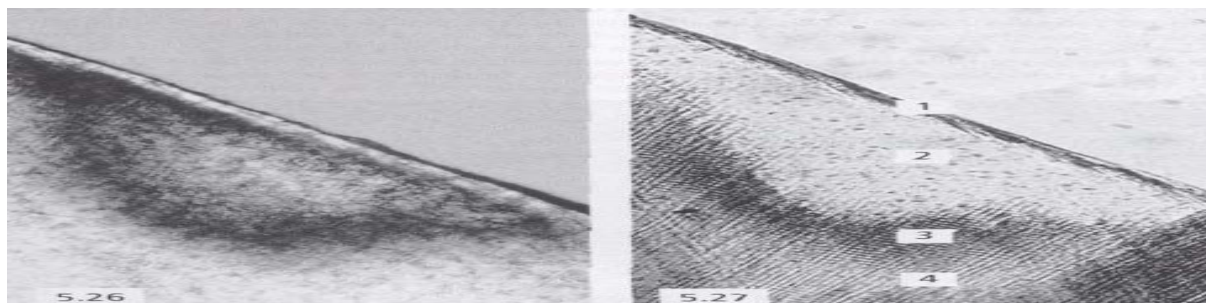


Abb. 4

Polarisationsmikroskopische Aufnahmen einer oberflächlichen Schmelzläsion nach Imbibition in Wasser (Bild 5.26) und Chinolin (Bild 5.27). 1: Oberflächenschicht, 2: Läsionskörper, 3: Dunkle Zone, 4: Transluzente Zone (Fejerskov et al. 2003)

Der *Läsionskörper* ist die Zone der größten Demineralisation. Hier liegt der Mineralverlust bei etwa 25 Prozent und das Porenvolumen bei 5-25 Prozent (Klimm 1997). Die an den Läsionskörper angrenzenden Zonen sind sowohl nach innen als auch nach außen stärker mineralisiert als der Läsionskörper.

In Richtung Dentin folgt die *Dunkle Zone* mit einem Mineralverlust von etwa sechs Prozent und einem Porenvolumen von zwei bis vier Prozent (Klimm 1997). Diese ist ein polarisationsoptisches Phänomen, für das unterschiedliche Erklärungsansätze existieren. Während einige Autoren diese als das Resultat von Remineralisationsvorgängen ansehen (Silverstone 1973; Silverstone et al. 1988), erklären andere die polarisationsoptische Erscheinung der dunklen Zone durch die Okklusion von Poren durch organisches Material (Shellis et al. 2002).

Die fortschreitende Front der Läsion in Richtung Dentin, die *Transluzente Zone*, hat ein Porenvolumen von einem Prozent (Klimm 1997). Leicht säurelösliches Karbonat löst sich aus dem Apatitgitter und führt so zur Bildung der Poren ausgehend von der Prismenscheide.

In Richtung der Zahnoberfläche, oberhalb des Läsionskörpers folgt die *Oberflächenschicht*. Diese kann in ihren Dicken stark variieren (30-100 µm). Wie auch die beiden tiefer gelegenen Zonen weist diese einen geringeren Mineralverlust auf (Kidd 1983). Daher wird diese auch als „pseudointakte“ Oberflächenschicht bezeichnet. Dennoch ist die Oberflächenschicht mit einem Porenvolumen von etwa ein bis fünf Prozent zehn- bis fünfzigfach poröser als gesunder Schmelz (Hicks und Silverstone 1985).

2.3 Approximalkaries

2.3.1 Epidemiologie der Approximalkaries

In den westlichen Industrienationen wurde in den vergangenen Jahrzehnten ein substantieller Rückgang der Kariesprävalenz vor allem an Glattflächen beobachtet (Glass et al. 1987; Burt 1994; Fejerskov und Baelum 1998; Marthaler 2004). Dennoch hat die Karies nach wie vor einen deutlichen gesundheitsökonomischen Stellenwert (Micheelis und Schiffner 2006) und schränkt oftmals aus Sicht der Patienten die Lebensqualität ein.

Die meisten epidemiologischen Untersuchungen zur Kariesprävalenz beziehen sich auf DMFT- oder DMFS-Werte. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass proximale Schmelzläsionen mit intakter Oberfläche, die klinisch nicht sichtbar sind, in den DMF-Indizes

üblicherweise nicht erfasst werden. Die Gruppe der kariesfreien Individuen einer Population halbiert sich entsprechend, wenn röntgenologisch diagnostizierte Schmelzläsionen ebenfalls gewertet werden (Poorterman et al. 2002). Analog hierzu betrug bei 16-jährigen Schweden der Anteil initialer Läsionen an der Gesamtzahl aller Läsionen 80 Prozent (Skold et al. 1995). Anhand der Daten der Kariesprävalenz schwedischer Jugendlicher und junger Erwachsener wird ebenfalls deutlich, dass die Inzidenz approximaler Karies ab einem Lebensalter von 20 Jahren zwar abnimmt, die Prävalenz der approximalen Schmelzläsionen ab diesem Alter stagniert, aber die Anzahl approximaler gefüllter und invasiv zu behandelnder Flächen bis zu einem Lebensalter von 27 weiterhin zunimmt (Mejare et al. 2004). Eine weitere Studie, welche eine dänische Kohorte mit relativ geringer Kariesprävalenz untersuchte, stellte heraus, dass lediglich 20 Prozent der Patienten im Alter von 17-26 Jahren keine röntgenologisch diagnostizierbare proximale Karies aufwiesen, während 25 Prozent mehr als zehn derartige Läsionen und Füllungen hatten (Hintze 2001). Dies bedeutet, dass sogar in diesen, in Relation zu vielen anderen Ländern recht ‚kariesinaktiven‘ Populationen, auch heutzutage vor allem an den approximalen Flächen ein bedeutendes Kariesvorkommen zu beobachten ist. Somit scheint die Prävalenz der in das Dentin reichenden kariösen Läsionen (so genannter D3-Level) bei Jugendlichen zwar rückläufig, die Prävalenz aller Läsionen (D1-, D2- und D3-Level) hat allerdings nicht abgenommen. Im Gegensatz zu früheren Jahrzehnten hat sich vielmehr das Auftreten einer größeren Anzahl von tieferen Läsionen (D3-Level) um fünf bis zehn Lebensjahre nach hinten verschoben.

2.3.2 Diagnostik der Approximalkaries

Für die Diagnostik der approximalen Karies spielt das Bissflügelröntgenbild eine entscheidende Rolle (Kogon et al. 1987; Kidd und Pitts 1990) (Abb. 5). Mit Hilfe der Bissflügelröntgenaufnahmetechnik ist es möglich, proximale kariöse Läsionen zu diagnostizieren, bevor diese in der klinischen Situation sichtbar werden (Kidd et al. 2003; Bloemendal et al. 2004). Hierbei hat sich eine Einteilung der Läsionsausdehnung (Abkürzung R oder D) in vier Grade in Bezug auf die röntgenologisch deutlich sichtbaren Strukturen Schmelz und Dentin durchgesetzt (Marthaler 1966; Kidd et al. 2003). Aufgrund der Schwierigkeiten bei der Unterscheidung der Grade D2 und D3 wurde eine zusätzliche Gradierung für Karies, welche an die Schmelz-Dentin-Grenze (EDJ – enamel-dentin junction)

heranreicht, akzentuiert (Mejare et al. 1999a). Darüber hinaus unterteilen manche Autoren, wohl aufgrund der hieraus resultierenden unterschiedlichen therapeutischen Konsequenzen, die Kariesausdehnung im Dentin in drei Stufen (Maupome und Sheiham 1997; Mejare et al. 1999b).

Neben der röntgenologischen Beurteilung des Zahnes hat der Zahnarzt die Möglichkeit den Zahn visuell-taktil zu untersuchen. Die Diagnose „Karies“ bedeutet hierbei nach WHO-Richtlinien, dass eine Dentinkaries mit Kavitation vorliegt. In den letzten Jahren wurden diagnostische Kriterienkataloge vorgeschlagen, um eine einheitliche klinische Nomenklatur zu finden (ICDAS; Nyvad et al. 1999), die auch geringere Schweregrade der Karies berücksichtigt.

Darüber hinaus gibt es lichtoptische Detektionsmethoden unterschiedlicher Güte (FOTI, DIAGNOdent-Pen), die allerdings noch keine weitreichende Verbreitung gefunden haben (Verdonschot und Angmar-Mansson 2003; Kühnisch et al. 2007).



Abb. 5

Klinische Bilder einer 27-jährigen Patientin mit erkennbarer Schmelzläsion auf der Bißflügelaufnahme (A) und unauffälliger klinisch Situation (B und C).

Da die Frage nach der Kavitation der Läsion einen entscheidenden Einfluss auf den Therapieentscheid hat, ist dies ein wichtiger Aspekt in der Diagnostik. Eine Approximalkaries mit intakter Oberfläche wird allgemein als remineralisierbar eingestuft, da hier die für eine Remineralisation essentielle Entfernung der Plaque mit Hilfe von Zahnseide möglich ist (Ratledge et al. 2001; Kidd und van Amerongen 2003). Das röntgenologische Überschreiten der Schmelz-Dentin-Grenze ist heute häufig Grund genug eine Karies invasiv zu behandeln, da ab diesem Stadium von einer Kavitation ausgegangen werden kann (Abb. 6).

Die Oberflächen von klinisch als inaktiv sowie aktiv eingestuften kariösen Läsionen zeigen Diskontinuitäten (Mikrokavitäten) in der rasterelektronenmikroskopischen (REM) Darstellung (Fejerskov et al. 2003). Bei Betrachtung mit dem REM wiesen 97 Prozent der röntgenologisch bis in die äußere Schmelzhälfte extendierten Läsionen solche

Diskontinuitäten der Oberfläche auf (Kielbassa et al. 2006). Auch bei geringerer Vergrößerung der zu betrachtenden Oberfläche konnten bei 29-73 Prozent der beurteilten Läsionen mit geringer radiologischer Ausdehnung (R1) Diskontinuitäten *in vitro* beobachtet werden (Marthaler und Germann 1970; Espelid und Tveit 1986; Kogon et al. 1987). Bei röntgenologisch bis in das Dentin extendierten Läsionen wurden in den genannten In-vitro-Studien in bis zu 100 Prozent der Fälle Mikroavitationen festgestellt. Klinisch wurden hingegen aufgrund der schweren Einsichtbarkeit der Approximalflächen sowie der schlechteren Vergrößerungsmöglichkeiten geringere Raten von Zähnen mit Kavitationen beobachtet (Ratledge 1999; Kidd und van Amerongen 2003). Grundsätzlich besteht die Frage, ab welcher röntgenologischen Kariesausdehnung und klinischen Kavitationsgröße eine Progression der Karies präventiv nicht mehr zu verhindern ist (Marthaler und Germann 1970; Rugg-Gunn 1972).

Neben der Kariesausdehnung und der Kavitation sollte auch die Kariesaktivität betrachtet werden. Diese kann jedoch nicht alleine anhand einer zu einem Zeitpunkt angefertigten Bissflügelaufnahme bestimmt werden, sondern erfordert eine Wiederholung solcher Aufnahmen in regelmäßigen Abständen. Die Anzahl der vorhandenen Restaurationen stellt hierbei generell den besten Prädiktor für das zukünftige Auftreten von Karies dar (Kidd und van Amerongen 2003).

Darüber hinaus korreliert eine aktive Approximalkaries mit der Blutung der Gingiva der benachbarten Papille (Ekstrand et al. 1998), ein weiteres Kriterium, welches allerdings nur bei parodontal gesunden Patienten einen Anhaltspunkt bietet.

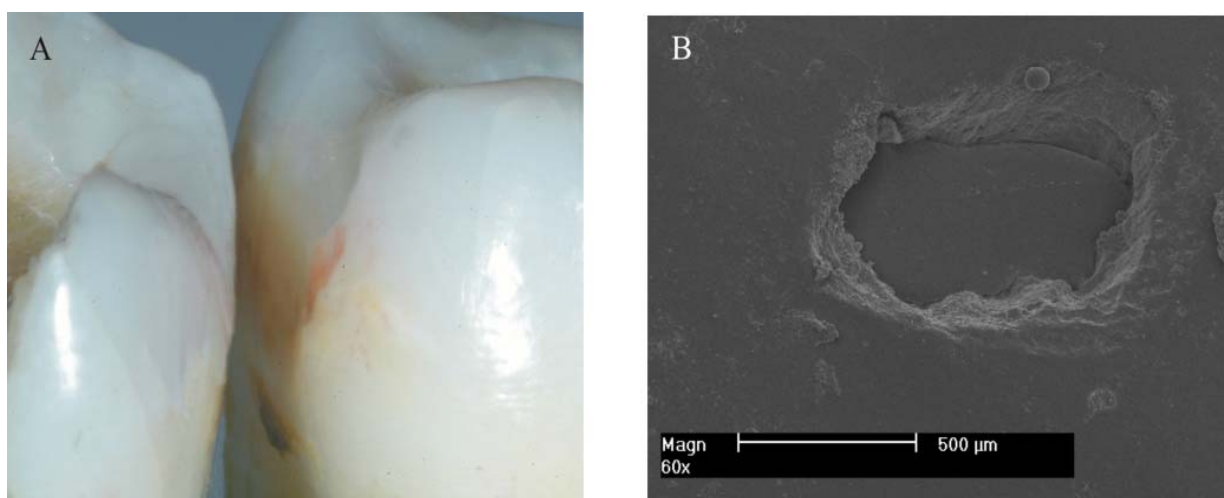


Abb. 6

Exemplarische Aufnahmen einer klinisch relativ unauffälligen Situation (Bild A) und einer im Raster-elektronenmikroskop erkennbaren Kavität (Bild B)

2.4 Therapieplanung und Therapieentscheidung bei Approximalkaries

Im Rahmen der Kariesbehandlung gibt es grundsätzlich zwei Therapiemöglichkeiten. Präventiv non-operative Maßnahmen, wie Fluoridierung sowie Ernährungs- und Mundhygieneberatung werden oftmals der operativen Therapie der Karies dichotom gegenüber gestellt. Welche Behandlung erforderlich ist, hängt von vielen Faktoren ab und ist eine individuelle Entscheidung des Zahnarztes. Die unterschiedlichen Strategien bei der Behandlung approximaler Läsionen spiegeln sich in Daten wieder, die aufzeigen, bei welcher röntgenologischen Kariesausdehnung Zahnärzte in verschiedenen Ländern die Indikation für eine invasive therapeutische Intervention sehen. Während in Frankreich 88 Prozent der Zahnärzte eine auf den Schmelz begrenzte Karies bereits invasiv behandeln würden (Domejean-Orliaguet et al. 2004), wird Schmelzkaries in Norwegen (Espelid et al. 1994; Tveit et al. 1999) und Schweden (Mejare et al. 1999b) nur von sieben Prozent bis 19 Prozent der Zahnärzte invasiv versorgt. In diesen Ländern entschieden sich unter der Annahme, dass es sich um einen relativ kariesinaktiven jungen Patienten handelt, hingegen zwischen 81 Prozent und 93 Prozent der Zahnärzte erst ab einer radiologischen Ausdehnung der Karies bis in das mittlere Dentindrittel für eine restaurative Behandlung.

2.4.1 Operative Therapieoptionen

Bei der operativen Kariestherapie werden Läsionen, die als nicht mehr remineralisierbar eingestuft werden, füllungstherapeutisch versorgt. Hierbei erfolgt auch immer eine Zerstörung von gesunder Zahnhartsubstanz, obwohl minimal invasive Techniken in Verbindung mit adhäsiv befestigten Füllungsmaterialien in der Lage sind, die Opferung intakter Zahnhartsubstanz zu minimieren. So wird bei minimalinvasiver wie auch bei klassischer Kavitätenpräparation bei approximaler Karies die meist gesunde Randleiste zerstört, um Zugang zu der Läsion zu erhalten (Liebenberg 1996).

2.4.2 Non-operative Therapien und ihre Grenzen

Das Ziel der non-operativen Therapie ist die Verhinderung von Neuerkrankungen sowie die frühzeitige Erkennung von vorhandenen Schäden. Erreicht wird dieses Ziel durch Ernährungsumstellung, Anwendung fluoridhaltiger Kariostatika und Mundhygienemaßnahmen (Hellwig et al. 2003a). Der Erfolg ist maßgeblich von der Kooperation des Patienten (Compliance) abhängig (Fejerskov et al. 2003). Vorhandene Demineralisationen sollen nicht nur arretiert, sondern möglichst auch remineralisiert werden. Auch wenn *in vitro* eine partielle Remineralisation sogar des unterhalb einer ausgedehnten Schmelzläsion befindlichen Dentins beschrieben wurde (ten Cate 2001), scheint eine substantielle Remineralisation des Läsionskörpers einer Schmelzkaries *in vivo* wenig wahrscheinlich. Unter einer relativ dicken pseudointakten Oberflächenschicht die klinisch glänzend erscheint, bleibt der Läsionskörper bestehen, wodurch die Läsion klinisch eine weißliche, bei Farbeinlagerung, eine bräunliche Erscheinung aufweist (ten Cate et al. 2003). Mit zunehmender Dicke der Oberflächenschicht wird nicht nur eine weitere Demineralisation, sondern auch eine Remineralisation des darunter liegenden Läsionskörpers behindert. Evidenzbasierte Angaben von Schwellenwerten bezüglich der Kavitationsgröße oder der röntgenologischen Ausdehnung ab welcher eine Remineralisation äußerst unwahrscheinlich ist, sind derzeit kaum möglich. Allerdings geht man ab einer röntgenologischen Ausdehnung der Karies bis zur Schmelz-Dentin-Grenze von einer Beschleunigung des Kariesprozesses aus (Mejare et al. 2004).

Die Verhinderung der Entstehung eines metabolisch aktiven Biofilms auf der Zahnoberfläche kann offensichtlich nur von den wenigsten Individuen durch eine entsprechende Verhaltensweise nachhaltig erreicht werden. Somit stellt die Karies einen ubiquitären natürlichen Prozess dar, der nur schwerlich, wenn überhaupt, vollständig eliminiert werden kann. Allenfalls kann durch entsprechende non-operative Maßnahmen eine Verlangsamung des Kariesprozesses erreicht sowie der Entstehung von ausgedehnten Läsionen mit Kavitationen der Oberfläche präventiv begegnet werden, so dass in der Folge invasive (operative) Maßnahmen nicht notwendig werden oder zumindest auf einen späteren Lebenszeitpunkt verschoben werden können (Fejerskov et al. 2003).

Für okklusale Flächen steht bereits seit vielen Jahren mit der Fissurenversiegelung eine Therapie zur Verfügung, um nicht remineralisierbare kariöse Läsionen zu behandeln. Eine adäquat ausgeführte Versiegelung bedarf zwar ebenfalls einer regelmäßigen professionellen Kontrolle, allerdings hat das Mundgesundheitsverhalten des Patienten, welches oftmals nur

schwierig zu beeinflussen ist, nur zu einem geringeren Grad Einfluss auf die Effektivität dieser Behandlung. Die Versiegelung okklusaler Flächen von Molaren wird nicht zuletzt aus diesem Grund in systematischen Übersichtsartikeln als äußerst wirksam und effektiv zur Reduktion der Kariesprogression beschrieben (Mejare et al. 2003; Ahovuo-Saloranta et al. 2004). Die Versiegelung von kavitierten okklusalen Flächen ist ebenfalls eine effektive Methode zur Verringerung der Kariesinzidenz. Allerdings schreiten eine Vielzahl dieser Läsionen trotz Versiegelung voran, so dass die Behandlung von kavitierten Fissuren mit Fissurenversiegeln nicht empfohlen wird (Griffin et al. 2008).

2.4.3 Neuartige Therapiemöglichkeiten bei approximaler Karies

2.4.3.1 Approximale Versiegelung

An White-spot-Läsionen der Glattflächen (zugängliche Approximalflächen), im Sinne einer „mikrorestaurativen“ Vorgehensweise wurde die Versiegelung schon früher beschrieben. Hierbei wurde mit diamantierten Schleifern die oberste demineralisierte Schicht der Glattflächenkaries entfernt und diese mit Fissurenversiegeln oder Adhäsiven versiegelt (Croll 1987).

Eine kürzlich veröffentlichte klinische Studie untersuchte die Progression von versiegelten, approximalen Läsionen (Martignon et al. 2006). Hierbei wurden die Zähne durch Gummiringe separiert und nach kurzer Ätzung versiegelt. Während des Versuchszeitraumes von zwei Jahren blieben 56 Prozent der behandelten Läsionen (n = 72) röntgenologisch stabil, während in der Kontrollgruppe nur 16 Prozent nicht voranschritten. In einer weiteren klinischen Studie wurde ebenfalls von einer Kariesinhibierung durch die proximale Applikation von Fissurenversiegeln nach zwei Jahren berichtet (Gomez et al. 2005). Allerdings wurden bei den Patienten dieser Studie regelmäßige Intensivfluoridierungen vorgenommen, so dass nur sehr geringe Unterschiede zwischen versiegelten und unversiegelten Läsionen gefunden werden konnten. Bei beiden Studien bleibt unklar, ob die Inhibierung der Kariesprogression durch eine gewisse Penetration des jeweiligen Materials oder durch eine oberflächliche Versiegelung der Poren der Oberflächenschicht erreicht wurde. Die pseudointakte Oberflächenschicht natürlicher Läsionen ist das Resultat kinetisch bedingter Repräzipitation von Mineralien (Arends und Christoffersen 1986; Silverstone et al. 1988). Diese gelösten Mineralien lagern sich in der äußersten Zone der Karies ein und führen

so zu einer relativ intakten, gesund erscheinenden Oberfläche (Flaitz und Hicks 1994). Ihre Dicke variiert in Abhängigkeit von bereits abgelaufenen Remineralisationsvorgängen, die je nach Ernährungsverhalten und Fluoridierungsmaßnahmen individuell verschieden sind (Bergman und Lind 1966). Bei der Herstellung von künstlichen Läsionen hat das Demineralisationsverfahren einen großen Einfluss auf die Stabilität der Läsionsoberfläche. Künstlich hergestellte kariöse Läsionen konnten mit polymerisierbaren Harzen nach einer Ätzung von fünf Sekunden mit Phosphorsäure penetriert werden (Gray und Shellis 2002). Bei natürlichen Läsionen wird jedoch nur eine geringere Penetration nach Ätzung mit Phosphorsäure erreicht (Davila et al. 1975). Ursache dafür könnte das Vorhandensein der pseudointakten Oberflächenschicht sein.

Auch aus weiteren Studien wird ersichtlich, dass die oberflächliche Schicht einer natürlichen Schmelzkaries ein Diffusionshindernis darstellt. Für eine therapeutische Remineralisation in der Tiefe der Läsion mit Kalziumphosphat ist es vorteilhaft vorher die Oberflächenschicht zu entfernen (Larsen und Pearce 1992). Ebenso konnte anhand von White-spot-Läsionen gezeigt werden, dass nach einer Ätzung mit 35%iger Phosphorsäure eine größere Läsionstiefenreduktion durch eine Fluoridbehandlung hervorzurufen war als ohne Ätzung (Al-Khateeb et al. 2000). Dies bedeutet, dass Ionen wesentlich besser in den Läsionskörper einer Schmelzkaries eindringen konnten, wenn die pseudointakte Oberflächenschicht, mit ihrem relativ kleinen Porenvolumen, zuvor reduziert wurde. Eine Ätzung mit 30%iger Phosphorsäure ruft sowohl an gesundem Schmelz als auch an Initialläsionen eine Strukturveränderung hervor, dennoch erscheint die Läsionsoberfläche resistenter gegenüber der Säure als der gesunde Schmelz (Lee et al. 1995).

Trotz des wahrscheinlich höheren Mineralisationsgrades ist das Porenvolumen der pseudointakten Oberflächenschicht etwa ein bis fünf Prozent, und somit zehn- bis fünfzigfach poröser als gesunder Schmelz (Hicks und Silverstone 1985). Hierdurch wird eine Penetration von Adhäsiven verhindert (Davila et al. 1975), so dass eine Modifikation der Schicht für eine verbesserte Penetration von erhärtenden Kunststoffen notwendig erscheint.

2.4.3.2. Applikation einer Kunststofffolie

Eine weitere neuartige Methode zur Behandlung von Approximalflächen beruht auf der Applikation einer Kunststofffolie (Patch) mit Hilfe eines Adhäsivs auf dem Schmelz. Dieses Verfahren wurde allerdings *in vitro* bisher offensichtlich nur auf gesunden Oberflächen angewendet. Hierbei konnte jedoch ein vergleichbarer kariesinhibierender Effekt wie nach Applikation eines fließfähigen Komposits festgestellt werden (Schmidlin et al. 2002; Schmidlin et al. 2005; Schmidlin et al. 2006b). Die Abrasionsstabilität der Folie war ebenfalls mit derjenigen des fließfähigen Kunststoffes vergleichbar (Schmidlin et al. 2006a).

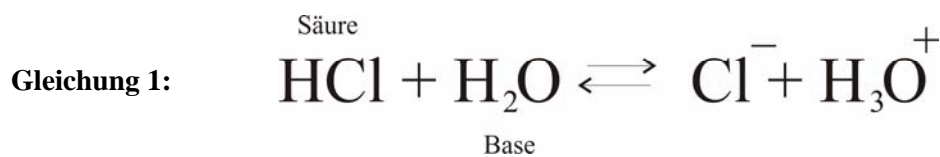
Erste klinische Ergebnisse sechs Monate nach Applikation der Folien auf 43 Approximalläsionen konnten in acht Fällen einen tastbaren Rand sowie in einem Fall einen Folienverlust aufzeigen. Ein verstärktes Auftreten von Gingivitis oder Plaque wurde jedoch nicht beobachtet (Alkilzy et al. 2006). Ebenfalls in Form eines Abstracts liegen von dieser klinischen Untersuchung Ergebnisse der Kariesprogression nach zwei Jahren vor. Bei den 32 Nachuntersuchten konnte bei den mit dem Patch behandelten Flächen vermehrte Regressionen (11) der Karies im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen (6) anhand von Bissflügelröntgenaufnahmen festgestellt werden (Alkilzy et al. 2007). Hierbei ist anzumerken, dass eine röntgenologisch feststellbare Kariesregression zumindest bei den mit dem Patch behandelten Läsionen eigentlich nicht möglich sein sollte, wenn man von einer dichten Obturation der Läsionsoberfläche ausgeht. Somit könnten die beobachteten Verkleinerungen der Radioluzenzen, auf die schwierige Standardisierbarkeit von Bissflügelröntgenaufnahmen zurückzuführen sein.

Bei der Folientechnik scheint allerdings nur eine oberflächliche Barriere etabliert zu werden, deren Stabilität bei längerer Verweildauer in der Mundhöhle zumindest fraglich erscheint. Die Penetration eines erhärtenden Kunststoffes in proximale Läsion ohne Belassen eines Überschusses könnte deshalb vorteilhaft sein.

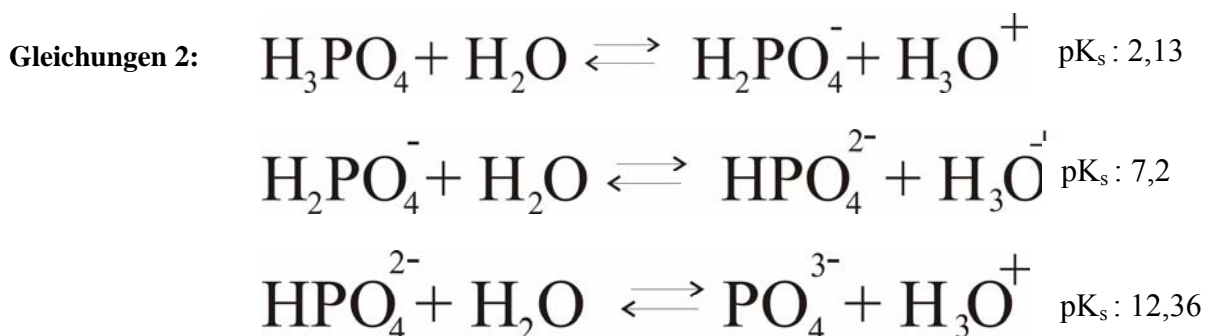
2.5 Säuren

2.5.1 Definition und Eigenschaften von Säuren

Nach Brönstedt ist eine Säure in der Lage Protonen (H^+) an einen Reaktionspartner zu übertragen, in wässriger Lösung ist dabei der Reaktionspartner im wesentlichen Wasser. Es bilden sich Oxonium-Ionen (H_3O^+). Eine Base ist das Gegenstück zu einer Säure, da diese Protonen aufnehmen kann. Zur Verdeutlichung kann die Säure/Base-Reaktion des Chlorwasserstoffs mit Wasser herangezogen werden (Gleichung 1) (Hennig et al. 2000).



Die Stärke einer Säure beschreibt, in welchem Ausmaß ein Stoff Protonen (H^+) an einen Reaktionspartner übertragen kann. Über die Säurekonstante bzw. den pK_s -Wert, eine dimensionslose Zahl (ohne Maßeinheit), wird die Säurestärke angegeben. Die Azidität ist umso größer, je geringer ihr pK_s -Wert ist. Für Salzsäure wird ein pK_s -Wert von -6 und für Phosphorsäure von 2,13 angegeben. Bei der Phosphorsäure kommt hinzu, dass es sich um eine mehrprotonige Säure handelt. Bei diesen Säuren besteht eine schrittweise Protolyse (Gleichung 2). Für jede Dissoziationsstufe liegt eine eigene Säurekonstante bzw. pK_s -Wert vor, die im Laufe der Protolyse immer weiter steigt ($\text{pK}_{s1} < \text{pK}_{s2} < \text{pK}_{s3}$), da aus der steigenden Ionenladung des entstehenden Säurerestansions die weiterführende Protolyse weniger energetisch ist (Hennig et al. 2000).



2.5.2 Salzsäure in der Zahnmedizin

Phosphorsäure spielt in der Zahnmedizin heutzutage eine wichtige Rolle. Vor allem in der adhäsiven Befestigungstechnik für zahnfarbene Füllungswerkstoffe aber auch in der Kieferorthopädie zur Befestigung von Multibandapparaturen findet die Phosphorsäure breite Anwendung. Salzsäure hingegen ist im Bereich der Zahnmedizin eine weit weniger verwendete Säure. Ihre Nutzung beschränkt sich auf den Bereich der Mikroabrasionstechnik. Diese wird zur Verbesserung des ästhetischen Erscheinungsbildes von Zähnen, bei hauptsächlich oberflächlichen Schmelzveränderungen eingesetzt (Wong und Winter 2002). Vor allem während einer kieferorthopädischen Behandlung kommt es oftmals zu Demineralisationen, da durch die erschwerte Zugänglichkeit, die Plaqueentfernung von den Kindern meist nicht ausreichend durchgeführt wird. In die demineralisierten Bereiche lagern sich unter Umständen Nahrungsmittelbestandteile ein und führen so zu einem meist ästhetisch störenden Erscheinungsbild (Gorelick et al. 1982).

In einer Untersuchung über mikroskopisch sichtbare Auswirkungen auf die Schmelzoberfläche nach Mikroabrasion mit Salzsäure (18%ig), Homebleaching mit einer schwachen Säure (10%iger Harnstoff) und einem Bleaching mit Wasserstoff (30%ig) konnte gezeigt werden, dass eine Behandlung mit 18%iger Salzsäure für 100 Sekunden zu einem mittleren Schmelzverlust (Standardabweichung) von 100 (47) μm führt. Wenn die Salzsäure zusätzlich mit einem Bimsteingemisch für die gleiche Zeit appliziert wurde, war der Substanzverlust sogar erhöht [360 (130) μm] (Tong et al. 1993). Eine Fluoridvorbehandlung kann den Abtrag nach Salzsäurebehandlung minimieren (Willumsen et al. 2004). Die Erhöhung der Applikationszeit und eine Steigerung der Konzentration führt zu einem erhöhten Mineralverlust (Hove et al. 2007). Der Kalziumverlust aus dem Schmelz liegt nach einer vierminütigen Ätzung mit 0,01 M Salzsäure (pH-Wert: 2,2) bei 12,0 (3,1) $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, nach zwölf Minuten bei 15,3 (4,2) $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ und nach einer Ätzung für 16 Minuten bei 39,8 (9,1) $\mu\text{g}/\text{mm}^2$. Dies verdeutlicht, dass Salzsäure in der Lage ist, Kalzium in größeren Mengen aus dem Hydroxylapatit herauszulösen.

Dass mit der Mikroabrasionstechnik hauptsächlich oberflächliche Schmelzveränderungen behandelt werden können, konnte in einer klinischen Studie an 32 Patienten mit Schmelzveränderungen an den beiden oberen Frontzähnen gezeigt werden. Nach einer Behandlung mit 18%iger Salzsäure waren nur bei den nicht tiefergehenden Opazitäten zufriedenstellende Ergebnisse erzielt worden (Wong und Winter 2002).

3 Fragestellung

Die Verhinderung und Arretierung approximaler kariöser Läsionen ist durch non-operative Maßnahmen nicht immer möglich. Invasive Behandlungen (operativ) der approximalen Schmelzkaries gehen mit einem oftmals großen Verlust von gesundem Schmelz einher. Die Versiegelung einer approximalen Schmelzkaries könnte eine Alternative zu den bewährten Therapieformen darstellen. Hierbei scheint eine gewisse Penetration eines niedrig viskösen Kunststoffes in den Läsionskörper der Karies sinnvoll, um eine weitere Demineralisation zumindest zu verzögern. Durch ständige Remineralisationsvorgänge an der Läsionsoberfläche ist die pseudointakte Oberflächenschicht bei natürlichen Läsionen sehr unterschiedlich stark ausgebildet. Diese scheint ursächlich für die im Vergleich zu künstlichen Läsionen schlechtere Penetration der Kunststoff in den Läsionskörper natürlicher Läsionen. Eine Ätzung mit Phosphorsäure könnte hierbei nicht ausreichend sein, um eine Erosion der Oberflächenschicht zu gewährleisten.

Ziel dieser In-vitro-Studie war es daher, den Einfluss von Salzsäure im Vergleich zu Phosphorsäure auf die Erosion der pseudointakten Oberflächenschicht zu untersuchen. Diese wurde sowohl im Bereich der Karies als auch im gesunden Schmelz nach unterschiedlich langen Applikationszeiten bestimmt.

Folgende Parameter wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf die Erosion von gesundem Schmelz sowie der pseudointakten Oberflächenschicht von kariösen Läsionen untersucht:

- Art der Säure (Salzsäure oder Phosphorsäure)
- Konzentration der Salzsäure (5 % oder 15 %)
- Einwirkzeit der Säuren (30, 60, 90, 120 Sekunden)

4 Material und Methode

4.1 Herstellung der Schmelzproben

Für die Herstellung der Proben wurden 48 humane permanente Prämolaren und Molaren mit approximalen Kariesläsionen verwendet. Die Zähne wurden in Berliner Zahnarztpraxen gesammelt. Die Lagerung der Zähne nach Extraktion fand ohne weitere Vorbehandlung in Glasgefäßen mit isotonischer Kochsalzlösung (NaCl-Lösung 0,9 %; Delta Select, Pufflingen, Deutschland) statt. Im Labor wurden die Zähne durch vorsichtiges Säubern, unter fließendem Wasser mit einer weichen Zahnbürste (Meridol Sanft; GABA, Therwil, Schweiz) von Blut- und Gewebsrückständen befreit. Die Zahnwurzel wurde unter ständiger Wasserkühlung entfernt (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Die entstandene Zahnkrone wurde vertikal in der Mitte der Läsion ebenfalls unter ständiger Wasserkühlung getrennt (Bandsäge Exakt 300cl). An den gewonnenen Zahnhälften waren nach der Trennung, je eine gesunde Kontrollseite und eine Läsionsseite sichtbar. Die Ausdehnung der Kariesläsion wurde visuell und in feuchtem Zustand von zwei Untersuchern unabhängig voneinander beurteilt. Für die vorliegende Arbeit wurden nur Proben mit einer maximalen histologischen Tiefe der Karies bis in die äußere Schmelzhälfte verwendet. Ein Teil der Oberfläche wurde mit säureresistentem Nagellack (Maybelline New York; Jade, Paris, Frankreich) derart bedeckt, dass je ein Kontrollbereich auf der gesunden (gegenüberliegend) und auf der Läsionsoberfläche entstand. Die Schnittfläche des Zahnes wurde ebenfalls mit Nagellack (Maybelline New York) abgedeckt, um diese vor dem Ätzel zu schützen. Auf diese Weise entstanden auf jeder Zahnhälfte vier Bereiche. Bereich A war die Kontrolle der Läsion, Bereich B der behandelte Läsionsteil, Bereich C die Kontrolle auf der gesunden Zahnseite und Bereich D der behandelte gesunde Teil (Abb. 7).

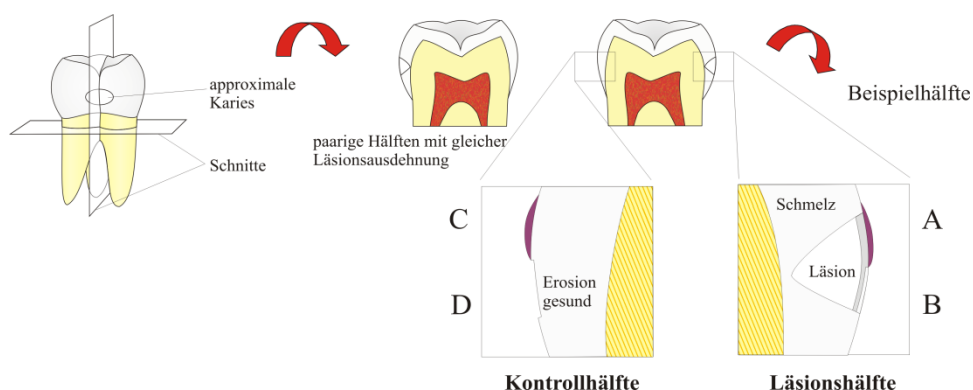


Abb. 7

Schematische Darstellung der Schmelzprobenherstellung

4.1.1 Gruppeneinteilung und Säurekonditionierung

Die vorbereiteten Zahnproben wurden in zwölf Gruppen eingeteilt (n=8) (Abb. 8). Die Gruppen eins bis vier wurden mit 5%iger Salzsäure (Apotheke Benjamin Fränklin, Berlin, Deutschland), die Gruppen fünf bis acht mit 15%iger Salzsäure und die Gruppen neun bis zwölf mit 37%iger Phosphorsäure (Total Etch[®] Ätzgel, Ivoclar-Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein) für jeweils 30, 60, 90 oder 120 Sekunden behandelt.

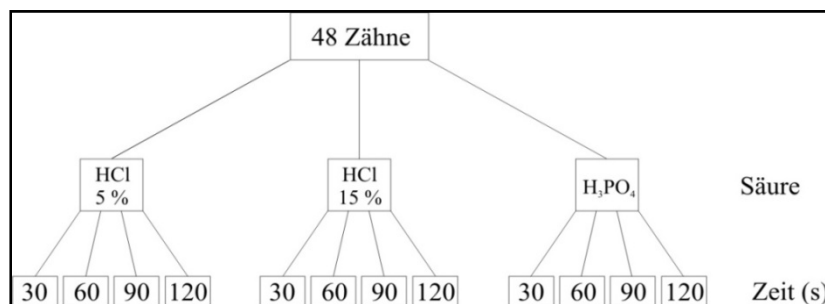


Abb. 8

Gruppeneinteilung der Schmelzproben

Die Säure (Total Etch[®] Ätzgel, Ivoclar-Vivadent AG; Salzsäure Apotheke Benjamin Fränklin) wurde auf die Zahnproben mit einem Applizierpinsel (Applikationsbrush; Ivoclar-Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein) aufgebracht. Hierbei wurde besonders darauf geachtet, dass es zu keinen Lufteinschlüssen unterhalb der Säure kam, um eine gleichmäßige Ätzung zu erzielen. Hiernach wurden die Proben mit Wasserspray für 30 Sekunden abgesprüht, um alle Säureauflagerungen zu entfernen und für weitere 30 Sekunden mit dem Sprayansatz der Behandlungseinheit getrocknet. Das experimentelle Salzsäuregel (Apotheke Benjamin Fränklin) enthielt neben der entsprechenden Säurekonzentration einen Farbstoff (Methylenblau) sowie hochdisperses Siliziumdioxid (Katalognr. 102520; Fagron, Barsbüttel) und Glycerin zur Verdickung (Abb. 9)

Bestandteil	5 % HCl	15 % HCl	Reihenfolge
Aqua dest.	40 g	-	1
Glycerin (85 %)	22 g	22 g	2
Methylenblau (1 %)	5 g	10 g	3
Salzsäure (25 %)	20 g	60 g	4
hoch disperses SiO ₂	8 g	8 g	5

Abb. 9

Zusammensetzung der Salzsäuregele

4.1.2 Vorbereitung für die konfokalmikroskopische Untersuchung

Um die Proben für die spätere Auswertung am konfokalen Laser-Raster-Mikroskop [(CLSM)TCS NT; Leica, Heidelberg, Deutschland] vorzubereiten, wurden diese in ein niedrig visköses Kunstharz (Spurr Harz-Kitt; Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland) eingebettet. Das Kunstharzgemisch (Spurr Harz-Kitt) wurde mit 10 g ERL 4206 (Vinyl cyclohexane dioxide), 6 g DER 736 (Diglycidyl ether of Polypropyleneglycol), 26 g NSA (Nonenyl succinic anhydride) und 0,4 g DMAE (Dimethylaminoethanol) hergestellt. Zur Visualisierung des Kunststoffes wurde 0,1 μ M des Fluoreszenzfarbstoffs Rhodaminisothiocyanat (RITC; Sigma Aldrich, Steinheim, Deutschland) zugegeben. Durch das Mischen der einzelnen Komponenten entstanden in dem Kunstharz (Spurr Harz-Kitt) viele kleine Bläschen. Deshalb wurde dieser mindestens 24 Stunden vor der Einbettung angemischt und bis zur weiteren Verwendung in einem handelsüblichen Kühlschrank (AEG ÖKO SANTO, Germany) aufbewahrt. Die Zahnproben wurden, mit der Schnittfläche nach unten, in eigens dafür hergestellte Silikonformen (Protesil DUR; Dentsply, Köln, Deutschland) gelegt und mit dem Kunstharzgemisch aufgefüllt. Um das Herauslaufen und ein Luft- bzw. Wasserkontakt des Kunstharzes während der Polymerisation zu verhindern, wurden die Silikonformen (Protesil DUR) mit einer Folie abgedeckt und mit Hilfe eines Vakuumschweißgerätes (Vakuengerät, Severin Folio, Sundern, Deutschland) verschlossen. Durch Überdruck war es dem fluoreszenzmarkierten Kunststoff (Spurr Harz-Kitt, RITC) möglich in die Mikroporositäten der Läsion einzudringen. Hierzu erfolgte die Polymerisation des Kunststoffes in einem Polymerisationsofen (Ivomat IP3; Ivoclar Vivadent, Schaan AG, Lichtenstein) bei 70 °C und 0,8 MPa Druck über zehn Stunden. Nach der Polymerisation wurden die Proben aus den Silikonformen entfernt und mit Hilfe eines Parallelschleifers (Eigenbau; aus einem Bohrerständer und einem gefrästen Edelstahlgelenk zur Aufnahme der Probe) und Schleifpapier (Körnung 180; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) etwa zwei Millimeter dünn zur Schnittfläche geschliffen (Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland). Mit Sekundenkleber (Henkel, Düsseldorf, Deutschland) wurden die Proben auf Objektträger aus Plexiglas (Diaplas, Oststeinbeck, Deutschland) geklebt. Um die Schnittfläche von der gesamten aufliegenden Kunststoffschicht zu befreien, wurden die Proben mit gewässertem Schleifpapier aufsteigender Körnung (Schleifpapier 500, 1200, 2500, 4000; Exakt Apparatebau) zur Läsion parallelisiert und poliert (Schleifsystem Exakt 400cs; Exakt Apparatebau).

4.2 Konfokalmikroskopische Untersuchung

Der fluoreszierende Kunststoff (Spurr Harz-Kitt), der durch die Überdruckpolymerisation bis in kleinste Porositäten der kariösen Läsionen eingedrungen war, wurde mit Hilfe eines konfokalen Laser-Raster-Mikroskop (TCS NT) visualisiert. Der Vorteil des konfokalen Prinzips ist es, dass störendes Streulicht aus den Ebenen über und unter der betrachteten Fokusebene durch Lochblenden ausgeblendet wird. Möglich wird dies durch eine variable Detektionslochblende (Pinhole) (Abb. 10). Somit wird mit dem konfokalen Prinzip eine zerstörungsfreie, detailreichere Darstellung, auch von Strukturen unterhalb von bis zu 100 μm der Probenoberfläche (Watson 1997) erreicht. Bei herkömmlichen Mikroskopen wird sowohl das gewünschte Licht aus der Fokusebene als auch störendes Streulicht aus Ebenen über oder unterhalb der Fokusebene detektiert.

Das konfokale Laser-Raster-Mikroskop (TCS NT) wurde entsprechend dem verwendeten Farbstoff (RITC) in dem dafür vorgesehenen Fluoreszenzmodus betrieben. Die Dicke (xz-Wert) der abzutastenden Ebene konnte mit der Pinhole-Einstellung variiert werden. Um vergleichbare Bilder zu erzeugen, wurde der Pinhole-Wert auf den Wert eins festgelegt. Je nach Wellenlänge des Lichts, numerischer Apertur des Objektivs und Durchmesser der Lochblende wird eine unterschiedliche Dicke der Schicht betrachtet. Das konfokale Laser-Raster-Mikroskop (TCS NT) ist geeignet, Fluoreszenz mit Hilfe eines Lasers sichtbar zu machen. Das Anregungslicht [Wellenlängenmaximum/Bandbreite: 568/30 nm (RITC); 488/20 nm (NaF)] wird von einem Argon-Krypton-Laser, welcher Strahlen im sichtbaren Bereich aussendet (VIS-Laser), erzeugt. Diese Strahlen werden über einen akusto-optischen Filter (AOTF) sowie einen halbdurchlässigen Spiegel (Beamsplitter) gelenkt. Das detektierte Licht wurde für RITC mit einem Langpassfilter mit einem Durchlässigkeitsmaximum bei 590 nm nach den entsprechenden Emissionsmaxima gefiltert, um reflektiertes Licht niedrigerer Wellenlänge auszublenden. Es wurde eine Bildauflösung von 1024x1024 gewählt und von jeder Probe drei Bilder hergestellt. Von der Läsionsseite wurden eine Aufnahme mit einem 10fachen Objektiv und eine Aufnahme mit dem 40fachen Objektiv mit Ölimmersion (Immersion, Zeiss, Jena, Deutschland) angefertigt. Die gesunde Kontrollseite wurde nur mit dem 10fachen Objektiv aufgenommen. Die Bilder wurden im Tiff-Dateiformat gespeichert und anschließend ausgewertet.

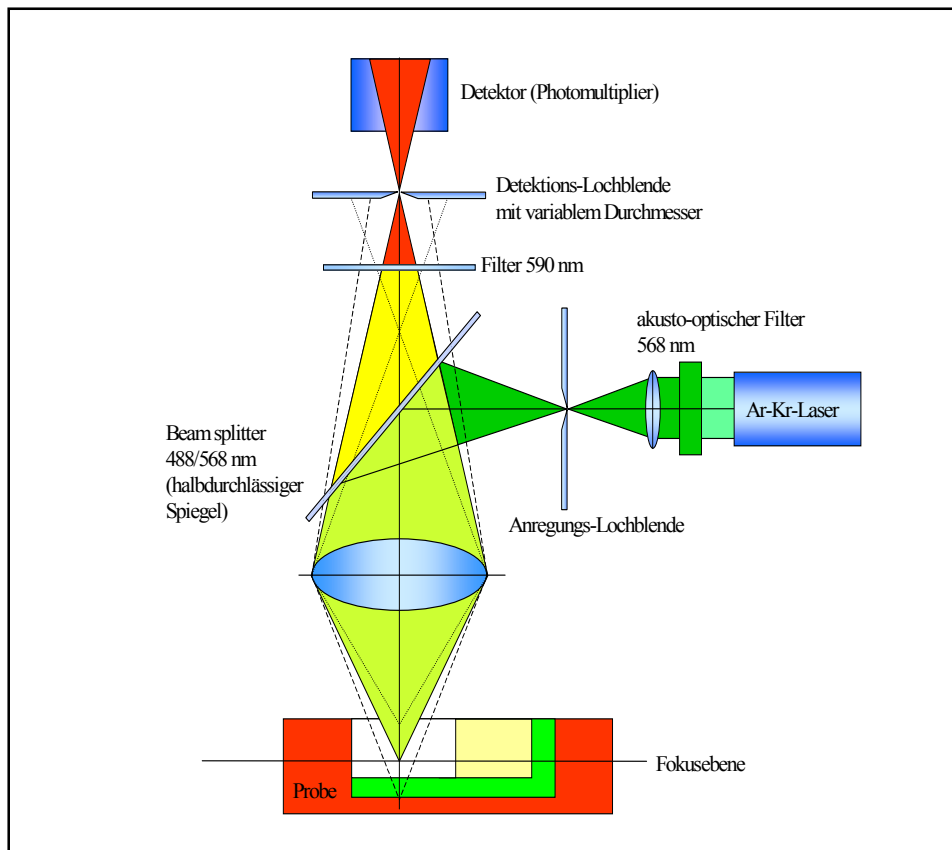


Abb. 10
Schematische Darstellung der Funktionsweise des verwendeten CLSM

4.3 Auswertung der gewonnenen Bilder

Der rot fluoreszierende Kunststoff (Spurr Harz-Kitt) dringt besonders gut in Bereiche großer Porenvolumina, d.h. beispielsweise in den Läsionskörper der Schmelzläsionen ein. Weniger stark demineralisierte Bereiche erscheinen dunkler; gesunde oder remineralisierte Bereiche, wie die pseudointakte Oberflächenschicht, stellen sich schwarz dar (Abb. 11).

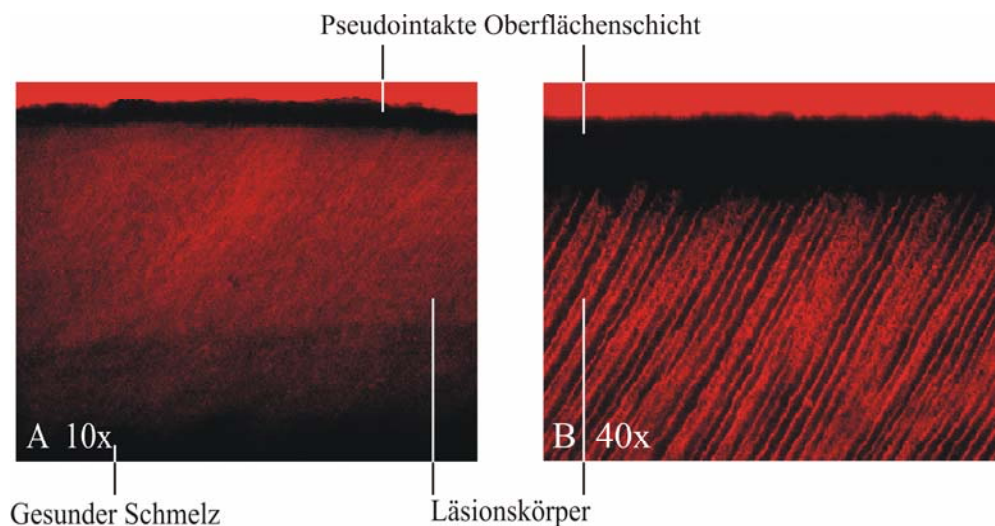


Abb. 11
Typisches Erscheinungsbild einer kariösen Läsion im CLSM

Mit Hilfe der AxioVision LE Software (AxioVision LE, Release 4.2; München-Hallbergmoos, Deutschland) und einem 15'' Bildschirm (TravelMate 292LMi; Acer, Ahrensburg, Deutschland) wurden die am konfokalen Laser-Raster-Mikroskop (TCS NT) erstellten Bilder ausgewertet.

Jede Probe wurde von zwei Personen verblindet und unabhängig voneinander ausgemessen. Es wurden pro Probe neun Messwerte ermittelt, an jeweils drei Stellen wurde die pseudointakte Oberflächenschicht vor und nach dem Ätzen gemessen. Von der Erosion in der Läsion, der Erosion auf der gesunden Kontrollseite und der maximalen Läsionstiefe wurde ein Messwert ermittelt (Abb. 12).

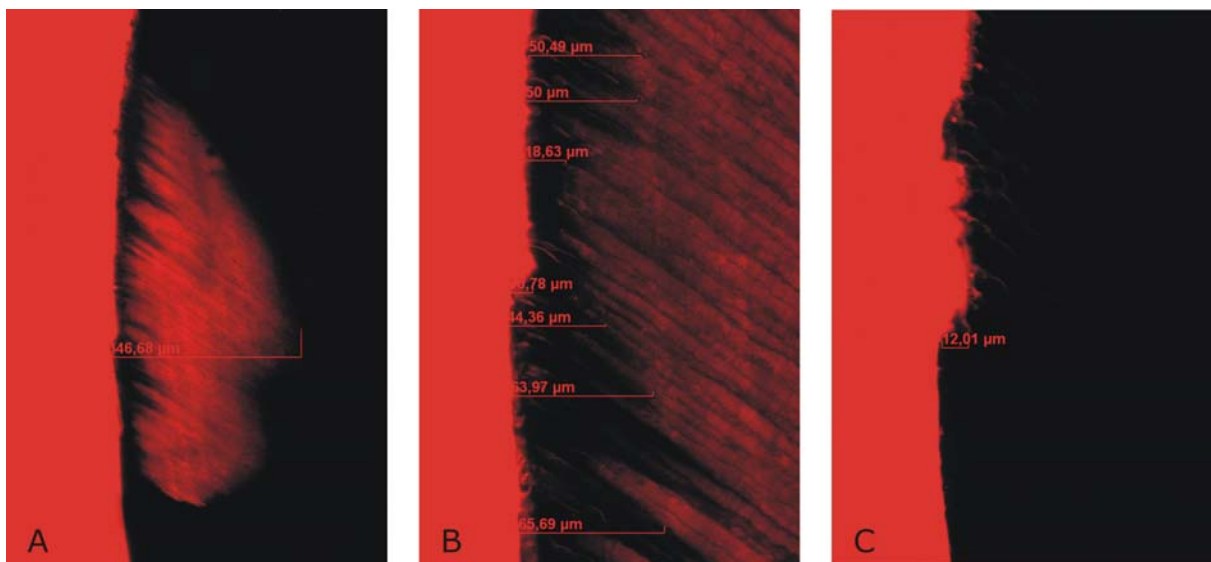


Abb. 12

Beispielhafte Darstellung der Auswertung anhand der CLSM-Bilder.

Die Läsionstiefe wurde an der tiefsten Stelle gemessen. Definiert wurde diese als die Strecke von der Probenoberfläche bis zum Bereich, in dem der rot fluoreszierende Kunststoff (Spurr Harz-Kitt, RITC) nicht mehr sichtbar war (Abb. 12 A). Die pseudointakte Oberflächenschicht stellte sich als schwarzer Bereich oberhalb der rot fluoreszierenden Läsion dar, da auch hier der Kunststoff wegen der relativ kleinen Porenvolumina nicht eindringen konnte (Abb. 12 B). Durch den Nagellack (Maybelline New York) wurde sowohl auf der Läsionsseite, als auch auf der Kontrollseite ein Bereich vor der Säurekonditionierung geschützt. An den Übergangsstellen konnte die Erosion bestimmt werden (Abb. 12 B und C).

4.4 Mikroradiografische Auswertung

Für die mikroradiographische Auswertung wurden von allen Proben Dünnschliffe hergestellt. Hierzu wurde auf die Probe ein zweiter Objektträger aus Plexiglas (Diaplug), parallel zum schon vorhandenen Objektträger mit Sekundenkleber (Henkel) befestigt. Die Probe, die sich nun zwischen beiden Objektträgern befand wurde mit Hilfe einer 200 µm dicken, diamantierten Bandsäge (Exakt 300 cl) unter ständiger Wasserkühlung geteilt. Für den Dünnschliff wurde die Probe auf dem zweiten Objektträger mit gewässertem Schleifpapier aufsteigender Körnung (500, 1200, 2400, 4000 Exakt Apparatebau) und der Mikroschleifapparatur (Exakt Mikroschleifapparatur) schrittweise bis zu einer Dicke von 100 µm parallel geschliffen und poliert. Hierzu wurde die Probe mit dem Schleifpapier (Exakt Apparatebau) der Körnung 500 auf ca. 200 µm geschliffen, mit der Körnung 1200 auf ca. 130 µm, mit der Körnung 2400 auf ca. 105 µm und mit dem Schleifpapier der Körnung 4000 auf die endgültige Dicke von 100 µm poliert. Mit einem digitalen Mikrometer (Bügelmessschraube Digimatic; Mitutoyo, Kawasaki, Japan) wurden die Werte ständig kontrolliert. Mit einem Skalpell (Einwegskalpell; Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) wurde aus dem Dünnschliff die Läsion herausgetrennt und mit Klebeband (Klebeband Tesa extra power; Beiersdorf, Hamburg, Deutschland) in einem Probenhalter (TMR Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland) fixiert. Der Probenhalter wurde anschließend in den Strahlengang eines speziellen Röntgenstrahlengenerators (PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande) montiert. Die mikroradiografische Untersuchung erfolgte bei einer Röhrenspannung von 20 kV, einem Röhrenstrom von 40 mA und einer Belichtungszeit von 20 Sekunden. Die Mikroradiogramme wurden auf einem aufgespulten Spezialfilm (High Speed Holographic Film SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland) erzeugt. Nach Entwicklung des Filmes wurden die Aufnahmen mit einem Durchlichtmikroskop (Axioplan; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an dem eine Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan) angeschlossen war, untersucht. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm „Transversal Micro Radiography“ (TMR für Windows; Version 2.0.27.2, Inspektor Research System BV, Amsterdam, Amsterdam, Niederlande).

Die Läsionstiefe wurde als der Abstand von der Probenoberfläche (Beginn bei der Tiefe mit einem Mineralverlust von 20 Vol.%) bis zu dem Punkt, an welchem die Mineraleichte 95 Prozent des gesunden Schmelzes (88 Vol.%) betrug, festgelegt. Der Gesamtmineralgehalt (ΔZ_{ges}) setzte sich aus der Summe des Mineralgehalts des inneren Läsionsbereichs (ΔZ_i) und dem Mineralgehalt der obersten 50 μm (ΔZ_o) zusammen. Die Erosion der Läsionsoberfläche wurde mikroradiografisch mit Hilfe der Verschiebung des Oberflächenpunktes (Tiefe des höchsten Mineralgehalts der Oberflächenschicht) ausgewertet. Hierzu wurde dieser im Effekt- und Kontrollbereich der Läsion bestimmt (O.p.E. und O.p.K).

4.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software SPSS (Version 12.0 für Windows; SPSS GmbH, München, Deutschland). Vergleiche zwischen den einzelnen Gruppen wurden mit der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und dem post-Hoc-Test (Bonferroni) durchgeführt. Die Erosionstiefe (CLSM) sowie die Tiefe des Oberflächenpunktes (TMR) der Kontroll- und der Effektbereiche der Proben wurden jeweils mit dem t-Test für gepaarte Stichproben verglichen. Für alle statistischen Tests wurde ein Signifikanzniveau von fünf Prozent festgelegt.

5 Ergebnisse

Aufgrund der hohen Viskosität konnten die pH-Werte der sauren Gele nicht experimentell ermittelt werden. Die berechneten pH-Werte betragen für die Phosphorsäure 0,79 für das 5%ige Salzsäuregel -0,14 und für das 15%ige Salzsäuregel -0,61.

Bei der Auswertung der CLSM-Bilder wurden keine Kavitationen der unbehandelten sowie der geätzten Oberflächen festgestellt.

5.1 Oberflächenschichtdicken der Kontrollhälften

Die Messungen anhand der CLSM-Bilder ergaben bei 71 Prozent der Läsionen eine mittlere maximale Dicke der Oberflächenschicht von 60 μm . Die ungeätzten Kontrollhälften zeigten im konfokalen Laser-Raster-Mikroskop mittlere Oberflächenschichtdicken (Standardabweichung) von 45 (29) μm (Abb. 13). Auch innerhalb der Läsionen konnte, wie anhand der mittleren Standardabweichung der sechs Messstellen von 11 μm erkennbar ist, eine ausgeprägte Varianz festgestellt werden (Spannweite: 0,5-72 μm). Zwischen den Gruppen konnten hinsichtlich der Oberflächenschichtdicken der Kontrollhälften keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p \geq 0,05$; ANOVA).

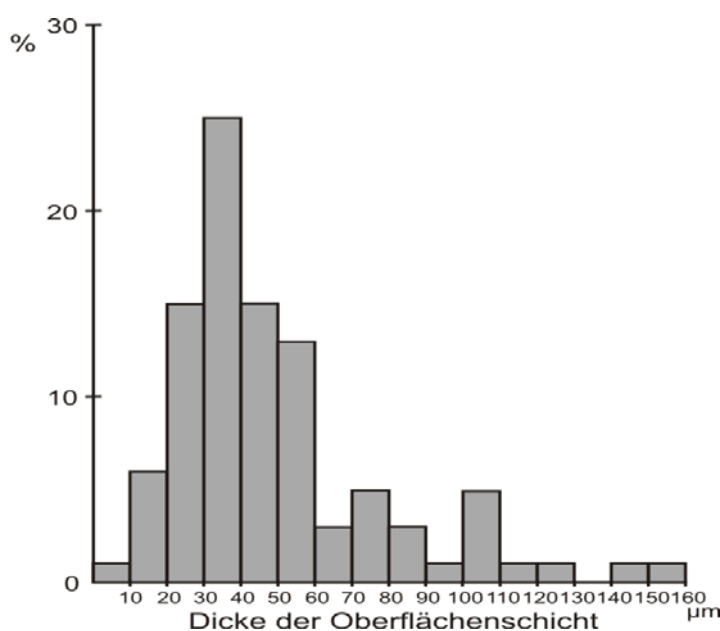


Abb. 13

Prozentuale Verteilung der maximalen Oberflächenschichtdicken der Kontrollbereiche der Läsionen

5.2 Auswertung der Erosionen mit dem CLSM

Nach dem Auftragen der drei sauren Gele waren die Erosionstiefen der Läsionsoberflächen vergleichbar mit denen des gesunden Schmelzes ($p \geq 0,05$; t-Test). Die Läsionsoberflächen wurden durch die 15%ige Salzsäure tendenziell schneller erodiert als der gesunde Schmelz. Eine Erhöhung der Konzentration der sauren Gele von 5 % auf 15 % verstärkte das Erosionsverhalten der Salzsäure deutlich. (Abb. 14).

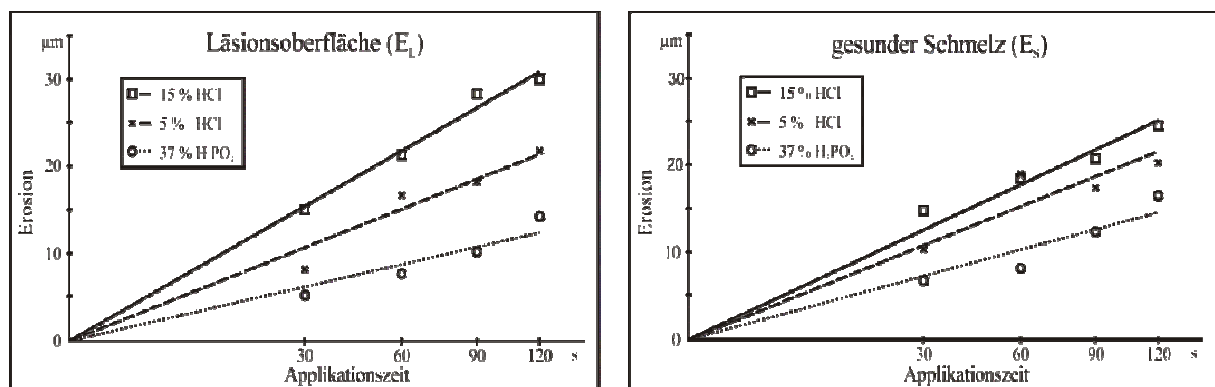


Abb. 14

Die Darstellung der mittleren Erosionen (μm) der Läsions- bzw. der gesunden Schmelzoberflächen zum Logarithmus der Zeit zeigt einen quadratischen Zusammenhang für alle drei sauren Gele.

Eine Reduktion der Oberflächenschichtdicken konnte mit allen Ätzgelen, bei jeder Applikationszeit erreicht werden. Jedoch unterschieden sich die Dicke der Oberflächenschichten der mit Phosphorsäure (H_3PO_4) für 30 Sekunden geätzten Bereiche nicht signifikant von denjenigen der ungeätzten Bereiche ($p \geq 0,05$; t-Test). Eine signifikante Reduktion der Oberflächenschichtdicken konnte bei allen anderen elf Gruppen ($n=8$) gemessen werden ($p < 0,05$). Nach Ätzung für mindestens 90 Sekunden mit 15%igem Salzsäure-Gel (HCl) war die prozentuale Reduktion der Oberflächenschichten signifikant größer als nach Ätzung mit Phosphorsäure ($p < 0,05$; Bonferroni). Im Median konnten ca. 90 % der Oberflächenschichten entfernt werden (Abb. 15).

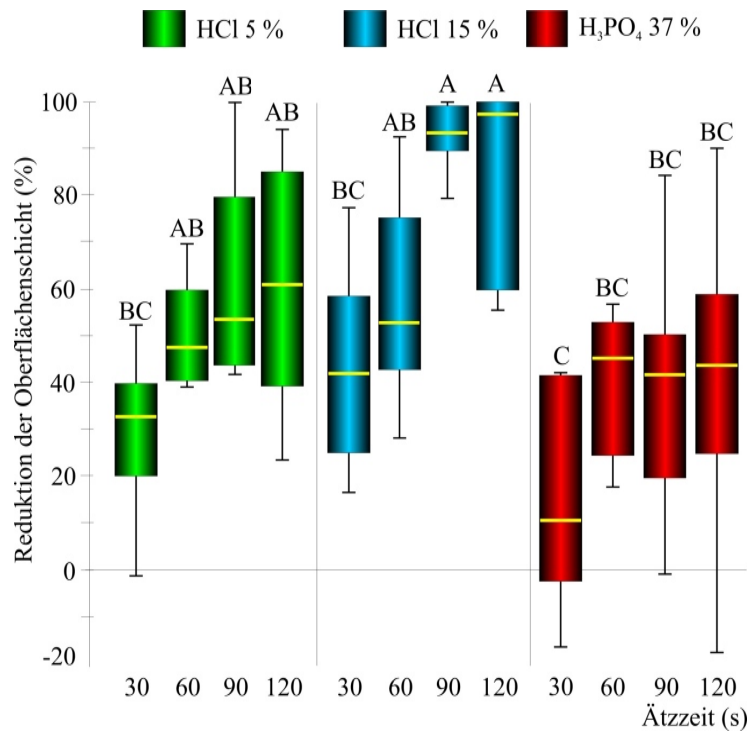


Abb. 15

Prozentuale Reduktion der Oberflächenschichtdicken nach Ätzung mit 5%iger HCl (grün), 15%iger HCl (blau) und 37%iger H₃PO₄ (rot). Dargestellt sind box-and-whiskers-plots mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen (gelb). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander ($p < 0,05$; Bonferroni).

Die CLSM-Aufnahmen verdeutlichen die Varianz der Dicke der Oberflächenschichten innerhalb einer Läsion. Eine Ätzung mit Salzsäure konnte eine deutliche Erosion bewirken, wohingegen die Phosphorsäure nur eine partielle Auflösung der Oberflächenschichten induzierte (Abb. 16).

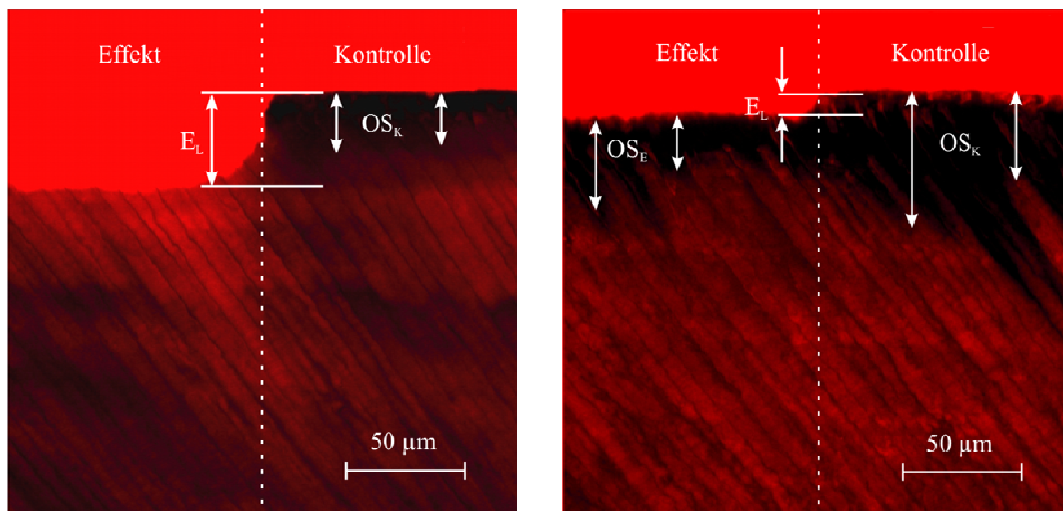
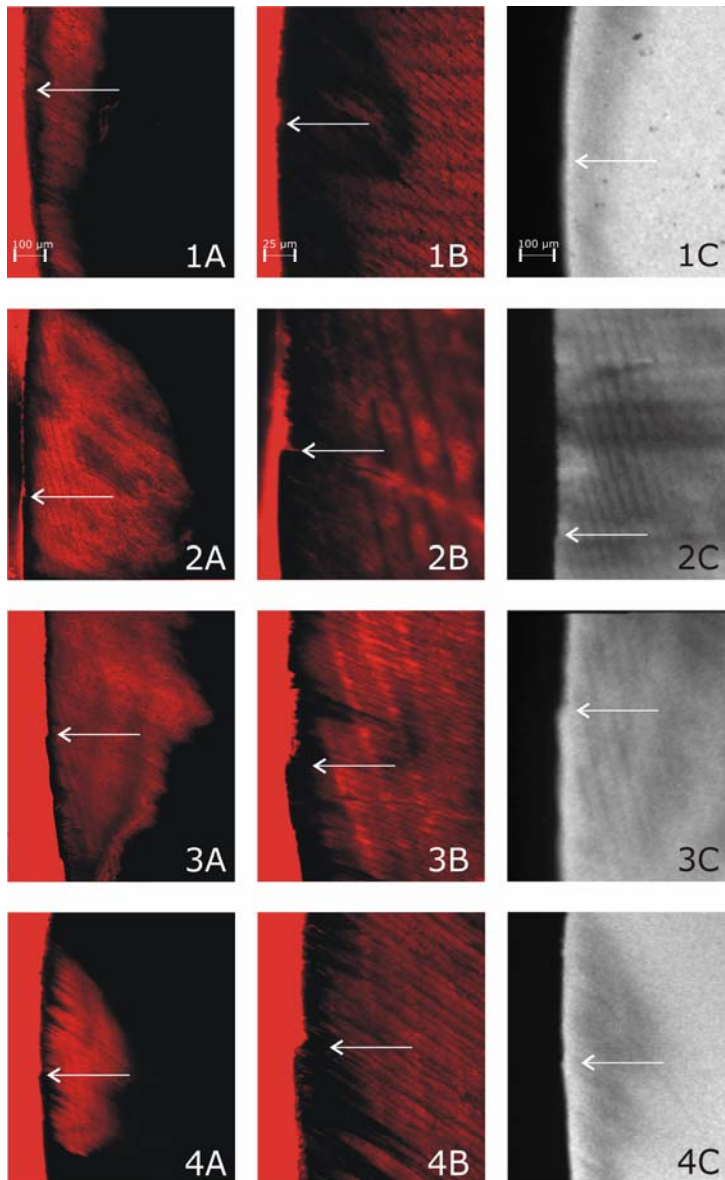


Abb. 16

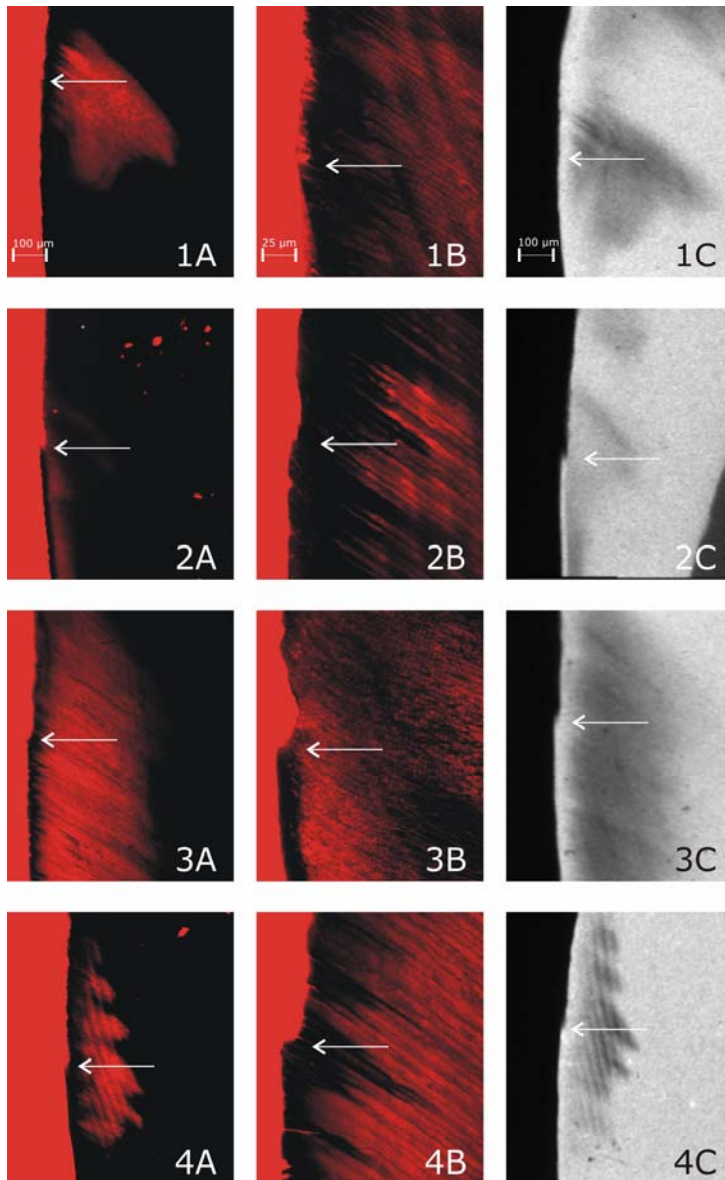
Repräsentative CLSM-Aufnahmen jeweils einer Läsion, die mit HCl (15 %) für 90 s (links) bzw. H₃PO₄ (37 %) für 90 s (rechts) geätzt wurde. Nach Ätzung mit HCl ist im Vergleich zu H₃PO₄ eine deutlichere Erosion (E_L) mit einer vollständigen Entfernung der Oberflächenschicht (OS) erkennbar.

**Abb. 17**

Repräsentative CLSM- (Bild A und B) und TMR-Aufnahmen (Bild C) jeweils einer Läsion, die mit H_3PO_4 für 30 (1A-1C), 60 (2A-2C), 90 (3A-3C) oder 120 (4A-4C) Sekunden geätzt wurden.

Der Pfeil verdeutlicht den Übergang vom ungeätzten zum geätzten Bereich.

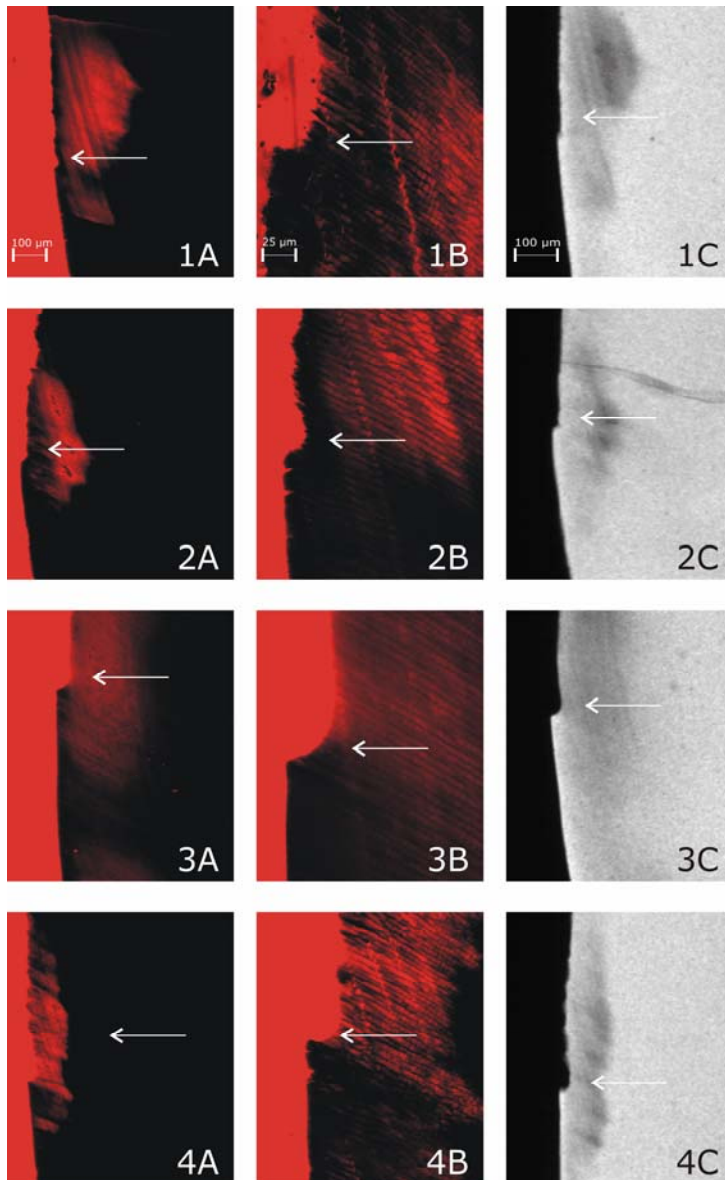
Anhand der exemplarischen CLSM-Bilder (Abb. 17) ist gut erkennbar, dass eine Ätzung mit Phosphorsäure zwar zu einer Erosion führte, diese jedoch nur sehr gering ausgeprägt war. Nur bei 40facher Vergrößerung (Bilder B) ist an allen ausgewählten Proben eine Erosion der Oberflächenschicht sichtbar, die bei einer Ätzung für 90 und 120 Sekunden am deutlichsten ist. In Bezug auf die gesamte Oberflächenschicht war jedoch auch nach maximaler Applikationsdauer der Phosphorsäure die erreichte Erosion der Oberflächenschicht nicht zufriedenstellend. Selbst sehr dünne Oberflächenschichten, wie im Beispiel drei und vier konnten bei dieser Applikationsdauer nicht entfernt werden.

**Abb. 18**

Repräsentative CLSM- (Bild A und B) und TMR-Aufnahmen (Bild C) jeweils einer Läsion, die mit HCl (5 %) für 30 (1A-1C), 60 (2A-2C), 90 (3A-3C) oder 120 (4A-4C) Sekunden geätzt wurden.

Der Pfeil verdeutlicht den Übergang vom ungeätzten zum geätzten Bereich.

Die ausgewählten Beispielbilder (Abb. 18) zeigen, dass eine Ätzung mit 5%iger Salzsäure zu einer stärkeren Erosion führte, als dies bei einer Ätzung mit Phosphorsäure der Fall war (Abb. 17). In der 10fachen Vergrößerung ist die Erosion der Oberflächenschicht bereits sichtbar. Eine Verlängerung der Applikationsdauer führte auch bei einer Ätzung mit 5%iger Salzsäure zu einer deutlicheren Erosion. Dicke Oberflächenschichten (60 und 120 s) konnten jedoch nur zu einem geringen Anteil entfernt werden, während dünnere nach 90 Sekunden Ätzzeit teilweise vollständig erodiert wurden.

**Abb. 19**

Repräsentative CLSM- (Bild A und B) und TMR-Aufnahmen (Bild C) jeweils einer Läsion, die mit HCl (15 %) für 30 (1A-1C), 60 (2A-2C), 90 (3A-3C) oder 120 (4A-4C) Sekunden geätzt wurden.

Der Pfeil verdeutlicht den Übergang vom ungeätzten zum geätzten Bereich.

Die exemplarischen Aufnahmen (Abb. 19) von Proben, die mit 15%iger Salzsäure geätzt wurden, verdeutlichen, dass eine ausgeprägte Erosion der Oberflächenschicht schon nach einer Applikationsdauer des Ätzgeles für 30 Sekunden sichtbar wurde (10fach). Eine vollständige Erosion der pseudointakten Oberflächenschicht wurde durch eine Applikationsdauer von 90 Sekunden und 120 Sekunden erzielt. Die Varianz der Oberflächenschichtdicken innerhalb und zwischen den einzelnen Läsionen ist anhand dieser exemplarischen Bilder (Abb. 17-19) ebenfalls deutlich erkennbar.

5.3 Auswertung der Veränderung des Mineralgehaltes mit der Mikroradiografie

Der mittlere (Standardabweichung) Gesamtmineralverlust des Kontrollbereiches aller Läsionen [ΔZ_{gesamt} (ΔZ_{ges})] betrug 6691 (5922) Vol. % \times μm . Der Wert ΔZ_{ges} setzt sich zusammen aus dem Wert ΔZ_{O} ($\Delta Z_{\text{Oberfläche}}$ Mineralverlust der obersten 50 μm) addiert mit dem Wert ΔZ_{I} (ΔZ_{Innen} gemessen ab einer Tiefe von 50 μm innerhalb der Läsion). Bei keiner der zwölf Konditionierungsmodalitäten konnten signifikante Veränderungen des Mineralgehaltes der inneren Läsionsbereiche (ΔZ_{I}) zwischen den Werten der Kontroll- und Effekthälften gemessen werden ($p \geq 0,05$; adjustierter t-Test). Allerdings war der Mineralverlust ΔZ_{O} nach Behandlung mit 15%iger Salzsäure für 90 Sekunden und 120 Sekunden im Vergleich zur Ätzung mit 5%iger Salzsäure für 30 und 90 Sekunden sowie mit Phosphorsäure (30, 60, 90, 120 Sekunden) signifikant erhöht ($p < 0,05$; Bonferroni) (Abb. 20).

Die Kontrollbereiche der Läsionen hatten einen mittleren maximalen Mineralgehalt von 80 (11) Vol. %. Die Werte für ΔZ_{ges} , ΔZ_{O} und ΔZ_{I} zwischen den einzelnen Gruppen für den Kontrollbereich waren vergleichbar ($p \geq 0,05$; ANOVA, Bonferroni), obwohl erhebliche visuelle Variationen in der Läsionsmorphologie bestanden.

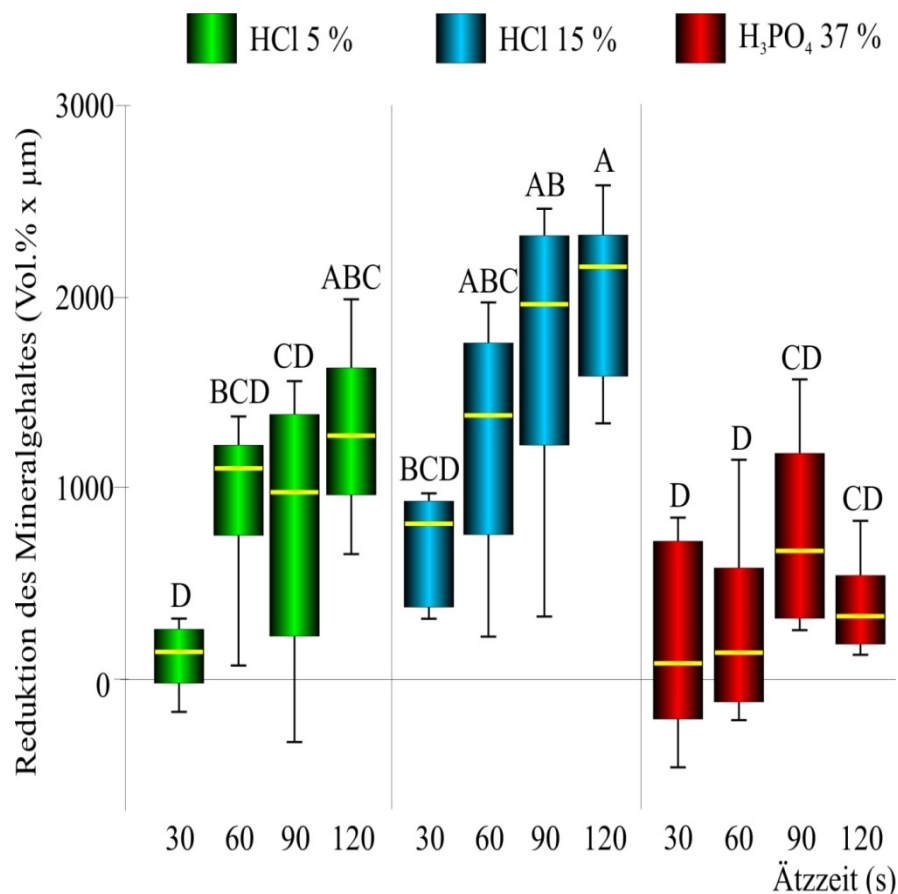


Abb. 20

Absolute Reduktion des Mineralgehaltes der oberen 50 μm der Läsionen nach Ätzung mit 5%iger HCl (grün), 15%iger HCl (blau) und 37%iger H₃PO₄ (rot). Dargestellt sind box-and-whiskers-plots mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen (gelb). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander ($p < 0,05$; Bonferroni).

Durch die Applikation von Phosphorsäure wurde bei keiner der Applikationszeiten eine signifikante Verschiebung der Lage des Oberflächenpunktes (O.p.E; Tiefe des größten Mineralgehaltes der Oberflächenschicht) festgestellt ($p \geq 0,05$; adjustierter t-Test). Nach der Behandlung mit 5%iger Salzsäure für 60 Sekunden und 120 Sekunden bzw. 15%iger Salzsäure für 90 Sekunden und 120 Sekunden lag der Oberflächenpunkt signifikant tiefer in der Läsion als bei der Kontrollhälfte (O.p.K) ($p < 0,01$) (Tab. 1).

Tab. 1

Oberflächenpunkte (μm) der Kontroll- (O.p.K) und der Effekthälften (O.p.E)

Gruppen			O.p.K		O.p.E		Sig.
Nr.	Säure	Zeit (s)	MW	S	MW	S	
1	HCl 5 %	30	30	18	28	12	n.s.
2		60	17	5	32	9	*
3		90	23	9	31	7	n.s.
4		120	22	20	43	25	*
5	HCl 15 %	30	20	8	34	22	n.s.
6		60	20	6	37	13	n.s.
7		90	14	4	38	8	*
8		120	22	13	52	9	*
9	H ₃ PO ₄ 37 %	30	21	9	28	12	n.s.
10		60	23	10	26	11	n.s.
11		90	23	6	30	4	n.s.
12		120	33	11	33	9	n.s.

Mittelwerte (MW), Standardabweichungen (S) und signifikante Unterschiede (Sig.) zwischen O.p.K. und O.p.E (Sig.) der zwölf Gruppen ($p \geq 0,05$ n.s.; $p < 0,05$ *; adjustierter t-Test).

Die Auswertung der mikroradiografischen Bilder hinsichtlich der Strecke von der natürlichen Oberfläche bis zur Tiefe mit dem höchsten Mineralgehalt [Oberflächenpunkt (O.p.)] ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontrollhälften der Gruppen ($p \geq 0,05$; ANOVA). Durch den Ätzzvorgang mit Salzsäure für mindestens 90 Sekunden wurden die Koordinaten der Oberflächenpunkte (Mineralgehalt, Läsionstiefe) ca. 30 μm in Richtung des Läsionskörpers verschoben (Abb. 21).

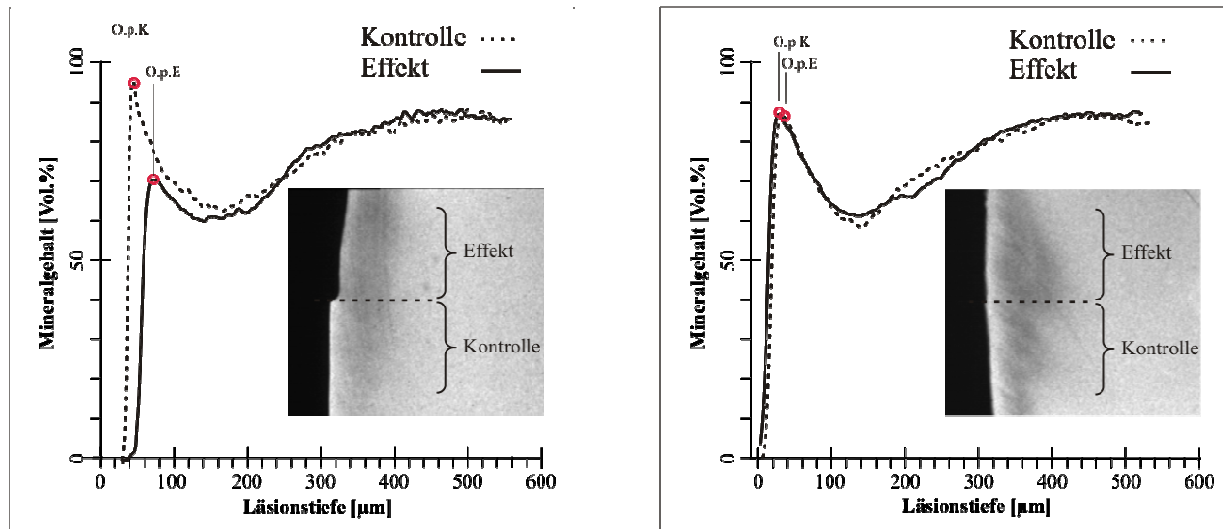


Abb. 21

Exemplarische mikroradiografische Auswertung jeweils zweier Läsionshälften, deren Effekthälfte entweder mit HCl (15 %) für 90 s (links) oder H₃PO₄ für 90 s (rechts) geätzt wurde. Durch Ätzung mit HCl fand eine Verschiebung des Oberflächenpunktes der Kontrolle (O.p.K) in Richtung des Läsionskörpers statt (O.p.E).

6 Diskussion

6.1 Diskussion von Material und Methode

6.1.1 Versuche mit natürlichen Läsionen

In der vorliegenden Arbeit sollten drei verschiedene saure Ätzgele und jeweils vier Applikationszeiten hinsichtlich Ihrer Eignung zur Erosion der pseudointakten Oberflächenschicht von natürlichen Läsionen überprüft werden.

Im Vergleich zu künstlichen Läsionen, die im Labor relativ einfach in großen Mengen hergestellt werden können, ist die Verwendung von natürlichen Läsionen mit einem wesentlich größeren Arbeitsaufwand verbunden. Für diese Arbeit wurden die Zähne aus Berliner Zahnarztpraxen bezogen und nach der Extraktion in isotonischer Kochsalzlösung gelagert. Dieses Lagerungsmedium scheint keinen Einfluss auf das Mineralisationsverhalten von Schmelz zu besitzen (Rieben et al. 2006). Die Verwendung menschlicher Zähne ist ethisch, auch ohne individuelle Einwilligung vertretbar, da Paragraph E II 8 der Stellungnahme der zentralen Ethikkommission 2003 erfüllt ist.

Die verwendeten natürlichen Läsionen haben im Vergleich zu künstlichen Läsionen entscheidende strukturelle Morphologieunterschiede. Aufgrund der inhomogenen Plaqueanlagerung auf der Oberfläche einzelner Läsionen während der Entstehung natürlicher Karies variieren Läsionstiefe, Dicke der Oberflächenschicht, Porenvolumen und Mineralverlust innerhalb einzelner kariöser Läsionen. Während bei künstlichen Läsionen Oberflächenschichten von 20-30 µm Dicke berichtet werden (Silverstone 1973), können aufgrund der individuellen Fluoridexposition, des Ernährungs- und Mundhygieneverhaltens bei natürlichen Läsionen sehr variable Oberflächenschichtdicken beobachtet werden (Bergman und Lind 1966; Kidd 1983). Diese Morphologieunterschiede beeinflussen sehr wahrscheinlich das Verhalten auf die Säureexposition. Insgesamt ist ein nicht so uniformes Verhalten, wie bei bovinen Proben mit künstlich erzeugten Läsionen zu erwarten (Mellberg 1992).

Aufgrund der sichtbaren Konkremente und den zum Teil geringen kariösen Zerstörungsgrad der ausgewählten Zähne kann man schlussfolgern, dass es sich vor allem um Zähne von älteren Menschen handelt, die aus parodontologischen Gründen extrahiert wurden und somit in erster Linie inaktive Läsionen aufwiesen. Das Vorhandensein aktiver approximaler Karies hat jedoch einen Höhepunkt im frühen Erwachsenenalter. Die Beschaffung solcher Zähne

stellt sich aufgrund der fehlenden Indikation zur Extraktion jedoch als schwierig dar. Die im Rahmen kieferorthopädischer Behandlung entfernten Zähne junger Patienten weisen oftmals noch keine approximalen Läsionen auf.

Im Vergleich zu inaktiven Läsionen können aktive Läsionen aufgrund der dort gerade im Initialstadium der Kariesentstehung geringeren Oberflächenschichtdicken (Silverstone 1968; Thylstrup et al. 1994) wahrscheinlich wesentlich besser mit sauren Gelen erodiert werden. Im klinischen Alltag ist es, gerade bei einmaliger Inspektion, oftmals schwer aktive von inaktiven Läsionen zu unterscheiden (Ekstrand et al. 2005). Bei Implementierung der Therapie in den Praxisalltag ist deshalb davon auszugehen, dass ebenfalls inaktive Läsionen mit ausgeprägten Oberflächenschichten behandelt werden würden. Die in der vorliegenden Arbeit an zumeist inaktiven Läsionen beobachteten Erosionseigenschaften von sauren Gelen sind deshalb essentiell, um diese neue Behandlungsmethode zur klinischen Reife weiterzuentwickeln, auch wenn das eigentliche Ziel die Behandlung von aktiven Läsionen darstellt. Aufgrund der beschriebenen Gründe sind aktive Läsionen wahrscheinlich sogar leichter zu erodieren als die in dieser Studie teilweise verwendeten inaktiven Läsionen.

6.1.2 Säuren

Die Phosphorsäure findet im Rahmen der Adhäsivtechnik zur Konditionierung von Schmelz und Dentin breite Anwendung (Van Landuyt et al. 2007). Zur Konditionierung von Läsionen zur anschließenden Penetration von Adhäsiven wurde diese nicht entwickelt. Zur Verbesserung der Penetrationsfähigkeit eines Kunststoffes in künstliche Läsionen scheint eine Ätzung mit 37%iger Phosphorsäure ausreichend (Gray und Shellis 2002). Eine tiefer gehende Erosion mit dieser Säure konnte bei natürlichen Läsionen, auch bei längeren Ätzzeiten nicht erreicht werden. Ursache hierfür könnte die bereits beschriebenen morphologischen Unterschiede in Bezug auf die Oberflächenschicht sein. Deshalb wurden in dieser Arbeit neben der handelsüblichen 37%igen Phosphorsäure zwei experimentelle Salzsäuregele in 5%iger und 15%iger Konzentration verwendet.

Salzsäure ist in der Zahnmedizin weit weniger verbreitet als Phosphorsäure, wird aber in der ästhetischen Zahnheilkunde benutzt. Bei verfärbtem Schmelz kann mit Salzsäure in vergleichbarer Konzentration eine Mikroabrasion erreicht werden (McCloskey 1984; Croll

und Cavanaugh 1986; Mathewson et al. 1987). In Vorversuchen stellte sich diese Säure auch für die Vorbehandlung vor Applikation von Kunststoffen als prinzipiell geeignet heraus.

Da ein längerer Kontakt der Säure mit Gingiva und anderen Weichgeweben in der Mundhöhle des Patienten zu Ulzerationen führen kann (Croll 1987), sollte bei einer klinischen Anwendung von Salzsäuregel möglichst Kofferdam verwendet werden. In dieser Studie wurde Salzsäure in einer Gelform verwendet. Salzsäuregel ist bisher nicht kommerziell erhältlich und wurde eigens für den Versuch hergestellt. Die Gelform hat im Vergleich zur flüssigen Form neben der sichereren Applikation den Vorteil, dass sich die Ätzwirkung der Säure durch die erhöhte Viskosität auf die Läsionsoberfläche beschränkt. Ein Eindringen in tiefere Bereiche der Läsion wird somit verhindert.

6.1.3 Visualisierungsmethode

Zur Visualisierung wurden zwei verschiedene Methoden verwendet. Die konfokale Laser-Raster-Mikroskopie und die transversale Mikroradiografie. 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).

Eine Bestimmung des Mineralgehaltes ist bei der Verwendung der konfokalen Laser-Raster-Mikroskopie nicht möglich. Bei der transversale Mikroradiografie wird mittels einer Aluminiumtreppe (step wedge), welche den gleichen Strahlenabschwächungskoeffizienten wie Hydroxylapatit hat, jedem Grauwert im Mikroradiogramm ein definierter Mineralgehalt zugeordnet. Belichtungsfehler können somit kompensiert werden. Für die konfokale Laser-Raster-Mikroskopie gibt es eine solche „Eichtreppe“, um Messfehler zu korrigieren, nicht. Der Vorteil von der Verwendung mehrerer Visualisierungsmethoden ist, dass Fehlinterpretationen minimiert werden können, die bei der alleinigen Verwendung der konfokalen Laser-Raster-Mikroskopie, aufgrund der bei dieser Methode fehlenden Eichmöglichkeit der fluoreszierenden Farbstoffe, entstehen können.

Zur Visualisierung der porösen Strukturen innerhalb der Kariesläsion wurden die Proben mit einem niedrig viskösen Kunststoff infiltriert, der zuvor mit dem Fluoreszenzfarbstoff Rhodamin B Isothiocyanat (RITC) markiert worden war. Diese Methode wurde erst kürzlich entwickelt und mit der Abkürzung VIRIN (**V**isualisation by **R**esin **I**nfiltration) benannt

(Meyer-Lueckel et al. 2006). Dieses Verfahren zeigt einige Vorteile gegenüber anderen Methoden zur Visualisierung poröser Hartgewebsstrukturen.

Eine Färbung der porösen Strukturen mit Hilfe einer wässrigen oder alkoholischen Lösung durch den Farbstoff RITC ist ebenfalls möglich (Fontana et al. 1996; González-Cabezas et al. 1998; Dorfer et al. 2000; Mannocci et al. 2001). Da jedoch die Affinität des Farbstoffs zum Lösungsmittel und zum Apatit des Schmelzes verantwortlich für die Färbung der porösen Strukturen ist, erfolgt diese bei wässrigen oder alkoholischen Lösung nur sehr ungleichmäßig. Bei wassergekühlten Schneid- und Poliervorgängen kann zudem der Farbstoff ausgespült werden. Das poröse Hartgewebe kann auch mit einem wesentlich visköseren, gefärbten Epoxidharz infiltriert werden. Der Arbeitsaufwand hierfür ist im Vergleich zu VIRIN ähnlich, jedoch ist ein eigens konstruierter Autoklav nötig, in welchem bei einem Druck von 200 MPa grazile Schmelzstrukturen aufgrund der hohen Viskosität durchaus zerstört werden könnten (Uchtmann und Wilkie 1997).

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Methode VIRIN hat den Vorteil, dass ein niedrig visköser Kunststoff verwendet wurde. Dieser kann durch seine benetzenden Eigenschaften bei vergleichsweise niedrigem Druck (0,8 MPa) eingesetzt werden. Eine Zerstörung der grazilen Schmelzstrukturen kann somit vermieden werden. Mit der konfokalen Laser-Raster-Mikroskopie 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.

Desweiteren hat diese Methode den Vorteil, dass gegenüber der Verwendung wässriger, fluoreszierender Lösungen demineralisierte Schmelzstrukturen durch das Auffüllen der Porositäten gefestigt werden und eine Zerstörung der Strukturen durch weitere Arbeitsschritte, wie Polieren und Sägen verhindert wird. Ein Nachteil dieser Methode ist der erhöhte Zeitaufwand.

6.2 Diskussion der Ergebnisse

Die beschriebene Variabilität der Ausdehnungen der Oberflächenschichtdicken von natürlichen Läsionen konnte in dieser Arbeit bestätigt werden. Wobei die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Läsionen etwas größere mittlere Oberflächenschichtdicken aufwiesen (45 μm) als in einer früheren Untersuchung (40 μm) berichtet wurden (Bergman und Lind 1966). Durch die Ätzung mit 15%igen Salzsäuregel für 90 Sekunden bzw. 120 Sekunden konnte bei ca. 70 Prozent der Läsionen eine Reduktion der im konfokalen Laser-Raster-Mikroskop sichtbaren Oberflächenschicht um 90 Prozent erzielt werden, während nach 120 Sekunden Vorbehandlung mit Phosphorsäure die Oberflächenschichtdicke im Median nur um ca. 40 Prozent reduziert werden konnte. Deshalb scheint die Vorbehandlung mit 15%igem Salzsäuregel für mindestens 90 Sekunden zumindest bei der Mehrheit der untersuchten Läsionen geeignet, wodurch einem niedrig viskösen Kunststoff ein verbesserter Zugang zum Läsionskörper ermöglicht werden könnte. Eine Ätzung natürlicher Schmelzläsionen mit Phosphorsäuregel oder geringer konzentriertem Salzsäuregel (5 %) führte zu einer vergleichsweise geringeren Erosion der pseudointakten Oberflächenschicht und scheinen deshalb weniger geeignet. Weiterführende Studien müssen den Effekt der unterschiedlichen Erosionstiefe auf die Eindringtiefe von niedrig viskösen Kunststoffen erst noch bestätigen.

Die im gesunden Schmelz (Hermsen und Vrijhoef 1993) bzw. bei künstlichen Läsionen (Hicks und Silverstone 1984) beobachteten Erosionstiefen nach Ätzung mit Phosphorsäure waren mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit vergleichbar. Das die Oberflächen von Läsionen hierbei stabiler waren gegenüber einer Erosion in gesunden Bereichen (Hicks und Silverstone 1984), konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden. Die Abhängigkeit des Mineralverlustes von der einwirkenden Protonenkonzentration (West et al. 2001; Hannig et al. 2005) konnte bestätigt werden. Darüber hinaus konnte, wie auch in früheren Studien (Hicks und Silverstone 1984; Hermsen und Vrijhoef 1993) eine nahezu lineare Abhängigkeit zwischen der Quadratwurzel der Applikationszeit und der Erosion beobachtet werden.

Die Erosion scheint ein diffusionsabhängiger Prozess zu sein, der durch eine höhere Viskosität eines Ätzgels verlangsamt wird. Die 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 dieser Arbeit wurden, wie schon erwähnt, hauptsächlich inaktive Läsionen verwendet. Da im klinischen Alltag möglichst nur aktive Läsionen, die geringere Oberflächenschichtdicken besitzen dürften, mit einer ‚Versiegelung‘ behandelt werden sollten, scheint die mit 15%igem Salzsäuregel erzielbare Erosion von 30 µm ausreichend. Ob bei inaktiven Läsionen eine Verlängerung der Applikationszeit mit Salzsäure ratsam ist, bleibt weiteren Studien vorbehalten, die die Abhängigkeit der Penetration eines Kunststoffes von der Ätzzeit evaluieren.

Aus den vorliegenden Ergebnissen lässt sich schlussfolgern; dass 15%ige Salzsäure nach einer Ätzzeit für mindestens 90 Sekunden geeignet ist, um die pseudointakte Oberflächenschicht von natürlichen Läsionen größtenteils aufzulösen. Hierdurch könnte die Penetration eines anschließend applizierten lichthärtenden Kunststoffes begünstigt werden.

7 Zusammenfassung

Die Penetration niedrig visköser Kunststoffe in approximale Schmelzläsionen könnte ein vielversprechender Therapieansatz sein, um das Voranschreiten kariöser Läsion zu verhindern. Allerdings wird das Eindringen der Materialien durch die stark mineralisierte Oberflächenschicht der natürlichen Läsionen behindert. Deshalb könnte eine zumindest partielle Entfernung der Oberflächenschicht vorteilhaft sein, um tiefere Penetrationen zu ermöglichen. Zur Wirkung verschiedener Säuren auf die Oberflächenschicht der Karies liegen keine Studien in der zugänglichen Literatur vor. Deshalb war es das Ziel dieser Studie, den Effekt von drei verschiedenen saueren Gelen bei unterschiedlichen Applikationszeiten auf die Erosion der Oberflächenschicht zu untersuchen. Extrahierte humane Molaren und Prämolaren mit approximalen initialen Läsionen wurden in der Mitte der Läsion geteilt. Nach visueller Prüfung wurden 96 Läsionen mit einer Ausdehnung der Karies bis in die äußere Schmelzhälfte ausgewählt. Mit Nagellack wurden die Schnittfläche sowie eine Hälfte jeder Läsion (Kontrolle) abgedeckt. Anschließend wurden die Läsionen entweder mit Phosphorsäure- (37 %) oder Salzsäuregel (5 % oder 15 %) für entweder 30, 60, 90 oder 120 Sekunden ($n = 8$ / Gruppe) geätzt. Die Proben wurden mit Hilfe der konfokalen Laser-Raster-Mikroskopie und der transversalen Mikroradiografie (TMR) untersucht. Die prozentuale Reduktion der Oberflächenschicht war signifikant größer bei den Läsionen, die für 90 bzw. 120 Sekunden mit 15%iger Salzsäure geätzt wurden im Vergleich zu einer Ätzung mit Phosphorsäure ($p < 0.05$; ANOVA, Bonferroni). Die mediane (25. Perzentil; 75. Perzentil) prozentuale Reduktion der Oberflächenschichtdicken nach einer Ätzung mit Phosphorsäure für 120 Sekunden betrug 44 % (22; 62) Nach einer Ätzung für 120 Sekunden mit 15%iger Salzsäure konnten im Median Reduktionen von bis zu 96 % (58; 100) erreicht werden. Es konnten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Erosionstiefe der Läsions- zu den gesunden Bereichen festgestellt werden ($p \geq 0.05$; t-Test). Der Mineralverlust (TMR) der obersten 50 μm war nach Behandlung mit 15%iger Salzsäure für 90 Sekunden und 120 Sekunden im Vergleich zur Ätzung mit 5%iger Salzsäure für 30 und 90 Sekunden sowie mit Phosphorsäure signifikant erhöht ($p < 0,05$; ANOVA Bonferroni).

Hieraus kann geschlussfolgert werden, dass eine Ätzung mit 15%iger Salzsäure für mindestens 90 Sekunden geeignet erscheint, um die pseudointakte Oberflächenschicht von natürlichen Läsionen größtenteils aufzulösen, wodurch die Penetration eines niedrig viskösen Kunststoffes erleichtert werden könnte.

8 Summary

The penetration of proximal enamel lesions with low viscous resins could be a viable approach to arrest lesion progression. However, penetration of materials might be hampered by the relatively highly mineralized surface layers of natural lesions. Studies focusing on the erosive effects of acid gels are not available so far. Therefore, the aim of this study was to compare the effects of three different etching gels in removing the surface layer for various etching times. Extracted human molars and premolars showing proximal white spot lesions were cut across the demineralized areas. Ninety-six lesions expected from visual examination to be confined to the outer enamel (C1) were selected. The cut surface and half of each lesion were varnished, thus serving as control. Subsequently, the lesions were etched with either phosphoric (37 %) or hydrochloric (5 % or 15 %) acid gel for 30, 60, 90 and 120 s ($n = 8/\text{group}$). Specimens were examined using confocal microscopy and transversal microradiography (TMR). Surface layer reduction was significantly increased in lesions etched with 15% HCl gel for 90 and 120 s compared to those etched with H_3PO_4 gel ($p < 0.05$; ANOVA, Bonferroni). Median (25. Percentile; 75. percentile) percentage reduction of the surface layer thickness after etching with phosphoric acid for 120 seconds was 44 % (22; 62). After etching for 120 seconds with 15 % hydrochloric acid, median reductions of 96 % (58; 100) were achieved. No significant differences regarding the depths of erosion in the lesions compared to sound enamel could be observed ($p \geq 0.05$; t-test). Mineral loss (TMR) of outermost 50 μm of the lesions was significantly increased after treatment with 15 % hydrochloric acid for 90 seconds and 120 seconds compared to etching with 5% hydrochloric acid for 30 and 90 seconds as well as with phosphoric acid ($p < 0.05$, ANOVA, Bonferroni). An almost complete reduction in the surface layer of natural enamel caries can be achieved by etching with 15% hydrochloric acid gel for 90-120 s. This regime might be beneficial to enable penetration of low viscous resins into natural lesions.

9 Literaturverzeichnis

- Ahovuo-Saloranta A, Hiiri A, Nordblad A, Worthington H, Makela M: Pit and fissure sealants for preventing dental decay in the permanent teeth of children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2004:CD001830.
- Al-Khateeb S, Exterkate R, Angmar-Mansson B, ten Cate JM: Effect of acid-etching on remineralization of enamel white spot lesions. *Acta Odontol Scand* 2000;58:31-6.
- Alkilzy M, Heyduck C, Meller C, Schidrowski M, Splieth CH: Therapeutic sealing of proximal tooth surfaces: 6-month follow-up. *Caries Res* 2006;40:328 (Abstr No. 73).
- Alkilzy M, Heyduck C, Meller C, Schidrowski M, Splieth CH: Therapeutic sealing of proximal tooth surfaces: Two-year follow-up. *Caries Res* 2007;41:273 (Abstr No. 16).
- Arends J, Christoffersen J: The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res* 1986;65:2-11.
- Arends J, ten Bosch JJ: Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 1992;71 Spec No:924-8.
- Bergman G, Lind PO: A quantitative microradiographic study of incipient enamel caries. *J Dent Res* 1966;45:1477-84.
- Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ: *Oral Anatomy*, London, 1992.
- Bloemendal E, de Vet HC, Bouter LM: The value of bitewing radiographs in epidemiological caries research: a systematic review of the literature. *J Dent* 2004;32:255-64.
- Burt BA: Trends in caries prevalence in North American children. *Int Dent J* 1994;44:403-13.
- Croll TP: Bonded resin sealant for smooth surface enamel defects: new concepts in "microrestorative" dentistry. *Quintessence Int* 1987;18:5-10.
- Croll TP, Cavanaugh RR: Enamel color modification by controlled hydrochloric acid-pumice abrasion. I. Technique and examples. *Quintessence Int* 1986;17:81-7.
- Darling AI, Mortimer KV, Poole DF, Ollis WD: Molecular sieve behaviour of normal and carious human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1961;5:251-73.
- Davila JM, Buonocore MG, Greeley CB, Provenza DV: Adhesive penetration in human artificial and natural white spots. *J Dent Res* 1975;54:999-1008.
- Domejean-Orliaguet S, Tubert-Jeannin S, Riordan PJ, Espelid I, Tveit AB: French dentists' restorative treatment decisions. *Oral Health Prev Dent* 2004;2:125-31.

- Dorfer CE, Staehle HJ, Wurst MW, Duschner H, Pioch T: The nanoleakage phenomenon: influence of different dentin bonding agents, thermocycling and etching time. *Eur J Oral Sci* 2000;108:346-51.
- Ekstrand KR, Bruun G, Bruun M: Plaque and gingival status as indicators for caries progression on approximal surfaces. *Caries Res* 1998;32:41-5.
- Ekstrand KR, Ricketts DN, Longbottom C, Pitts NB: Visual and tactile assessment of arrested initial enamel carious lesions: an in vivo pilot study. *Caries Res* 2005;39:173-7.
- Espelid I, Tveit AB: Clinical and radiographic assessment of approximal carious lesions. *Acta Odontol Scand* 1986;44:31-7.
- Espelid I, Tveit AB, Riordan PJ: Radiographic caries diagnosis by clinicians in Norway and Western Australia. *Community Dent Oral Epidemiol* 1994;22:214-9.
- Fejerskov O, Baelum V: Changes in prevalence and incidence of the major oral diseases; in B. Guggenheim, S. Shapiro (Hrsg.). *Oral Biology at the Turn of the Century*; Karger, Basel, 1998, S. 1-11.
- Fejerskov O, Nyvad B, Kidd EAM: Clinical and histological manifestations of dental caries; in E. A. M. Kidd (Hrsg.). *Dental Caries: The disease and its clinical management*; Blackwell Munksgaard, Oxford, 2003, S. 71-97.
- Fejerskov O, Thylstrup A: Different concepts of dental caries and their implications; in A. Thylstrup, O. Fejerskov (Hrsg.). *Textbook of clinical cariology*; Munksgaard, Copenhagen, 1994, S. 209-217.
- Flaitz CM, Hicks MJ: Role of the acid-etch technique in remineralization of caries-like lesions of enamel: a polarized light and scanning electron microscopic study. *ASDC J Dent Child* 1994;61:21-8.
- Fontana M, Li Y, Dunipace AJ, Noblitt TW, Fischer G, Katz BP, Stookey GK: Measurement of enamel demineralization using microradiography and confocal microscopy. A correlation study. *Caries Res* 1996;30:317-25.
- Glass RL, Alman JE, Chauncey HH: A 10-year longitudinal study of caries incidence rates in a sample of male adults in the USA. *Caries Res* 1987;21:360-7.
- Gomez SS, Basili CP, Emilson CG: A 2-year clinical evaluation of sealed noncavitated approximal posterior carious lesions in adolescents. *Clin Oral Investig* 2005;9:239-43.
- González-Cabezas C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, Stookey GK: Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. A correlational study. *Caries Res* 1998;32:385-92.

- Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ: Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Dent* 1982;81:176-87.
- Gray GB, Shellis P: Infiltration of resin into white spot caries-like lesions of enamel: An in vitro study. *Eur J Prosthodont Restor Dent* 2002;10:27-32.
- Griffin SO, Oong E, Kohn W, Vidakovic B, Gooch BF, Bader J, Clarkson J, Fontana MR, Meyer DM, Rozier RG, Weintraub JA, Zero DT: The effectiveness of sealants in managing caries lesions. *J Dent Res* 2008;87:169-74.
- Gwinnett AJ: Structure and composition of enamel. *Oper Dent* 1992;Suppl 5:10-7.
- Hannig C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T: Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. *Arch Oral Biol* 2005;50:541-52.
- Hellwig E, Klimek J, Attin T: Ätiologie, Histologie und Epidemiologie der Karies und anderer Zahnhartsubstanzdefekte; in E. Hellwig, J. Klimek, T. Attin (Hrsg.). Einführung in die Zahnerhaltung; Urban&Fischer, München, 2003a, S. 13-59.
- Hellwig E, Klimek J, Attin T: Mikroskopische Anatomie der Zahnhartsubstanzen; in E. Hellwig, J. Klimek, T. Attin (Hrsg.). Einführung in die Zahnerhaltung; Urban&Fischer, München, 2003b, S. 3-12.
- Hennig H, Sicker D, Franz J: Grundlagen der Chemie für Mediziner, Vol. 6. Johann Ambrosius Barth Verlag, Heidelberg, 2000.
- Hermesen RJ, Vrijhoef MM: Loss of enamel due to etching with phosphoric or maleic acid. *Dent Mater* 1993;9:332-6.
- Hicks MJ, Silverstone LM: Acid-etching of caries-like lesions of enamel: a polarized light microscopic study. *Caries Res* 1984;18:315-26.
- Hicks MJ, Silverstone LM: Internal morphology of surface zones from acid-etched caries-like lesions: a scanning electron microscopic study. *J Dent Res* 1985;64:1296-301.
- Hintze H: Approximal caries prevalence in Danish recruits and progression of caries in the late teens: a retrospective radiographic study. *Caries Res* 2001;35:27-35.
- Hove LH, Young A, Tveit AB: An in vitro Study on the Effect of TiF₄ Treatment against Erosion by Hydrochloric Acid on Pellicle-Covered Enamel. *Caries Res* 2007;41:80-4.
- ICDAS: Coordinating Committee. Criteria Manual International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II).
- Kidd EAM: The histopathology of enamel caries in young and old permanent teeth. *Br Dent J* 1983;155:196-8.

- Kidd EAM, Mejare I, Nyvad B: Clinical and radiographic diagnosis; in O. Fejerskov, E. A. M. Kidd (Hrsg.). *Dental caries: The disease and its clinical management*; Blackwell Munksgaard, Oxford, 2003, S. 111-28.
- Kidd EAM, Pitts NB: A reappraisal of the value of the bitewing radiograph in the diagnosis of posterior approximal caries. *Br Dent J* 1990;169:195-200.
- Kidd EAM, van Amerongen JP: The role of operative treatment; in O. Fejerskov, E. A. M. Kidd (Hrsg.). *Dental caries: The disease and its clinical management*; Blackwell Munksgaard, Oxford, 2003, S. 245-50.
- Kielbassa AM, Paris S, Lussi A, Meyer-Lueckel H: Evaluation of cavitations in proximal caries lesions at various magnification levels in vitro. *J Dent* 2006;34:817-22.
- Klimm W: *Kariologie*, München Wien, 1997.
- Kogon SL, Stephens RG, Reid JA, Donner A: Can radiographic criteria be used to distinguish between cavitated and noncavitated approximal enamel caries? *Dentomaillofac Radiol* 1987;16:33-6.
- Kühnisch J, Haak R, Buchalla W, Heinrich-Weltzien R: Kariesdetektion und -diagnostik bei Kindern und Jugendlichen. *Oralprophylaxe & Kinderzahnheilkunde* 2007;29:166-71.
- Larsen MJ, Pearce EI: Some notes on the diffusion of acidic and alkaline agents into natural human caries lesions in vitro. *Arch Oral Biol* 1992;37:411-6.
- Lee CQ, Shey Z, Cobb CM: Microscopic appearance of enamel white-spot lesions after acid etching. *Quintessence Int* 1995;26:279-84.
- Liebenberg WH: Direct access to equivocal approximal carious lesions. *Quintessence Int* 1996;27:607-17.
- Mannocci F, Ferrari M, Watson TF: Microleakage of endodontically treated teeth restored with fiber posts and composite cores after cyclic loading: a confocal microscopic study. *J Prosthet Dent* 2001;85:284-91.
- Marthaler TM: A standardized system of recording dental conditions. *Helv Odontol Acta* 1966;10:1-18.
- Marthaler TM: Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res* 2004;38:173-81.
- Marthaler TM, Germann M: Radiographic and visual appearance of small smooth surface caries lesions studied on extracted teeth. *Caries Res* 1970;4:224-42.
- Martignon S, Ekstrand KR, Ellwood R: Efficacy of Sealing Proximal Early Active Lesions: An 18-Month Clinical Study Evaluated by Conventional and Subtraction Radiography. *Caries Res* 2006;40:382-8.

- Mathewson RJ, Morrison JT, Carpenter R: Modification of stained enamel surfaces: use of hydrochloric acid and pumice mixture. *J Okla Dent Assoc* 1987;77:22-5.
- Maupome G, Sheiham A: Decisions on diagnosis and management of approximal caries by final-year dental students. *Dentomaxillofac Radiol* 1997;26:107-11.
- McCloskey RJ: A technique for removal of fluorosis stains. *J Am Dent Assoc* 1984;109:63-4.
- Mejare I, Kallestal C, Stenlund H: Incidence and progression of approximal caries from 11 to 22 years of age in Sweden: A prospective radiographic study. *Caries Res* 1999a;33:93-100.
- Mejare I, Lingstrom P, Petersson LG, Holm AK, Twetman S, Kallestal C, Nordenram G, Lagerlof F, Soder B, Norlund A, Axelsson S, Dahlgren H: Caries-preventive effect of fissure sealants: a systematic review. *Acta Odontol Scand* 2003;61:321-30.
- Mejare I, Stenlund H, Zelezny-Holmlund C: Caries incidence and lesion progression from adolescence to young adulthood: a prospective 15-year cohort study in Sweden. *Caries Res* 2004;38:130-41.
- Mejare I, Sundberg H, Espelid I, Tveit B: Caries assessment and restorative treatment thresholds reported by Swedish dentists. *Acta Odontol Scand* 1999b;57:149-54.
- Mellberg JR: Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 1992;71 Spec No:913-9.
- Meyer-Lueckel H, Paris S, Mueller J, Colfen H, Kielbassa AM: Influence of the application time on the penetration of different dental adhesives and a fissure sealant into artificial subsurface lesions in bovine enamel. *Dent Mater* 2006;22:22-8.
- Micheelis W, Schiffner U: Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln, 2006.
- Miller WD: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Thieme, Leipzig, 1899.
- Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V: Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. *Caries Res* 1999;33:252-60.
- Pearce EI, Nelson DG: Microstructural features of carious human enamel imaged with back-scattered electrons. *J Dent Res* 1989;68:113-8.
- Poorterman JH, Aartman IH, Kieft JA: Radiographic prevalence of approximal enamel lesions and relationship with dentine lesions and restorations in Dutch adolescents. *Int Dent J* 2002;52:15-9.
- Ratledge DK: A clinical and laboratory investigation of the tunnel restoration (PhD Thesis) Division of Conservative Dentistry, University of London, 1999.

- Ratledge DK, Kidd EA, Beighton D: A clinical and microbiological study of approximal carious lesions. Part 1: The relationship between cavitation, radiographic lesion depth, the site-specific gingival index and the level of infection of the dentine. *Caries Res* 2001;35:3-7.
- Rieben AS, Baumeister J, Neumann K, Kielbassa AM: Influence of storage and grinding on demineralization of bovine enamel. *Caries Res* 2006;40:313 (Abstract. No. 28).
- Rugg-Gunn AJ: Approximal carious lesions. A comparison of the radiological and clinical appearances. *Br Dent J* 1972;133:481-4.
- Schmidlin PR, Gohring TN, Roos M, Zehnder M: Wear resistance and surface roughness of a newly devised adhesive patch for sealing smooth enamel surfaces. *Oper Dent* 2006a;31:115-21.
- Schmidlin PR, Gohring TN, Sener B, Lutz F: Resistance of an enamel-bonding agent to saliva and acid exposure in vitro assessed by liquid scintillation. *Dent Mater* 2002;18:343-50.
- Schmidlin PR, Kluck I, Zimmermann J, Roulet JF, Seemann R: Caries-preventive potential of an adhesive patch after thermomechanical loading--a microbial-based in vitro study. *J Adhes Dent* 2006b;8:7-12.
- Schmidlin PR, Zehnder M, Zimmermann MA, Zimmermann J, Roos M, Roulet JF: Sealing smooth enamel surfaces with a newly devised adhesive patch: a radiochemical in vitro analysis. *Dent Mater* 2005;21:545-50.
- Schroeder H: *Orale Strukturbiologie*. Thieme, Stuttgart, 1992.
- Schumacher G-H: Zähne, Dents; in G.-H. Schumacher (Hrsg.). *Anatomie für Zahnmediziner*; Hüthig, Heidelberg, 1997, S. 270-362.
- Shellis RP, Hallsworth AS, Kirkham J, Robinson C: Organic material and the optical properties of the dark zone in caries lesions of enamel. *Eur J Oral Sci* 2002;110:392-5.
- Silverstone LM: The surface zone of caries and caries-like lesions produced in vitro. *Br Dent J* 1968;125:145-57.
- Silverstone LM: Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev* 1973;3:100-60.
- Silverstone LM, Hicks MJ, Featherstone MJ: Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel. Part I. The dynamic nature of enamel caries. *Quintessence Int* 1988;19:683-711.
- Skold UM, Klock B, Rasmusson CG, Torstensson T: Is caries prevalence underestimated in today's caries examination? A study on 16-year-old children in the county of Bohuslan, Sweden. *Swed Dent J* 1995;19:213-7.

- ten Cate JM: Remineralization of caries lesions extending into dentin. *J Dent Res* 2001;80:1407-11.
- ten Cate JM, Larsen MJ, Pearce EIF, Fejerskov O: Chemical interactions between the tooth and oral fluids; in O. Fejerskov, E. A. M. Kidd (Hrsg.). *Dental Caries*; Blackwell Munksgaard, Oxford, 2003, S. 49-68.
- Thylstrup A, Bruun C, Holmen L: In vivo caries models--mechanisms for caries initiation and arrestment. *Adv Dent Res* 1994;8:144-57.
- Tong, Pang, Mok, King, Wei: The Effects of Etching, Micro-abrasion and Bleaching on Surface Enamel. *J Dent Res* 1993;72:67-71.
- Tveit AB, Espelid I, Skodje F: Restorative treatment decisions on approximal caries in Norway. *Int Dent J* 1999;49:165-72.
- Uchtmann H, Wilkie D: High-pressure replica technique for in vitro imaging of pore morphologies in teeth. *Adv Dent Res* 1997;11:467-71.
- Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, Coutinho E, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B: Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials* 2007;28:3757-85.
- Verdonschot EH, Angmar-Mansson B: Advanced methods of caries diagnosis and quantification; in O. Fejerskov, E. A. M. Kidd (Hrsg.). *Dental caries: The disease and its clinical management*; Blackwell Munksgaard, Oxford, 2003, S. 129-39.
- West NX, Hughes JA, Addy M: The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. *J Oral Rehabil* 2001;28:860-4.
- Willumsen T, Ogaard B, Hansen B, Rolla G: Effects from pretreatment of stannous fluoride versus sodium fluoride on enamel exposed to 0.1 M or 0.01 M hydrochloric acid. *Acta Odontol Scand* 2004;62:278-81.
- Wong FSL, Winter GB: Effectiveness of microabrasion technique for improvement of dental aesthetics. *Br Dent J* 2002;193:155-8.

10 Anhang

10.1 Materialliste

- Mat. 1** 15'' Bildschirm; TravelMate 292LMi, Acer, Ahrensburg, Deutschland
- Mat. 2** Applikationsbrush; Ivoclar-Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein
- Mat. 3** Axioplan; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat. 4** AxioVision LE Software; Zeiss, München-Hallbergmoos, Deutschland
- Mat. 5** Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 6** Bügelmessschraube Digimatic; Mitutoyo, Kawasaki, Japan
- Mat. 7** CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan
- Mat. 8** Einwegskalpell; Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland
- Mat. 9** Excel 2007; Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleissheim, Deutschland
- Mat. 10** High Speed Holographic Film SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland
- Mat. 11** hochdisperses Silizumdioxid (Katalognr. 102520); Fagron, Barsbüttel, Deutschland
- Mat. 12** Ivomat IP3; Ivoclar Vivadent, Schaan AG, Lichtenstein
- Mat. 13** Klebeband Tesa extra power; Beiersdorf, Hamburg, Deutschland
- Mat. 14** konfokales Laser-Raster-Mikroskop (CLSM) TCS NT; Leica, Heidelberg, Deutschland
- Mat. 15** Kühlschrank; AEG ÖKO SANTO, Nürnberg, Deutschland
- Mat. 16** Meridol Sanft; GABA, Therwil, Schweiz
- Mat. 17** Nagellack; Maybelline New York, Jade, Paris, Frankreich
- Mat. 18** Natriumchloridlösung 0,9 %; Delta Select, Pufflingen, Deutschland
- Mat. 19** Objektträger; Diaplust, Oststeinbeck, Deutschland
- Mat. 20** Phosphorsäure; Total Etch[®] Ätzel, Ivoclar-Vivadent AG, Schaan, Lichtenstein
- Mat. 21** Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 22** Programm Transversal Micro Radiography; Version 2.0.27.2, Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande
- Mat. 23** Protesil DUR; Dentsply, Köln, Deutschland
- Mat. 24** Rhodaminisothiocyanat (RITC); Sigma Aldrich, Steinheim, Deutschland
- Mat. 25** Röntgenstrahlengenerators (PW 1730/10); Philips, Eindhoven, Niederlande
- Mat. 26** Salzsäure; Apotheke Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland

- Mat. 27** Schleifpapier; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 28** Schleifsystem Exakt 400cs; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 29** Sekundenkleber; Henkel, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 30** SPSS 11.5 für Windows; SPSS GmbH, München, Deutschland
- Mat. 31** Spurr Harz-Kitt; Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland
- Mat. 32** TMR Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland
- Mat. 33** Vakuumschweisgerät; Severin Folio, Sundern, Deutschland

10.2 Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn PD Dr. Hendrik Meyer-Lückel danke ich für die Überlassung des interessanten Themas und die hilfreiche Unterstützung zu jeder Zeit.

Bei Herrn Dr. Sebastian Paris bedanke ich mich für die engagierte Betreuung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Frau Anja Paris danke ich für die Mitarbeit während der praktischen Versuche.

Herrn Rainer Toll möchte ich für die Hilfestellung bei technischen Fragen danken.

Herrn Prof. Dr. Harald Stein (Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin) gilt mein Dank für die Möglichkeit der Nutzung des konfokalen Laser-Raster-Mikroskops.

Herrn Felix Teipel aus der Apotheke der Charité – Universitätsmedizin Berlin danke ich für die Herstellung der Salzsäuregele.

Darüber hinaus danke ich meiner Familie und meinen Freunden von ganzem Herzen für die Geduld, die sie in den Jahren des Studiums und der Erstellung dieser Arbeit aufgebracht haben.

Meiner Mutti und Hendrik danke ich ganz besonders dafür, dass sie an die Arbeit geglaubt und mich nicht ständig nach dem Fertigwerden gefragt haben.

10.3 Curriculum vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsverzeichnis

Abstracts

Meyer-Lückel, H., Paris, S., Heinrich, J., Kielbassa, A. M.:

Influence of acidic gels on the mineral content of initial enamel lesions.

Caries Res 39: p. 334 (Abstr. No. 139), 2005

Paris, S., Meyer-Lückel, H., Heinrich, J., Kielbassa, A. M.:

Infiltration of natural caries with an adhesive after etching with phosphoric and hydrochloric acid gel.

Caries Res 40: p. 316 (Abstr. No. 37), 2006

10.4 Publikationen der vorliegenden Arbeit

Wesentliche Teile dieser Dissertationsschrift wurden in folgenden Arbeiten publiziert:

Abstracts

Meyer-Lückel, H., Paris, S., Heinrich, J., Kielbassa, A. M.:

Influence of acidic gels on the mineral content of initial enamel lesions.

Caries Res 39: p. 334 (Abstr. No. 139), 2005

Paris, S., Meyer-Lückel, H., Bartels, A., Kielbassa, A. M.:

Erosion of the surface layer with hydrochloric and phosphoric acid gels.

Caries Res 39: p. 334 (Abstr. No. 138), 2005

Originalarbeit

Meyer-Lückel, H., Paris, S., Kielbassa, A. M.:

Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels.

Caries Res 2007;41:223-230

10.5 Erklärung

„Ich, Julia Meyer-Lückel erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss verschiedener Ätzgele auf die Erosion der Oberflächenschicht kariöser Läsionen *in vitro*“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Julia Meyer-Lückel