

Medizinische Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin  
Charité Centrum 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie

DISSERTATION

**Elution von Monomeren aus einem Infiltranten im Vergleich zu  
verschiedenen Dentalmaterialien *in vitro***

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae dentariae

vorgelegt von

Julia Gurle  
aus Bergen auf Rügen

Gutachter/in:      1. Priv.-Doz. Dr. H. Meyer-Lückel  
                          2. Prof. Dr. Dr. R. J. Radlanski  
                          3. Priv.-Doz. Dr. S. Rüttermann

Datum der Promotion: 24.02.2012

Meinen Eltern

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. <u>EINLEITUNG</u></b>	<b>7</b>
<b>2. <u>LITERATURÜBERSICHT</u></b>	<b>8</b>
<b>2.1. KARIES</b>	<b>8</b>
2.1.1. ÄTIOLOGIE	8
2.1.2. AUFBAU EINER SCHMELZKARIES	8
2.1.3. VERGLEICH VON HUMANEM UND BOVINEM ZAHNSCHMELZ	10
2.1.4. THERAPIEMÖGLICHKEITEN DER SCHMELZKARIES	11
<b>2.2. DENTALKUNSTSTOFFE</b>	<b>12</b>
2.2.1. WERKSTOFFKUNDE DER KOMPOSITE, ADHÄSIVSYSTEME, FISSURENVERSIEGLER UND DES INFILTRANTEN	12
2.2.2. EINFLUSSFAKTOREN AUF DEN MONOMERGEHALT NACH POLYMERISATION	16
2.2.3. EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE FREISETZUNG DES RESTMONOMERS	17
<b>2.3. BIOLOGISCHE VERTRÄGLICHKEIT VON KUNSTSTOFFMONOMEREN</b>	<b>18</b>
2.3.1. LOKALE GEWEBESCHÄDEN	18
2.3.2. AKUTE TOXIZITÄT	20
2.3.3. ZYTOTOXISCHE EFFEKTE	21
2.3.4. MODIFIZIERUNG DER PHASEN DES ZELLZYKLUS	22
2.3.5. ÖSTROGENE EFFEKTE	23
2.3.6. MUTAGENITÄT	23
2.3.7. ALLERGISCHE REAKTIONEN	25
<b>3. <u>FRAGESTELLUNG</u></b>	<b>26</b>
<b>4. <u>MATERIAL UND METHODE</u></b>	<b>27</b>
<b>4.1. MATERIALIEN</b>	<b>27</b>
<b>4.2. ALLGEMEINER VERSUCHSAUFBAU</b>	<b>27</b>
<b>4.3. HOCHLEISTUNGSFLÜSSIGKEITSCROMATOGRAPHIE [HIGH PERFORMANCE     LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)]</b>	<b>28</b>
<b>4.4. VORVERSUCHE</b>	<b>29</b>

4.4.1. BESTIMMUNG DES GEEIGNETEN LÖSUNGSMITTELS	29
4.4.2. FESTLEGUNG DER PARAMETER DER HPLC	30
4.4.3. BESTIMMUNG DER RETENTIONSZEITEN DER EINZELNEN INHALTSSTOFFE UND ERSTELLUNG DER EICHKURVEN ZUR KONZENTRATIONSBERECHNUNG	30
4.4.4. BESTIMMUNG DER ZEITINTERVALLE ZUR ERNEUERUNG DES ELUTIONSMEDIUMS	34
<b>4.5. PROBENHERSTELLUNG</b>	<b>35</b>
4.5.1. HERSTELLUNG UND VORBEREITUNG DER KUNSTSTOFFPROBEN	35
4.5.2. HERSTELLUNG UND VORBEREITUNG DER INFILTRIERTEN SCHMELZPROBEN	36
<b>4.6. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG UND KONZENTRATIONSBERECHNUNG</b>	<b>38</b>
<b>4.7. STATISTISCHE METHODEN</b>	<b>38</b>
<b><u>5. ERGEBNISSE</u></b>	<b><u>39</u></b>
<b>5.1. VORVERSUCHE</b>	<b>39</b>
<b>5.2. KUNSTSTOFFPROBEN</b>	<b>39</b>
<b>5.3. INFILTRIERTER SCHMELZPROBEN</b>	<b>43</b>
<b>5.4. GESAMTMONOMERKONZENTRATION</b>	<b>43</b>
<b><u>6. DISKUSSION</u></b>	<b><u>45</u></b>
<b>6.1. DISKUSSION VON MATERIAL UND METHODE</b>	<b>45</b>
6.1.1. KUNSTSTOFFE	45
6.1.2. HERSTELLUNGSMAßNAHMEN DER PROBEN	45
6.1.3. ERZEUGUNG KÜNSTLICHER KARIÖSER LÄSIONEN UND INFILTRATION	45
6.1.4. AUSWAHL DES GEEIGNETEN LÖSUNGSMITTELS	46
6.1.5. HPLC-MESSUNG	47
<b>6.2. DISKUSSION DER ERGEBNISSE</b>	<b>48</b>
6.2.1. DENTALKUNSTSTOFFE IM VERGLEICH ZUM INFILTRANTEN SOWIE ZU INFILTRIERTEN SCHMELZPROBEN	48
6.2.2. EINFLUSS DER OBERFLÄCHENPOLITUR AUF DIE MONOMERFREISETZUNG	48
6.2.3. FREISETZUNG DER MONOMERE IM ZEITLICHEN VERLAUF	49
6.2.4. VERGLEICH DER ERMITTELTEN ERGEBNISSE MIT TOXIKOLOGISCHEN DATEN AUS DER LITERATUR	50

<b><u>7.</u></b>	<b><u>SCHLUSSFOLGERUNG</u></b>	<b><u>54</u></b>
<b><u>8.</u></b>	<b><u>ZUSAMMENFASSUNG</u></b>	<b><u>55</u></b>
<b><u>9.</u></b>	<b><u>SUMMARY</u></b>	<b><u>56</u></b>
<b><u>10.</u></b>	<b><u>LITERATURVERZEICHNIS</u></b>	<b><u>57</u></b>
<b><u>11.</u></b>	<b><u>ANHANG</u></b>	<b><u>65</u></b>
<b>11.1.</b>	<b>MATERIALLISTE</b>	<b>65</b>
<b>11.2.</b>	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>68</b>
<b>11.3.</b>	<b>CURRICULUM VITAE</b>	<b>69</b>
<b>11.4.</b>	<b>PUBLIKATIONEN DER VORLIEGENDEN ARBEIT</b>	<b>70</b>
<b>11.5.</b>	<b>ERKLÄRUNG AN EIDES STATT</b>	<b>71</b>

## 1. Einleitung

Die dentale Karies beginnt mit der Demineralisierung der Zahnhartsubstanzen Schmelz und Dentin. Ursachen hierfür sind organische Säuren, die durch Bakterien in der Plaque produziert werden. In der Initialphase kommt es zu einem Herauslösen von Hydroxylapatitkristallen und einer Bildung von Mikroporositäten im Zahnhartgewebe (Kidd & Fejerskov 2004). Diese frühen Läsionen, die man auch als „white spots“ bezeichnet, werden zu 51 % auf natürlichem Wege durch die im Speichel vorhandenen Mineralien repariert. Durch die Applikation von Fluoriden und eine Verbesserung der Mundhygiene versucht man die Remineralisation zu fördern. Letztendlich muss bei einem Fortschreiten der Karies ein invasiver Eingriff stattfinden.

Ein neuer Therapieansatz zur Behandlung früher kariöser Läsionen besteht in der Infiltration der Mikroporositäten im demineralisierten Gewebe durch niedrig visköse Kunststoffe (Meyer-Lückel & Paris 2008b). Grundgedanke dieser Behandlungsmöglichkeit ist, dass bei ausreichender Penetrationstiefe die Porositäten und damit das Ausbreitungsgebiet der Karies verschlossen werden. Dadurch können Substrate nicht mehr zu den Bakterien vordringen. Zusätzlich wird durch die Abwesenheit von Sauerstoff ein völlig neues Milieu geschaffen. Erste klinische Studien konnten die Wirksamkeit der Kariesinfiltration hinsichtlich der Verhinderung einer weiteren Kariesprogression aufzeigen (Paris & Meyer-Lückel 2010a, Ekstrand et al. 2010).

Bisher ist nicht geklärt, welche Auswirkungen die verwendeten niedrig viskösen Kunststoffe (Infiltranten) auf andere Strukturen als die Zahnhartsubstanz haben. Der Infiltrant ist noch keiner Biokompatibilitätsprüfung unterzogen worden, so dass sich bislang keine Aussagen über die Effekte auf angrenzende Gewebe sowie auf den Gesamtorganismus treffen lassen.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Karies

#### 2.1.1. Ätiologie

Karies ist die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanzen. Die heute allgemein anerkannten Modelle zur Kariesentstehung gehen auf die chemoparasitäre Theorie von Miller (1898) zurück. Kariogene Mikroorganismen in der Plaque verstoffwechseln Substrate, insbesondere niedermolekulare Kohlenhydrate, zu organischen Säuren. Bei ausreichender Einwirkzeit der Säuren auf die Zahnhartsubstanzen kommt es zur Demineralisation. Neben den vier Hauptfaktoren (Wirt, Substrat, Plaque und Zeit) existieren mehrere sekundäre Faktoren wie Speichelfluss und -zusammensetzung, Immunabwehr, genetische, sozioökonomische und verhaltensbedingte Komponenten, die die Kariesentstehung sowie deren Ausbreitung begünstigen (Hellwig et al. 2006, Mount 2005).

Die Bildung der organischen Säuren bedingt ein Absinken des pH-Wertes in der Mundhöhle unter einen kritischen Wert, der für Zahnschmelz zwischen 5,2 und 5,7 liegt, sich bei Zement und Dentin aber bereits zwischen 6,2 und 6,7 befindet (Hicks et al. 2004). Daraus resultiert ein Verlust von Kalzium- und Phosphationen, die in den Speichel diffundieren. Die Übersättigung mit Kalzium- und Phosphationen am Rande der kariösen Läsion verursacht eine umgekehrte Ionenbewegung zurück in den oberflächlichen Schmelz mit anschließender Präzipitation der Mineralien. Dieser Prozess wird als Remineralisation bezeichnet (Hicks et al. 2004).

Durch den ständigen Wechsel von De- und Remineralisation entsteht ein dynamischer Prozess, der durch Phasen der Progression, Stagnation und Remission gekennzeichnet ist (Featherstone 2004).

#### 2.1.2. Aufbau einer Schmelzkaries

Die Kariesläsion ist ein Produkt aus De- und Remineralisationsprozessen an der Oberfläche des Zahnschmelzes, wobei der Mineralverlust überwiegt. Demineralisationsvorgänge führen bei anhaltenden kariogenen Bedingungen zu irregulären Oberflächendestruktionen mit Erweiterung der zwischenprismatischen Räume, die ideale Diffusionswege für Bakterien und die von ihnen produzierten Säuren darstellen.



Klinisch sind diese aktiven initialen Läsionen an weißlich opaken Veränderungen der Schmelzoberfläche erkennbar, die als „white spots“ bezeichnet werden (Kidd & Fejerskov 2004). Diese kreidig weiße Erscheinung des kariösen Zahnschmelzes besitzt im Vergleich zum gesunden Schmelz eine leicht aufgeraute Oberfläche, die jedoch nicht unterbrochen ist.

Initiale Defekte lassen sich in vier Schichten einteilen (Abb. 1), die sich jedoch in licht- und polarisationsmikroskopischen Untersuchungen an Schmelzdünnschliffen nie alle gleichzeitig erkennen lassen. Werden die Schliffe im Imbibitionsmedium Wasser eingelegt, lassen sich an der Oberfläche eine pseudointakte Schicht und direkt darunter ein Läsionskörper darstellen. Wenn als Imbibitionslösung eine ölige Flüssigkeit wie Chinolin Verwendung findet, ist eine transluzente Zone und darüber in Richtung des Läsionskörpers eine dunkle Zone nachweisbar (Kidd & Fejerskov 2004).

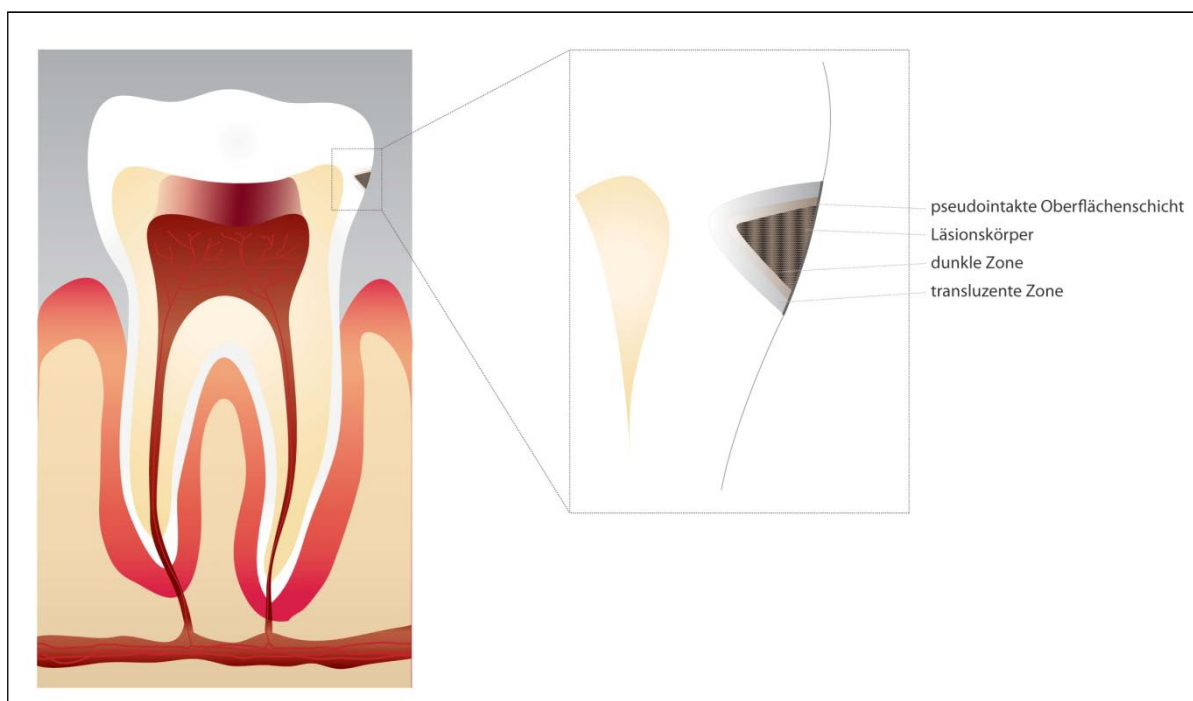


Abbildung 1: Schematische Darstellung einer Schmelzkaries

In der transluzenten Zone schreitet die Demineralisation fort, wodurch Poren im Schmelz entstehen. Die dunkle Zone besitzt durch Remineralisationsprozesse am Hydroxylapatit wesentlich kleinere Poren (Hellwig et al. 2006). Der Läsionskörper weist mit 10 bis 70 % den größten Mineralverlust auf (Arends & Christoffersen 1986), dagegen zeigt die pseudointakte Oberflächenschicht mit einem Mineralverlust von 1 bis 10 % eine geringere

Schädigung. Zusätzlich sind auch hier, ähnlich wie in der transluzenten Zone, die Apatitkristalle durch Präzipitationsvorgänge an der Oberfläche vergrößert (Arends & Christoffersen 1986).

In Tabelle 1 ist das Porenvolumen als Ausdruck für den Verlust an Hydroxylapatitkristallen für die verschiedenen Zonen dargestellt.

Tabelle 1: Porenvolumen der einzelnen Schichten der Schmelzkaries (Hellwig et al. 2006, Arends & Christoffersen 1986)

Zone	Porenvolumen
Transluzente Zone	ca. 1 %
Dunkle Zone	2 bis 4 %
Läsionskörper	5 bis 25 %
Pseudointakte Oberflächenschicht	1 bis 10 %

### 2.1.3. Vergleich von humanem und bovinem Zahnschmelz

Humaner und boviner Zahnschmelz sind hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung und Dichte gut miteinander vergleichbar (Gente et al. 1985, Esser et al. 1998). Beide weisen eine weitgehende Übereinstimmung der chemischen Hauptbestandteile auf (Tab. 2). Weiterhin besitzen beide eine ähnliche Mikrostruktur. Rinderschmelz ist geringfügig weicher und poröser, wodurch eine schnellere Ausbildung und Ausbreitung der Karies aufgrund von breiteren Diffusionswegen verursacht wird (Flim et al. 1977). Zusätzlich wird das Voranschreiten der Karies im bovinen Schmelz durch einen geringeren Fluoridgehalt von 30 ppm im Vergleich zum humanen Zahnschmelz (280 ppm) begünstigt.

Tabelle 2: Chemische Zusammensetzung von bovinem und humanem Zahnschmelz (Esser et al. 1998)

Chemischer Bestandteil	Boviner Zahnschmelz	Humaner Zahnschmelz
Calcium	31 %	35 %
Phosphat	16 %	17 %
Magnesium	0,4 %	0,2 %

#### 2.1.4. Therapiemöglichkeiten der Schmelzkaries

Die klassische Einteilung der Therapieoptionen gliedert sich in nicht-invasive und invasive Maßnahmen. Ist die Oberfläche der kariösen Läsion noch nicht eingebrochen können nicht-invasive Therapiemöglichkeiten angewendet werden. Dazu zählen unter anderem das Auftragen chlorhexidinhaltiger Lacke zur Keimreduktion in der Mundhöhle sowie eine regelmäßige Fluoridierung (Featherstone 2004). Weiterhin beeinflussen die Verbesserung der Mundhygiene sowie eine Ernährungslenkung das kariogene Milieu positiv und können teilweise zu einer Arretierung bereits bestehender kariöser Läsionen führen.

Bei invasiven Maßnahmen wird die kariöse Zahnhartsubstanz entfernt und durch ein Füllungsmaterial ersetzt. Diese ist vor allem bei bereits eingebrochenen Schmelzoberflächen, fehlender Compliance des Patienten oder bereits bei nicht kavitierten Läsionen bei sehr hoher Kariesaktivität indiziert (Hellwig et al. 2006). In schlecht zugänglichen Bereichen muss hierbei häufig ein großer Teil gesunder Zahnhartsubstanz geopfert werden.

Seit längerem wird die Wirksamkeit der Versiegelung der approximaler Schmelzkaries untersucht, die klinisch gute Ergebnisse erzielt hat (Gomez et al. 2005, Martignon et al. 2006). An Approximalflächen ist diese mikro-invasive Therapie nachteilig, da eine zusätzliche Schicht nur schwierig zu etablieren ist und auch die Beständigkeit über längere Zeiträume schwierig kontrollierbar ist.

Bei der Kariesversiegelung wurde beobachtet, dass eine Penetration dünnfließender Adhäsive und Versieglermaterialien in die Porositäten der kariösen Zahnhartsubstanz erfolgt (Robinson et al. 2001, Gray & Shellis 2002). Gleichzeitig konnte in diesen Studien festgestellt werden, dass nur ein verhältnismäßig oberflächlicher Anteil der Schmelzkaries durch das verwendete Adhäsivsystem penetriert wurde, der Hauptanteil jedoch eine

Schicht auf der Läsion im Sinne einer Fissurenversiegelung bildete. Diese Schicht könnte in approximalen Regionen zu Irritationen des angrenzenden Parodonts führen.

Das Prinzip der Penetration der Läsion wurde in der neuartigen Therapievariante der Kariesinfiltration genutzt, wobei durch einen sehr niedrig viskösen Kunststoff die Poren der kariösen Läsion verschlossen werden (Meyer-Lückel & Paris 2008b). Durch die Obturation dieser Porositäten werden die Diffusionswege der bakteriellen Säuren behindert, wodurch ein weiteres Voranschreiten der Demineralisation vermieden wird. Herkömmliche Adhäsivsysteme haben schlechte Penetrationseigenschaften in natürlichen Kariesläsionen (Davila et al. 1975), so dass ein ungefüllter Kunststoff mit verbesserten Eigenschaften entwickelt wurde, der Infiltrant (Meyer-Lückel et al. 2005, Meyer-Lückel & Paris 2008a). Gleichzeitig bewirkt der in der Läsion ausgehärtete Infiltrant eine mechanische Stabilisierung des Zahnschmelzes. Aufgrund der fehlenden oberflächlichen Versiegelschicht ist zusätzlich die Gefahr einer Sekundärkaries durch teilweisen Verlust dieser Schicht minimiert.

## **2.2. Dentalkunststoffe**

### **2.2.1. Werkstoffkunde der Komposite, Adhäsivsysteme, Fissurenversiegler und des Infiltranten**

Moderne zahnärztliche Kunststofffüllungsmaterialien bestehen aus drei Hauptbestandteilen, der organischen Matrix (Monomere), der dispersen Phase (Füllkörper) und der Verbundphase (Bowen 1979). Zusätzliche Komponenten dienen dazu, die Materialeigenschaften zu verbessern, die Monomer-Polymer-Konversion chemisch oder photochemisch zu starten sowie Stabilität und Farbechtheit der Werkstoffe zu garantieren.

Fließfähige Komposite und Fissurenversiegler besitzen einen geringeren Füllstoffgehalt, während Adhäsive meist ungefüllt sind und aus fließfähigeren Monomeren bestehen. Der Infiltrant enthält zu über 95 % ein relativ niedrig visköses Monomer (Paris et al. 2007a).

Die organische Matrix besteht aus hochmolekularen Monomeren, wobei es sich fast ausschließlich um Dimethacrylate handelt. Es werden überwiegend das Bisphenol A-Glycidylmethacrylat (BisGMA) und das Urethandimethacrylat (UDMA) genutzt (Abb. 2), aber auch andere Dimethacrylate finden Verwendung (Bowen 1979, Hellwig et al. 2003, Hervás García et al. 2006).

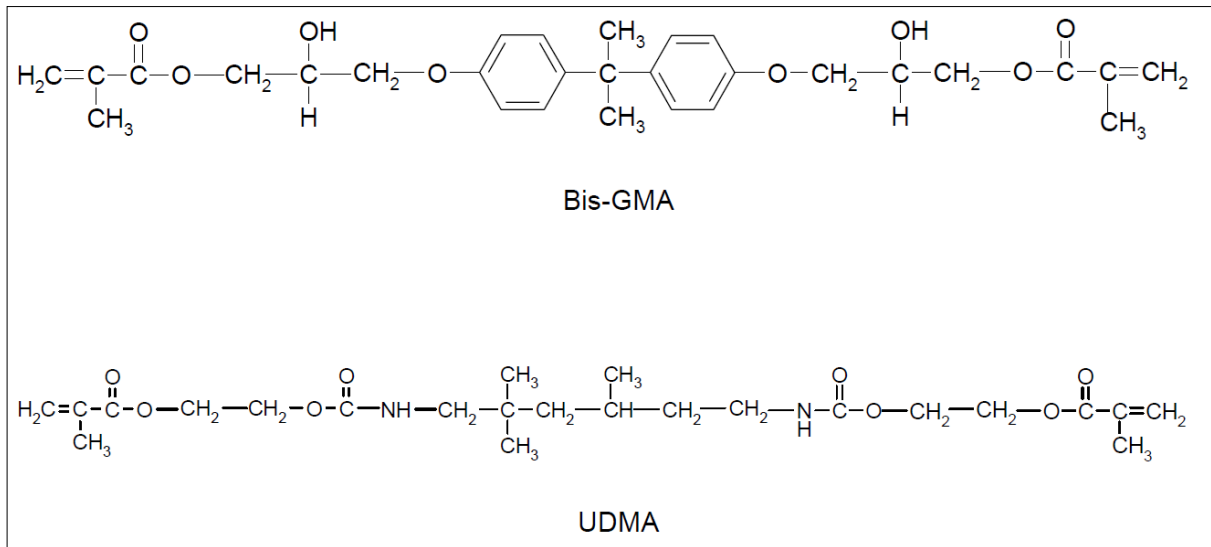


Abbildung 2: Chemische Formeln häufig verwendeter Matrixmonomere

Die funktionellen Gruppen der Matrixmonomere bestimmen entscheidend die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Werkstoffes. So verursacht beispielsweise eine Vielzahl von Hydroxylgruppen eine erhöhte Hydrophilie und damit eine gesteigerte Wasseraufnahme des Kunststoffes (Hellwig et al. 2003). Bei einem hohen Molekulargewicht der Monomere ist mit einer geringen Polymerisationsschrumpfung, gleichzeitig aber auch mit einer erhöhten Viskosität des Dentalkunststoffes zu rechnen (Bowen, 1979, Brauer et al. 1981).

Um die Fließfähigkeit des Materials zu verbessern, werden den Matrixmonomeren BisGMA und UDMA niedermolekulare Verdünner, sogenannte Komonomere, zugesetzt. Dadurch lassen sich die Füllungswerkstoffe klinisch besser verarbeiten. Außerdem kann der Anteil an Füllstoffen der dispersen Phase erhöht werden. Die am häufigsten verwendeten Komonomere sind Triethylenglycoldimethacrylat (TEGDMA) und Hydroxyethylmethacrylat (HEMA) (Abb. 3). Diese polymerisieren mit den Monomeren der organischen Matrix und werden so in den Kunststoff eingebaut (Bowen, 1979).

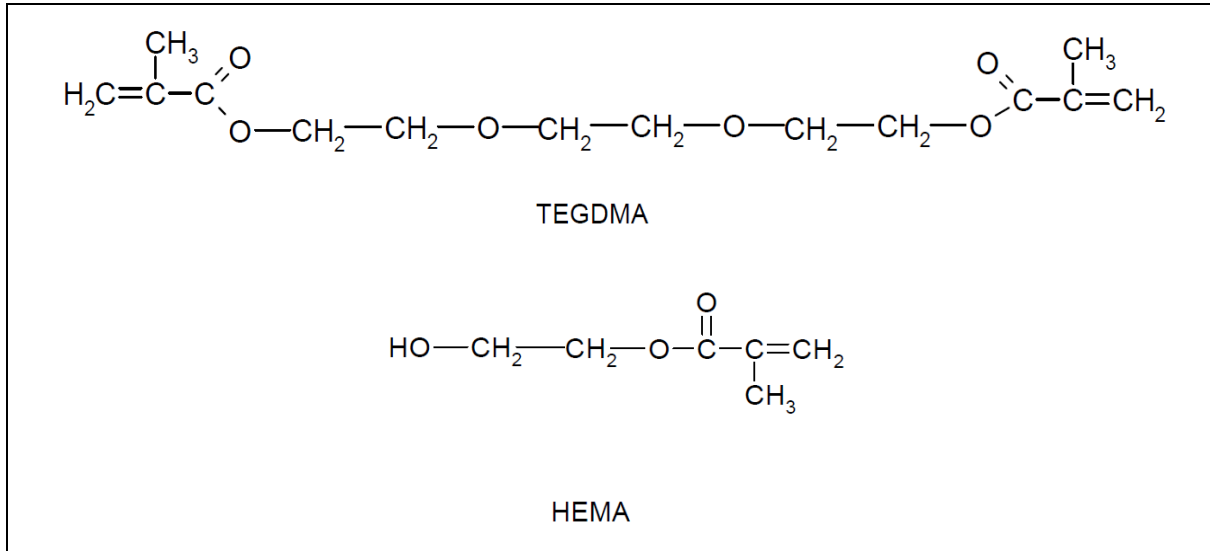


Abbildung 3: Chemische Verbindung häufig verwendeter Komonomere

Das Mengenverhältnis der Verdünner zu den Matrixmonomeren bestimmt ausschlaggebend die Materialeigenschaften. Wird das Komonomer im Überschuss zugegeben, verringert sich die Viskosität und damit auch die Monomer-Polymer-Konversion, was eine erhöhte Polymerisationsschrumpfung verursacht und in der Folge zu Randspaltbildung und verschlechterten Materialeigenschaften führt (Brauer et al. 1981, Rueggeberg & Tamareselvy 1995).

Die Vernetzung der Monomere kann chemisch oder photochemisch ausgelöst werden. Bei einem chemisch härtenden Kunststoff wird die radikalische Kettenpolymerisation der Basismonomere und Komonomere durch einen Initiator gestartet (Tab. 3). Für photopolymerisierende Werkstoffe übernehmen UVA-Strahlung und sichtbares Licht im blauen Bereich die Erzeugung der notwendigen freien Radikale (Bowen 1979, Hervás García et al. 2006).

Zusätzlich beinhalten Dentalkunststoffe Stabilisatoren, die mit vorzeitig entstehenden Radikalen der Monomere reagieren und so die frühzeitige Polymerisation verhindern und die Lagerstabilität garantieren (Bowen 1979) (Tab. 3). Als Inhibitoren bei Autopolymerisaten werden Substanzen genutzt, die schon in geringer Konzentration die spontane Polymerisation der Dimethacrylate bei Anwesenheit von Sauerstoff verhindern. Als UV-Stabilisatoren werden Verbindungen verwendet, die aromatische Ringe oder viele Doppelbindungen enthalten, wodurch reaktive Strahlung absorbiert wird (Bowen 1979, Hervás García et al. 2006). Weiterhin werden organische und anorganische Farbpigmente

und weitere Additiva wie Weichmacher, Lichtschutzmittel und optische Aufheller zugesetzt.

Tabelle 3: Typische Bestandteile eines Kunststoffrestaurationmaterials

Bestandteile	Chemische Verbindungen
Basismonomere	Bisphenol A-Glycidylmethacrylat (BisGMA) Urethandimethacrylat (UDMA)
Komonomere	Hydroxyethylmethacrylat (HEMA) Triethylenglycoldimethacrylat (TEGDMA)
Initiator (Autopolymerisat)	Dibenzoylperoxid (DBP)
Initiator (Photopolymerisat)	Kampferchinon
Inhibitor (Autopolymerisat)	Hydrochinon
Inhibitor (Photopolymerisat)	Hydroxytoluol
Additive	Eisenoxide
Füllstoffe	Quarz, Glaskeramik, Silikate
Haftvermittler	Methacryloxypropyltrimethoxysilan (MPTMS)

Um die physikalischen und mechanischen Eigenschaften der Kunststoffmatrix zu verbessern, werden zahnärztlichen Werkstoffen anorganische Füllstoffe zugesetzt (Bowen 1979). Diese Komponente wird als disperse Phase bezeichnet. Dadurch werden Polymerisationsschrumpfung, Verschleiß und Wasseraufnahme verringert sowie Druck- und Zugfestigkeit verbessert. Die Füllstoffe der dispersen Phase unterscheiden sich nach Form und Größe, chemischer Zusammensetzung sowie Oberflächenbeschaffenheit. Es werden vor allem Silikate als Splitter oder Kugeln, Glaskeramiken und Metalloxide zugefügt. Man differenziert heute zwischen Makrofüller-, Mikrofüller- und Hybridkompositen (Santerre et al. 2001, Hervás García et al. 2006).

Die vorteilhaften mechanischen Eigenschaften von gefüllten Kompositen basieren auf einer möglichst vollständigen und dauerhaften chemischen Verbindung zwischen der organischen Matrix und der dispersen Phase. Als Verbundphase werden trifunktionale Alkoxysilane eingesetzt (Bowen, 1979). Die Siliziumhydroxid-Gruppen stellen die

Verbindung zur Füllstoffoberfläche her, die ungesättigten Methacrylgruppen polymerisieren mit den Basismonomeren und Komonomeren (Hervás García et al. 2006).

### **2.2.2. Einflussfaktoren auf den Monomergehalt nach Polymerisation**

In einer radikalischen Reaktion verbinden sich die Methacrylgruppen der Monomere miteinander. Jedoch wird die Polymerisation zahnärztlicher Komposite nie vollständig erreicht, so dass ein bestimmter Anteil an Restmonomeren in der chemischen Verbindung zurückbleibt. Der Grad der Umsetzung wird als Konversionsrate bezeichnet und liegt durchschnittlich bei etwa 70 % (Spannweite 38-75 %) (Antonucci & Toth 1983, Chung & Greener 1990).

In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, dass die Konzentration der Monomere von verschiedenen Faktoren abhängig ist. Zum einen ist die Zusammensetzung des Kunststoffes von entscheidender Bedeutung, denn höher molekulare Basismonomere wie BisGMA sind schwerfälliger und bilden weniger vernetzende Verbindungen als kleinere Moleküle wie beispielsweise TEGDMA (Ruyter & Oysaed 1987, Santerre et al. 2001, Gonçalves et al. 2009). Bei einem starken Überschuss an TEGDMA steigt der Gehalt an verbliebenen Monomeren jedoch wieder rasch an (Rueggeberg & Tamareselvy 1995). Auch die Art der Füllkörper übt Einfluss auf die Polymerisation aus. Mit dem Lichtstreuungseffekt der sehr kleinen Füllkörper in Mikrofüllerkomposites ist eine erhöhte Absorption verbunden, woraus im Vergleich zu konventionellen Kunststoffen ein geringerer Grad der Umsetzung resultiert (Hellwig et al. 2003). Weiterhin ist die Konversionsrate auch von der Art der Initiierung der Polymerisation beeinflusst. Bei photochemisch aktivierten Werkstoffen erreicht die Umsetzung die höchsten Werte, gefolgt von dualhärtenden Kunststoffen. Die schlechtesten Ergebnisse erzielten die reinen Autopolymerisate (Cekic-Nagas et al. 2008, Polydorou et al. 2009).

Lichthärtende Kunststoffe sind im Vergleich zu chemisch aktivierten von einer Reihe weiteren Einflussfaktoren abhängig (Tab. 4).



Tabelle 4: Einflussfaktoren auf die Polymerisation photochemisch aktivierter Dentalkunststoffe

Faktor	Art der Beeinflussung
Zeit der Lichtzufuhr	Je länger der Kunststoff gehärtet wird, desto höher ist die Umsetzungsrate. Ab etwa 40 s ist keine erhebliche Steigerung der Konversion möglich (Hervás García et al. 2006).
Kunststoffdicke	Je dicker die Kunststoffschicht, desto geringer ist die Konversionsrate. Eine Schichtdicke von 2 bis 3 mm sollte nicht überschritten werden (Santerre et al. 2001).
Distanz zwischen Kunststoff und Lichtquelle	Je größer der Abstand der Lichtquelle vom Komposit, desto geringer ist der Grad der Umsetzung. Die Distanz sollte maximal 3 mm betragen (Rode et al. 2007, Fróes-Salgado et al. 2009).
Art der Lichtquelle	Halogenlampen decken ein breiteres Wellenlängenspektrum ab als LED-Lampen und erreichen dadurch eine höhere Konversionsrate (Hellwig et al. 2003).
Farbe des Kunststoffes	Je dunkler die Farbe eines Komposits, desto langsamer erfolgt die Polymerisation (Hervás García et al. 2006).

### 2.2.3. Einflussfaktoren auf die Freisetzung des Restmonomers

Jeder Kunststoff enthält nach der Polymerisation einen unterschiedlich hohen Anteil an Monomeren und kurzkettigen Polymeren, die sich ungebunden im ausgehärteten Werkstoff befinden. Diese Restmonomere können in der Mundhöhle durch den Speichel ausgelaugt werden. Damit beeinträchtigen sie einerseits die Stabilität des Kunststoffes und können zusätzlich unerwünschte Reaktionen verursachen.

In Studien über heutzutage gebräuchliche Komposite wurden vor allem BisGMA, TEGDMA, UDMA und HEMA als eluierbare Bestandteile der Kunststoffe nachgewiesen (Yap et al. 2004, Spahl et al. 1998, Nathanson et al. 1997). Innerhalb der ersten 24 Stunden wird der größte Teil freigesetzt, so dass in destilliertem Wasser 1,5 %, in einem Wasser-Ethanol-Gemisch 2 % der freien Monomere extrahiert werden konnten (Ferracane 1994). Neben den Monomeren können aber auch alle anderen Inhaltstoffe, die innerhalb des Werkstoffes ungebunden vorliegen, in das Lösungsmedium diffundieren (Geurtsen 2000, Spahl et al. 1991). Die Freisetzung ist hier vor allem von der Konversionsrate abhängig (Goldberg 2008). Das Auslaugen der Restmonomere verläuft nicht linear, so dass im Laufe der Zeit der Anteil an freien Kunststoffbestandteilen und damit auch der im Lösungsmittel

nachweisbare Monomergehalt abnimmt. Nach sieben Tagen sind kaum noch eluierte Monomere zu verzeichnen. Basismonomere und andere Inhaltstoffe werden im weiteren zeitlichen Verlauf vor allem durch Erosion und Degradationsprozesse frei und an den Speichel abgegeben (Goldberg 2008, Hume & Gerzina 1996, Ferracane & Condon 1990). Die Biodegradation beinhaltet den abrasiven Verlust sowie den enzymatischen Abbau der Dimethacrylatpolymere an der Oberfläche der Materialien. Dabei wird Methacrylsäure freigesetzt, wodurch eine verringerte Oberflächenhärte des Werkstoffes verursacht wird (Geurtsen 2000, Munksgaard & Freund 1990; Koda et al. 1990, Freund & Munksgaard 1990).

Organische Lösungsmittel wie Ethanol oder Chloroform können die organische Matrix des Kunststoffes leichter durchdringen als Wasser, wodurch die Konzentration an gelösten Monomeren ansteigt (Lee et al. 1995, Ferracane 1994). Nach sieben Tagen konnten bis zu 11 % der extrahierbaren Bestandteile diffundieren (Rathbun et al. 1991). In weiteren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass auch durch Speichel Kunststoffmonomere freigesetzt werden (Olea et al. 1996, Baker et al. 1988).

### **2.3. Biologische Verträglichkeit von Kunststoffmonomeren**

Die Biokompatibilität von Kunststoffrestaurationen lässt sich auf systemische und lokale Nebenwirkungen beziehen.

Zu den lokalen Geweben, die geschädigt werden können, gehören Pulpa, Gingiva sowie Mundschleimhaut. Bei den systemischen Unverträglichkeiten lassen sich akute Toxizität, zelluläre Toxizität, Veränderung von Zellzyklus und Genexpression sowie östrogene Effekte und allergische Reaktionen beobachten.

#### **2.3.1. Lokale Gewebeschäden**

Der häufigste lokale Gewebeschaden ist eine entzündliche Reaktion. Eine Entzündung ist eine charakteristische Antwort des Organismus auf einen äußeren oder inneren potenziell schädigenden Reiz mit dem Ziel, diesen Reiz zu beseitigen, seine Ausbreitung einzuschränken und gegebenenfalls eingetretene Schäden zu reparieren. Ursachen für lokale Mundschleimhautentzündungen sind beispielsweise die Wärmeentwicklung bei der Polymerisation der Komposite sowie das Auftragen von Adhäsivsystemen mit einem pH-

Wert von 5 oder niedriger (Hellwig et al. 2006). Außerdem sind einige Kompositbestandteile verantwortlich für eine verstärkte Bakterienadhäsion. Dabei könnte die Ablagerung bakterieller Plaque auf Oberflächen von Kompositrestaurationen zu einem erhöhten Entzündungsgrad der Gingiva führen, wenn die Mundhygiene nicht adäquat betrieben wird (Schmalz 1998). Zusätzlich werden Dentalkunststoffe auch in Zusammenhang mit lichenoiden Reaktionen gebracht (Lind 1988).

Ferner werden Bestandteile wirksam, die unmittelbar nach der Polymerisation aus dem Kunststoff freigesetzt oder „ausgelaugt“ werden (Schmalz 1998, Wataha et al. 1999). Untersuchungen möglicher toxischer Effekte von Kompositen und deren Monomeren auf die menschliche Gingiva sowie Mundschleimhaut wurden *in vivo* vor allem als Implantationsversuche, meist an Ratten oder Kaninchen, durchgeführt. Leicht bis mäßige toxische Reaktionen wurden bei der subkutanen, intramuskulären sowie intraossären Implantation von Kompositwerkstoffen nach unterschiedlichen Liegezeiten festgestellt (Mjör et al. 1977, Schmalz & Schmalz 1981). Je länger sich die Kunststoffe im Gewebe befanden, desto geringer wurden die toxischen Effekte auf die umgebenden Strukturen. Allerdings konnten bei einer Liegezeit von länger als vier Wochen chronische Entzündungen des Gewebes beobachtet werden (Wennberg et al. 1983).

Zusätzlich zur Dauer der Exposition wird die Toxizität eines Werkstoffes vor allem durch die Umsetzungsrate von Monomeren in Polymere bestimmt. Je geringer die Konversionsrate ist, also je mehr Restmonomere im ausgehärteten Kunststoff vorhanden sind, desto stärker fällt die toxische Reaktion aus (Caughman et al. 1991). Weiterhin wurde belegt, dass die Zusammensetzung des Kunststoffes eine entscheidende Rolle spielt und dass bestimmte Substanzen (HEMA, TEGDMA, BisGMA) ein höheres toxisches Potential besitzen als andere Monomere (Lefevre et al. 1991, Hellwig et al. 2006). Jedoch konnte nachgewiesen werden, dass der Füllstoffgehalt eines Dentalkunststoffes nur geringe Effekte auf seine biologische Verträglichkeit besitzt (Caughmen et al. 1991).

Neben den Auswirkungen auf Gingiva und Mundschleimhaut wurden auch Pulpreaktionen beschrieben. Die toxischen Effekte reichen von nur leichten, reversiblen bis hin zu schweren Gewebeschäden und sind von den verwendeten Materialien abhängig. Die Säurewirkung während des Ätzens des Dentins, die Bakterieninvasion in einen Randspalte zwischen Dentin und Kompositfüllung, ausgelöst durch die Polymerisationsschrumpfung, sowie die Diffusion von Kunststoffmonomeren durch das verbliebene Restdentin in die Pulpa sind mögliche Ursachen für die Gewebeschäden (Guertzen 2000). Bei diesen Pulpastudien wurde ähnlich wie bei den

Implantationsversuchen festgestellt, dass die toxischen Effekte mit zunehmender Liegedauer abnehmen. Bereits nach 24 Stunden sind mehr pulpaschädigende Komponenten chemisch gebunden als nach kürzeren Liegezeiten (Schmalz 1998, Mjör et al. 1977, Wennberg et al. 1983). Ausgeprägte Schäden der Pulpa treten als Folge einer erhöhten Diffusionsrate der Kunststoffmonomere häufig auf, wenn die Restdentindicke über dem Pulpenkavum weniger als 1 mm beträgt (Bouillaguet et al. 1996).

Mit derartigen toxischen Reaktionen der Pulpa ist bei Anwendung des Infiltranten voraussichtlich nicht zu rechnen, da die Kariesinfiltration bei Schmelzläsionen durchgeführt wird und der Kontakt zum pulpanahen Dentin dadurch nicht gegeben ist.

### 2.3.2. Akute Toxizität

In den Literaturdatenbanken sind nur wenige Angaben über die akute Toxizität von Dentalkunststoffen zu finden. In Untersuchungen wurde die mittlere Letaldosis (LD50) verschiedener Kompositbestandteile in Tierversuchen an Ratten, Mäusen und Kaninchen ermittelt (Schmalz 1997). Die LD50 ist die Dosis, bei der 50 % der Versuchstiere nach oraler Aufnahme sterben. Die Angabe erfolgt in Masse der Prüfsubstanz bezogen auf die Masse des Versuchstieres in mg/kg Körpergewicht.

Tabelle 5: LD50 häufig verwendeter Kunststoffbestandteile sowie von Nikotin

Chemische Verbindung	LD50
Methylmethacrylat (MMA)	7872 mg/kg
Hydroxyethylmethacrylat (HEMA)	5900 mg/kg
Glycidylmethacrylat (GMA)	597 mg/kg
Triethylenglycoldimethacrylat (TEGDMA)	10837 mg/kg
Bisphenol A-Glycidylmethacrylat (BisGMA)	>5000 mg/kg
Urethandimethacrylat (UDMA)	>5000 mg/kg
Nikotin	1 mg/kg

Die Werte für in Adhäsivsystemen, Fissurenversiegeln und Kompositen häufig verwendete Monomere und Komonomere sind in Tabelle 5 dargestellt. Für ein besseres Verständnis der aufgeführten Ergebnisse und zur Vergleichsmöglichkeit ist auch der LD50

für Nikotin aufgenommen. Bei der Insertion von Dentalkunststoffen besteht keine Gefahr einer akuten Toxizität, da nachgewiesen werden konnte, dass die Konzentrationen der freigesetzten Monomere weit unter den ermittelten Werten der LD50 liegen (Hume & Gerzina 1996).

### **2.3.3. Zytotoxische Effekte**

Kunststoffmonomere können zytotoxische Wirkung auf verschiedenen Wegen entfalten. In bisher durchgeführten Studien wurden vor allem die Monomere HEMA und TEGDMA untersucht, da sie aufgrund ihres geringen Molekulargewichtes und ihrer relativ hohen Hydrophilie in wesentlich höheren Konzentrationen aus den Kunststoffen eluiert werden können als andere Bestandteile.

Das verhältnismäßig lipophile TEGDMA kann mit den Liposomen der Lipiddoppelschicht von Zellmembranen wechselwirken und aufgrund dieser Fähigkeit in alle Zellkompartimente einschließlich des Zellkerns eindringen, um dort seine biologischen Wirkungen zu entfalten (Guertsen 2000, Guertsen & Leyhausen 2001). Es konnte nachgewiesen werden, dass ein direkter Kontakt von TEGDMA und HEMA zu einer Steigerung der Synthese von Entzündungsmediatoren wie Interleukin 1 und 6 sowie zu einer verringerten Sekretion des Tumornekrosefaktors  $\alpha$  um 40 bis 70 % führt (Hellwig et al. 2006, Noda et al. 2003).

Die Induktion von Apoptose und Nekrose in Zellkulturen durch verschiedene Monomere wurde bei variierenden Konzentrationen nachgewiesen. Der gesteuerte Zelltod durch Apoptose ist abzugrenzen von der Nekrose, die durch Zerstörung der Zellmembran und Freisetzung von Zellorganellen und Zytoplasma als passiver Vorgang gekennzeichnet ist. Autopolymerisate rufen eine höhere Apoptose- und Nekroserate hervor als lichtinduziert härtende Kunststoffe (Cimpan et al. 2000, Janke et al. 2003). Weitere Untersuchungen belegen, dass die Beeinflussung verschiedener zellulärer Signalwege für die Einleitung der Apoptose verantwortlich ist. Ab einer Konzentration von 0,5 mMol/l TEGDMA und einer Expositionszeit von 24 h erfolgt in pulpalen Zellen eine Inhibierung der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3-Kinase), was zu einer erhöhten Anzahl apoptotischer Zellen führt (Spagnuolo et al. 2004). Bei der gleichen Expositionszeit und einer TEGDMA-Konzentration von 2 mMol/l steigt die Anzahl nekrotischer Zellen an, bei 3 mMol/l sind 40 % der Zelltode durch Nekrose hervorgerufen. Es wird weiterhin eine Phosphorylierung spezifischer Enzyme durch das Monomer ausgelöst, was wiederum in einer gesteigerten Apoptoserate endet (Samuelsen et al. 2006). Zusätzlich lässt sich eine

Hemmung der Proliferation von gingivalen Fibroblasten sowie Keratinozyten bei direktem Kontakt mit BisGMA und TEGDMA beobachten (Theilig et al. 2000).

Eine weitere Möglichkeit zur Beschreibung der Zytotoxizität von Kunststoffmonomeren ist die Reduktion der intrazellulären Glutathionkonzentration sowie die Entstehung reaktiver Sauerstoffverbindungen (Stanislawski et al. 2003, Spagnuolo et al. 2006, Volk et al. 2006). Glutathion ist für das Neutralisieren reaktiver Sauerstoffverbindungen verantwortlich und somit ein wichtiger zellulärer Schutzmechanismus. Schon bei geringen TEGDMA- (0,33 mMol/l), HEMA- (1,6 mMol/l), und UDMA-Konzentrationen (0,1 mMol/l) und einer Expositionszeit von 12 h ist mit einer Verringerung des Glutathiongehaltes um 30 bis 50 % zu rechnen (Engelmann et al. 2002 und 2004).

#### 2.3.4. Modifizierung der Phasen des Zellzyklus

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie wird die Beeinflussung der verschiedenen Phasen des Zellzyklus analysiert (Abb. 4).

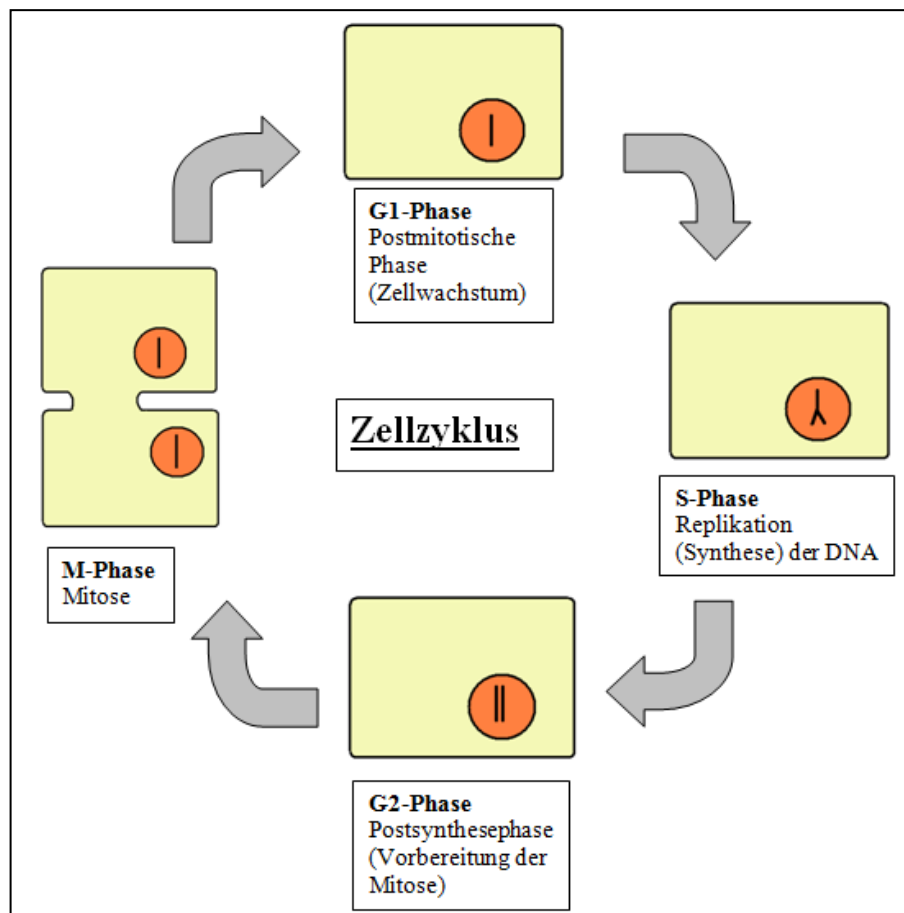


Abbildung 4: Zellzyklus

Die Wirkung toxischer und subtoxischer Konzentrationen der Komonomere HEMA und TEGDMA sowie des Basismonomers UDMA wurden bei einer Expositionszeit von 24 h in humanen Fibroblasten sowie Pulpazellen studiert (Schweikl et al. 2005 und 2006, Nasseri et al. 1995). Die Störungen des Zellzyklus äußern sich in einer Akkumulation von Zellen in der G2-Phase, die nicht ins nächste Stadium übergehen können. 10 bis 20 % der Pulpazellen werden bei Kontakt zu HEMA, TEGDMA oder UDMA in der G1-Phase angehalten. Bei sehr geringen Konzentrationen der Monomere konnte kein Stillstand des Zellzyklus beobachtet werden, jedoch waren die Übergänge von einer Phase in die darauf folgende signifikant verlangsamt. Als Folgen der Blockade des Zellzyklus resultieren eine Reduktion der Proliferation der Zellkulturen, die Hemmung der Differenzierung pulpaler Zellen sowie ein vermindertes Zellwachstum.

### **2.3.5. Östrogene Effekte**

Substanzen aus der Umwelt, die östrogene Effekte entfalten können, werden als Xeno-Östrogene bezeichnet. Ihre Wirkungsweise basiert auf der Konkurrenz mit dem natürlichen Hormon Östrogen um die Bindungsstellen am Östrogenrezeptor (Schafer et al. 1999). Diese Stoffe können folglich die Fruchtbarkeit beeinflussen und zu Fehlfunktionen der Geschlechtsorgane führen.

Bisphenol A (BPA), welches in zahnärztlichen Kompositen im häufig verwendeten Basismonomer BisGMA enthalten ist, ist ein Xeno-Östrogen (Feldman & Krishnan 1995). In einer klinischen Studie wurden die Konzentrationen von BPA und BisGMA im Patientenspeichel eine Stunde nach Therapie mit einem BisGMA-basierten Fissurenversiegler bestimmt. Unter pH-neutralen Bedingungen, wie diese im Speichel gewöhnlich vorliegen, konnte keine östrogene Wirkung nachgewiesen werden, jedoch erfolgte im sauren und alkalischen Bereich eine vermehrte Hydrolyse des BisGMA, so dass eine gesteigerte Proliferation der östrogensensitiven Zellen die Folge war. Die Konzentrationen erreichten Werte, die *in vitro* eine ähnliche Stimulation wie das natürliche Östrogen bewirkten. Für BPA lag die hierbei ermittelte Konzentration bei 7-10 Mol/l, für BisGMA bei 6-10 Mol/l (Olea et al. 1996).

### **2.3.6. Mutagenität**

Mutagenität bezeichnet die Eigenschaft bestimmter Chemikalien oder energiereicher Strahlung, Veränderungen am Erbgut hervorzurufen. Man unterscheidet Mutationen an Körperzellen, die Ursache für maligne Erkrankungen sein können und Mutationen an

Keimzellen, die sich auf die Nachkommen vererben können. Zahnärztliche Kunststofffüllmaterialien wurden bislang mit verschiedenen Testverfahren geprüft, die sich in prokaryotische und eukaryotische Versuche unterteilen lassen. Der Ames Test und der neuere Umu Test sind die wichtigsten bakteriellen Untersuchungsverfahren, wohingegen zu den eukaryotischen Experimenten der Chromosomenaberrationstest, der Genmutationstest (V79) und der DNA-Synthese-Inhibitionstest (DIT) gehören (Guertzen 2000).

Bei Untersuchungen zur Mutagenität von Bondingsystemen stellte sich heraus, dass einige Adhäsive mutagene Effekte aufweisen, woraufhin die Einzelkomponenten geprüft wurden. HEMA und MMA konnten dabei als nicht mutagen eingestuft werden. Dagegen verursachte Glutaraldehyd Punktmutationen in den DNA-Abschnitten (Schweikl et al. 1994). Auch weitere Experimente mit Glutaraldehyd, welches in verschiedenen Bondingsystemen enthalten ist, bestätigen dieses Ergebnis (Schweikl et al. 1996, Schweikl & Schmalz 1997). Die induzierten Mutationsraten steigen mit dem jeweiligen Gehalt an Glutaraldehyd der verschiedenen Dentinkleber an (Li et al. 1990, Schweikl et al. 1996). Die Kunststoffmonomere BisGMA, UDMA, TEGDMA, MMA, BPA, HEMA und GMA wurden in einer Studie unterschiedlichen Mutagenitätstests unterzogen, wobei GMA in allen Verfahren, TEGDMA nur im V79-Versuch als mutagen ermittelt wurden (Schweikl et al. 1998). In anschließenden Analysen von TEGDMA konnte nachgewiesen werden, dass diese Substanz Punktmutationen, Chromosomenaberrationen und DNA Sequenzabbrüche in mamillären Zellen hervorruft (Schweikl et al. 1999). Auch in einem Verfahren zur Prüfung der Chromosomenaberration in Fibroblasten wies TEGDMA bei einer Expositionszeit von 24 h im Vergleich zu anderen in der Zahnmedizin verwendeten Monomeren die höchsten Werte auf (Schweikl et al. 2001 und 2005).

Bislang gibt es wenige Studien zur Modifizierung der Genexpression in Zellen der Mundhöhle durch Kunststoffmonomere. Eluate bestimmter Prothesenkunststoffe sollen die Proliferation und RNA Synthese oraler Epithelzellen beeinflussen (Schmalz 1997). Weiterhin wurde in Studien die inhibierende Wirkung von BisGMA auf die Expression der alkalischen Phosphatase sowie des Osteocalcins beschrieben. Die Sekretionsraten dieser Proteine, die für die Dentinogenese von Bedeutung sind, können demnach durch Kunststoffmonomere verändert werden. Dies bedeutet, dass hierüber auch indirekt Einfluss auf die Bildung der Dentinmatrix ausgeübt werden kann (Sun et al. 1998, Hanks et al. 1996).



### **2.3.7. Allergische Reaktionen**

Zusätzlich zu den bereits genannten lokalen Reaktionen sowie den Auswirkungen auf den Gesamtorganismus besitzen Kunststoffmonomere ein allergenes Potential. Die allergische Kontaktdermatitis wurde vor allem bei zahnmedizinischem Personal beschrieben, trat im Laufe der Zeit aber auch vermehrt bei Patienten auf, die Restaurationen aus Dentalkunststoffen erhalten hatten (Jolanki et al. 1995, Hume & Gerzina 1996). HEMA bewirkt sehr schnell eine Sensibilisierung, wohingegen bei BisGMA erst nach längerem Zeitraum eine Reaktion verzeichnet wurde. Das erhöhte Allergisierungspotential von niedermolekularen Kunststoffbestandteilen wie TEGDMA und HEMA wurde darauf zurückgeführt, dass diese Vinyl- sowie auch Latexhandschuhe in wenigen Minuten durchdringen können. Dagegen benötigen Dimethacrylate mit höherem Molekulargewicht, beispielsweise BisGMA oder UDMA, entschieden länger (Munksgaard 1992). Die Monomere weisen eine hohe Rate an Kreuzreaktionen auf, so dass bei Kontakt zu vielen Dentalkunststoffen allergische Reaktionen auftreten, ohne dass zuvor eine Sensibilisierung mit dem entsprechenden Monomer stattgefunden hat (Guertzen 2000). Weiterhin ist bekannt, dass Auswirkungen bei Sensibilisierung mit dem entsprechenden Allergen über die Haut häufiger auftreten als bei Sensibilisierung über die Schleimhaut. Vermutlich sind Proteine aus der Keratinschicht der Haut, die sich mit dem Allergen verbinden und dessen Wirkung beschleunigen oder verstärken, dafür verantwortlich (Hume & Gerzina 1996). Da die Verwendung von Kunststoffen in der Zahnmedizin weiterhin zunimmt, ist in den kommenden Jahren sowohl bei zahnmedizinischem Personal als auch bei Patienten mit einem Anstieg von allergischen Reaktionen, ausgelöst durch Dentalkunststoffe, zu rechnen.

### 3. Fragestellung

Alternativ zu den invasiven und nicht-invasiven Therapiemaßnahmen der Schmelzkaries stellt die Infiltration der Schmelzanteile von kariösen Läsion mit einem niedrig viskösen Kunststoff eine neue mikro-invasive, schmerzarme Behandlungsform dar. Hierbei muss keine gesunde Zahnhartsubstanz entfernt werden und trotzdem wird eine Kariesinhibierung erreicht.

Je niedrig visköser ein Kunststoff jedoch ist, desto mehr ungebundene Monomere liegen nach Polymerisation vor und können eluiert werden. Daraus könnten eine geringere Stabilität sowie ein höheres toxisches Potential des Materials im Vergleich zu bisher verwendeten kunststoffbasierten Dentalwerkstoffen resultieren.

Ziel dieser Studie war es daher die Elution von Kunststoffmonomeren, die unerwünschte Wirkungen auf angrenzende Gewebe der Mundhöhle sowie auf den Gesamtorganismus ausüben könnten, zu evaluieren. Zum Vergleich wurden ein bereits auf dem Markt verfügbarer Kunststoff, ein Dentinadhäsiv und zwei Fissurenversiegler herangezogen. Hierzu wurden die in diesen Materialien enthaltenen Monomere TEGDMA, HEMA, BisGMA und G-1,3-DMA quantifiziert.

Für die vorliegende Studie werden folgende Studienhypothesen aufgestellt:

1. Die Monomerkonzentrationen der verschiedenen untersuchten Dentalkunststoffe unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.
2. Die Freisetzung von Kunststoffmonomeren aus infiltrierter künstlicher Schmelzkaries ist bei einer polierten Oberfläche signifikant geringer als bei einer unpolierten.
3. Die Konzentration der freigesetzten Kunststoffmonomere ist abhängig von der Elutionszeit, wobei die Elution hauptsächlich in den ersten Minuten stattfindet.
4. Die ermittelten Konzentrationswerte der aus dem Infiltranten freigesetzten Monomere liegen unter den in der Literatur beschriebenen Werten zur Auslösung von zytotoxischen, mutagenen und anderen unerwünschten Reaktionen.

## 4. Material und Methode

### 4.1. Materialien

Neben dem Infiltranten wurden vier weitere bereits auf dem Markt erhältliche, lichtinduziert polymerisierende Kunststoffe untersucht.

Der überwiegende Inhaltstoff des ungefüllten Infiltranten (Icon, DMG, Hamburg) ist TEGDMA.

Als Adhäsiv wurde das methacrylat basierte Einkomponentensystem Total Etch Control (Teco) (DMG, Hamburg) verwendet.

Helioseal (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein, Liechtenstein) und Delton FS+ (Dentsply DeTrey, Konstanz) wurden als Vertreter der Fissurenversiegler getestet. Die Hauptbestandteile beider Versiegler sind BisGMA und TEGDMA.

Aus der Gruppe der Komposite wurde das Submikronhybridkomposit EcuSphere Carat (DMG, Hamburg) ausgewählt. Es besteht aus einer methacrylat basierten organischen Matrix mit einem Füllstoffgehalt von 77 %.

### 4.2. Allgemeiner Versuchsaufbau

Insgesamt wurden zwei verschiedene Probenarten untersucht (Abb. 5). Zum einen wurden reine Kunststoffprobenkörper, zum anderen wurden demineralisierte Schmelzläsionen verwendet.

Die Proben lagerten nach ihrer Herstellung in einem Elutionsmedium, um die nicht umgesetzten Kunststoffmonomere herauszulösen. Nach zuvor festgelegten Zeitintervallen erfolgte eine Erneuerung des Lösungsmittels zur Erhöhung des Lösungsdruckes auf die zu eluierenden Kunststoffbestandteile.

Die qualitative und quantitative Erfassung der gelösten Substanzen wurde mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie [High Performance Liquid Chromatography (HPLC)] durchgeführt.

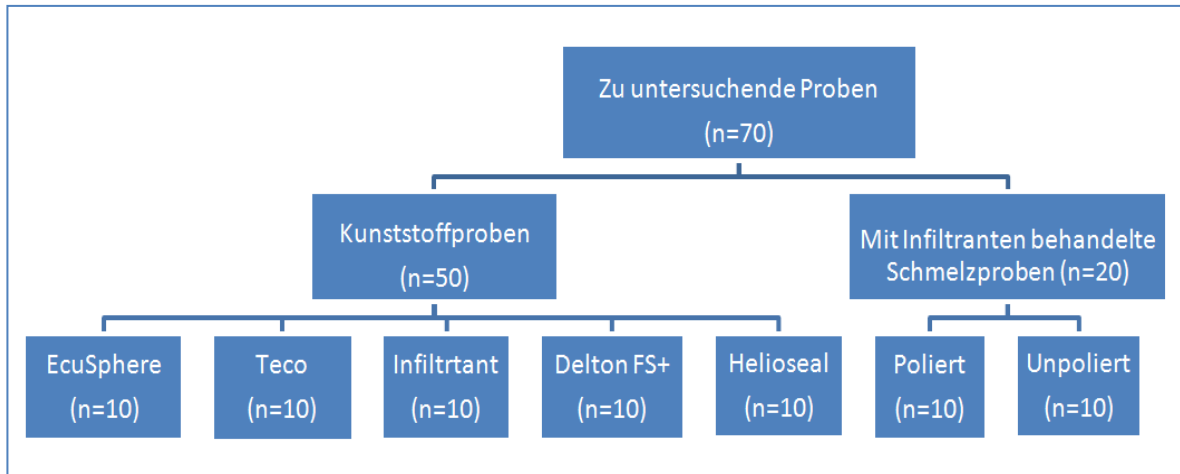


Abbildung 5: Unterteilung der zu untersuchenden Proben

### 4.3. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie [High Performance Liquid Chromatography (HPLC)]

Die HPLC ist eine Methode, mit der man die verschiedenen Substanzen aufgrund von unterschiedlich starken Wechselwirkungen mit der stationären Phase trennen kann (Abb. 6). Anschließend lassen sich die spezifischen Substanzen bestimmen und deren Konzentrationen berechnen. Die zu untersuchende Substanz wird zusammen mit einem Laufmittel, der mobilen Phase, auch Elutionsmittel oder Eluent genannt, durch eine Trennsäule, welche die stationäre Phase enthält, gepumpt. Wechselwirkt ein Bestandteil der chemischen Verbindung stark mit der stationären Phase, verbleibt er relativ lange in der Säule. Sind die Wechselwirkungen mit der stationären Phase hingegen schwach ausgeprägt, verlässt er die Säule früher. Je nach Stärke dieser Wechselbeziehungen erscheinen die Bestandteile der Substanz am Ende der Trennsäule zu verschiedenen Zeiten, den Retentionszeiten. Dort werden sie mit einem geeigneten Detektor, in diesem Fall ein Massenspektrometer, nachgewiesen und anschließend die Konzentrationen errechnet.



Abbildung 6: HPLC-Anlage (LCMS QP 8000 alpha, Shimadzu, Japan)

#### 4.4. Vorversuche

##### 4.4.1. Bestimmung des geeigneten Lösungsmittels

Zur Festlegung des geeigneten Lösungsmittels, in dem die Restmonomere nach Aushärtung der Kunststoffe eluieren sollten, wurden Vorversuche mit drei verschiedenen Elutionsmedien durchgeführt. Verwendung als Lösungsmittel fanden destilliertes Wasser, humaner Speichel und ein Speichelerersatzmittel (Saliva natura, Parnell Pharmaceuticals, San Rafael, USA). Die Probenkörper wurden aus dem Infiltranten hergestellt und jeweils fünf Versuchsstücke im zugeordneten Elutionsmedium gelagert. Die Messung der Konzentration des gelösten Restmonomers erfolgte nach 1 Tag sowie nach 7 Tagen. Es wurde neben den Einzelkonzentrationen für die beiden Zeitintervalle auch die kumulative Konzentration für den gesamten Zeitraum errechnet.

Der humane Speichel wurde zu Beginn als geeignetes Elutionsmedium favorisiert, da die Versuchsreihe möglichst den natürlichen Gegebenheiten der Mundhöhle entsprechen

sollte. Bei weiteren Testreihen stellte sich allerdings heraus, dass humaner Speichel für eine korrekte Untersuchung mittels der HPLC aufgrund seiner zähen Konsistenz nicht geeignet ist. Die ermittelten Konzentrationen der Restmonomere in destilliertem Wasser und Speichelersatzmittel wiesen nur geringe Unterschiede auf, wobei sie in destilliertem Wasser etwas geringer ausfielen als in Saliva natura.

Deshalb wurde destilliertes Wasser als Lösungsmittel zweiter Wahl für die Durchführung der Versuche verwendet.

#### **4.4.2. Festlegung der Parameter der HPLC**

Die Messungen der Proben mittels des HPLC-Verfahrens erfolgten bei den Wellenlängen 205 nm und 220 nm. Diese wurden ausgewählt, nachdem ein UV-Spektrum der zu erwartenden Inhaltstoffe mit Ermittlung des UV-Maximums erstellt wurde. Das UV-Maximum eines Stoffes ist die Wellenlänge, bei der die Substanz am stärksten Licht absorbiert und dadurch die stärksten Signale liefert.

Weiterhin wurde aufgrund der guten Wechselwirkungen mit den untersuchten Kunststoffen eine C18-Säule bei einem Durchlauf von 0,4 ml/min und einer Gesamtdurchlaufzeit von 45 min eingesetzt. Dabei startete die Messung in einem Elutionsmedium von 80 % Wasser und 20 % Acetonitril (ACN) und wurde während der Durchlaufzeit kontinuierlich auf 100 % ACN erhöht. Idealerweise wird das Verfahren mit einem Lösungsmittel von 100 % Wasser begonnen. Nicht alle Kunststoffproben waren jedoch in Wasser löslich. Bei einer zu hohen Anfangskonzentration von ACN werden die Retentionszeiten verkürzt.

#### **4.4.3. Bestimmung der Retentionszeiten der einzelnen Inhaltstoffe und Erstellung der Eichkurven zur Konzentrationsberechnung**

TEGDMA, HEMA, BisGMA und G-1,3-DMA wurden als Bestandteile der untersuchten Kunststoffe zur Auswertung herangezogen. Das zeitliche Auftreten dieser vier Komponenten während der Durchführung der HPLC wurde bei einer Konzentration von 1 mg/ml gemessen (Tab. 6).

Tabelle 6: Beginn, Ende und Maximum des Auftretens von TEGDMA, HEMA, G-1,3-DMA und BisGMA

		Beginn des Auftretens	Ende des Auftretens	Zeit des Maximalwertes
<b>TEGDMA</b>	<b>220 nm</b>	29,61 min	30,63 min	29,95 min
	<b>205 nm</b>	29,61 min	30,78 min	29,95 min
<b>HEMA</b>	<b>220 nm</b>	7,08 min	9,87 min	7,89 min
	<b>205 nm</b>	7,05 min	9,99 min	7,88 min
<b>G-1,3-DMA</b>	<b>220 nm</b>	25,29 min	26,43 min	25,72 min
	<b>205 nm</b>	25,29 min	26,43 min	25,72 min
<b>BisGMA</b>	<b>220 nm</b>	39,18 min	40,71 min	39,89 min
	<b>205 nm</b>	39,18 min	40,83 min	39,90 min

Nach Bestimmung der Zeit, zu der der jeweilige Inhaltstoff erscheint, erfolgten Messungen bei bekannter Konzentration, um für jeden der vier Kunststoffe eine Eichgerade zur Berechnung der Konzentrationen zu ermitteln (Tab. 7).

Tabelle 7: Lineare Steigungskoeffizienten der untersuchten Monomere und deren Fehler in %

		Linearer Steigungskoeffizient	Fehler in %
<b>G-1,3-DMA</b>	<b>205 nm</b>	$1,624 \times 10^8$	0,46
	<b>220 nm</b>	$8,226 \times 10^7$	0,72
<b>HEMA</b>	<b>205 nm</b>	$1,668 \times 10^8$	0,99
	<b>220 nm</b>	$9,174 \times 10^7$	1,15
<b>TEGDMA</b>	<b>205 nm</b>	$1,352 \times 10^8$	0,90
	<b>220 nm</b>	$5,883 \times 10^7$	1,17
<b>BisGMA</b>	<b>205 nm</b>	$1,864 \times 10^8$	0,51
	<b>220 nm</b>	$9,586 \times 10^7$	0,14

Für TEGDMA wurde eine Probenreihe bei den Konzentrationen 0,25 mg/ml, 0,15 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,05 mg/ml, 0,025 mg/ml und 0,01 mg/ml erstellt. Die Probenreihe bei HEMA, BisGMA und G-1,3-DMA umfasste die Konzentrationen 0,4 mg/ml, 0,3 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,075 mg/ml, 0,05 mg/ml, 0,025 mg/ml und 0,01 mg/ml. Die Messungen wurden auch bei höheren Konzentrationen (1 mg/ml, 0,75 mg/ml, 0,5 mg/ml)

durchgeführt, sind aber nicht in die Berechnung für die Eichgerade eingeflossen, um die Gerade nicht zu verfälschen, da mit derart hohen Konzentrationen nicht zu rechnen war.

Die Berechnung des Steigungskoeffizienten geschah mit Hilfe der bei der HPLC ermittelten Fläche unter dem Peak, der zu dem entsprechenden Inhaltstoff gehört, und der vorher bekannten Konzentration, mit der gemessen wurde. Hierzu wurde das PC-Programm Origin (OriginLab Corporation, Northampton, USA) genutzt. In den Abbildungen 7, 8, 9 und 10 sind die Eichgeraden graphisch dargestellt.

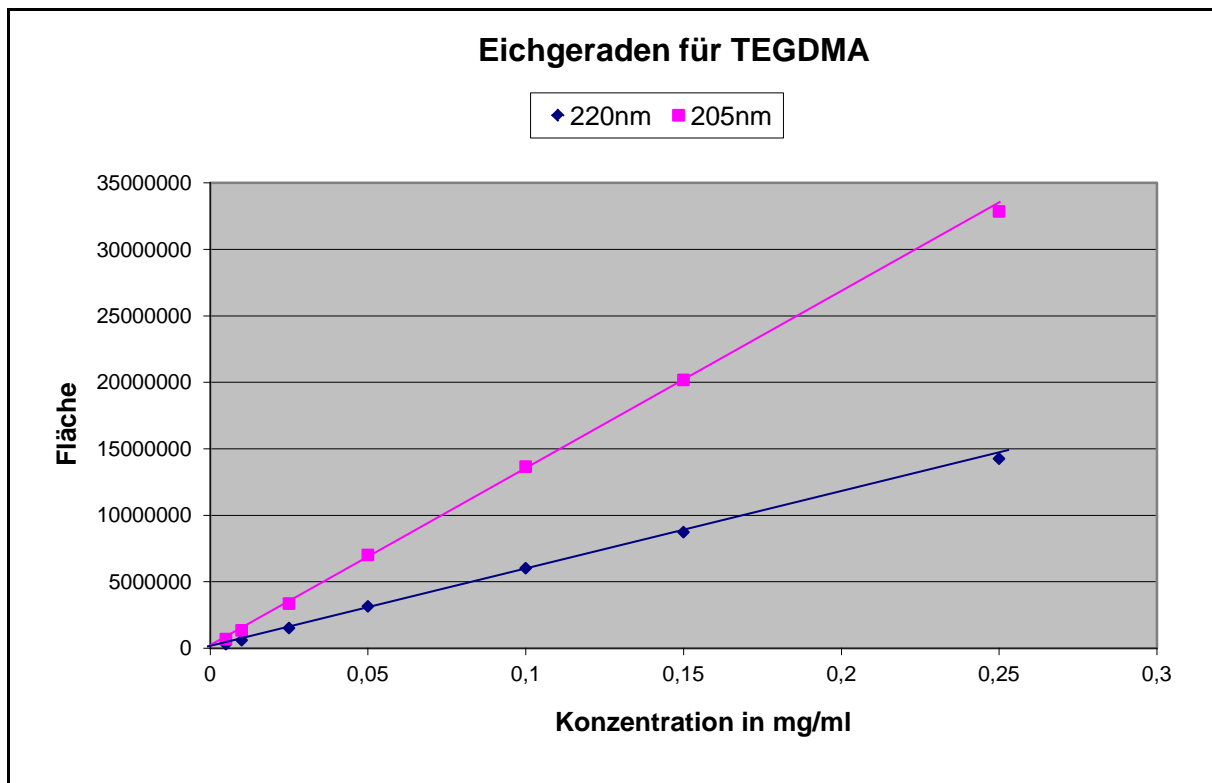


Abbildung 7: Eichgeraden für TEGDMA bei 205 nm und 220 nm



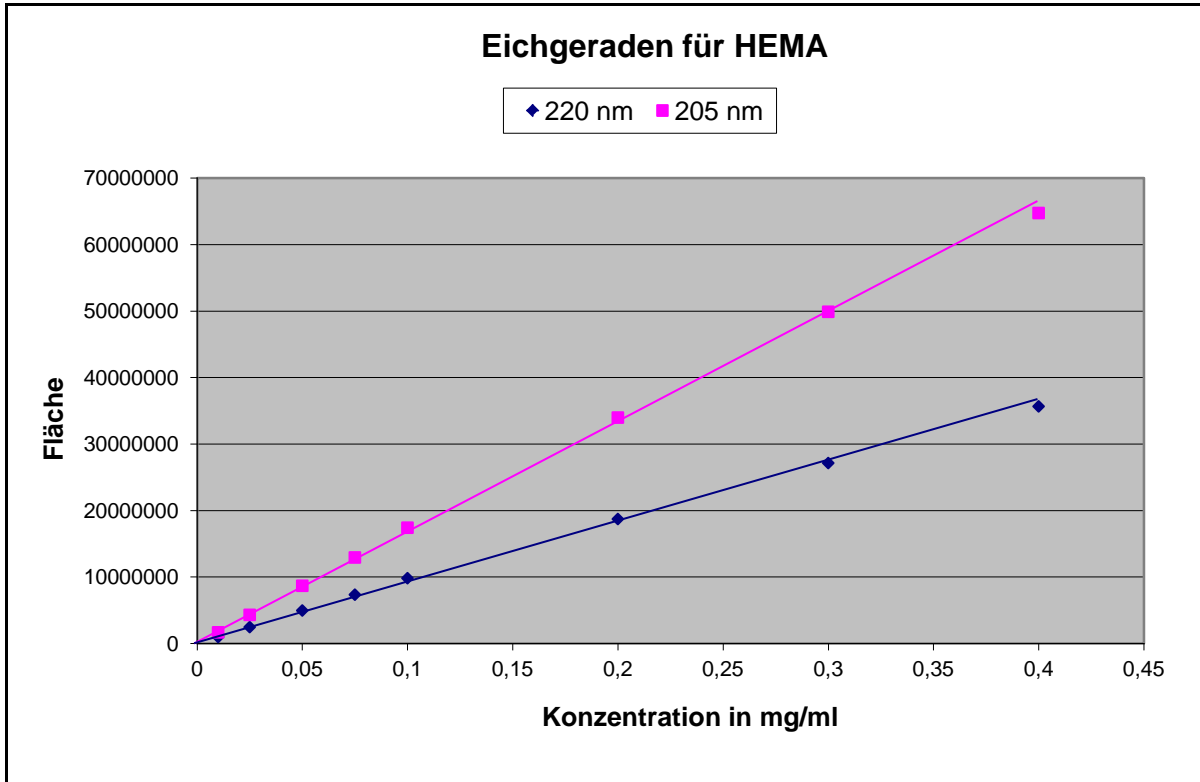


Abbildung 8: Eichgeraden für HEMA bei 205 nm und 220 nm

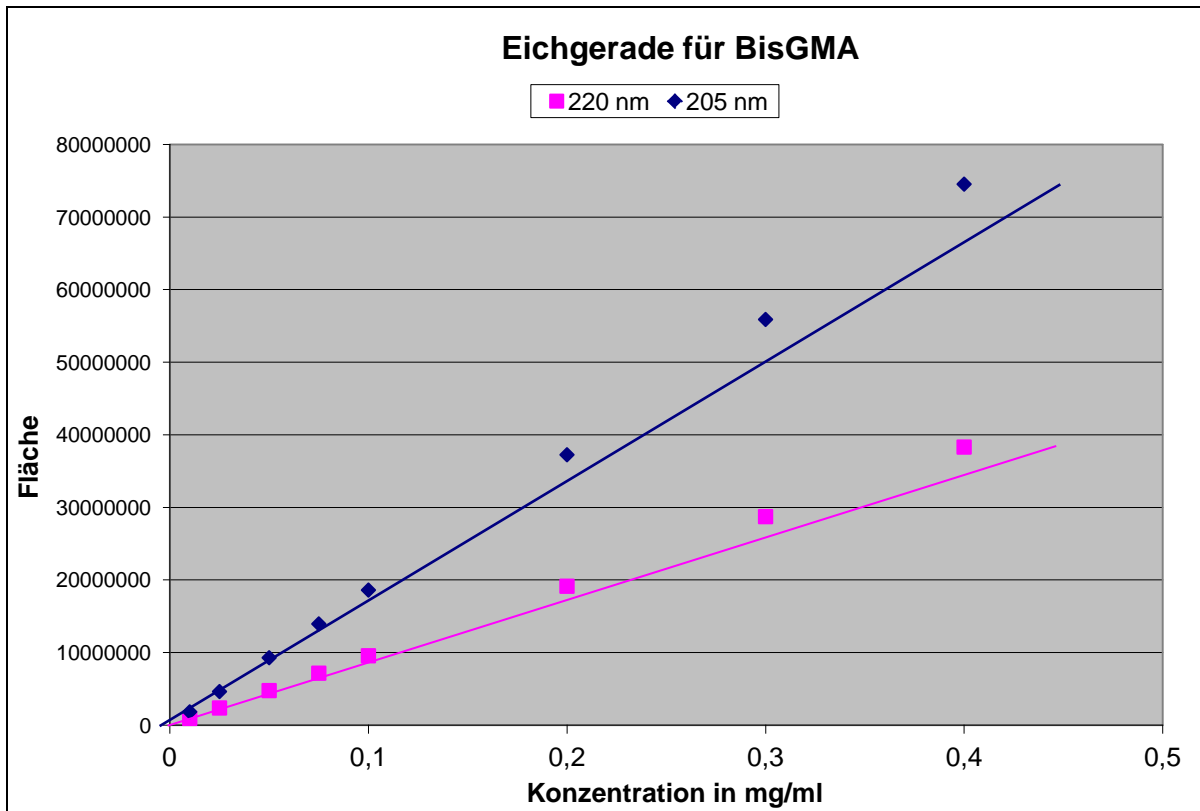


Abbildung 9: Eichgerade für BisGMA bei 205 nm und 220 nm

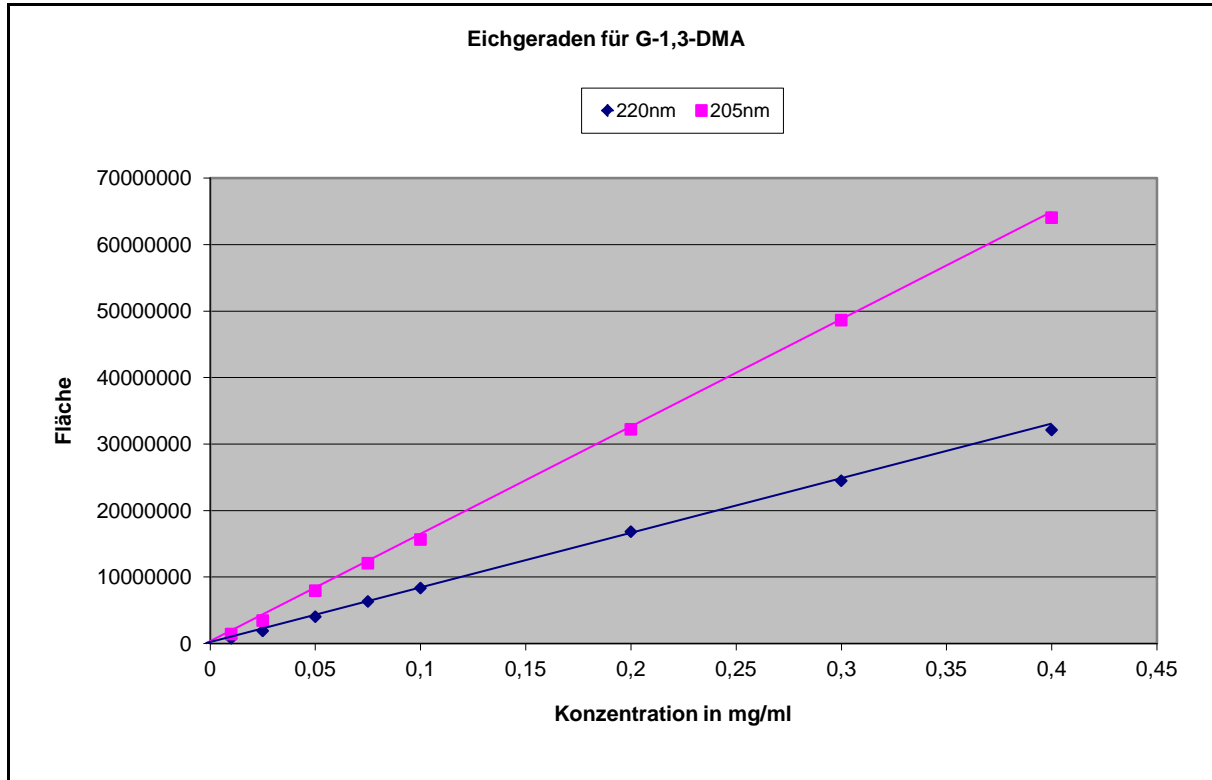


Abbildung 10: Eichgeraden für G-1,3-DMA bei 205 nm und 220 nm

#### 4.4.4. Bestimmung der Zeitintervalle zur Erneuerung des Elutionsmediums

Im Vorfeld wurden für die reinen Kunststoffproben insgesamt sieben Zeitintervalle in logarithmischer Einteilung festgelegt (4,5 min, 14,5 min, 2,5 h, 7,5 h, 24 h, 76 h und 240 h). Die logarithmische Einteilung wurde deshalb gewählt, weil unmittelbar nach dem Aushärten des Kunststoffes wesentlich mehr Monomer in Lösung geht als zum Ende eines langen Zeitintervalls. Würde man demnach gleich lange Zeitintervalle wählen, wären die Konzentrationen in den letzten Gruppen so gering, dass diese mit großer Wahrscheinlichkeit mit der HPLC nicht mehr nachweisbar wären.

Für die infiltrierten Schmelzproben wurde das Elutionsmedium nicht erneuert und die Konzentration nach zehn Tagen ermittelt, da das Volumen des Infiltranten im Vergleich zu den reinen Kunststoffproben wesentlich geringer ausfiel. Dementsprechend musste auch mit geringeren Konzentrationen des gelösten Monomers gerechnet werden, die bei kurzen und häufigen Intervallen nicht mehr detektierbar gewesen wären.

## 4.5. Probenherstellung

### 4.5.1. Herstellung und Vorbereitung der Kunststoffproben

Für die Fixierung der Kunststoffproben wurden zunächst Metallplättchen aus rostfreiem Stahl mit den Maßen 10 mm x 10 mm x 2 mm hergestellt (Reo Train Technologies Nieke Division, Berlin). In den Plättchen befand sich eine zentrale zylinderförmige Bohrung von 1 mm Tiefe und einem Durchmesser von 3 mm. In diesen Hohlraum wurde der Kunststoff eingebracht, so dass Seitenflächen und Boden von Metall bedeckt waren und nur eine freie Oberfläche vorhanden war. Durch die Stahlplättchen wurde ein einheitliches Kunststoffvolumen für alle Proben gewährleistet (Kontaktfläche 7 mm<sup>2</sup>).

Die Proben wurden in fünf Gruppen mit je zehn Versuchskörpern eingeteilt (Abb. 11). Alle Kunststoffe wurden nach entsprechenden Vorgaben der Hersteller behandelt und verarbeitet. Die Aushärtung erfolgte nach vorgegebenen Zeitangaben lichtinduziert durch eine Polymerisationslampe (Ortholux Luminous, 3M Espe, Neuss). Im Anschluss wurden die Oberflächen aller Proben poliert. Hierfür wurde eine Poliermaschine (Phoenix Alpha, Wirtz-Buehler, Düsseldorf) mit Nassschleifpapier aufsteigender Körnung (600, 800, 1200) verwendet. Die Politur erfolgte bei ständiger Wasserkühlung und mit möglichst geringem Substanzabtrag.

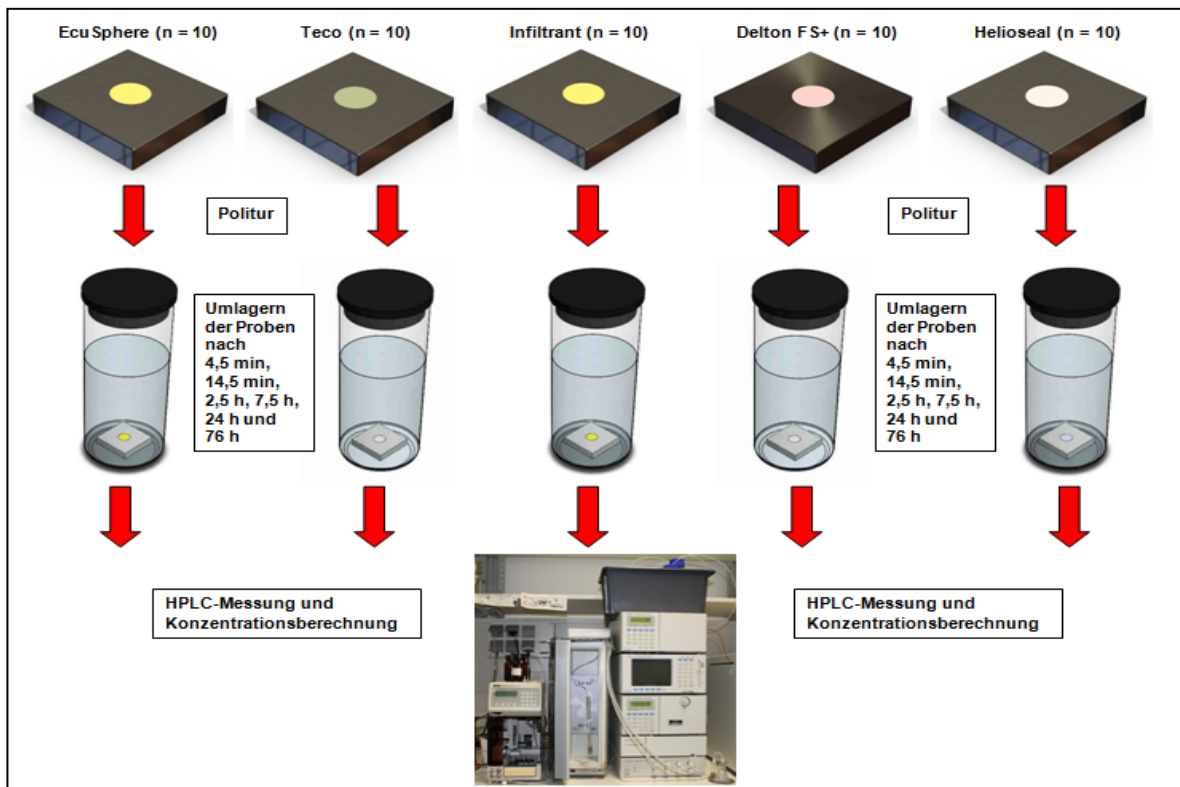


Abbildung 11: Vorbereitung und Versuchsdurchführung der Kunststoffproben

#### 4.5.2. Herstellung und Vorbereitung der infiltrierten Schmelzproben

Die bovinen Schmelzproben wurden aus den Labialflächen permanenter Rinderinzisiven gewonnen. Die Lagerung der Rinderzähne erfolgte nach Extraktion und Säuberung in physiologischer Kochsalzlösung (0,9 % NaCl) bei 39 °C (Venticell, MMM Medcenter, München). Die Proben wurden mit einem diamantierten Trepanbohrer (Spezialanfertigung des Feinlabors der Charité, Berlin) unter ständiger Wasserkühlung heraus präpariert, so dass zylinderförmige 1 mm hohe Schmelzscheiben mit einem Durchmesser von 2,7 mm entstanden (Kontaktfläche 6 mm<sup>2</sup>).

Anschließend wurden die bovinen Schmelzproben in die vorgefertigten Metallplättchen mit Hilfe von Dentalsekundenkleber (Multident, Berlin) eingeklebt, so dass eine zirkuläre Fuge zwischen Schmelzzylinder und Metall von 0,15 mm resultierte. Es erfolgte die Politur der Probenkörper unter den gleichen Bedingungen wie bei den reinen Kunststoffproben.

In der Folge wurden künstliche kariöse Läsionen erzeugt, indem die Proben in der Demineralisationslösung nach Buskes (Buskes et al. 1985) bei einem konstanten pH-Wert von 4,95 für die nächsten 21 Tage lagerten (Tab. 8). Eine tägliche Kontrolle des pH-Wertes erfolgte mittels eines pH-Meters (GMH 3510, Greisinger electronic, Regenstauf), wobei die tolerierte Abweichung bei 0,01 lag. Bei stärkerer Abweichung erfolgte die Korrektur durch Salzsäure (10 % HCl) bzw. Kalilauge (19 % KOH). Nach 21 Tagen wurden die Proben aus der Demineralisationslösung entfernt und gründlich mit destilliertem Wasser abgespült.

Tabelle 8: Zusammensetzung der Demineralisationslösung nach Buskes (Buskes et al. 1985)

Inhaltstoff	Konzentration	Menge
<b>Kalziumdichlorid-2-hydrat</b>	3 mMol	2205 mg
<b>Kaliumdihydrogenphosphat</b>	3 mMol	2040 mg
<b>Milchsäure (90%)</b>	50 mMol	25 ml
<b>Kalilauge ad pH 5,0</b>	10 Mol	29 ml
<b>Methyldiphosphonsäure</b>	6 µMol	5,4 mg
<b>Thymol</b>	in Spuren	in Spuren
<b>Aqua dest</b>	ad 5000 ml	ad 5000 ml

Nachfolgend wurden die demineralisierten Schmelzproben mit dem Infiltranten behandelt. Dafür wirkte zunächst 37%iges Phosphorsäuregel 1 min auf die Oberfläche ein, wurde anschließend 30 s abgespült und die Proben mit ölfreiem Luftpüster getrocknet. Danach wurde 96 %iges Ethanol aufgetragen und nach einer Einwirkzeit von 1 min erfolgte die Applikation des Infiltranten, der wiederum 2 min einwirken konnte. Die Materialüberschüsse des dünnfließenden Kunststoffes wurden vorsichtig mit einer Watterolle entfernt und der Infiltrant anschließend nach Herstellerangaben ausgehärtet. Die Hälfte der infiltrierten Schmelzproben wurde poliert (s.o.), die andere Hälfte wurde unpoliert den Elutionsversuchen zugeführt.

Die graphische Darstellung der Vorbereitungen der infiltrierten Schmelzproben zeigt Abbildung 12.

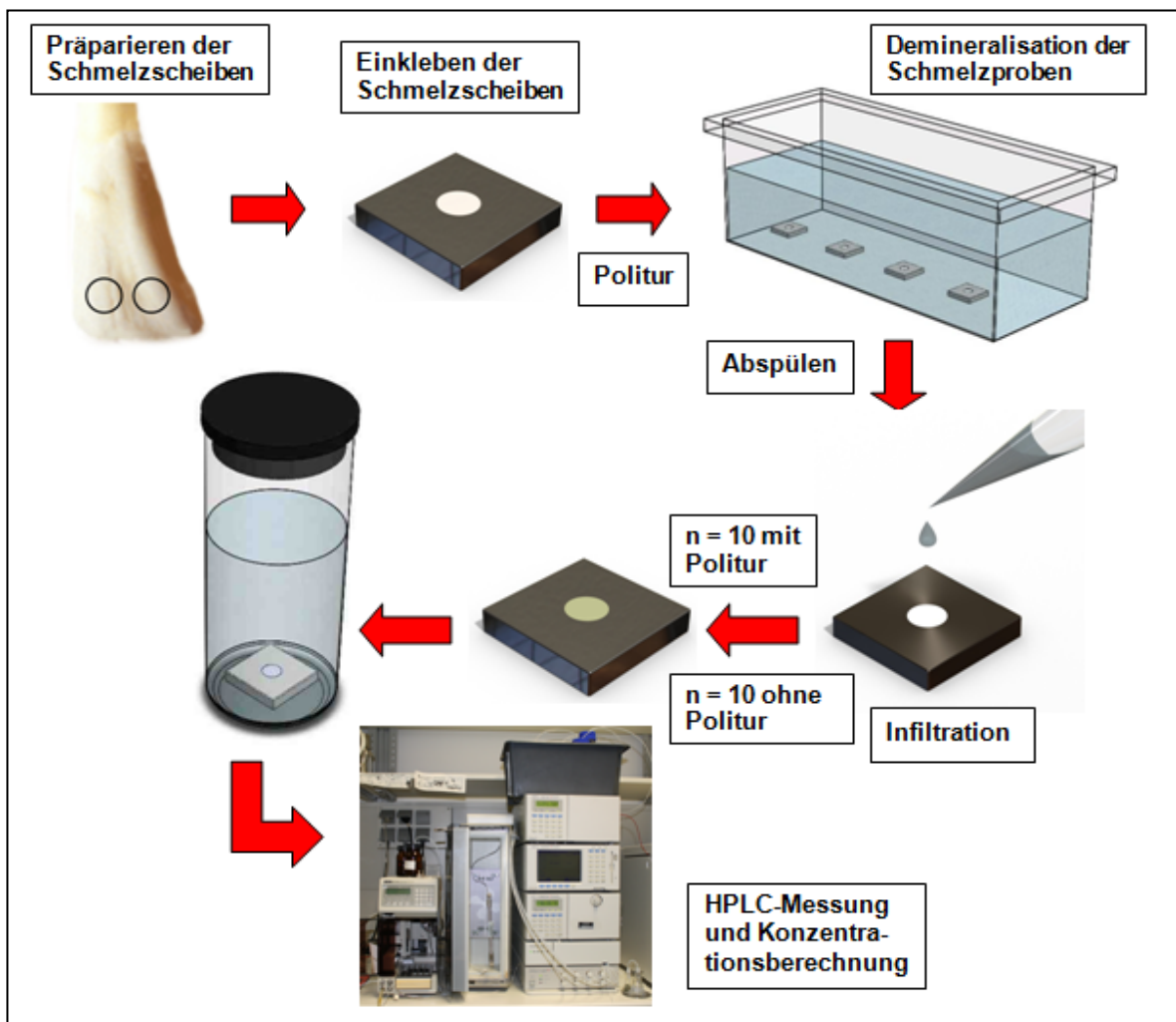


Abbildung 12: Vorbereitung und Versuchsdurchführung der infiltrierten Schmelzproben

#### **4.6. Versuchsdurchführung und Konzentrationsberechnung**

In jeweils ein dicht verschließbares Gläschen (Neolab, Heidelberg) wurde 1 ml destilliertes Wasser pipettiert und die Metallplättchen mit der Kunststoffprobe bzw. der infiltrierten Schmelzprobe in der Flüssigkeit gelagert. Nach den vorher festgelegten Zeitintervallen erfolgte das Umlegen der Versuchsstücke in ein neues Gläschen mit 1 ml frischem destilliertem Wasser, wodurch sich der Lösungsdruck auf das freie Monomer erhöhte. Während der gesamten Zeit lagerten die Proben bei 4 °C im Kühlschrank (Siemens, München). Nach Entnahme und Umlagerung in neues destilliertes Wasser erfolgte erneut ein dichter Verschluss der Gläschen und deren Aufbewahrung im Kühlschrank bei 4 °C bis zur Konzentrationsmessung. Die Testreihe war nach 240 h abgeschlossen und es folgte die Ermittlung der Konzentration mittels der HPLC.

Die Auswertung der HPLC-Messungen wurde mit Hilfe des Programms LCMS Solution PostRun (Shimadzu, Kyoto, Japan) durchgeführt. Mit diesem konnte eine Unterdrückung des Grundrauschens bewirkt werden, wodurch eine eindeutigere Darstellung und Zuordnung beim Auftreten der verschiedenen Inhaltstoffe resultierte.

Die Konzentration der entsprechenden Probe wurde mit Hilfe der integrierten Fläche unterhalb des Peaks und des ermittelten linearen Steigungskoeffizienten der entsprechenden Eichgeraden berechnet. Es wurden die Konzentrationen für jeden Inhaltstoff zu jedem Zeitintervall separat bestimmt sowie ein kumulativer Wert aller Konzentrationen einer Probe errechnet, so dass ein Wert für den Zeitraum von 240 h mit sechsmaliger Erneuerung des Elutionsmediums entstand.

#### **4.7. Statistische Methoden**

Die ermittelten Daten wurden mit SPSS-Software (SPSS 11.5.1 für Windows, SPSS GmbH, München) bearbeitet. Zur Überprüfung der Normalverteilung wurde der Shapiro-Wilk-Test durchgeführt. Die Einzelvergleiche zwischen den Gruppen erfolgten mittels Kruskal-Wallis- und Mann-Whitney-Test. Das Signifikanzniveau wurde dabei bei 5% festgesetzt.

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Vorversuche

Bei der Prüfung der Monomerfreisetzung in verschiedenen Lösungsmedien waren bei sämtlichen Elutionsmitteln die Konzentrationen nach einem Tag höher als nach einer Woche. Die Werte für die Lagerung in Wasser und in Speichelersatzmaterialien variierten sowohl für die Konzentration nach einem Tag ( $p = 0,421$ ) als auch nach einer Woche ( $p = 0,151$ ) nicht signifikant voneinander. Dahingegen waren die Konzentrationen des natürlichen Speichels im Vergleich zu den Ergebnissen für destilliertes Wasser ( $p_{\text{Tag}} = 0,008$ ;  $p_{\text{Woche}} = 0,008$ ) wie auch zu den Daten für das Speichelersatzmittel ( $p_{\text{Tag}} = 0,008$ ;  $p_{\text{Woche}} = 0,008$ ) signifikant geringer.

### 5.2. Kunststoffproben

Nicht in jedem getesteten Kunststoff waren alle Monomere detektierbar. BisGMA konnte lediglich in den Fissurenversiegeln Helioseal und Delton FS+ nachgewiesen werden. TEGDMA wurde sowohl in den beiden Versiegeln als auch im Infiltranten ermittelt. G-1,3-DMA ließ sich im Komposit EcuSphere sowie im Adhäsiv Teco feststellen, wohingegen HEMA ausschließlich im Dentinkleber nachweisbar war.

G-1,3-DMA und BisGMA, die als Basismonomere Verwendung finden, traten in den ersten beiden Zeitintervallen (0 - 4,5 min und 4,5 - 7,5 min) nicht auf. BisGMA konnte nach 2,5 h detektiert werden, G-1,3-DMA erst nach 7,5 h (Abb. 13 und 14). Die jeweilige kumulative Gesamtkonzentration von BisGMA für den Zeitraum von 240 h war mit 0,006 mg/ml (Delton FS+) und 0,005 mg/ml (Helioseal) geringer als die von G-1,3-DMA mit 0,066 mg/ml (EcuSphere) und 0,07 mg/ml (Teco). Die BisGMA Gesamtkonzentration von Delton FS+ war signifikant höher als die von Helioseal ( $p = 0,023$ ). Dagegen unterschieden sich die kumulativen Konzentrationen für G-1,3-DMA von EcuSphere und Teco nicht signifikant voneinander ( $p = 0,393$ ).

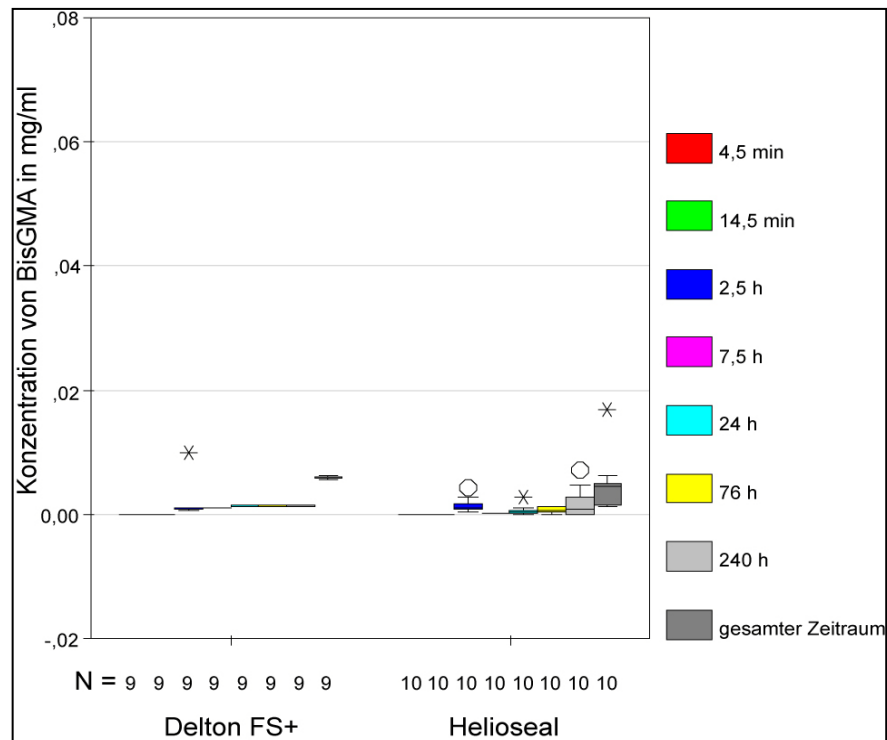


Abbildung 13: Boxplots mit 25. und 75. Perzentilen (Striche) sowie Ausreißern (Sternchen & Kreise) für die freigesetzten Konzentrationen an BisGMA von Helioseal und Delton FS+ im zeitlichen Verlauf sowie als kumulative Gesamtkonzentration. Die kumulative BisGMA Konzentration von Delton FS+ war signifikant höher als die von Helioseal ( $p = 0,023$ ).

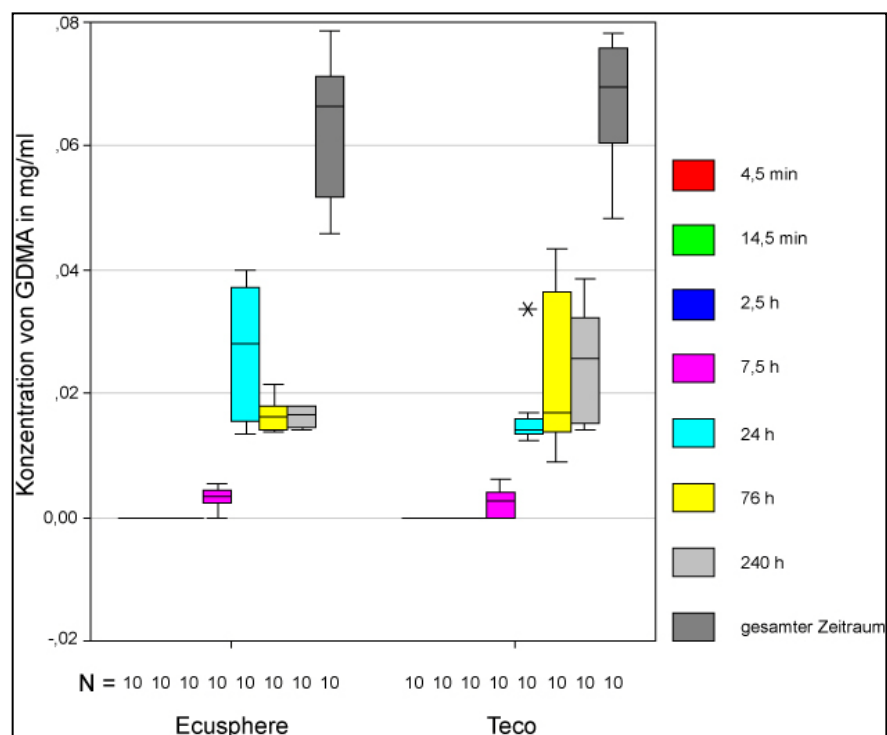


Abbildung 14: Boxplots mit 25. und 75. Perzentilen (Striche) sowie Ausreißern (Sternchen & Kreise) für die freigesetzte Konzentration an G-1,3-DMA von EcuSphere und Teco im zeitlichen Verlauf sowie als kumulative Gesamtkonzentration. Die kumulativen Gesamtkonzentrationen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ( $p = 0,393$ ).



Die Komonomere TEGDMA und HEMA konnten ab dem ersten Zeitintervall (0 - 4,5 min) nachgewiesen werden. Die Abgabe von HEMA, welches lediglich im Adhäsiv Teco detektiert werden konnte, steigt in den ersten 2,5 h an, fällt anschließend aber stark ab, so dass im letzten Zeitintervall (76 - 240 h) kein HEMA mehr nachweisbar ist (Abb. 15).

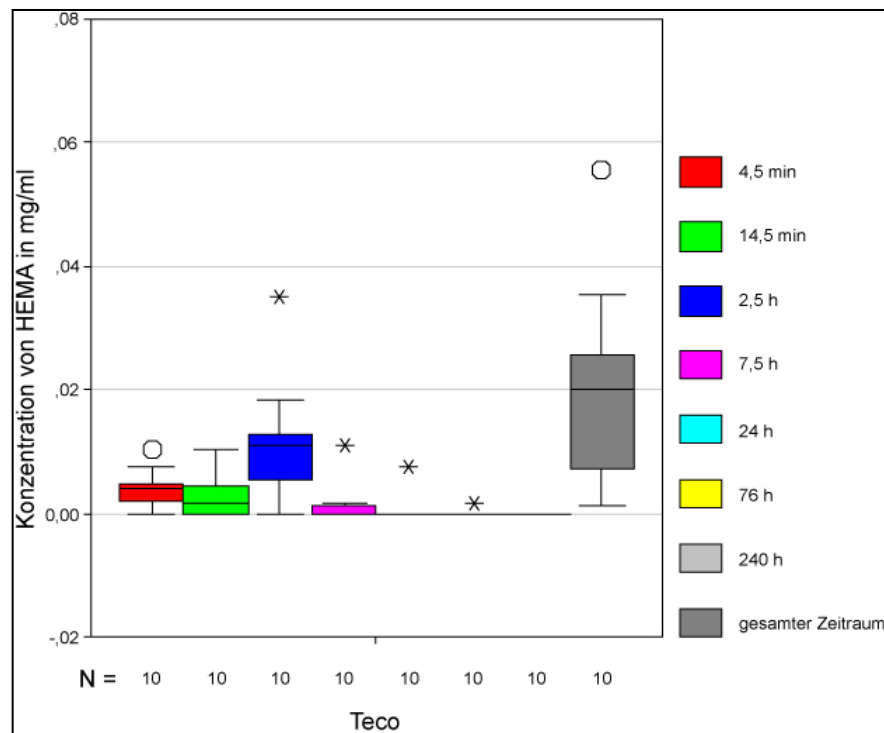


Abbildung 15: Boxplots mit 25. und 75. Perzentilen (Striche) sowie Ausreißern (Sternchen & Kreise) für die freigesetzte Konzentration an HEMA von Teco im zeitlichen Verlauf sowie also kumulative Gesamtkonzentration.

Die TEGDMA Freisetzung aus dem Infiltranten ist zu Beginn hoch, nimmt dann aber kontinuierlich ab (Abb. 16). Auch bei Helioseal wird anfangs mehr Monomer abgegeben, die Konzentration sinkt jedoch erst nach einem Tag rapide ab. Die TEGDMA-Konzentrationswerte für Delton FS+ schwanken nur leicht über den gesamten Zeitraum. Die jeweiligen kumulativen Gesamtkonzentrationen von TEGDMA waren mit 0,033 mg/ml (Infiltrant), 0,062 mg/ml (Helioseal) und 0,061 mg/ml (Delton FS+) höher als die von HEMA mit 0,02 mg/ml (Teco). Die TEGDMA Gesamtkonzentration vom Infiltranten unterscheidet sich weder von Helioseal ( $p = 0,190$ ) noch von Delton FS+ ( $p = 0,165$ ) signifikant. Auch die beiden Fissurenversiegler unterscheiden sich in ihren TEGDMA-Werten nicht signifikant voneinander ( $p = 0,912$ ).

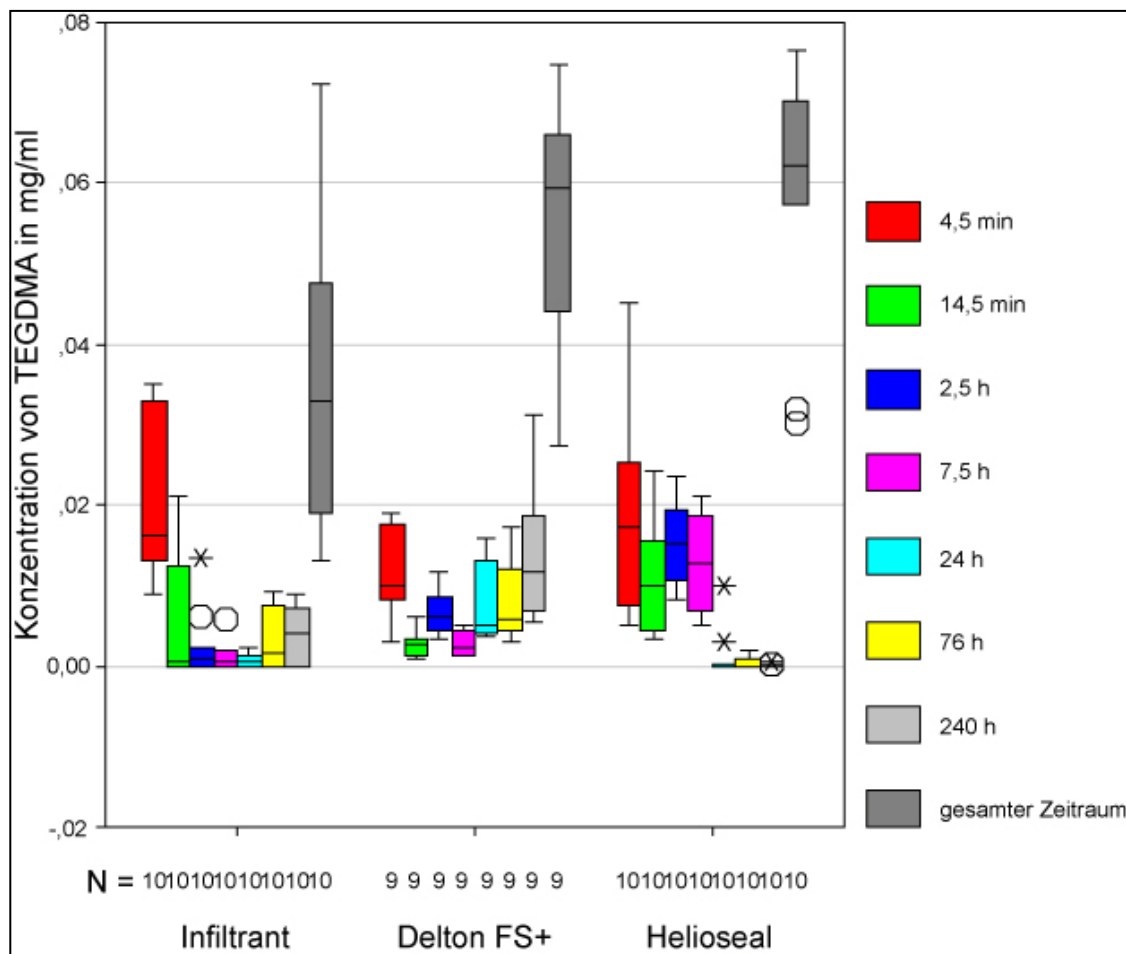


Abbildung 16: Boxplots mit 25. und 75. Perzentilen (Striche) sowie Ausreißern (Sternchen & Kreise) für die freigesetzte Konzentration an TEGDMA vom Infiltranten, Delton FS+ und Helioseal im zeitlichen Verlauf und als kumulative Gesamtkonzentration. Die kumulativen Konzentrationen der drei Kunststoffe unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (p zwischen 0,165 und 0,912).

Die Zeitpunkte der messbaren Freisetzung der Monomere unterscheiden sich. Die niedermolekularen chemischen Verbindungen TEGDMA und HEMA waren bereits bei der ersten Messung (nach 4,5 min) nachweisbar. Die höher molekularen und damit schwerfälligeren Monomere BisGMA und G-1,3-DMA konnten zum ersten Mal in der dritten (nach 2,5 h) beziehungsweise vierten Messung (nach 7,5 h) detektiert werden.

Die Freisetzung nimmt demnach keinen linearen Verlauf. Es ließ sich nachweisen, dass die niedermolekularen Kunststoffbestandteile bereits nach ein paar Minuten einen Großteil des Restmonomers abgeben. Innerhalb von 24 h werden TEGDMA und HEMA nahezu vollständig eluiert, die Werte für BisGMA und G-1,3-DMA fallen zum Teil geringer aus (Tab. 9).

Tabelle 9: Anteil der Monomerfreisetzung nach 24 h in % von der Gesamtmonomerkonzentration

Monomer		Kumulative Gesamtkonzentration	Anteil davon nach 4,5 min	Anteil davon nach 24 h
<b>BisGMA</b>	<b>Delton FS+</b>	0,0060 mg/ml	0 %	70,0 %
	<b>Helioseal</b>	0,0047 mg/ml	0 %	46,8 %
<b>G-1,3-DMA</b>	<b>EcuSphere</b>	0,0627 mg/ml	0 %	47,4 %
	<b>Teco</b>	0,0667 mg/ml	0 %	27,9 %
<b>TEGDMA</b>	<b>Delton FS+</b>	0,0639 mg/ml	20,6 %	62,4 %
	<b>Helioseal</b>	0,0589 mg/ml	30,9 %	99,0 %
	<b>Infiltrant</b>	0,0478 mg/ml	66,3 %	88,7 %
<b>HEMA</b>	<b>Teco</b>	0,0234 mg/ml	17,6 %	88,7 %

### 5.3. Infiltrierte Schmelzproben

Da bei den infiltrierte Schmelzproben nur eine Gesamtkonzentration nach einem Zeitraum von 240 h gemessen wurde, ist kein zeitlicher Verlauf darstellbar. Die Konzentration des freigesetzten TEGDMA ist mit 0,14 mg/ml bei den unpolierten Proben signifikant höher als mit 0,013 mg/ml bei den polierten Prüfkörpern ( $p < 0,001$ ).

Der Einfluss der Oberflächenpolitur wird im Vergleich zu den reinen Kunststoffproben deutlich. Es wird bei den polierten Schmelzscheiben signifikant weniger TEGDMA freigesetzt im Vergleich zu reinem Infiltranten ( $p = 0,001$ ) sowie auch zu den Fissurenversiegeln Helioseal ( $p < 0,001$ ) und Delton FS+ ( $p < 0,001$ ). Im Gegensatz dazu erfolgt eine signifikant erhöhte Abgabe an Monomer bei den unpolierten Schmelzproben ( $p_{\text{Infiltrant}} = 0,001$ ,  $p_{\text{Helioseal}} < 0,001$ ,  $p_{\text{DeltonFS+}} = 0,001$ ).

### 5.4. Gesamtmonomerkonzentration

Die Gesamtmonomerfreisetzung der reinen Kunststoffproben bewegt sich zwischen 0,033 mg/ml (Infiltrant) und 0,07 mg/ml (Teco) (Abb. 17). Die Werte unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ( $p$  zwischen 0,088 und 1,000).

Die polierten Schmelzproben geben mit 0,013 mg/ml signifikant weniger Monomer an destilliertes Wasser ab als die reinen Kunststoffe ( $p_{\text{EcuSphere}} = 0,022$ ,  $p_{\text{Teco}} < 0,001$ ,  $p_{\text{DeltonFS+}} = 0,004$ ,  $p_{\text{Helioseal}} = 0,018$ ). Eine Ausnahme bildet der Vergleich zum reinen Infiltranten, wo sich kein signifikanter Unterschied feststellen lässt ( $p = 0,41$ ).

Die höchste Monomerfreisetzung konnte mit 0,14 mg/ml beim unpolierten infiltrierten Schmelz nachgewiesen werden. Diese Konzentration ist signifikant höher als bei allen anderen getesteten Proben ( $p < 0,001$ ).

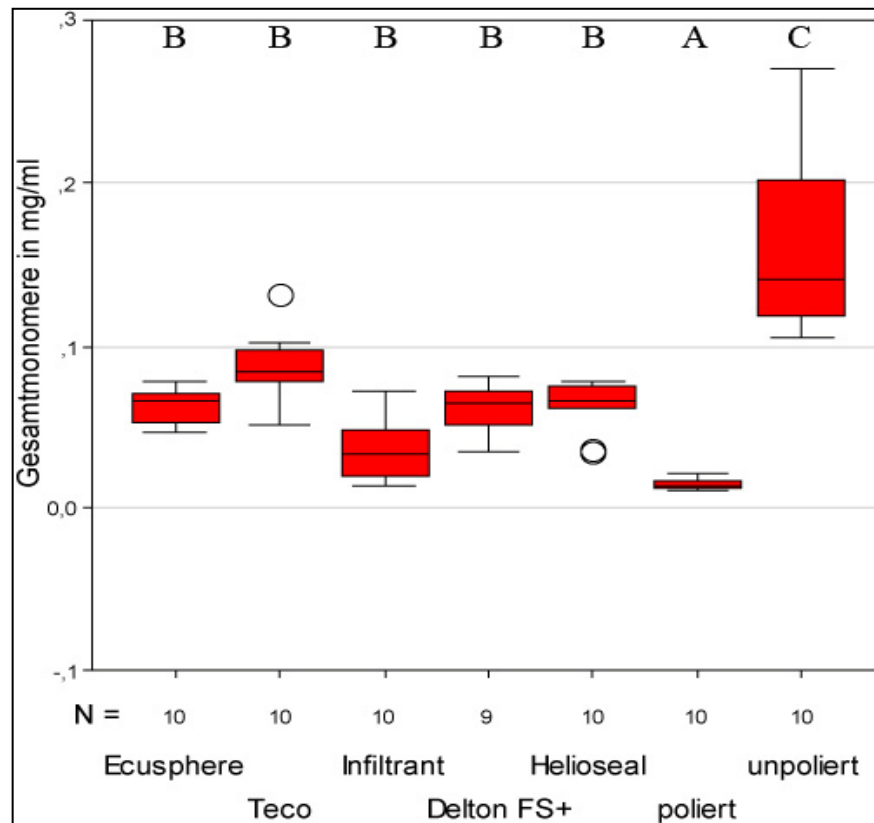


Abbildung 17: Boxplots mit 25. und 75. Perzentilen (Striche) sowie Ausreißern (Sternchen & Kreise) zur Gesamtmonomerfreisetzung über den gesamten Zeitraum von 240 h. Gruppen, die mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet sind, unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney Test).

## **6. Diskussion**

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

#### **6.1.1. Kunststoffe**

Alle verwendeten Kunststoffe und Fissurenversiegler werden in der zahnmedizinischen Praxis seit mindestens 10 Jahren verwendet oder sind Weiterentwicklungen eines bereits lange erprobten Vorgängers. Diese werden in der Füllungstherapie sowie zur Kariesprävention seit Jahren erfolgreich eingesetzt und sind wissenschaftlich anerkannt (Trummler et al. 2001). Das Bondingsystem Teco steht seit drei Jahren zur Verfügung und überzeuge in wissenschaftlichen Studien durch gute Haftwerte (Burgess 2007) und klinisch einfache Handhabung. Eine Vergleichbarkeit der verwendeten Dentalkunststoffe zu ähnlichen Materialien anderer Hersteller sollte somit gegeben sein.

#### **6.1.2. Herstellungsmaßnahmen der Proben**

Die Herstellung der Proben erfolgte in Anlehnung an frühere Studien (Tschoppe et al. 2009; Meyer-Lückel et al. 2002) durch Einbettung in standardisierte Metallplättchen. Rostfreier Stahl wurde dem bisher verwendeten Kunstharz vorgezogen, da eine Freisetzung möglicher Bestandteile aus diesem Material vermieden werden sollte. Die Oberflächen der reinen Kunststoffe sowie der Schmelzscheiben aus Rinderzähnen wurden durch Schleifpapier aufsteigender Körnung parallelisiert und poliert.

#### **6.1.3. Erzeugung künstlicher kariöser Läsionen und Infiltration**

Bei der Politur wurde die Oberfläche parallelisiert und dabei die äußere Schmelzschicht der bovinen Proben abgetragen. Die Entfernung dieser Schicht scheint keinen signifikanten Einfluss auf die Entstehung und Ausdehnung der künstlichen Kariesläsion auszuüben (Featherstone & Melberg 1981), aus verfahrenstechnischen Gründen ist eine Politur vor Demineralisation jedoch vorteilhaft. Die Proben lagerten 21 Tage in einer Demineralisationslösung (Buskes et al. 1985), um initiale Schmelzläsionen zu erzeugen, die den charakteristischen Aufbau einer Schmelzkaries aufweisen sollte. In früheren Studien wurde gezeigt, dass bei einer Demineralisation von 21 Tagen von einer Läsionstiefe von etwa 200 µm ausgegangen werden kann (Meyer-Lückel & Paris 2008b, Paris & Meyer-Lückel 2007b). Dies wurde allerdings nicht nochmals überprüft.

Die Infiltration der demineralisierten Schmelzproben erfolgte in Anlehnung an frühere Studien (Meyer-Lückel & Paris 2008a), wobei im Gegensatz zur Ätzung von natürlichen kariösen Schmelzläsionen keine Salzsäure verwendet wurde. Die verwendete schwächere 37 %ige Phosphorsäure erzeugt bei künstlichen kariösen Läsionen bereits nach einige Sekunden eine ausreichende Erosion der Oberflächenschicht (Meyer-Lückel et al. 2005, Paris et al. 2006), weshalb die gewählte Ätzung im vorliegenden Versuch (30 s) als ausreichend angesehen werden kann. Bei Ätzung mit Salzsäure (15 %) für zwei Minuten würde die Oberflächenschicht komplett entfernt werden und im Vergleich zu natürlichen Läsionen ein Bereich mit relativ geringem Mineralgehalt freigelegt werden.

#### **6.1.4. Auswahl des geeigneten Lösungsmittels**

Im Rahmen der Festlegung der geeigneten Versuchsmethode wurden destilliertes Wasser, natürlicher Speichel und das Speichersatzmittel Saliva natura als mögliche Elutionsmedien getestet. Da diese Studie den Anspruch hatte, das orale Milieu so gut wie möglich nachzuempfinden, wurde natürlicher Speichel als Lösungsmittel favorisiert.

Während der Vorversuche konnte belegt werden, dass die zähflüssige Konsistenz keine adäquate HPLC-Untersuchung ermöglichte. Trotz vorheriger Filterung des Speichels resultierte ein Druckanstieg bei dem Versuch des Einsaugens des Lösungsmittels. Dafür verantwortlich war vermutlich das Haftenbleiben von Speichelbestandteilen an der Säule der HPLC-Anlage. Der erhöhte Druck verursachte eine eingeschränkte Funktion der HPLC.

Es konnte dennoch unter Opferung der Säule eine geringe Anzahl ( $n = 5$ ) von Proben, die in natürlichem Speichel lagerten, untersucht werden. Die Konzentration der in Lösung gegangenen Monomere war signifikant geringer als diejenigen Werte, die für die Lösungsmittel destilliertes Wasser und Speichersatzmaterial detektiert wurden ( $p = 0,008$ ).

Ursache hierfür könnte der geringere Lösungsdruck sein, der aufgrund des hohen Gehalts an anorganischen Ionen, Enzymen, Proteinen, Muzinen und weiteren Speichelbestandteilen herrscht (Hellwig et al. 2003). Die Konzentration der Monomere wäre demnach unter den Bedingungen der Mundhöhle um ein Vielfaches geringer als die Ergebnisse, die im Rahmen dieser Versuchsreihe ermittelt wurden.

Eine weitere mögliche Erklärung wäre aber auch, dass eine wesentlich höhere Konzentration an Restmonomeren in Lösung geht, aber nur ein geringer Anteil davon frei im natürlichen Speichel vorliegt. Der Großteil der freigesetzten Monomere könnte an die

verschiedenen Bestandteile des Speichels gebunden sein. Diese möglichen chemischen Verbindungen wurden in dieser Studie nicht erfasst.

Da die HPLC-Messung des Speichels nicht korrekt durchgeführt werden konnte, wurde destilliertes Wasser als Lösungsmittel für die Versuchsreihe verwendet. Die ermittelten Konzentrationen der Restmonomere in destilliertem Wasser und Speichelersatzmittel wiesen nur geringe Unterschiede auf ( $p_{\text{Tag}} = 0,421$ ;  $p_{\text{Woche}} = 0,151$ ). Die Wahl fiel zudem auf das Elutionsmedium Wasser, da auch bei Saliva natura die Gefahr bestand, dass freigesetzte Monomere sich an Bestandteile des Speichelersatzmittels binden könnten und somit nicht erfasst werden würden.

#### **6.1.5. HPLC-Messung**

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) gilt als Standardmethode in der analytischen Chemie zur Trennung organischer und anorganischer Verbindungen mit anschließender quantitativer Bestimmung der Bestandteile (Nakashima et al. 2009, Schiel & Hoge 2009). In vorangegangenen Studien wurde beschrieben, dass die HPLC vor allem bei der Analyse von wässrigen Lösungen zuverlässige Ergebnisse liefert (Mitulovic & Mechtler 2006). Die qualitative Überprüfung der gesuchten Inhaltstoffe erfolgt meist über eine Kombination der HPLC mit einem Massenspektrometer (MS) (Nakashima et al. 2009). Dabei wird der chemischen Verbindung die für sie charakteristische Retentionszeit während der HPLC zugeordnet.

Der Schwellenwert der Konzentrationsermittlung lag bei diesem Versuch bei 0,0001 mg/ml. Eluierte Monomere mit einer Konzentration unterhalb dieser Grenze waren in dieser Studie nicht detektierbar. Könnte während der HPLC das entsprechende Monomer nicht nachgewiesen werden, wäre eine theoretische Elution des Kunststoffbestandteiles von weniger als 0,0001 mg/ml möglich. Es wurde jedoch angenommen, dass das Monomer nicht freigesetzt wurde.

## 6.2. Diskussion der Ergebnisse

### 6.2.1. Dentalkunststoffe im Vergleich zum Infiltranten sowie zu infiltrierten Schmelzproben

Alle Proben wurden hinsichtlich der Freisetzung der Monomere BisGMA, G-1,3-DMA, TEGDMA und HEMA untersucht. Von diesen Monomeren war im Infiltranten lediglich TEGDMA enthalten, welches ebenfalls, wie bereits in früheren Studien dokumentiert (Nathanson et al. 1997), in den beiden Fissurenversiegeln nachgewiesen werden konnte. Die Konzentrationswerte des herausgelösten Bestandteiles unterschieden sich bei den drei Kunststoffen nicht signifikant voneinander ( $p_{\text{Helioseal}} = 0,190$ ,  $p_{\text{DeltonFS+}} = 0,165$ ). Bei den Fissurenversiegeln wurde neben TEGDMA auch BisGMA freigesetzt, so dass auch die Gesamtkonzentration aller freigesetzten Monomere betrachtet werden muss. In diesen Vergleich können alle getesteten Kunststoffe einbezogen werden. Die Gesamtmonomerkonzentration aller Werkstoffe variierte ebenfalls nicht signifikant.

Mit diesen Ergebnissen lässt sich die zuvor aufgestellte Hypothese belegen, dass der Infiltrant trotz der niedrigeren Viskosität keine erhöhte Monomerfreisetzung im Vergleich zu den anderen Dentalwerkstoffen aufweist.

Die infiltrierten Schmelzproben mit polierter Oberfläche gaben signifikant weniger TEGDMA an das Elutionsmittel ab als die Fissurenversiegler Helioseal und Delton FS+ (polierte Oberflächen). Auch beim Vergleich der Gesamtmonomere lässt sich eine wesentlich geringere Freisetzung bei den infiltrierten Proben feststellen. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass die infiltrierten Schmelzproben aufgrund des vermutlich geringeren oberflächlichen Porenvolumens von ca. 30-40% im Vergleich zu den Probenkörpern (theoretisches Porenvolumen 100%) eine geringere Kontaktfläche an Kunststoffen aufwiesen. Dies ist allerdings nur gegeben, wenn oberflächliche Überschüsse des Infiltranten entfernt werden. Im anderen Falle liegt wie bei Fissurenversiegeln eine Schicht Kunststoff auf dem Schmelz. Hieraus eluieren wahrscheinlich höhere Monomerkonzentrationen im Vergleich zu den vor Polymerisation mit Watterollen abgewischten infiltrierten Probenkörpern.

### 6.2.2. Einfluss der Oberflächenpolitur auf die Monomerfreisetzung

Die infiltrierten Schmelzproben mit polierter Oberfläche geben signifikant weniger Monomer an das Lösungsmittel ab als die unpolierte Vergleichsgruppe. Damit lässt sich die Hypothese, dass die Oberflächennacharbeitung Einfluss auf die Monomerfreisetzung ausübt, belegen.



Durch eine Glättung und Politur infiltrierter Schmelzläsionen verbessert sich demnach die Biokompatibilität des Werkstoffes. Möglicherweise wird dieser Effekt verursacht durch eine Nachpolymerisation, die durch die Erwärmung des Kunststoffes während des Ausarbeitens der Oberfläche entsteht (Hellwig et al. 2003).

Ein weiterer klinischer Vorteil ist die glattere Oberfläche. Dadurch würde die Bakterienadhärenz verringert, die wiederum mit einer niedrigeren Kariesprogressionsrate sowie einer Reduktion von gingivalen Entzündungen assoziiert sein könnte (Bollen et al. 1997, Gedik et al. 2005). Zusätzlich ist für den Patienten auch die ästhetische Komponente wichtig. Durch die Oberflächenpolitur entsteht ein natürlicher Glanz und Verfärbungen können über einen langen Zeitraum vermieden werden (Güler et al. 2009).

Alle diese Vorzüge einer Nacharbeitung der Oberfläche gelten nicht nur für infiltrierte Schmelzläsionen, sondern auch für die anderen in diesem Versuch verwendeten Dentalkunststoffe. Demnach könnte man davon ausgehen, dass sich aus den reinen Kunststoffen ohne Politur mehr Monomere eluieren lassen als aus der polierten Vergleichsgruppe. Analog zu den infiltrierte Schmelzläsionen müsste ein signifikanter Unterschied feststellbar sein.

Es existieren unterschiedliche Polierverfahren mit verschiedenen Materialien. Nicht jede Maßnahme ist für jeden Dentalkunststoff vorteilhaft (Reis et al. 2003). Für den neuartigen Infiltranten wurde bislang keine Poliermethode geprüft. Um die Biokompatibilität des Infiltranten zu optimieren und langfristige zufriedenstellende Ergebnisse zu erzielen, sollte in nachfolgenden Studien eine geeignete Methode zur Oberflächennacharbeitung entwickelt werden. Aufgrund der Zusammensetzung scheint eine Politur analog zu den Kompositen allerdings naheliegend.

### **6.2.3. Freisetzung der Monomere im zeitlichen Verlauf**

Die Untersuchungen ergaben, dass die Freisetzung keinen linearen Verlauf darstellt, was bereits in vorangegangenen Arbeiten gezeigt wurde (Goldberg 2008, Hume & Gerzina 1996, Ferracane & Condon 1990). Im Laufe der Zeit nimmt die Anzahl ungebundener Restmonomere und damit auch der Anteil eluierbarer Kunststoffbestandteile ab. Basismonomere und andere Inhaltstoffe werden anschließend nur noch durch Biodegradationsprozesse wie Erosion, abrasiver Substanzverlust und enzymatische Spaltung freigesetzt. Trotzdem konnte gezeigt werden, dass in den ersten 24 Stunden der Großteil der freien Monomere extrahiert wird (Ferracane 1994). In diesen Versuchen ließ sich nachweisen, dass vor allem die niedermolekularen Kunststoffbestandteile innerhalb

eines kurzen Zeitraumes eluiert werden. Bereits nach 4,5 min gibt der Infiltrant zwei Drittel der TEGDMA-Restmonomere ab, nach 24 h sind es schon fast 90 %.

Eine eventuell schädigende Wirkung ist abhängig vom Zeitraum, in dem das Monomer auf das Gewebe einwirkt. Die Wahrscheinlichkeit toxischer Effekte ist aber sehr gering, da lediglich über einen kurzen Zeitraum mit höheren Konzentrationen zu rechnen ist und schon nach ein paar Minuten die Monomerkonzentration rapide abfällt.

#### **6.2.4. Vergleich der ermittelten Ergebnisse mit toxikologischen Daten aus der Literatur**

Die ermittelten Konzentrationswerte wurden zur besseren Vergleichbarkeit mit Ergebnissen aus vorangegangenen Studien in g/l und mMol/l umgerechnet (Molekulargewicht von TEGDMA 292 g/mol).

##### Allergische Reaktionen:

Zur Auslösung einer allergischen Reaktion, wie sie für einige Kunststoffmonomere (HEMA, TEGDMA, BisGMA) beschrieben ist, ist die vorherige Sensibilisierung notwendig (Hume & Gerzina 1996). In der Folge reichen schon kleinste Konzentrationen des entsprechenden Kunststoffes aus, um eine allergische Reaktion hervorzurufen. Vor allem HEMA bewirkt sehr schnell eine Sensibilisierung.

Sobald demnach TEGDMA, selbst in sehr geringen Konzentrationen, aus dem Infiltranten freigesetzt wird und in Kontakt zu Haut oder Schleimhaut kommt, können derartige unerwünschte Reaktionen auftreten. Da aber im Vergleich zu bereits klinisch und wissenschaftlich bewährten Materialien keine erhöhten Konzentrationen gemessen werden konnten, ist eine verstärkte Erscheinung von Nebenwirkungen dieser Art nicht zu erwarten.

##### Akute Toxizität:

Der Wert für die Halbe Letale Dosis (LD50) für TEGDMA konnte von keiner der Proben erreicht werden (Tab. 10).

Tabelle 10: Gemessene TEGDMA-Konzentration im Vergleich zur LD50 (Hume &amp; Gerzina 1996)

Testkörper	TEGDMA-Konzentration
reiner Infiltrant	33 mg/kg
polierte Schmelzproben	12,8 mg/kg
unpolierte Schmelzproben	141 mg/kg
LD50	10837 mg/kg

#### Zytotoxische Effekte:

Zytotoxische Effekte können sich durch eine gesteigerte Anzahl nekrotischer und apoptotischer Zellen äußern. Weiterhin weist die Beeinflussung verschiedener zellulärer Signalwege für die Einleitung der Apoptose sowie die Reduktion der intrazellulären Glutathionkonzentration auf zytotoxische Vorgänge hin (Spagnuolo et al. 2004, Samuelson et al. 2006).

In bisherigen Studien konnte nachgewiesen werden, dass ab einer TEGDMA-Konzentration von 3 mMol/l und einer Expositionszeit von 24 h eine gesteigerte Anzahl der Zelltode durch Nekrose hervorgerufen wurde (Samuelson et al. 2006). Alle ermittelten Konzentrationen des Infiltranten bleiben jedoch unter diesem kritischen Wert.

Weiterhin führte TEGDMA ab 0,5 mMol/l bei gleicher Liegezeit in pulpalen Zellen zu einer Inhibierung der Phosphatidylinositol-3-Kinase (Spagnuolo et al. 2004). Daraus resultierte eine gesteigerte Anzahl apoptotischer Zellen. Die Konzentrationen der unpolierten Schmelzproben erreichen diesen Wert. Da aber bereits nach etwa 5 min diese hohen Werte rapide abfallen, wäre die Kontaktzeit zu den Zellen wesentlich geringer als die Liegezeit, die mit 24 h in der Studie angesetzt wurde. Weiterhin findet der Infiltrant nur bei kariösen Läsionen des Zahnschmelzes und der äußeren Dentinhälfte Anwendung. Es ist demnach nicht damit zu rechnen, dass TEGDMA bis in die Pulpa vordringt. Erst bei einer Restdentinstärke über dem Pulpenkavum von weniger als 1 mm ist mit einer erhöhten Monomerkonzentration nahe den Pulpazellen zu rechnen (Bouillaguet et al. 1996).

Der Glutathiongehalt, der für die Neutralisation von reaktiven Sauerstoffverbindungen verantwortlich ist, wird ab einer TEGDMA-Konzentration von 0,33 mMol/l und einer Expositionsdauer von 12 h deutlich reduziert (Engelmann et al. 2002 und 2004). Die

Testkörper aus reinem Infiltranten erreichen diese Grenze annähernd, die unpolierten Schmelzproben überschreiten den Schwellenwert. Der Vergleich dieser ermittelten Werte mit den Daten aus der Literatur ist jedoch kritisch zu bewerten. Die Liegedauer von TEGDMA während der vorangegangenen Studien betrug 12 h. In der Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Monomerfreisetzung konnte jedoch gezeigt werden, dass der Infiltrant bereits in den ersten 4,5 min etwa zwei Drittel des gesamten eluierten TEGDMA an die Umgebung abgibt. Im Anschluss sinkt die Konzentration stark ab. Das bedeutet, dass nur einige Minuten eine hohe, gegebenenfalls grenzwertige Konzentration an freiem Monomer auf die Zellen einwirkt. Im Vergleich zu 12 h ist die Expositionszeit sehr gering und damit müsste die Wahrscheinlichkeit der Auslösung zytotoxischer Effekte stark verringert sein.

Zusätzlich wurde im Rahmen der Vorversuche zu dieser Studie gezeigt, dass in natürlichem Speichel eine geringere Konzentration an Monomer gelöst wird als in destilliertem Wasser. Man könnte also davon ausgehen, dass in der Mundhöhle während 240 h weniger TEGDMA freigesetzt wird als im Rahmen dieser Untersuchung. Zum einen könnte das an einem wesentlich geringeren Lösungsdruck liegen. Zum anderen könnten die freien Monomere sehr schnell an Bestandteile des Speichels gebunden werden und so ihre biologische Aktivität verlieren.

#### Modifizierung der Phasen des Zellzyklus:

Kunststoffmonomere können den Zellzyklus beeinflussen, indem sie die Übergänge in die nächste Phase signifikant verlangsamen oder die Zelle daran hindern, in das nächste Stadium des Zyklus überzugehen. Dieser Sachverhalt wurde in vorangegangenen Studien für verschiedene Dentalkunststoffe sowie für die Monomere HEMA, TEGDMA und UDMA nachgewiesen (Schweikl et al. 2005b und 2006, Nasserri et al. 1995). Der Grenzwert für TEGDMA bei einer Expositionszeit von 24 h liegt für Fibroblasten bei einer Konzentration von 0,5 mMol/l, für Pulpazellen bei 1 mMol/l. Wird dieser kritische Wert erreicht, kommt es zu einer verstärkten Akkumulierung der entsprechenden Zellen in der G1-Phase des Zellzyklus (Schweikl et al. 2005b).

Die unpolierten Schmelzproben erreichen diese Grenze, allerdings nur für wenige Minuten, so dass der Zellzyklus modifiziert werden könnte. Die polierten Schmelzscheiben hingegen liegen um ein Zehnfaches unter der kritischen Konzentration, bei der mit einer unerwünschten Beeinflussung zu rechnen ist. Jedoch sind auch diese Ergebnisse analog zur

oben stehenden Diskussion zur Zytotoxizität in Relation zur Einwirkzeit zu sehen. Somit sind die ermittelten Konzentrationen höchst wahrscheinlich unbedenklich.

#### Östrogene Effekte:

Bisher konnten östrogene Effekte nur für BisGMA und Bisphenol A nachgewiesen werden (Olea et al. 1996). Beide chemischen Verbindungen sind nicht im Infiltranten enthalten, somit ist eine östrogene Wirkung nicht zu erwarten.

#### Mutagenität:

Bei verschiedenen Mutagenitätstests konnte nachgewiesen werden, dass TEGDMA sowie andere Kunststoffmonomere Punktmutationen, Chromosomenaberrationen und DNA Sequenzabbrüche hervorrufen (Schweikl & Schmalz 1999, Schweikl et al. 2005a). In einer weiteren Studie wurde belegt, dass TEGDMA bei einer Expositionszeit von 24 h diese mutagenen Wirkungen ab einer Konzentration von 1 mMol/l entfaltet (Schweikl et al. 2001).

Alle ermittelten Werte des Infiltranten liegen auch nach 240 h unterhalb dieses Grenzwertes. Es kann demnach angenommen werden, dass keine mutagenen Nebenwirkungen auftreten.

## 7. Schlussfolgerung

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass sich die Monomerabgabe des Infiltranten nicht signifikant von der bereits etablierter Dentalkunststoffe unterscheidet. Es konnte weiterhin nachgewiesen werden, dass die Freisetzung der niedermolekularen Monomere TEGDMA in den ersten Minuten am höchsten ist. Auch der entscheidende Einfluss der Oberflächenpolitur der infiltrierten Läsionen konnte belegt werden. Keiner der in der Literatur beschriebenen Grenzwerte für lokale oder systemische Schäden des Organismus konnte von den Konzentrationswerten der polierten Schmelzscheiben erreicht oder überschritten werden.

Die klinische Relevanz dieser Ergebnisse ist nicht eindeutig, da die Bedingungen des oralen Milieus nicht genau nachempfunden werden konnten. Statt des natürlichen Speichels wurde destilliertes Wasser als Elutionsmedium verwendet. Auch konnte die natürliche Schluckfrequenz und damit die Erneuerung des Lösungsmittels nicht umgesetzt werden.

Schlussfolgernd kann festgestellt werden, dass eine Politur der infiltrierten Schmelzproben auch bei der klinischen Anwendung zu einer Verringerung der Elution von TEGDMA führen sollte, weshalb dies grundsätzlich empfehlenswert ist. Eine ausreichende Biokompatibilität des Infiltranten scheint, wie auch bei anderen verwendeten Dentalkunststoffen, gegeben.

Aufbauend auf diesen Untersuchungen könnten spezifischere Tests zur Mutagenität, Toxizität und anderer unerwünschter Reaktionen weiteren Aufschluss über die Biokompatibilität des Infiltranten geben.

## 8. Zusammenfassung

Monomere, die aus Dentalmaterialien eluieren, könnten zu unerwünschten lokalen oder systemischen Wirkungen führen. Zu dem seit kurzem erhältlichen Infiltranten (Icon, DMG) liegen hierzu keine Daten vor. Daher war es das Ziel dieser Studie, einen Infiltranten mit verschiedenen Dentalmaterialien hinsichtlich der Elution darin enthaltener Monomere zu vergleichen.

Hierzu wurden 50 standardisierte zylindrische Probenkörper (Kontaktfläche: 7 mm<sup>2</sup>) aus Fissurenversiegler (Helioseal; Vivadent oder Delton FS+; Dentsply DeTrey), einem Komposit (EcuSphere; DMG), einem Adhäsiv (Teco; DMG) sowie dem Infiltranten hergestellt und poliert. 20 demineralisierte (Läsionstiefe ca. 200 µm), bovine Schmelzproben (Kontaktfläche: 6 mm<sup>2</sup>) wurden nach Ätzung (37 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) infiltriert (Icon) und hiervon 10 Proben poliert. Alle Proben wurden anschließend in destilliertem Wasser für insgesamt 240 Stunden gelagert (4 °C). Das Medium (1 ml) wurde jeweils nach logarithmischen Zeitintervallen (4,5 min, 14,5 min, 2,5 h, 7,5 h, 24 h und 76 h) erneuert. Der Nachweis der Eluate (TEGDMA, BisGMA, G-1,3-DMA und HEMA) (n = 10) erfolgte mittels High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Die Gesamtkonzentrationen aller freigesetzten Monomere aus den polierten Probenkörpern nach 10 Tagen Lagerung [Spanne Mittelwerte (MW): 0,04-0,09 mg/ml] unterschieden sich nicht signifikant voneinander (p>0,05; Mann-Whitney Test). Das Eluat der polierten, infiltrierten Schmelzproben [MW (Standardabweichung): 0,01 (0,003) mg/ml] zeigt eine signifikant geringere, das der unpolierten [0,16 (0,06) mg/ml] eine signifikant höhere Monomergesamtkonzentration als die polierten Probenkörper der Dentalmaterialien (p<0,001). Dies war vor allem auf die Elution von TEGDMA zurückzuführen.

Bei dem verwendeten Elutionsmedium Wasser, welches zu höheren Monomerkonzentrationen im Vergleich zum Speichel führt, wurden bei allen Dentalmaterialien keine Grenzwerte für akute Toxizität, Mutagenität oder Zytotoxizität überschritten. Die Freisetzung von TEGDMA kann durch eine Oberflächenpolitur des Infiltranten um eine Zehnerpotenz verringert werden.

## 9. Summary

Monomers eluting from dental materials could lead to unrequested local or systemic effects. Since data for the recently released infiltrant (Icon, DMG) are not available, the aim of this study was to compare this material with different monomer-based dental materials with respects to the elution of respective monomers.

50 standardized cylindrical specimens (contact surface 7 mm<sup>2</sup>) of two sealants (Helioseal; Vivadent or Delton FS+; Dentsply DeTrey), a composite (EcuSphere; DMG), an adhesive (Teco, DMG) and an infiltrant (Icon; DMG) were prepared and polished. 20 demineralized (lesion depths approximately 200 µm) bovine enamel caries lesions (contact surface 6 mm<sup>2</sup>) were prepared and infiltrated after etching with phosphoric acid. 10 of these specimens were polished. All material samples were stored in distilled water for 240 hours (4°C). The elution medium (1 ml) was renewed in logarithmical divided time periods (4.5 min, 14.5 min, 2.5 h, 7.5 h, 24 h and 76 h). The elutes (TEGDMA, BisGMA, G-1,3-DMA and HEMA) (n = 10) were determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

The total concentrations of all monomers released from the polished test specimens [range of means: 0,04–0,09 mg/ml] did not differ significantly ( $p > 0,05$ ), while the polished [mean: 0,01 mg/ml; standard deviation: 0,003] and unpolished [0,16 (0,06) mg/ml] infiltrated enamel samples showed significantly ( $p < 0,001$ ) lower and higher total concentration, respectively, than the polished specimens. This was mainly due to the elution of TEGDMA.

In conclusion, it can be said that the limits for acute toxicity, mutagenicity or estrogenic effects were not be exceeded by the dental materials evaluated in this study, even if the elution medium water leaches higher monomer concentrations compared with saliva. The release of TEGDMA can be reduced by a surface polish of the infiltrant to at least one order of magnitude.



## 10. Literaturverzeichnis

Antonucci JM, Toth EE: Extent of Polymerization of Dental Resins by Differential Scanning Calorimetry. *J Dent Res*, 1983; 62: 121-125

Arends J, Christoffersen J: The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res*, 1986; 65: 2-11

Baker S, Brooks SC, Walker DM: The release of residual monomeric methyl methacrylate from acrylic appliances in the human mouth: An assay for monomer in saliva. *J Dent Res*, 1988; 67: 1295-1299

Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M: Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater*, 1997; 13: 258-269

Bouillaguet S: Biological risks of resin-based materials to the dentin-pulp complex. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004; 15: 47-60

Bouillaguet S, Wataha JC, Hanks CT, Ciucchi B, Holz J: In vitro cytotoxicity and dentin permeability of HEMA. *J Endod*, 1996; 22: 244-248

Bowen RL: Compatibility of various materials with oral tissues I: The components in composite restorations. *J Dent Res*, 1979; 58: 1493-1503

Brauer GM, Dulik DM, Hughes HN, Dermann K, Rupp NW: Marginal adaptation of BIS-GMA-based composites containing various diluents. *J Dent Res*, 1981; 60: 1966-1971

Burgess JO: Comparison of microtensile bond strength of different 5th generation bonding systems. University of Alabama, Birmingham UAB, 2007

Caughman WF, Caughman GB, Shiflett RA, Rueggeberg F, Schuster GS: Correlation of cytotoxicity, filler loading and curing time of dental composites. *Biomaterials*, 1991; 12: 737-740

Cekic-Nagas I, Ergun G, Vallittu PK, Lassila LVJ: Influence of polymerization mode on degree of conversion and micropush-out bond strength of resin core systems using different adhesive systems. *Dent Mat J*, 2008; 27: 376–385

Chung KH, Greener EH: Correlation between degree of conversion, filler concentration and mechanical properties of posterior composite resins. *J Oral Rehabil*, 1990; 17: 487-494

Cimpan MR, Cressey LI, Skaug N, Halstensen A, Lie SA, Gjertsen BT: Patterns of cell death induced by eluates from denture base acrylic resins in U-937 human monoblastoid cells. *Eur J Oral Sci*, 2000b; 108: 59-69

Davila JM, Buonocore MG, Greeley CB, Provenza DV: Adhesive penetration in human artificial and natural white spots. *J Dent Res*, 1975; 54: 999-1008

- Ekstrand KR, Bakhshandeh A, Martignon S: Treatment of proximal superficial caries lesions on primary molar teeth with resin infiltration and fluoride varnish versus fluoride varnish only: efficacy after 1 year. *Caries Res*, 2010; 44: 41-6
- Engelmann J, Janke V, Volk J, Leyhausen G, von Neuhoff N, Schlegelberger B: Effects of BisGMA on glutathione metabolism and apoptosis in human gingival fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 2004; 25: 4573-4580
- Engelmann J, Leyhausen G, Leibfritz D, Geurtsen W: Effect of TEGDMA on the intracellular glutathione concentration of human gingival fibroblasts. *J Biomed Mater Res*, 2002; 63: 746-751
- Esser M, Tinschert J, Marx R: Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z*, 1998; 53: 713-717
- Featherstone JDB: The continuum of dental caries evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res*, 2004; 83: C39-C42
- Featherstone JD, Mellberg JR: Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res*, 1981; 15: 109-114
- Feldman D, Krishnan A: Estrogens in unexpected places: Possible implications for researchers and consumers. *Environ Health Perspect*, 1995; 103:129-133
- Ferracane JL: Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil*, 1994; 21: 441-452
- Ferracane JL, Condon JR: Rate of elution of leachable components from composite. *Dent Mater*, 1990; 6: 282-287
- Flim GJ, Arends J: Diffusion of <sup>45</sup>Ca in bovine enamel. *Calcif Tissue Res*, 1977; 24: 59-64
- Freund M, Munksgaard EC: Enzymatic degradation of BISGMA/TEGDMA-polymers causing decreased microhardness and greater wear in vitro. *Scand J Dent Res*, 1990; 98: 351-355
- Fróes-Salgado NR, Pfeifer CS, Francci CE, Kawano Y: Influence of photoactivation protocol and light guide distance on conversion and microleakage of composite restorations. *Oper Dent*, 2009; 34: 408-414
- Gedik R, Hürmüzlü F, Coşkun A, Bektaş OO, Ozdemir AK: Surface roughness of new microhybrid resin-based composites. *J Am Dent Assoc*, 2005; 136: 1106-1112
- Gente M, Sondermann U, Lehmann KM: Ausdehnung von Rinderschmelz und Rinderdentin. *Dtsch Zahnärztl Z*, 1985: 488-490
- Geurtsen W, Leyhausen G: Chemical-biological interactions of the resin monomer triethyleneglycol-dimethacrylate (TEGDMA). *J Dent Res*, 2001; 80: 2046-2050

- Geurtsen W: Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2000; 11: 333-355
- Going RE, Loesche WJ, Grainger DA, Syed SA: The viability of microorganisms in carious lesions five years after covering with a fissure sealant. *J Am Dent Assoc*, 1978; 97: 455-62
- Goldberg M: In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clin Oral Investig*, 2008; 12: 1-8
- 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: 239-243
- Gonçalves F, Kawano Y, Pfeifer C, Stansbury JW, Braga RR: Influence of BisGMA, TEGDMA and BisEMA contents on viscosity, conversion, and flexural strength of experimental resins and composites. *Eur J Oral Sci*, 2009; 117: 442-446
- 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
- Güler AU, Güler E, Yücel AC, Ertuş E: Effects of polishing procedures on color stability of composite resins. *J Appl Oral Sci*, 2009; 17: 108-112
- Hanks CT, Wataha JC, Sun Z: In vitro models of biocompatibility: a review. *Dent Mater*, 1996; 12: 186-193
- Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. München: Urban & Fischer, 2003
- Hervás García A, Martínez Lozano MA, Cabanes Vila J, Barjau Escribano A, Fos Galve P: Composite resins. A review of the materials and clinical indications. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2006; 11: E215-E220
- Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C: Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent*, 2004; 28: 119-124
- Hume WR, Gerzina TM: Bioavailability of components of resin-based materials which are applied to teeth. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1996; 7: 172-179
- Janke V, von Neuhoff N, Schlegelberger B, Leyhausen G, Geurtsen W: TEGDMA causes apoptosis in primary human gingival fibroblasts. *J Dent Res*, 2003; 82: 814-818
- Jolanki R, Kanerva L, Estlander T: Occupational allergic contact dermatitis caused by epoxy diacrylate in ultraviolet-light-cured paint, and bisphenol A in dental composite resin. *Contact Dermatitis*, 1995; 33: 94-99
- Kidd EA, Fejerskov O: What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*, 2004; 83: C35-C38

- Koda T, Tsuchiya H, Yamauchi M, Ohtani S, Takagi N, Kawano J: Leachability of denture-base acrylic resins in artificial saliva. *Dent Mater*, 1990; 6: 13-16
- Lee SY, Greener EH, Menis DL: Detection of leached moieties from dental composites in fluids simulating food and saliva. *Dent Mater*, 1995; 11: 348-353
- Lefebvre M, Bourd K, Lorient MA, Goldberg M, Beaune P, Périanin A, Stanislawski L: TEGDMA modulates glutathione transferase P1 activity in gingival fibroblasts. *J Dent Res*, 2004; 83: 914-919
- Lefebvre CA, Schuster GS, Caughman GB, Caughman WF: Effects of denture base resins on oral epithelial cells. *Int J Prosthodont*, 1991; 4: 371-376
- Li Y, Noblitt TW, Dunipace AJ, Stookey GK: Evaluation of Mutagenicity of Restorative Dental Materials Using the Ames Salmonella/Microsome Test. *J Dent Res*, 1990; 69: 1188-1192
- Lind PO: Oral lichenoid reactions related to composite restorations. Preliminary report. *Acta Odontol Scand*, 1988; 46: 63-65
- 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: 382-388
- Meyer-Lueckel H, Paris S: Improved resin infiltration of natural caries lesions. *J Dent Res*, 2008a; 87: 1112-1116
- Meyer-Lueckel H, Paris S: Progression of artificial enamel caries lesions after infiltration with experimental light curing resins. *Caries Res*, 2008b; 42: 117-124
- Meyer-Lueckel H, Paris S, Kielbassa AM: Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration. *Caries Res*, 2007; 41: 223-230
- Meyer-Lueckel H, Mueller J, Paris S, Hummel M, Kielbassa AM: The penetration of various adhesives into early enamel lesions in vitro. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2005; 115: 316-323
- Meyer-Lueckel H, Schulte-Moenting J, Kielbassa AM: The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. *Oral Diseases*, 2002; 8: 192-198
- Mitulovic G, Mechtler K: HPLC techniques for proteomics analysis - a short overview of latest developments. *Brief Funct Genomic Proteomic*, 2006; 5: 249-260
- Mjör IA, Hensten-Pettersen A, Skogedal O: Biologic evaluation of filling materials. A comparison of results using cell culture techniques, implantation tests and pulp studies. *Int Dent J*, 1977; 27: 124-129

- Mount GJ: Defining, classifying, and placing incipient caries lesions in perspective. *Dent Clin North Am*, 2005; 49: 701-723
- Munksgaard EC: Permeability of protective gloves to (di)methacrylates in resinous dental materials. *Scand J Dent Res*, 1992; 100:189-192
- Munksgaard EC, Freund M: Enzymatic hydrolysis of (di)methacrylates and their polymers. *Scand J Dent Res*, 1990; 98: 261-267
- Nakashima K, Ikeda R, Wada M: Analytical studies on the development of high performance liquid chromatographic methods with fluorescence or chemiluminescence detections and their practical applications. *Anal Sci*, 2009; 25: 21-31
- Nassiri MR, Hanks CT, Cameron MJ, Strawn SE, Craig RG: Application of flow cytometry to determine the cytotoxicity of urethane dimethacrylate in human cells. *J Biomed Mater Res*, 1994; 28: 153-158
- Nathanson D, Lertpitayakun P, Lamkin MS, Edalatpour M, Chou LL: In vitro elution of leachable components from dental sealants. *J Am Dent Assoc*, 1997; 128: 1517-1523
- Noda M, Wataha JC, Lockwood PE, Volkmann KR, Kaga M, Sano H: Sublethal, 2-week exposures of dental material components alter TNFalpha secretion of THP-1 monocytes. *Dent Mater*, 2003; 19: 101-105
- Olea N, Pulgar R, Pérez P, Olea-Serrano F, Rivas A, Novillo-Fertrell A, Pedraza V, Soto AM, Sonnenschein C: Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environ Health Perspect*, 1996; 104: 298-305
- Paris S, Meyer-Lueckel H: Inhibition of caries progression by resin infiltration in situ. *Caries Res*, 2010a; 44: 47-54
- Paris S, Meyer-Lueckel H: Infiltrants inhibit progression of natural caries lesions in vitro. *J Dent Res*, 2010b; 89: 1276-1280
- Paris S, Meyer-Lueckel H: Masking of labial enamel white spot lesions by resin infiltration - a clinical report. *Quintessence Int*, 2009; 40: 713-718
- Paris S, Meyer-Lueckel H, Cölfen H, Kielbassa AM: Resin infiltration of artificial enamel caries lesions with experimental light curing resins. *Dent Mater J*, 2007a; 26: 582-588
- Paris S, Meyer-Lueckel H, Cölfen H, Kielbassa AM: Penetration coefficients of commercially available and experimental composites intended to infiltrate enamel carious lesions. *Dent Mater*, 2007b; 23: 742-748
- Paris S, Meyer-Lueckel H, Mueller J, Hummel M, Kielbassa AM: Progression of sealed initial bovine enamel lesions under demineralizing conditions in vitro. *Caries Res*, 2006; 40: 124-9
- Polydorou O, Hammad M, König A, Hellwig E, Kümmerer K: Release of monomers from different core build-up materials. *Dent Mater*, 2009; 25: 1090-1095

Rathbun MA, Craig RG, Hanks CT, Filisko FE: Cytotoxicity of a BIS-GMA dental composite before and after leaching in organic solvents. *J Biomed Mater Res*, 1991; 25: 443-457

Reis AF, Giannini M, Lovadino JR, Ambrosano GM: Effects of various finishing systems on the surface roughness and staining susceptibility of packable composite resins. *Dent Mater*, 2003; 19: 12-18

Robinson C, Brookes SJ, Kirkham J, Wood SR, Shore RC: In vitro studies of the penetration of adhesive resins into artificial caries-like lesions. *Caries Res*, 2001; 35: 136-141

Rode KM, Kawano Y, Turbino ML: Evaluation of curing light distance on resin composite microhardness and polymerization. *Oper Dent*, 2007; 32: 571-578

Rueggeberg F, Tamareselvy K: Resin cure determination by polymerization shrinkage. *Dent Mater*, 1995; 11: 265-268

Ruyter IE, Oysaed H: Composites for use in posterior teeth: composition and conversion. *J Biomed Mater Res*, 1987; 21: 11-23

Samuelsen JT, Dahl JE, Karlsson S, Morisbak E, Becher R: Apoptosis induced by the monomers HEMA and TEGDMA involves formation of ROS and differential activation of the MAP-kinases p38, JNK and ERK. *Dent Mater*, 2006; 23: 34-39

Santerre JP, Shajii L, Leung BW: Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit. Rev. Oral Biol Med*, 2001; 12: 136-161

Schafer TE, Lapp CA, Hanes CM, Lewis JB, Wataha JC, Schuster GS: Estrogenicity of Bisphenol A and Bisphenol A Dimethacrylate in vitro. *J Biomed Mater Res*, 1999; 45: 192-197

Schiel JE, Hage DS: Kinetic studies of biological interactions by affinity chromatography. *J Sep Sci*, 2009; 32: 1507-1522

Schmalz G: The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. *Eur J Oral Sci*, 1998; 106: 696-706

Schmalz G: Die biologische Wirkung von Monomeren zahnärztlicher Komposite: Charakterisierung induzierter Genmutationen in vitro und molekulare Analyse HPRT-defizienter V79-Zellen. Habilitationsschrift 1997

Schmalz G, Schmalz C: Toxicity tests on dental filling materials. *Int Dent J*, 1981; 31: 185-192

Schweikl H, Hartmann A, Hiller KA, Spagnuolo G, Bolay C, Brockhoff G: Inhibition of TEGDMA and HEMA-induced genotoxicity and cell cycle arrest by N-Acetylcysteine. *Dent Mater*, 2006; 23: 688-695

Schweickl H, Hiller KA, Bolay C, Kreissl M, Kreismann W, Nusser A: Cytotoxic and mutagenic effects of dental composite materials. *Biomaterials*, 2005a; 26: 1713-1719

Schweickl H, Altmannberger I, Hanser N, Hiller KA, Bolay C, Brockhoff G: The effect of triethylene glycol dimethacrylate on the cell cycle of mammalian cells. *Biomaterials*, 2005b; 26: 4111-4118

Schweickl H, Schmalz G, Spruss T: The induction of micronuclei in vitro by unpolymerized resin monomers. *J Dent Res*, 2001; 80: 1615-1620

Schweickl H, Schmalz G: Triethylene glycol dimethacrylate induces large deletions in the hprt gene of V79 cells. *Mutat Res*, 1999; 438: 71-78

Schweickl H, Schmalz G, Rackebrandt K: The mutagenic activity of unpolymerized resin monomers in *Salmonella typhimurium* and V79 cells. *Mutat Res*, 1998; 415: 119-130

Schweickl H, Schmalz G: Glutaraldehyde-containing dentin bonding agents are mutagens in mammalian cells in vitro. *J Biomed Mater Res*, 1997; 36: 284-288

Schweickl H, Schmalz G, Göttke C: Mutagenic activity of various dentine bonding agents. *Biomaterials*, 1996; 17: 1451-1456

Schweickl H, Schmalz G, Bey B: Mutagenicity of dentin bonding agents. *J Biomed Mater Res*, 1994; 28: 1061-1067

Spagnuolo G, D'Antò V, Cosentino C, Schmalz G, Schweickl H, Rengo S: Effect of N-Acetyl-L-Cysteine on ROS production and cell death caused by HEMA in human primary gingival fibroblasts. *Biomaterials*, 2006; 27: 1803-1809

Spagnuolo G, Galler K, Schmalz G, Cosentino C, Rengo S, Schweickl H: Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase amplifies TEGDMA induced apoptosis in primary human pulp cells. *J Dent Res*, 2004a; 83: 703-707

Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W: Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *J Dent*, 1998; 26: 137-145

Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W: Study on the residual monomer contents of different light curing hybrid composite resins. *Dtsch Zahnärztl Z*, 1991; 46: 471-475

Stanislowski L, Lefeuvre M, Bourd K, Soheili-Majd E, Goldberg M, Perianin A: TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species. *J Biomed Mater Res*, 2003; A66: 476-482

Sun ZL, Fang DN, Wu XY, Ritchie HH, Bègue-Kirn C, Wataha JC, Hanks CT, Butler WT: Expression of dentin sialoprotein (DSP) and other molecular determinants by a new cell line from dental papillae, MDPC-23. *Connect Tissue Res*, 1998; 37: 251-261

Theilig C, Tegtmeier Y, Leyhausen G, Geurtsen W: Effects of BisGMA and TEGDMA on proliferation, migration, and tenascin expression of human fibroblasts and keratinocytes. *J Biomed Mater Res*, 2000; 53: 632-639

Trummler A, Weiss V, Müller D, Garcia-Godoy F, van Waes H: Kariesprophylaxe. Studie über Fissurenversiegelung. *Zahnmedizin*, 2001; 16: 342-346

Tschoppe P, Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H: Evaluation of the remineralizing capacities of modified saliva substitutes in vitro. *Arch Oral Biol*, 2009; 54: 810-816

Volk J, Engelmann J, Leyhausen G, Geurtsen W: Effects of three resin monomers on the cellular glutathione concentration of cultured human gingival fibroblasts. *Dent Mater*, 2006; 22: 499-505

Wataha JC, Rueggeberg FA, Lapp CA, Lewis JB, Lockwood PE, Ergle JW, Mettenberg DJ: In vitro cytotoxicity of resin-containing restorative materials after aging in artificial saliva. *Clin Oral Investig*, 1999; 3: 144-149

Wennberg A, Mjör IA, Hensten-Pettersen A: Biological evaluation of dental restorative materials - a comparison of different test methods. *J Biomed Mater Res*, 1983; 17: 23-36

Yap AU, Han VT, Soh MS, Siow KS: Elution of leachable components from composites after LED and halogen light irradiation. *Oper Dent*, 2004; 29: 448-453



## 11. Anhang

### 11.1. Materialliste

Material	Hersteller	Inhaltstoffe	Menge
Icon	DMG, Hamburg, Deutschland	Methacrylat basierte Harzmatrix (TEGDMA) Initiatoren Additiva	k.A. k.A. k.A.
Total Etch Control (Teco)	DMG, Hamburg, Deutschland	Methacrylat basierte Harzmatrix (G-1,3-DMA) Initiatoren Additiva Pigmente	k.A. k.A. k.A. k.A.
Helioseal	Ivoclar Vivadent, Liechtenstein, Liechtenstein	BisGMA TEGDMA Titandioxid Katalysatoren Stabilisatoren	} > 97 Gew.% 2 Gew.% < 1 Gew.% < 1 Gew.%
Delton FS+	Dentsply DeTrey, Konstanz, Deutschland	BisGMA TEGDMA Barium-Aluminium- Fluoroborat-Silikat-Glas Titandioxid Natriumfluorid Katalysatoren Stabilisatoren	k.A. k.A. k.A. k.A. k.A. k.A. k.A.

EcuSphere Carat	DMG, Hamburg, Deutschland	Methacrylat basierte Harzmatrix (G-1,3-DMA) Bariumglas Katalysatoren Additiva Pigmente	k.A.  77 Gew.% k.A. k.A. k.A.
-----------------	------------------------------	---	--

- Mat. 1 Acetonitril > 99 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 2 Calciumdichlorid > 90 % wasserfrei gepulvert, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 3 Dentalsekundenkleber, Multident, Berlin, Deutschland
- Mat. 4 Ethanol 96 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 5 HPLC-Anlage LCMS QP8000 alpha, Shimadzu, Kyoto, Japan
- Mat. 6 Kaliumchlorid 99,5 – 100 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 7 Kaliumhydrogenphosphat 98 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 8 Kaliumhydroxid 85 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 9 Kühltisch KT16RE21, Siemens, München, Deutschland
- Mat. 10 Methylhydroxybenzoat 98 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 11 Milchsäure 90 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 12 pH-Meter GMH 3510, Greisinger electronic, Regenstauf, Deutschland
- Mat. 13 Phosphorsäuregel 37 %, Multident, Berlin, Deutschland
- Mat. 14 Poliermaschine Phoenix Alpha, Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 15 Polymerisationslampe Ortholux Luminous, 3M Espe, Neuss, Deutschland
- Mat. 16 Probengläschen, Neolab, Heidelberg, Deutschland
- Mat. 17 Salzsäure 10 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 18 Schleifpapier Körnung 600, 800, 1200, Exakt, Norderstedt, Deutschland

- Mat. 19      Software LCMS Solution PostRun, Shimadzu, Kyoto, Japan
- Mat. 20      Origin, OriginLab Corporation, Northampton, USA
- Mat. 21      Software SPSS 11.5.1, SPSS GmbH, München, Deutschland
- Mat. 22      Speichelersatzmittel Saliva natura, Parnell Pharmaceuticals, San Rafael,  
USA
- Mat. 23      Thymol > 99 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 24      Trepanbohrer, Feinlabor der Charité, Berlin, Deutschland
- Mat. 25      Wärmeschrank Venticell, MMM Medcenter, München, Deutschland
- Mat. 26      Weithalsflaschen 750 ml, Merck, Darmstadt, Deutschland

## **11.2. Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. H. Meyer-Lückel für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Unterstützung während der Bearbeitung und die Beratung bei der statistischen Auswertung.

Herrn Dr. C. Hartwig danke ich für die freundliche und hilfreiche Betreuung während der Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Einen nicht minderen Dank möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Börner für die Bereitstellung der HPLC-Anlage und seine Betreuung und fachkundige Kompetenz während der Messungen aussprechen.

Ferner bedanke ich mich bei Frau J. Brandt und Herrn T. Schwemmer für die Unterstützung bei der Auswahl des geeigneten Prüfverfahrens und der Durchführung der Tests sowie bei Herrn R. Toll für die Hilfe bei der Herstellung der Proben.

Für die Bereitstellung eines Teils der Prüfmaterialien möchte ich der Firma DMG recht herzlich danken.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie für die stetige Unterstützung und Beratung bedanken.

### **11.3. Curriculum vitae**

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

#### **11.4. Publikationen der vorliegenden Arbeit**

Wesentliche Teile dieser Dissertationsschrift wurden in Form eines Abstraktes publiziert:

*Meyer-Lückel, H., Gurle, J., Hartwig, C., Börner, H., Paris, S.*

Elution von Monomeren aus einem Infiltranten im Vergleich zu anderen Dentalmaterialien.

Wissenschaftliches Programm der 25. Jahrestagung der DGZ, Autoreferate-Band (ISBN 978-3-86611-454-8), Kurzvortrag 20, Seite 60, 2011

Die Originalarbeit wird zurzeit fertig gestellt.

### **11.5. Erklärung an Eides statt**

„Ich, Julia Gurle, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: *Elution von Monomeren aus einem Infiltranten im Vergleich zu verschiedenen Dentalmaterialien 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.“

Cottbus, 25.07.2011