

Aus dem Institut für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Präventivmedizin

der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Kunststoffinfiltration natürlicher approximaler kariöser Läsionen
unterschiedlicher Krankheitsstadien *in vitro***

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Andrea Büchting
aus Berlin

Datum der Promotion: 25.10.13

Inhaltsverzeichnis

1	Abstract (deutsch)	1
2	Abstract (english)	2
3	Einleitung	3
4	Literaturübersicht.....	4
4.1	Karies	4
4.1.1	Definition des Begriffs Karies	4
4.1.2	Ätiologie und Pathogenese der Karies	4
4.1.3	Histologie der Schmelzkaries.....	6
4.1.4	Histologie der Dentinkaries	7
4.1.5	Epidemiologie der Karies	9
4.1.6	Diagnostik der Approximalkaries	10
4.2	Therapieplanung, -entscheidung und Kariesmanagement	12
4.3	Neuartige Therapiemöglichkeiten approximaler Karies.....	15
5	Fragestellung.....	19
6	Material und Methode	20
6.1	Probenzähne.....	20
6.2	Herstellung der Modelle	21
6.3	Konditionierung und Infiltration	22
6.4	Herstellung der Dünnschliffe	23
6.5	Konfokalmikroskopische Untersuchung	24
6.6	Vermessung der Proben anhand läsionsspezifischer Parameter	25
6.7	Statistische Auswertung	29
7	Ergebnisse.....	30
7.1	Allgemeine Auswertung	30
7.2	Qualitative Auswertung der konfokalmikroskopisch erzeugten Bilder	31

7.3	Quantitative Auswertung.....	33
7.3.1	Läsionsdimensionen.....	33
7.3.2	Dimensionen der Infiltration und Füllung	34
7.3.3	Infiltration demineralisierter Bereiche ($P\%_{demin}$)	36
7.3.4	Füllung der Kavitationen ($Fü\%_{kav}$).....	37
7.3.5	Infiltration und Füllung der Läsion ($InfF\%_{gesamt}$)	38
8	Diskussion	40
8.1	Diskussion von Material und Methode	40
8.1.1	Humane natürliche approximale Läsionen	40
8.1.2	Applikation des Infiltranten	41
8.1.3	Schnitttechnik	42
8.1.4	Visualisierung der für die Studie relevanten Bereiche im Zahnschmelz ..	42
8.1.5	Vermessung und Auswertung	43
8.2	Diskussion der Ergebnisse	44
9	Schlussfolgerungen.....	46
10	Literaturverzeichnis	47
11	Anhang.....	54
11.1	Materialliste	54
11.2	Danksagung	56
11.3	Curriculum vitae	57
11.4	Publikation der vorliegenden Arbeit	59
12	Eidesstattliche Versicherung.....	60

1 Abstract (deutsch)

EINLEITUNG: In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, dass die Kunststoffinfiltration die Progression approximaler kariöser Läsionen, welche keine Kavitation aufweisen, verhindern kann. Ungewissheit bestand aber darüber, ob auch eine Infiltration späterer Läsionsstadien möglich ist. Daher war das Ziel der vorliegenden In-vitro-Studie die Infiltration anhand approximaler kariöser Läsionen (n=72) unterschiedlicher Krankheitsstadien kategorisiert nach dem International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) zu untersuchen.

METHODIK: Extrahierte humane Molaren und Prämolaren, welche approximale Läsionen mit und ohne Kavitation (ICDAS 2 bis 5) aufwiesen, wurden mit 15%igem Salzsäuregel angeätzt und mit einem Infiltranten (Icon, Kariesinfiltrant approximal, DMG; Hamburg, Deutschland) nach den Herstellerangaben behandelt. Jede Läsion wurde in drei Teile geteilt (Dünnschliffe) und mit Hilfe einer Dual-Fluoreszenz-Färbetechnik und konfokaler Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM) analysiert. Die Ausdehnung der demineralisierten Läsionsbereiche, der Läsionsbereiche, die eine Kavitation aufweisen sowie die durch Kunststoff infiltrierte Bereiche wurden gemessen. Des Weiteren wurde geprüft, ob es möglich ist, Kavitationen durch den Infiltranten aufzufüllen.

ERGEBNISSE: Die demineralisierten Bereiche wurden zu 73 % bis 100 % infiltriert. Die Kavitationen konnten dagegen kaum gefüllt (0-5 %) werden. Bei Zähnen, welche ICDAS-5-Läsionen aufwiesen, wurde ein signifikant geringerer Anteil der Läsion infiltriert bzw. gefüllt als bei ICDAS-2 oder 3-Läsionen.

SCHLUSSFOLGERUNGEN: Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass unter Laborbedingungen der getestete Infiltrant die meisten Bereiche des demineralisierten Schmelzes zwar penetriert, aber nicht in der Lage ist, Kavitationen aufzufüllen, wodurch die Wirksamkeit der Kariesinfiltration, besonders bei tieferen Kavitationen vermindert sein könnte.

2 Abstract (english)

INTRODUCTION: Resin infiltration provides a treatment option for non-cavitated proximal caries lesions. Although further demineralisation of early non-cavitated lesions can be hampered by this treatment, it is uncertain; whether caries infiltration of cavitated lesions is possible. Thus, this in vitro study aimed to evaluate the performance of resin infiltration regarding proximal caries lesions (n=72) differing in International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) codes.

METHODS: In virtue of the manufacturer's instructions extracted human molars and premolars showing proximal caries lesions with and without cavitations (ICDAS codes 2-5) were etched with 15 % hydrochloric acid gel and resin infiltrated (Icon, Caries Infiltrant proximal, DMG, Germany). Three sections out of each lesion were prepared and analyzed using a dual fluorescence staining technique and confocal microscopy. Furthermore, dimensions of the demineralized and cavitated lesions areas as well as resin infiltrated and resin filled parts were determined.

RESULTS: Demineralized parts of the lesions showed resin infiltration from 73 % up to 100 %, whereas cavities were hardly filled (0-5 %). Significantly lower percentage infiltration/filling of lesions showing ICDAS Code 5 could be observed in comparison to those with codes 2 and 3.

CONCLUSION: Most parts of demineralized enamel can be penetrated by the tested Infiltrant under in vitro conditions. Nevertheless, cavities' filling could not be achieved by the tested product. Therefore, efficacy of caries infiltration, particularly in regard of lesions with larger cavitations, might be affected negatively.

3 Einleitung

Bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen werden häufig oberflächliche kariöse Läsionen beobachtet, welche von den approximalen Zahnflächen ausgehen (Mejàre et al. 1998). Diese Flächen sind sowohl bei der klinischen Untersuchung schwer zu beurteilen als auch für eine restaurative Behandlung schwer zugänglich.

Um an die erkrankten approximalen Areale zu gelangen und diese mit einer konventionellen, meist zweiflächigen Füllung zu versorgen, muss nicht selten der Verlust relativ großer Anteile des gesunden Zahnschmelzes in Kauf genommen werden. Aufgrund dieses ungünstigen Verhältnisses ist es erstrebenswert, den Zeitpunkt einer invasiven Behandlung so lange wie möglich zeitlich hinauszuzögern und das Voranschreiten der Läsion mit non- oder mikro-invasiven Therapiestrategien zu verhindern (Meyer-Lückel et al. 2012a).

Mit der Kariesinfiltration besteht die Möglichkeit initiale kariöse Läsionen mikro-invasiv zu behandeln. Hierbei werden die Porositäten innerhalb der Läsion durch einen niedrig viskösen lichthärtenden Kunststoff (Infiltrant) penetriert. Somit wird innerhalb der kariösen Läsion eine Diffusionsbarriere für Säuren und niedermolekulare Kohlenhydrate etabliert, wodurch eine Kariesprogression verhindert werden kann (Meyer-Lückel et al. 2012b).

Um die Grenzen des Indikationsbereiches der Kariesinfiltration exakt zu definieren, ist es notwendig, die Wirksamkeit der Infiltration bei unterschiedlichen Krankheitsstadien zu untersuchen. Aufgrund der schwer einsehbaren Lage approximaler Läsionen, kann deren Ausdehnung in der Regel nur durch Bissflügelröntgenaufnahmen beurteilt werden. Diese Röntgenaufnahmen liefern jedoch besonders bei initialen kariösen Läsionen keine verlässliche Aussage über die Oberflächenbeschaffenheit einer Läsion. Somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch Läsionen, bei denen bereits Zahnhartsubstanzdefekte (Kavitationen) eingetreten sind, durch die Kariesinfiltration behandelt werden. Alle bisher durchgeführten In-vitro-Studien beschränken sich jedoch auf die Infiltration von Läsionen, welche keine Kavitation aufweisen.

Das Ziel dieser Studie war es daher, das Penetrationsverhalten eines Infiltranten *in vitro* bei approximalen, kariösen Läsionen mit unterschiedlichen Krankheitsstadien zu untersuchen.

4 Literaturübersicht

4.1 Karies

4.1.1 Definition des Begriffs Karies

Der Begriff dentale Karies wird verwendet, um die Symptome einer lokalisierten chemischen Auflösung der Zahnoberfläche zu beschreiben, welche durch metabolische Ereignisse im Biofilm verursacht werden, der die Zahnoberfläche bedeckt (Fejerskov et al. 2008a). Die Zerstörung der Zahnoberfläche kann sowohl den Schmelz, das Dentin als auch das Zement betreffen.

Kariöse Läsionen entwickeln sich häufig an relativ geschützten Flächen des Gebisses, dort wo sich ein potentiell pathogener Biofilm entwickeln kann. Diese so genannten Prädilektionsstellen umfassen hauptsächlich die Grübchen, die Fissuren der okklusalen Flächen, proximale Flächen unterhalb der Kontaktpunkte und die zervikalen Zahnflächen (Hellwig et al. 2007).

4.1.2 Ätiologie und Pathogenese der Karies

Eine Voraussetzung für die Entstehung von Karies ist die Etablierung eines Biofilms auf der Zahnoberfläche (Kidd und Fejerskov 2004). Auf einer gereinigten Zahnoberfläche bildet sich zunächst aus Proteinen des Speichels eine azelluläre unstrukturierte Schutzschicht, welche als Pellikel bezeichnet wird (Hellwig et al. 2007). Nach wenigen Stunden erfolgt dessen Besiedelung durch Pionierbakterien wie Kokken (z.B. *Streptococcus mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius*) und Aktinomyzeten, welche zusammen eine Mikroflora etablieren. Diese ermöglicht mit zunehmendem Wachstum die Ansiedelung und Vermehrung von Bakterien wie z. B. *S. mutans* und Laktobazillen, die speziellere Ansprüche an ihr Habitat stellen und eine Rolle bei der Kariesentstehung spielen (Hellwig et al. 2007). Der so entstehende Zahnbelag gewinnt durch die Vermehrung und Anlagerung von Bakterien und mit Hilfe von unspezifischen (z. B. van- der Waals-Bindungen) sowie spezifischen Bindungen (z. B. Adhäsine) an Dicke und Struktur. Die in dem Biofilm bzw. der Plaque befindliche mikrobielle Gemeinschaft führt zu einem vielfältigeren und komplexeren Stoffwechselgeschehen als es durch einzelne Bakterienarten möglich wäre (Marsh und Martin 2003).

Die heute weithin akzeptierte ökologische Plaquehypothese (Abb. 4-1) besagt, dass es zu einer Verschiebung des ökologischen Gleichgewichtes in der Mikroflora der Plaque kommt. Pathogene (z. B. häufiger Konsum fermentierbarer Kohlenhydrate) und protektive Faktoren (Wirtsabwehr, Mundhygiene, Speichel, Zufuhr von Fluoriden und Kalziumionen) beeinflussen diese Mikroflora. Ändern sich die lokalen Umweltbedingungen, kann sich das Gleichgewicht innerhalb des Biofilms zu Gunsten der pathogenen Mikroorganismen verschieben (Marsh und Martin 2003). Diese können aus niedrigmolekularen Kohlenhydraten organische Säuren synthetisieren und dem daraus resultierenden niedrigen pH-Wert standhalten. Das Absinken des pH-Wertes nimmt Einfluss auf die Zahnhartsubstanzen. Da die Apatitverbindungen – die anorganischen Grundbausteine der Zahnhartsubstanzen – säurelöslich sind, kommt es zum Mineralverlust an der Zahnoberfläche im Sinne einer Demineralisation. Besonders die Frequenz der Substratzufuhr hat einen Einfluss auf den pH-Wert im Speichel und in der Plaque. Je klebriger und kohlenhydratreicher die Kost ist, desto länger bleibt sie auf der Zahnoberfläche haften und liefert somit kontinuierlich das Substrat für die kariogenen Mikroorganismen. Die Abb. 4-1 stellt die ätiologischen Faktoren und deren Einfluss auf den Biofilm sowie die De- bzw. Remineralisation dar.

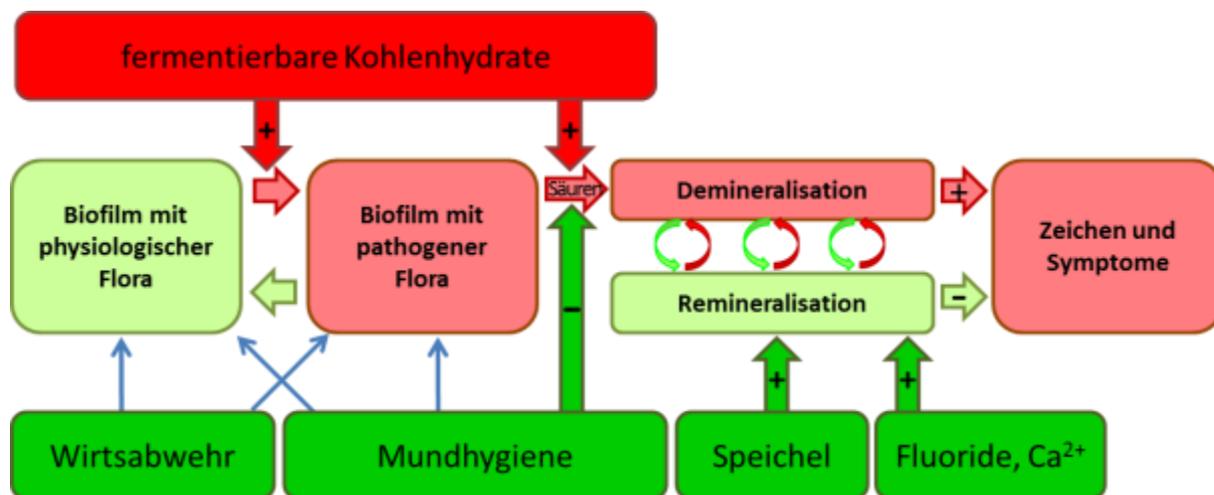


Abb. 4-1: Modell zur Kariesätiologie (Paris und Meyer-Lückel 2012), welches sich an der ökologischen Plaquehypothese orientiert. Durch die häufige Zufuhr von fermentierbaren Kohlenhydraten wird die Entstehung eines Biofilms mit pathogener Flora begünstigt. Die Bakterien dieses Biofilms sind in der Lage, Säuren zu bilden und damit eine Demineralisation der Zahnhartsubstanzen hervorzurufen. Hält dieser Prozess über eine ausreichend lange Zeit an, werden die Zeichen und Symptome dieses Prozesses im Sinne von Karies sichtbar.

Neben den o. g. direkten Faktoren gibt es auch indirekte Faktoren wie z.B. Bildung, sozioökonomischer Status, Einkommen, Genetik, Alter der Patienten und zahnärztliche Interventionen (Paris und Meyer-Lückel 2012), welche Einfluss auf die Ätiopathogenese der Karies haben. Zudem weist der Zahnschmelz individuelle Unterschiede wie Mikrodefekte und Substanzanomalien auf, welche die Plaqueretention fördern können.

Zahnkaries wird durch das Zusammenwirken potentiell pathogener Mikroorganismen und protektiver Faktoren verursacht. Daher spricht man von einem multifaktoriellen Prozess, welcher durch o. g. Faktoren beeinflusst wird und sowohl stagnieren als auch voranschreiten kann (Hellwig et al. 2007).

4.1.3 Histologie der Schmelzkaries

Initiale Schmelzläsionen sind durch einen Mineralverlust des Schmelzes unter einer scheinbar intakten Oberfläche gekennzeichnet. Mit Hilfe verschiedener Imbibitionsmedien können diese kariösen Läsionen polarisationsmikroskopisch in vier Zonen unterschieden werden (Abb. 4-2), welche sich hinsichtlich ihres Porenvolumens unterscheiden.

Die ca. 20 bis 50 µm dicke pseudointakte Oberflächenschicht ist durch ein Porenvolumen von weniger als 5 % (gesunder Zahnschmelz 0,1 %) und einen Mineralverlust von 1-10 % gekennzeichnet (Hellwig et al. 2007). Trotzdem erscheint die Oberfläche relativ intakt (Fejerskov et al. 2008b).

Unter der pseudointakten Oberfläche befindet sich der Läsionskörper, welcher den größten Mineralverlust und das größte Porenvolumen (5-25 %) (Hellwig et al. 2007) im Vergleich zu den anderen Zonen der initialen Läsion aufweist. Die Demineralisierung der Apatitkristalle erfolgt interprismatisch entlang der Schmelzprismen. Dabei entstehen Diffusionswege innerhalb der Läsion, welche Raum für weitere De- und Remineralisationen bieten (Fejerskov et al. 2008b).

Die dunkle Zone repräsentiert das Resultat von mehrfachen Demineralisations- und Repräzipitationsvorgängen (Silverstone 1973). Ein Hinweis auf diese Vorgänge ist das Vorhandensein von Kristallen mit einem größeren Durchmesser (ca. 50-100 nm) als in gesundem Zahnschmelz (ca. 40 nm) (Silverstone 1983).

Werden initiale kariöse Läsionen mit einem öligen Medium wie Chinolin, welches einen ähnlichen Brechungsindex wie Schmelz hat, imbibiert und unter einem Polarisationsmikroskop untersucht, so kann oft eine anscheinend strukturlose transluzente Zone sichtbar gemacht werden. Diese Zone wird als Zone der fortschreitenden Demineralisation (Hellwig et al. 2007) bezeichnet und ist durch eine Vergrößerung der Poren (Porenvolumen ca. 1 %) im Schmelz gekennzeichnet. (Fejerskov et al. 2008b). Trotz des Mineralverlustes und der erhöhten Porosität der initialen Schmelzläsion bleibt die Struktur des Schmelzes grundsätzlich erhalten.

Die pseudointakte Oberfläche verhindert die Wiederaufnahme von Mineralien in den darunter liegenden Läsionskörper (Larsen und Fejerskov 1989). Durch die regelmäßige Entfernung des kariogenen Biofilms von der Läsionsoberfläche und einer Minimierung der Substratzufuhr kann es jedoch zur Arretierung der Läsion im Sinne einer „Narbe“ kommen, wenn die für die Kariesprogression verantwortlichen ätiologischen Faktoren positiv beeinflusst werden können. Schreitet dagegen die Läsion bei unverändert kariogenem Milieu weiter fort, kommt es vermutlich durch Mikrotraumen (Fejerskov et al. 2008b) zum Einbruch der pseudointakten Oberfläche und zur Entstehung einer Kavitation. Läsionen, welche einen durch Karies verursachten Einbruch der Oberfläche erkennen lassen, werden in der zahnmedizinischen Fachliteratur nicht selten als „kavitierte“ Läsion bezeichnet. Dieser die Beschaffenheit der Zahnoberfläche charakterisierende Begriff wird daher im Folgenden verwendet, um eine Läsion mit Kavitation zu bezeichnen.

In einer Kavitation kann sich ein kariogener Biofilm etablieren (vgl. Kap. 4.1.2), welcher besonders bei approximalen Läsionen kaum zu entfernen ist. Daher ist die Arretierung approximaler kavitierter Läsionen häufig nicht möglich. Eine bakterielle Invasion der Läsion ist allerdings erst dann maßgeblich feststellbar, wenn die sich in der Kavitation befindliche Biomasse auf freiliegendes Dentin trifft (Kidd und Fejerskov 2004).

4.1.4 Histologie der Dentinkaries

Da selbst intakter Zahnschmelz für kleinere Moleküle permeabel ist und sich mit einer initialen kariösen Läsion die Porosität und damit die Permeabilität erhöhen, können bereits vor der Bildung einer Kavität bakterielle Toxine in die Pulpa-Dentin-Einheit eindringen. Diese reagiert darauf mit der Apposition von Reiz- oder Tertiärdentin an der

Pulpa-Dentin-Grenze (Abb. 4-2). Eine weitere Reaktion auf das Eindringen von Noxen ist die Sklerosierung des Dentins und die Abkoppelung der erkrankten Dentinareale von der nervalen und nutritiven Versorgung durch die Pulpa (Dead Tract). Diese histologischen Veränderungen dienen als Schutzmechanismus der Pulpa vor der bakteriellen Invasion.

Bleibt die pseudointakte Oberfläche einer initialen kariösen Läsion erhalten, kann auch keine maßgebliche bakterielle Invasion erfolgen. Es besteht die Möglichkeit der Arretierung dieser Läsion nach der Entfernung der o. g. ätiologischen Faktoren (vgl. Kap. 4.1.2).

Liegt jedoch eine Schmelzkavitation vor, können in das Dentin vordringende Mikroorganismen eine lokale Auftreibung der Dentinkanälchen verursachen. Schreitet die Zerstörung der Zahnhartsubstanz weiter voran, degeneriert die Struktur des Dentins zunehmend, zerfällt bzw. verflüssigt sich im Sinne einer Nekrose (Hellwig et al. 2007). Mikroorganismen können somit ungehindert in die Zahnhartsubstanz vordringen und zur Entzündung der Pulpa führen. Im weiteren Verlauf kann es zur Ausbreitung der Entzündung auf das apikale Parodont kommen.

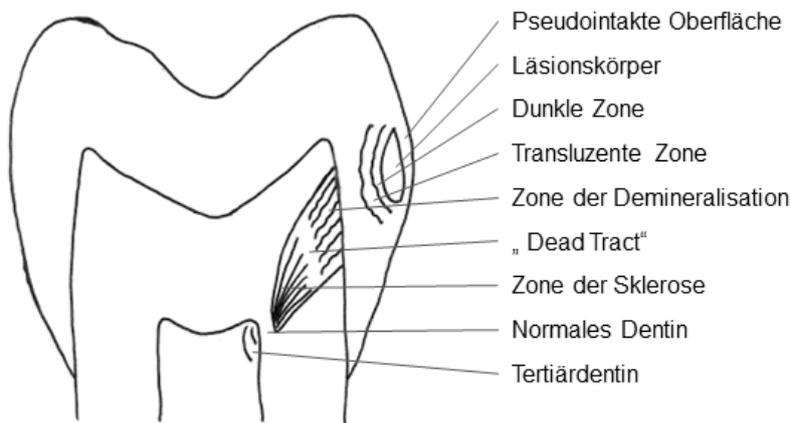


Abb. 4-2: Schematische Darstellung einer approximalen kariösen Läsion mit intakter Oberfläche (nach Schroeder 1983).

4.1.5 Epidemiologie der Karies

Obwohl die Kariesprävalenz in den vergangenen Jahren zurückgegangen ist, und aufgrund der Prophylaxemaßnahmen der Zeitpunkt des Auftretens der Läsionen sich um fünf bis zehn Lebensjahre nach hinten verschoben hat, ist Karies mit 29,7 % immer noch der häufigste Grund für die Extraktion eines Zahnes (Glockmann et al. 2011).

Das Institut der deutschen Zahnärzte (IDZ) stellte in der Vierten Deutschen Mundgesundheitsstudie (Micheelis und Hoffmann 2006) zwar einen Rückgang der Karieserfahrung aller untersuchten Kohorten (Kinder, Jugendliche, Erwachsene und Senioren) im Vergleich zur 1997 durchgeführten Vorgängerstudie fest. Dennoch ist Karies noch immer eine weit verbreitete Erkrankung, deren Behandlung sowohl die Gesundheitssysteme der entwickelten Länder als auch der sich entwickelnden Länder belastet (Sheiham 2001).

Epidemiologische Studien stützen sich zur Messung der Kariesinzidenz und –prävalenz häufig auf den DMF-T-Index. Dieser summiert die Anzahl der Zähne (**T**eeth) im bleibenden Gebiss, die zerstört (**D**ecayed), aufgrund von Karies extrahiert (**M**issing) oder gefüllt (**F**illed) wurden. Der in der o. g. deutschen Mundgesundheitsstudie erhobene DMF-T-Summenindex ergab für Kinder (Alter: 12 Jahre) einen Durchschnitt von 0,7 Zähnen, für Jugendliche (Alter: 15 Jahre) 1,8 Zähnen, für Erwachsene (Alter: 35 bis 44 Jahre) 14,5 Zähnen und für Senioren (Alter: 65 bis 74 Jahre) 22,1 Zähnen.

Da initiale nicht kavitierte Läsionen bzw. Läsionen mit Mikro kavitationen bei diesem Index nicht erfasst werden, halbiert sich die Anzahl der kariesfreien Individuen, sobald röntgenologisch diagnostizierbare Schmelzläsionen hinzugezählt werden (Poorterman et al. 1999). Großflächige kavitierte Läsionen scheinen heute seltener aufzutreten, da die regelmäßige Fluoridierung den Schmelzmantel schützt. Unter diesem können sich jedoch tiefe Dentinläsionen entwickeln, welche aufgrund des scheinbar intakten Schmelzes erst spät entdeckt werden (Sawle und Andlaw 1988).

Daher wurde mit dem International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) ein differenzierteres Einteilungssystem für die visuell-taktile Diagnostik entwickelt, welches es ermöglicht, auch Läsionen zu erfassen und zu kategorisieren, die klinisch keine Kavitationen aufweisen. Dieses System findet sowohl in der Forschung, der Epidemiologie, der klinischen Praxis als auch in der zahnmedizinischen Ausbildung Anwendung. Es wurde vom ICDAS Coordinating Committee, bestehend aus einer

internationalen Gruppe von Experten der Kariologie, der klinischen Forschung, der Zahnerhaltung, der Kinderzahnheilkunde, des Gesundheitswesens, Biologen und zahnheilkundlicher Organisationen entwickelt (International Caries Detection and Assessment System Coordinating Committee 2005). Kategorisiert werden okklusale, proximale Karies, Glattflächenkaries, Wurzelkaries und Karies an Füllungsändern. Kariöse Läsionen werden in sieben Stadien eingeteilt, welche die Oberfläche eines Zahnes von Code 0 (gesund) bis Code 6 (ausgedehnte deutliche Kavitation mit freiliegendem Dentin) charakterisieren.

Die Erfassung dieser Läsionen ist von besonderer Bedeutung, da in Industrienationen Schmelzläsionen eine höhere Prävalenz haben als Dentinkaries (Amarante et al. 1998) und diese Hinweise auf die Wirkmechanismen prophylaktischer Maßnahmen wie Fluoridierungen und Versiegelungen geben können.

4.1.6 Diagnostik der Approximalkaries

Die Herausforderung bei der Kariesdiagnostik besteht darin, nicht nur die Zeichen und Symptome der Erkrankung festzustellen, sondern auch das Ausmaß der kariösen Läsion zu kategorisieren. Kariöse Läsionen lassen sich visuell-taktil hinsichtlich ihrer Oberflächenbeschaffenheit beurteilen. Um eine proximale Läsion, welche noch keinen Einbruch der Randleiste des Zahnes aufweist, klinisch zu untersuchen, besteht die Möglichkeit den Interdentalraum mit Hilfe von kieferorthopädischen Gummiringen zu erweitern und ggf. unter Zuhilfenahme einer Lupenbrille die Oberfläche zu untersuchen. Wichtige Kriterien sind Farbe (weißlich oder braun bis schwarz), Rauigkeit (matt bzw. porös oder glänzend) und die Integrität der Oberfläche (eingebrochen oder intakt). Die taktile Untersuchung sollte vorsichtig per Sonde erfolgen, da sonst der Einbruch der Oberfläche einer initialen Läsion provoziert werden könnte.

Neben dieser visuell-taktilen Methode stehen seit den 1920er Jahren auch Bissflügelaufnahmen zur Verfügung (Raper 1925), um das Ausmaß proximaler Läsionen darzustellen und das Voranschreiten bereits vorhandener Läsionen zu beurteilen sowie den Erfolg präventiver Maßnahmen einzuschätzen. Röntgenologisch lassen sich die proximalen kariösen Läsionen in sechs Stadien (E0-D3) einteilen. Drei dieser Stadien beziehen sich auf den Schmelz (E0: keine Radioluzenz erkennbar; E1: Ausdehnung der röntgenologisch sichtbaren Läsion bis in die äußere

Schmelzhälfte; E2: Ausdehnung bis in die innere Schmelzhälfte) und die übrigen auf die Ausdehnung des röntgenologisch sichtbaren Mineralverlustes im Dentin (D1: bis äußeres Dentindrittel; D2: bis mittleres Dentindrittel; D3: bis inneres Dentindrittel). Die histologische Ausdehnung der kariösen Läsion wird jedoch röntgenologisch grundsätzlich geringer dargestellt (Hellwig et al. 2007) und daher häufig unterschätzt.

Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, mit Hilfe faser-optischer Transillumination Zähne zu untersuchen, wodurch ausgedehnte proximale Läsionen durch eine intensive Lichtquelle in Form eines dunklen Schattens sichtbar gemacht werden. Eine weitere Untersuchungsmöglichkeit stellt das Laserfluoreszenz-System dar. Dieses beruht auf der Tatsache, dass mittels einer Laserdiode angeregte Zahnschmelzsubstanz, welche durch Bakterien und deren Abbauprodukte kontaminiert ist, eine stärkere Fluoreszenz als gesunde Zahnschmelzsubstanz erzeugt.

Mit Hilfe des „International Caries Detection and Assessment Systems“ (ICDAS) kann die Kategorisierung nach folgenden klinischen Kriterien erfolgen. Die für die vorliegende Studie relevanten ICDAS–Stadien (2 bis 5) sind in Abbildung 4-3 anhand von Photographien dargestellt.

Code 0 steht für eine gesunde Zahnoberfläche. Erste sichtbare Veränderungen im Schmelz sind bei **Code 1** erkennbar. Erst nach längerem Trocknen durch Druckluft ist eine kariöse Opazität sichtbar, welche weiß oder braun ist. **Code 2**-Läsionen (Abb. 4-3, A) lassen eine ausgedehnte Veränderung im Schmelz auch bei feuchter Oberfläche erkennen. Ein initialer Einbruch der Oberfläche im Schmelz ohne sichtbares Dentin kennzeichnet die **Code 3**-Läsionen (Abb. 4-3, B), bei denen ein ausgedehnter Verlust der Integrität der Schmelzoberfläche nachweisbar ist. Ein tief liegender dunkler Schatten im Dentin mit oder ohne lokalisierten Einbruch der Schmelzoberfläche charakterisiert Läsionen des **Code 4** (Abb. 4-3, C). Diese Läsionen erscheinen als brauner, grauer oder blauer Schatten verfärbten Dentins, welcher durch die scheinbar intakte Randleiste am bukkalen oder lingualen Rand sichtbar werden kann. Sie sind häufig besser erkennbar, wenn der Zahn feucht ist. Eine Kavitation mit sichtbar exponiertem Dentin, welche in opakem oder verfärbtem, weißem oder braunem Schmelz gelegen ist wird als **Code 5**-Läsion (Abb. 4-3, D) kategorisiert. Dagegen sind **Code 6**-Läsionen durch eine noch ausgedehntere deutlich sichtbare Kavitation mit freiliegendem Dentin und Verlust der Zahnform definiert. Hierbei kann die Randleiste

eingebrochen sein. Eine solch ausgedehnte Läsion erfasst mindestens die Hälfte der Zahnfläche und kann sich bis zur Pulpa erstrecken (Abb. 4-4).

ICDAS soll eine Hilfestellung bieten, das visuelle Erscheinungsbild einer Läsion mit dessen histologischem Stadium zu korrelieren, um daraus präzise objektivierbare Entscheidungen z. B. für die Therapieplanung zu treffen.

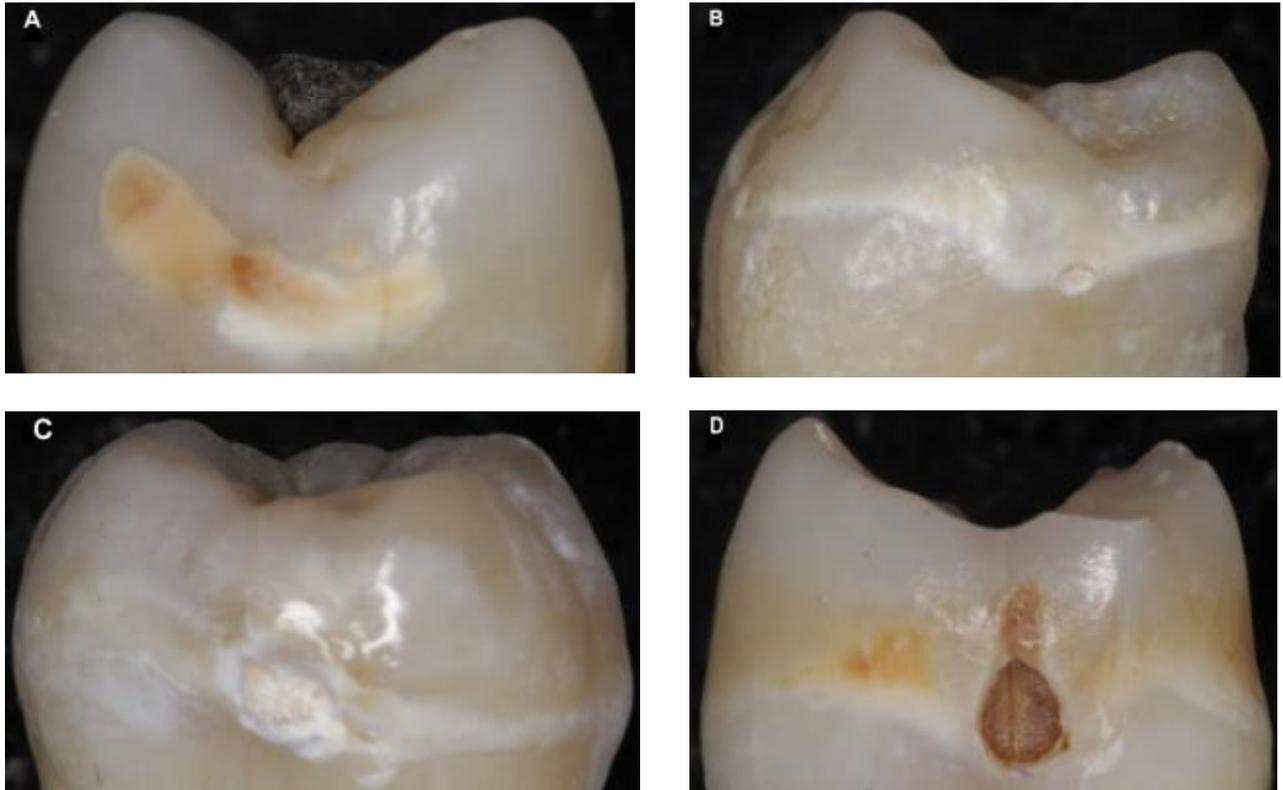


Abb. 4-3: Exemplarische Auswahl der in der vorliegenden Studie verwendeten Läsionen kategorisiert nach ICDAS: **A:** Code 2, **B:** Code 3, **C:** Code 4, **D:** Code 5

4.2 Therapieplanung, -entscheidung und Kariesmanagement

Nur wenige Individuen können als „kariesfrei“ bezeichnet werden, bezieht man initiale Schmelzläsionen sowie in das Dentin fortgeschrittene nicht kavitierte Läsionen in die Betrachtung mit ein (Pitts 2004). Grundsätzlich sind die radiologische Ausdehnung, die Integrität der Oberfläche der approximalen Läsion und die Wahrscheinlichkeit der

Kariesprogression von entscheidender Bedeutung für die Therapieentscheidung (Meyer-Lückel et al. 2012a).

Klassischerweise stehen zur Therapie der Karies non-invasive und invasive Maßnahmen zur Verfügung. Die Progression des kariogenen Prozesses initialer Schmelzläsionen kann durch die Verbesserung der Mundhygiene, die Ernährungslenkung und durch Fluoridierungsmaßnahmen aufgehalten werden (Abb. 4-4). Diese non-invasiven Therapieoptionen sind allerdings in hohem Maße von der Adhärenz des Patienten abhängig. Ist der Patient nicht in der Lage die ätiologischen Faktoren positiv zu beeinflussen, schreitet die Läsion ungehindert voran. Um das Voranschreiten der Läsion zu verhindern und auch aus Sorge vor einer potentiellen Unterbehandlung, werden in der Praxis nicht selten auch geringer ausgedehnte kariöse Läsionen (E2-D1) minimal-invasiv mittels einer meist zweiflächigen Restauration behandelt. Hierbei müssen jedoch vergleichsweise große Areale gesunder Zahnhartsubstanz geopfert werden, um an die erkrankten Bereiche approximaler Läsionen zu gelangen.

Eine vornehmlich invasive Strategie zur Behandlung dentaler Erkrankungen führt zu einer „Restaurationsspirale“ (Sheiham 2002): Kleine Restaurationen müssen nach einigen Jahren durch immer größere, komplexere ersetzt werden, da sowohl die Mundbeständigkeit der Füllungsmaterialien als auch die individuellen Fähigkeiten bei der Füllungsanfertigung begrenzt sind (Elderton 1993). Je komplexer die Restaurationen, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit von Zahnschmerz, Wurzelkanalbehandlung und Extraktion. Mit der Insertion einer Füllung steigt die Wahrscheinlichkeit eines späteren Zahnverlustes deutlich (Elderton 1993; Luan et al. 2000). Daher ist es essentiell, den Zeitpunkt für die erste invasive Behandlung streng abzuwägen und ggf. mit geeigneten non- oder mikro-invasiven Methoden zu verzögern oder wenn möglich völlig zu verhindern (Meyer-Lückel et al. 2012a).

Die relativ neuartigen mikro-invasiven Therapieansätze (vgl. Kap. 4.3) verfolgen das Ziel, die Kariesprogression initialer kariöser Läsionen durch die Modifikation der Zahnoberfläche (z. B. durch Versiegelung oder Infiltration) zu beeinflussen, ohne dabei nennenswerte Verluste der Zahnhartsubstanzen hervorzurufen.

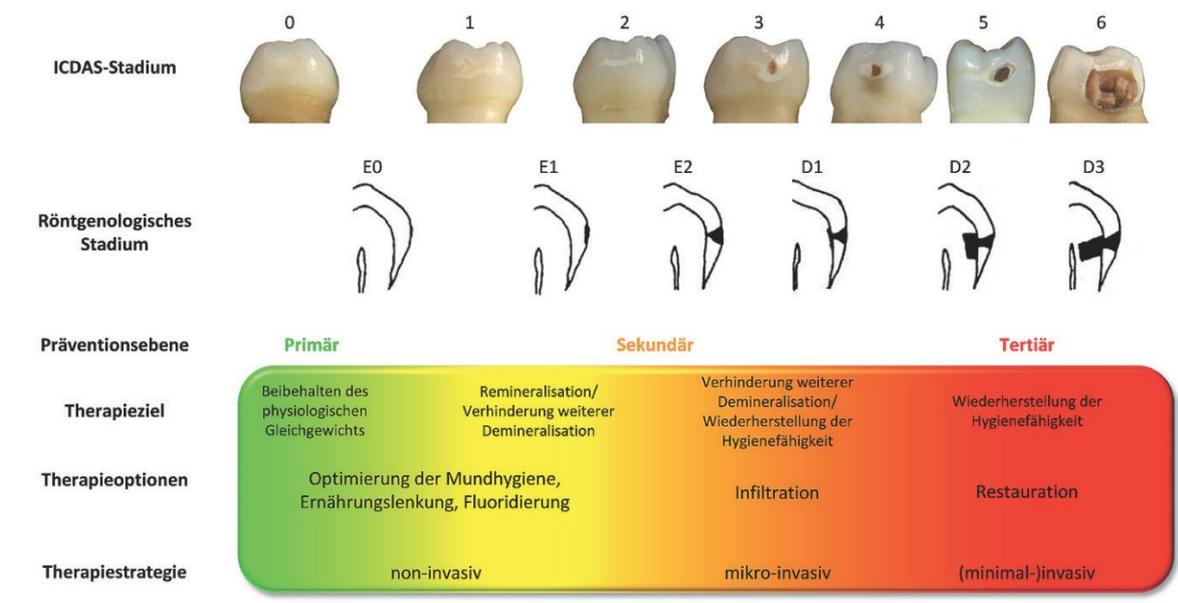


Abb. 4-4: Die Betrachtung der Approximalkaries als ein Kontinuum verdeutlicht schematisch die Zusammenhänge sowohl zwischen klinischem als auch röntgenologischem Stadium und zeigt die verschiedenen Interventionsmöglichkeiten und Präventionsebenen auf (Meyer-Lückel et al. 2009).

Die Wahl der geeigneten Therapiestrategie stellt die behandelnde Zahnärztin bzw. den behandelnden Zahnarzt vor eine Herausforderung, da es keine allgemeingültigen internationalen Empfehlungen gibt, ab welchem Läsionsstadium eine restaurative Behandlung indiziert ist.

In der Praxis unterscheiden sich die Therapieplanungen durchaus international und individuell abhängig von Alter, Fortbildungsgrad und Arbeitsumständen der Zahnärzte. Die in eigener Praxis niedergelassenen Zahnärzte ergreifen eher restaurative Maßnahmen als Zahnärzte, welche in öffentlichen Gesundheitseinrichtungen (Public Dental Health Service) arbeiten (Mejäre et al. 1999). Des Weiteren konnte die Tendenz beobachtet werden, dass jüngere BehandlerInnen länger mit dem invasiven Eingriff warten (Doméjean-Orliaguet et al. 2004). Die alleinige Restauration zerstörter Zahnoberflächen gilt heute nicht mehr als kurative Kariestherapie. Vielmehr sollte der Kariesprozess in Zusammenarbeit mit dem Patienten (Pitts 2004) und angepasst an dessen Alter und Lebensumstände überwacht werden.

4.3 Neuartige Therapiemöglichkeiten approximaler Karies

Die Anfang des 20. Jahrhunderts von G. V. Black und M. H. Webb aufgestellten Regeln zum Kavitätdesign („extention for prevention“) verlieren durch die heute weit verbreitete Anwendung der Adhäsivtechnik zunehmend an Bedeutung, da durch die mikroretentive Verankerung die Anfertigung filigranerer Restaurationen mit optimierter Randdichtigkeit möglich geworden ist. Mit Hilfe der Adhäsivtechnik gelingt es auch, kariesanfällige okklusale Fissuren und Grübchen mikro-invasiv zu versiegeln (Eggertson 2012). Das Prinzip der Fissurenversiegelung beruht auf der Nivellierung plaqueretentiver Furchen der Zahnoberfläche mittels eines additiv aufgetragenen Versieglers und damit der Etablierung einer Diffusionsbarriere für kariogene Säuren. Neben der präventiven Versiegelung gesunder Fissuren wird auch die therapeutische Versiegelung von Fissuren mit aktiven initialen kariösen Läsionen empfohlen (Griffin et al. 2008, Eggertson 2012), da diese die Progression nicht kavittierter Läsionen verhindern können (Oong et al. 2008). Der Erfolg dieser Maßnahme führte zu Bestrebungen, die Versiegelung initialer okklusaler kariöser Fissuren auch auf approximale Läsionen zu übertragen (Martignon und Ekstrand 2012).

Hierfür wurden die folgenden zwei additiven Verfahren entwickelt, bei welchen Materialien eingesetzt werden, die auch in der Füllungstherapie angewendet werden: die Versiegelungstechnik nach Phosphorsäureätzung (Ekstrand und Martignon 2004; Martignon et al. 2006) und die Applikation einer dünnen Polyurethanfolie mittels eines Adhäsivs (Schmidlin et al. 2006; Alkilzy et al. 2009; Alkilzy et al. 2011). Beide Verfahren haben die oberflächliche Abdeckung der Zahnoberfläche als Schutz vor einer weiteren Kariesprogression zum Ziel (Abb. 4-5, a). Es ist jedoch denkbar, dass sich diese additiv aufgetragene Versiegelung von der Zahnoberfläche teilweise oder unbemerkt lösen und der kariöse Prozess ungehindert voranschreiten kann. Darüber hinaus ist für die klinische Anwendung eine mindestens 2-tägige Zahnseparation notwendig, um die für die Versiegelung notwendigen Materialien zu applizieren (Martignon und Ekstrand 2012).

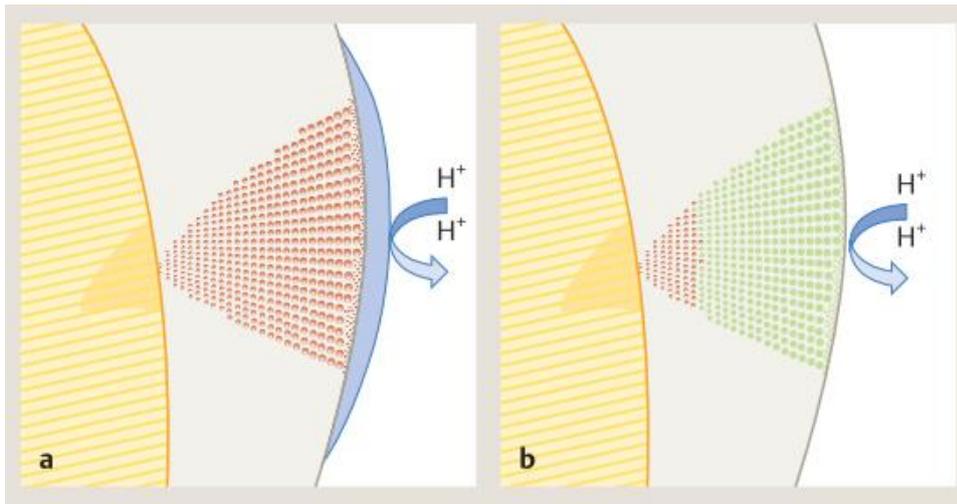


Abb. 4-5: Schematische Darstellung des Unterschiedes zwischen Versiegelung (a) und Infiltration (b) approximaler Zahnflächen. Im Gegensatz zur Versiegelung soll durch die Infiltration eine Diffusionsbarriere innerhalb der Läsion erzielt werden (Meyer-Lückel et al. 2012a).

Ein anderer Therapieansatz verfolgt das Ziel die Diffusionsbarriere für organische Säuren innerhalb der Läsion zu erzeugen, da die Demineralisation des Zahnschmelzes zu einer Veränderung der Schmelzstruktur führt (vgl. Kap. 4.1.3). Hierbei entsteht ein poröser für die Penetration eines flüssigen Stoffes geeigneter Raum. Bereits in den 1970er Jahren wurde die Möglichkeit der Penetration von flüssigen Kunststoffen in Schmelzkaries untersucht (Davila et al. 1975). Die Progression künstlicher Läsionen konnte nach der Applikation eines niedrig-viskosen Kunststoffes (Resorcinol-Formaldehyd) verhindert werden, jedoch eignete sich dieser Stoff aufgrund seiner toxischen Eigenschaften nicht für die klinische Anwendung (Robinson et al. 1976).

Zahlreiche In-vitro-Studien konnten zeigen, dass künstlich erzeugte initiale Läsionen durch dentale Adhäsive versiegelt werden können und die Progression der Läsion durch diese Methode aufgehalten werden kann (Donly und Ruiz 1992; Garcia-Godoy et al. 1997; Goepferd und Olberding 1989; Gray und Shellis 2002; Robinson et al. 2001; Rodda 1983; Schmidlin et al. 2004). Oberflächliche Überschüsse wurden bei diesen Studien zumeist belassen, so dass der Effekt auf die Progression höchstwahrscheinlich auf die additiv entstandene Diffusionsbarriere zurückzuführen ist (Meyer-Lückel et al. 2012a).

Um eine Kunststoffbarriere innerhalb der Schmelzläsion etablieren können (Abb. 4-5, b) und ein für die klinischen Ansprüche geeignetes Verfahren zu entwickeln, wurden folgende Studien durchgeführt:

Die pseudointakte Oberfläche (vgl. Kap. 4.1.3) natürlicher Läsionen stellt eine Diffusionsbarriere für den Kunststoff dar, da sie den Zugang zum Läsionskörper verdeckt. Die in der Adhäsivtechnik gebräuchliche Ätzung mit Phosphorsäure (37%ig) vermag die Oberfläche für die Infiltration nicht ausreichend zu konditionieren. Durch die zweiminütige Ätzung mit Salzsäuregel (15%ig) kann die Oberflächenschicht permanenter Zähne jedoch ausreichend entfernt werden (Paris et al. 2007a).

Die für die Kariesinfiltration entwickelten Monomergemische sind durch einen hohen Penetrationskoeffizienten gekennzeichnet und werden Infiltranten genannt (Paris et al. 2007b). Nach der Trocknung der Läsion mit Ethanol und Druckluft (Gray und Shellis 2002) können innerhalb weniger Minuten natürliche Läsionen mehrere hundert Mikrometer tief penetrieren werden (Meyer-Lückel und Paris 2008a, 2010). Durch die interne Obturation des Läsionskörpers nach der Aushärtung des lichthärtenden Kunststoffes kann die weitere Kariesprogression verhindert werden (Paris und Meyer-Lückel 2010).

Mit Hilfe von Kofferdam und eines Doppelfolienapplikators, welcher speziell für die approximale Kariesinfiltration entwickelt wurde, können approximale kariöse Läsionen in nur einer Sitzung behandelt werden (Meyer-Lückel et al. 2012a). Ein für die Kariesinfiltration geeignetes Produkt ist unter dem Namen „Icon“ bei der Firma DMG erhältlich.

Die Wirksamkeit der Kariesinfiltration wurde in klinischen Studien untersucht. Hierbei wurde in einem sogenannten Split-Mouth-Design jeder mit Kariesinfiltration behandelten Läsion (E2-D1) eine Kontrollkaries zugeordnet, welche die non-invasive Standardtherapie erhielt. Nach 18 Monaten konnte eine Kariesprogression von 37 % in der Kontrollgruppe festgestellt werden, wohingegen nur 7 % der infiltrierten kariösen Läsionen voranschritten (Paris et al. 2010). Nach 3 Jahren zeigten 46 % der kariösen Läsionen der Kontrollgruppe eine Progression aber nur 4 % der infiltrierten Läsionen (Meyer-Lückel et al. 2012b). Auch bei Milchmolaren konnte dieser die Kariesprogression reduzierende Effekt festgestellt werden (Ekstrand et al. 2010).

Eine weitere klinische Studie an adulten Zähnen mit Läsionen, welche eine Ausdehnung maximal bis zum ersten Dentindrittel (D1) aufwiesen, wurde durchgeführt um die Inhibition der Kariesprogression durch einen Infiltranten (Icon pre-product, DMG, Hamburg, Deutschland) oder ein universelles Einkomponenten Adhäsiv (Prime-Bond-NT, Dentsply; York, USA) im Vergleich zu einem Placebo zu untersuchen. Sowohl der Infiltrant als auch das Adhäsiv konnten die Progression der kariösen Läsionen deutlich verhindern im Vergleich zur Standardtherapie (Martignon et al. 2012).

Die Kariesinfiltration scheint somit ein geeignetes Verfahren zu sein, um die „therapeutische Lücke“ zwischen non-invasiven und minimal-invasiven Therapiestrategien approximaler initialer Läsionen zu schließen (Meyer-Lückel et al. 2012a).

5 Fragestellung

Bislang geht man in der Zahnheilkunde davon aus, dass eine invasive Behandlung indiziert ist, sobald eine kariöse Läsion eine Kavitation aufweist. Dies wird mit der Tatsache begründet, dass sich in der Kavitation ein Biofilm bildet, welcher besonders bei approximalen Läsionen durch die häusliche Mundhygiene selbst mit Zahnseide nicht entfernt werden kann. Ein Voranschreiten der Läsion scheint in diesem Fall durch non-invasive Maßnahmen nicht vermeidbar zu sein, was eine invasive Intervention und das Wiederherstellen einer für die Reinigung zugänglichen Oberfläche durch eine Füllungstherapie rechtfertigt.

Die Kariesinfiltration (vgl. Kap. 4.3) ist ein relativ neues mikro-invasives Verfahren zur Arretierung nicht kavittierter kariöser Läsionen, dessen Indikationsbereich proximale Läsionen mit einer maximalen Ausdehnung in das äußere Dentindrittel (D1) umfasst. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass einige dieser Läsionen bereits klinisch nicht detektierbare Kavitationen aufweisen.

Daher wurden für die vorliegende Studie folgende Arbeitshypothesen aufgestellt:

Hypothese I:

Die tiefgehende Penetration des demineralisierten Schmelzes kavittierter und nicht kavittierter kariöser Läsionsstadien (ICDAS 2 bis 5) unter *in vitro* simulierten Bedingungen (Simulation von Approximalkontakt und Gingiva) ist durch den kommerziell erhältlichen Infiltranten (Icon, Kariesinfiltrant approximal; DMG, Hamburg, Deutschland) möglich.

Hypothese II:

Bereits eingetretene Zahnhartsubstanzdefekte (Kavitationen) können durch diesen Infiltranten aufgefüllt werden.

6 Material und Methode

6.1 Probenzähne

Für diese Studie wurden extrahierte humane permanente Prämolaren und Molaren verwendet, welche approximale Läsionen aufwiesen. Nur Zähne mit aktiven approximalen kariösen Läsionen, welche durch eine matte Oberfläche sowie eine kreidige Opazität der nicht kavitierten Läsionsbereiche gekennzeichnet waren, wurden ausgewählt (Abb. 6-1). Diese wurden sorgfältig gereinigt und in 0,08%iger Thymol-Lösung (Thymol, Merck KGaA: Darmstadt, Deutschland) aufbewahrt. Anschließend erfolgte die Kategorisierung der Zähne durch zwei für die ICDAS-Einteilung trainierte Untersucher nach den ICDAS-Stadien 2 bis 5.

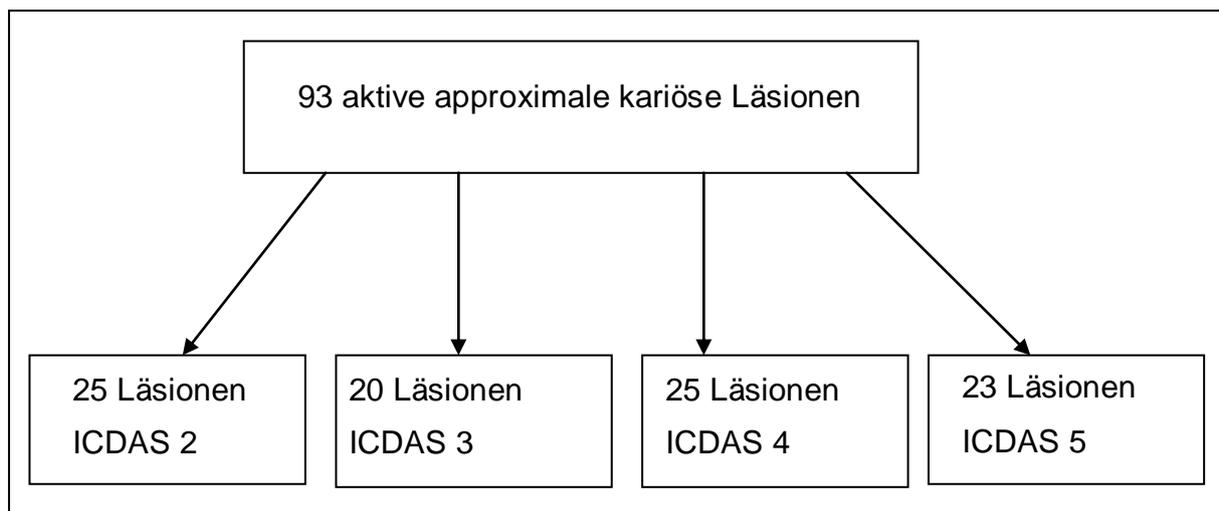


Abb. 6-1: Anzahl der für die vorliegende Studie verwendeten Probenzähne

Die Übereinstimmung zwischen den untersuchenden Personen betrug $\kappa=0,8$ (Interrater-Reliabilität). Bei Nichtübereinstimmung wurde ein Konsens zwischen den Untersuchern herbeigeführt. Anschließend wurden die Zähne zu Dokumentationszwecken fotografiert (Canon EOS 40D; Canon, Tokio, Japan).

6.2 Herstellung der Modelle

Um eine natürliche intraorale Situation zu simulieren, wurde jeder Probenzahn mit einem Nachbarzahn (Molar oder Prämolare) in einem Sockel (Format: 32×16×10 mm) bis ca. zum mittleren Wurzeldrittel in schnell härtendem 2-Komponenten-Einbettmittel auf Basis von hoch vernetztem Methylmethacrylat (Technovit grün 4017, Heraeus Kulzer; Wehrheim, Deutschland) eingebettet, um einen suffizienten Approximalkontakt herzustellen (Abb. 6-2, A).

Die Form und Resilienz der Weichgewebe, welche intraoral die Zähne zervikal umgeben, wurden mit Silikon (Honigum light; DMG, Hamburg, Deutschland) simuliert. Besonderer Wert wurde hierbei auf die Modellierung der Papille gelegt (Abb. 6-2, B). Für die intraorale Behandlung mit dem Infiltranten (Icon, Kariesinfiltrant approximal, DMG; Hamburg, Deutschland) wird die Anwendung von Kofferdam empfohlen, welcher die absolute Trockenlegung des Arbeitsfeldes ermöglicht. Da die vorliegende In-vitro-Studie den Behandlungsablauf *in vivo* so exakt wie möglich nachstellen sollte, wurde über die Zahnkronen ein Kofferdamgummi (ca. 7×5 cm) (Kofferdam, Ivory; Handewitt, Deutschland) angebracht (Abb. 6-2, C).

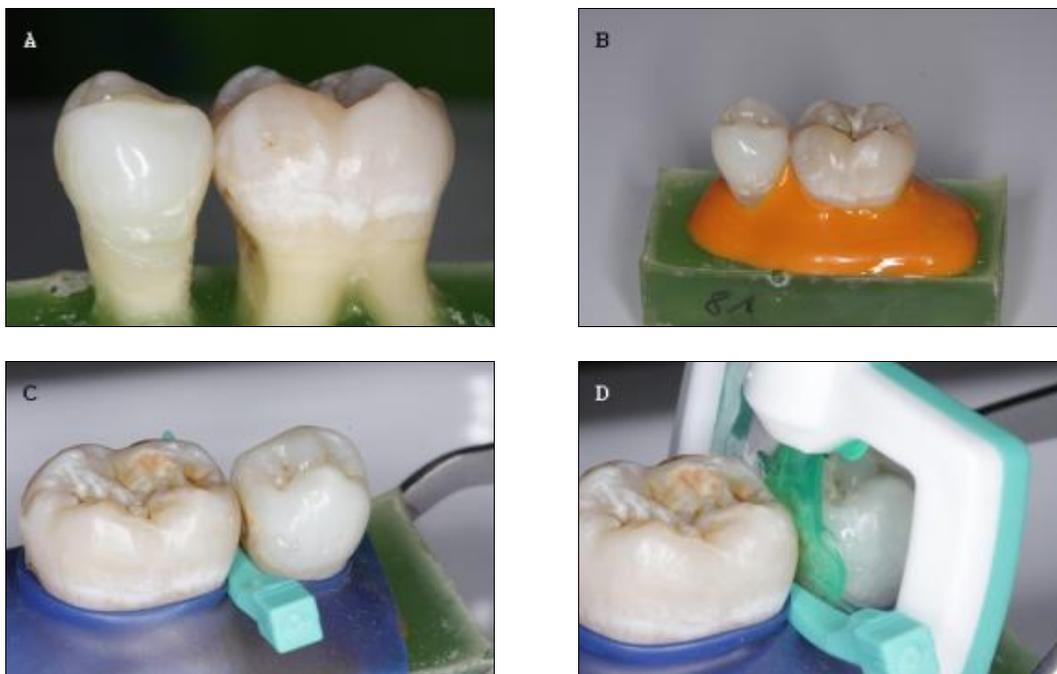


Abb. 6-2: Herstellung der Zahnmodelle und Behandlung der Probenzähne **A:** Simulation eines Approximalkontaktes durch Sockelung des Probenzahnes neben einem geeigneten Nachbarzahn in Technovit, **B:** Simulation der Gingiva mit dünn fließendem Silikon, **C:** Applikation von Kofferdam und Kunststoffkeil **D:** Applikation von Ätzel durch den einseitig perforierten Doppelfolienapplikator

6.3 Konditionierung und Infiltration

Die Läsionen wurden mit einem kommerziell erhältlichen Infiltranten (Icon, Kariesinfiltrant approximal, DMG; Hamburg, Deutschland) gemäß Gebrauchsanweisung infiltriert: Nach dem Anlegen von Kofferdam wurden zunächst die Zähne mit den im Behandlungskit enthaltenen Keilchen separiert und für 120 s mit 15%igem Salzsäuregel (Icon Etch) mit Hilfe des nur einseitig durchlässigen Applikators angeätzt. Dabei blieb die proximale Fläche des Nachbarzahnes vor der Säure geschützt (Abb. 6-2, D).

Daraufhin wurde der Applikator entfernt und das Ätzgel mit Hilfe eines Sprayansatzes für 30 s lang abgespült. Anschließend wurden die Proben bei Raumtemperatur in einer Färbelösung aus dem Farbstoff Tetrarhodaminisothiocyanat (TRITC, 0,1%ig, Sigma-Aldrich; Steinheim, Deutschland) und Ethanol (Ethanol absolut Ph. Eur., VWR International GmbH; Darmstadt, Deutschland) für 24 h aufbewahrt, um die porösen Bereiche der Läsionen anzufärben. Danach wurden die Probenzähne aus der Färbelösung entnommen und mit einer Multifunktionsspritze getrocknet.

Daraufhin erfolgte die Behandlung der Läsion mit dem Infiltranten. Hierbei wurde zunächst der Applikator zervikal durch ein Keilchen fixiert und gelegentlich in vestibulo-oraler Richtung bewegt. Nach 3 min wurde der Applikator aus dem Approximalraum entnommen und die Zahnoberfläche mit Druckluft und Zahnseide von überschüssigem Infiltranten gereinigt. Die Lichthärtung (Polymerisationslampe bluephase C8, Ivoclar Vivadent; Ellwangen, Deutschland) erfolgte 40 s von vestibulär, okklusal und oral. Um die Polymerisationsschrumpfung auszugleichen wurde die Läsion anschließend ein zweites Mal wie oben beschrieben infiltriert; diesmal jedoch nur für 1 min, dann gereinigt und für 40 s von allen Seiten lichtgehärtet.

Die Konditionierung und Infiltration erfolgte somit weitestgehend wie in der Anwendungsbeschreibung des Herstellers mit Ausnahme der Trocknung durch Icon-Dry (Ethanol). Da die Probenzähne für 24 h in der Färbelösung (TRITC in Ethanol) lagen, war die zusätzliche Trocknung und Applikation durch Icon-Dry unnötig bzw. hätte sogar zur Herauslösung des Farbstoffes (TRITC) aus der Läsion führen können.

6.4 Herstellung der Dünnschliffe

Zur Herstellung von Dünnschliffen wurden die Probenzähne von den Nachbarzähnen separiert, indem der Kunststoffsockel, in welchem beide Zähne eingebettet waren, vorsichtig mit Hilfe eines Trennschleifsystems (Bandsäge Exakt 310, Exakt Apparatebau; Norderstedt, Deutschland) getrennt wurde. Die Probenzähne wurden nun auch koronal in Technovit (4006 transparent) eingebettet und so auf einen Objektträger (Dia Plus; Oststeinbeck, Deutschland) mit Sekundenkleber geklebt, dass die mesiale bzw. distale Fläche des Zahnes im rechten Winkel zur Oberfläche des Objektträgers stand. Anschließend folgte die Anzeichnung der fünf Schnitte mit einem wasserfesten Stift, wobei jeweils drei Dünnschliffe in mesio-distaler Richtung entstanden, welche sowohl das Zentrum der Läsion als auch die direkt angrenzende Peripherie beinhalteten (Abb. 6-3). Danach wurden die Schliffe entlang der markierten Linien so angefertigt, dass jeder Dünnschliff ca. eine Dicke von 1,25 mm aufwies.



Abb. 6-3: Mit Hilfe des Trennschleifsystems wurden drei Dünnschliffpräparate pro Läsion hergestellt und anschließend auf Objektträgern fixiert. Zu Illustrationszwecken wurde in dieser Abbildung auf das den Zahn koronal fixierende, matt-transparente Technovit verzichtet, um die Schnitttechnik besser darzustellen

Diese Präparate wurden auf die Objektträger geklebt und mittels eines Dünnschliffsystems (Polierer Exakt 400, Exakt Apparatebau; Norderstedt, Deutschland) hochglanzpoliert, so dass die Schliffe 0,5-1 mm dick waren.

Zur Entfärbung der nicht infiltrierten Areale wurden die Dünnschliffpräparate für ca. 12 h bei Raumtemperatur abgedunkelt in Wasserstoffperoxidlösung (30 %, Otto Fischer GmbH & Co. KG; Saarbrücken, Deutschland) gelagert. Nach dieser Einwirkzeit wurden die Präparate mit Leitungswasser für ca. 10 s abgespült, abgetropft und für ca. 5 min im Kühlschrank in 0,1 mM Fluorescein-Natrium (Karl Roth; Karlsruhe, Deutschland) gelöst in 50%igem Ethanol gelagert. Daraufhin wurden die Präparate erneut 10 s mit Leitungswasser abgespült, vorsichtig getrocknet und bis zur konfokalmikroskopischen Untersuchung in einem lichtdichten Präparatekasten gelagert.

6.5 Konfokalmikroskopische Untersuchung

Die hergestellten Proben wurden mit der indirekten, fluoreszierenden Färbemethode (Paris et al. 2009) im konfokalen Laser-Raster-Mikroskop (LSM 510, Carl Zeiss; Jena, Deutschland) untersucht. Das konfokale Laser-Raster-Mikroskop (CLSM) unterscheidet sich von herkömmlichen Mikroskopen in der Bilderzeugung und -verarbeitung (Abb. 6-4). Im Gegensatz zum herkömmlichen Lichtmikroskop entsteht das Bild nicht parallel (also gleichzeitig), sondern seriell. Das bedeutet, dass das untersuchte Objekt durch zeilenweises Abrastern mittels eines fokussierten Laserstrahls in zwei Dimensionen (x-, und y-Richtung) erfasst wird. Mit Hilfe eines Detektors wird die Objektinformation registriert, anschließend digitalisiert und mit einer Software (vgl. Kap. 6-6) zu einem Bild zusammengesetzt.

Die Besonderheit des CLSM ist die konfokale Blende (Pinhole), welche in einer zur Objektebene konjugierten Ebene liegt. Mit Hilfe dieser konfokalen Blende kann auch eine stärkere Probe punktförmig detektiert werden, da das Licht außerhalb der Fokusebene ausgeblendet werden kann. Die Integration der konfokalen Blende in den Strahlengang wirkt somit „inhärent tiefendiskriminierend“ (Wilhelm et al. 2003). Je kleiner der Blendendurchmesser, desto größer ist dieser Effekt.

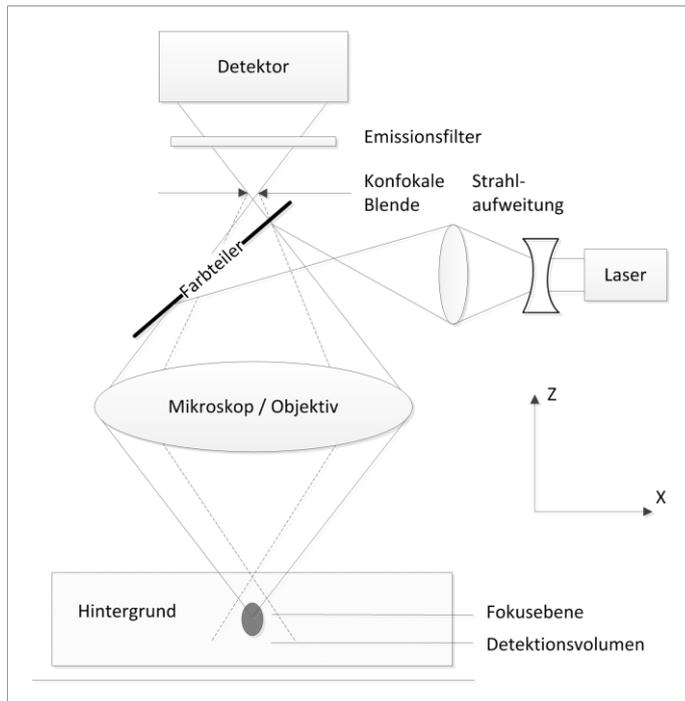


Abb. 6-4: Schematische Darstellung des Strahlengangs in einem konfokalen Laser-Raster-Mikroskop (nach Wilhelm et al. 2003).

Somit können biologische Proben wie Zellen oder auch Zahnschliffe trotz größerer Schichtdicken ($>100\ \mu\text{m}$) durch die Ausblendung außerfokaler Ebenen scharf dargestellt werden. Darüber hinaus kann bei der Verwendung verschiedener fluoreszierender Farbstoffe durch die kontrastreichere Darstellung eine farbliche Vermischung verhindert werden. Mit Hilfe fluoreszierender Substanzen, wie z. B. Tetrarhodaminisothiocyanat und Fluorescein können biologische Strukturen spezifisch markiert werden. Diese Substanzen können durch einen Argon-Laser angeregt werden, Fluoreszenzlicht einer charakteristischen Wellenlänge zu emittieren, welches durch einen Sekundärelektronenvervielfacher zu einem elektrischen Signal umgewandelt wird (Wilhelm et al. 2003).

6.6 Vermessung der Proben anhand läsionsspezifischer Parameter

Von den drei angefertigten Dünnschliffen pro Läsion (vgl. Kap. 6-4) wurde nur derjenige mit der tiefsten Ausdehnung für die weiteren Untersuchungen verwendet. Mit Hilfe einer Software (AxioVs 40 V 4.6.3.0, Carl Zeiss, Jena, Deutschland) wurden die am konfokalen Laser-Raster-Mikroskop erstellten Aufnahmen der Dünnschliffe

ausgewertet. Diese Aufnahmen ermöglichen die Darstellung kavierter (schwarz), demineralisierter (grün) und infiltrierter (rot) Areale einer Läsion. Daher war es möglich, die Dimensionen der verwendeten Läsionen, welche anhand ihrer klinischen Erscheinung nach den ICDAS-Kriterien (Code 2 bis 5) kategorisiert (vgl. Kap. 4.1.6) worden waren, zu vergleichen.

Hierfür wurden sowohl Strecken (LT, KB, KT, InfSD) (Abb. 6-5) als auch Flächen (F_{demin} , F_{kav} , PF, FF) (Abb. 6-6) innerhalb der Läsion vermessen, welche im Folgenden erläutert werden.

Anhand dieser Parameter können die Verhältnisse zwischen Füllung bzw. Infiltration der Läsion errechnet und verglichen werden:

- Läsionstiefe (LT): Strecke, die die tiefste Ausdehnung der Demineralisation inklusive der Kavitation im Schmelz erfasst,
- Kavitationsbreite (KB): Strecke, die die größte Ausdehnung der Kavitation in koronal-zervikaler Richtung wiedergibt,
- Kavitationstiefe (KT): Strecke, die die größte Ausdehnung der Kavitation von peripher nach zentral darstellt,
- Infiltrantenschichtdicke (InfSD): Strecke, welche die Ausdehnung der Kariesinfiltration inklusive der ggf. aufgetretenen Füllung durch den Infiltranten erfasst,

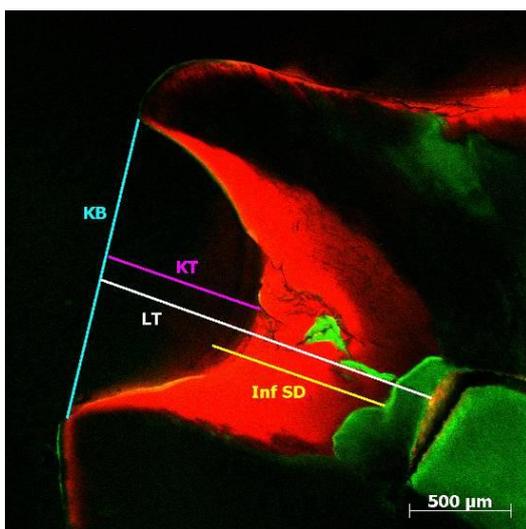


Abb. 6-5: Beispiel zur Veranschaulichung der erhobenen Parameter: Läsionstiefe (LT), Kavitationsbreite (KB), Kavitationstiefe (KT), Infiltrantenschichtdicke (InfSD).

- Fläche des demineralisierten Schmelzes (F_{demin}),
- Fläche der Kavitation (F_{kav}),
- Fläche im demineralisierten Schmelz penetriert durch Kunststoff (PF),
- Fläche in der Kavitation, die durch den Infiltranten aufgefüllt ist (FF).

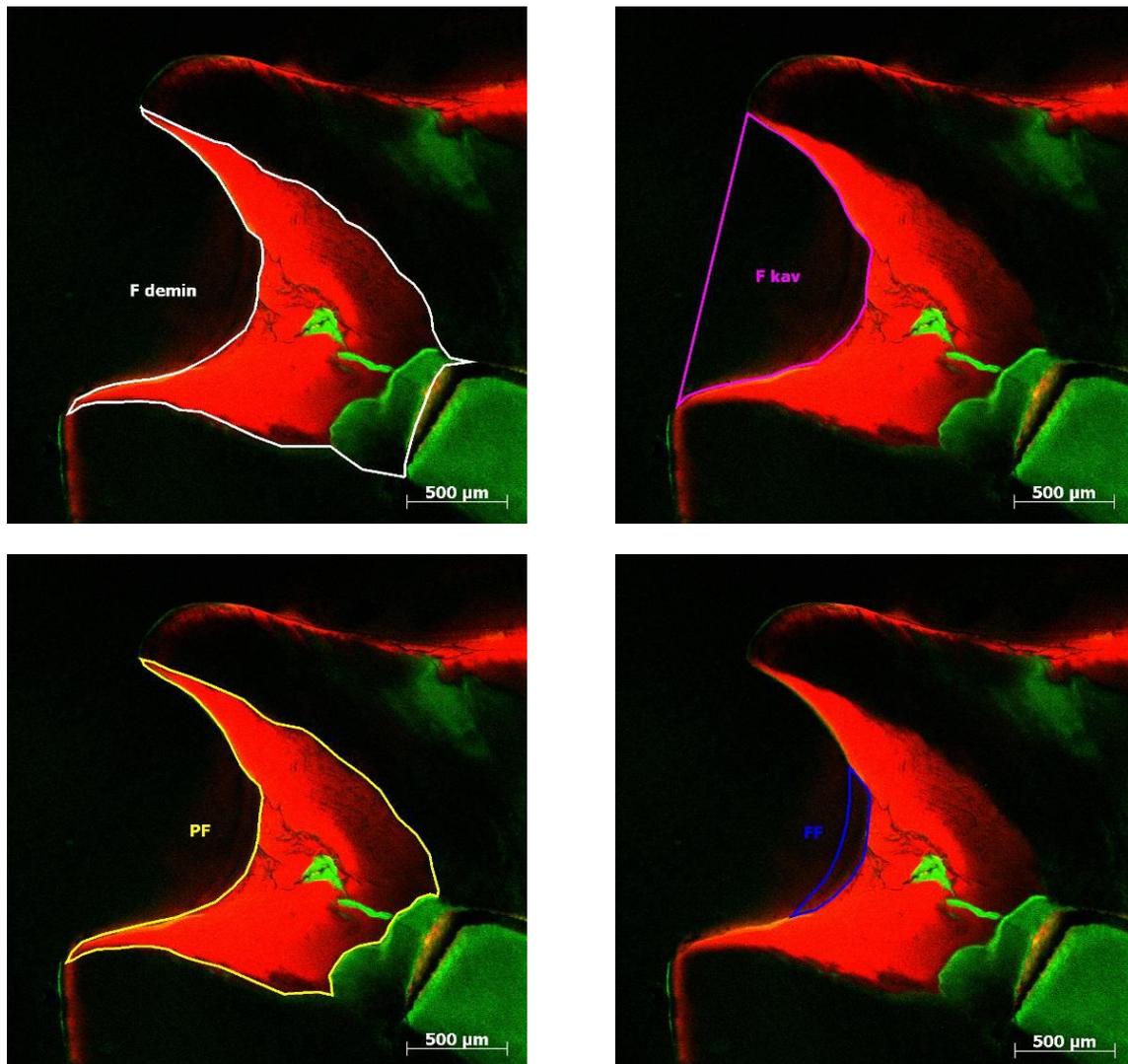


Abb. 6-6 : Exemplarisches CLSM-Bild und Markierung der zur Auswertung vermessenen Flächen der Läsion (F_{demin} , F_{kav} , PF, FF).

Aus diesen Parametern lassen sich die folgenden Variablen errechnen:

Gesamtfläche der Läsion:

$$LF_{\text{gesamt}} = F_{\text{demin}} + F_{\text{kav}} \quad (\text{Gleichung 1})$$

Die Summe aus der Fläche des demineralisierten Schmelzes (F_{demin}) und der Fläche der Kavitation (F_{kav}) gibt die gesamte Ausdehnung der Läsion bezogen auf den Zahnschmelz wieder.

Anteil demineralisierter infiltrierter Flächen:

$$P\%_{\text{demin}} = PF / F_{\text{demin}} \times 100 \quad (\text{Gleichung 2})$$

Der Anteil der Penetration nicht kavitierter Läsionsflächen lässt sich über das Verhältnis des durch Kunststoff penetrierten Schmelzes (PF) zum gesamten Bereich des demineralisierten Schmelzes (F_{demin}) errechnen.

Anteil der gefüllten Flächen innerhalb der Kavitation:

$$Fü\%_{\text{kav}} = FF / F_{\text{kav}} \times 100 \quad (\text{Gleichung 3})$$

Der Anteil der Füllung der Kavitation durch den Infiltranten ergibt sich aus dem Verhältnis der Fläche in der Kavitation, die durch den Infiltranten ausgefüllt worden ist (FF) und der Fläche der Kavitation (F_{kav}).

Anteil der penetrierten und gefüllten Fläche:

$$InfF\%_{\text{gesamt}} = PF + FF / LF_{\text{gesamt}} \times 100 \quad (\text{Gleichung 4})$$

Der Anteil der Penetration und Füllung der ganzen Läsionsfläche einschließlich der Kavitation entspricht der Summe des penetrierten Schmelzes (PF) sowie der durch den Infiltranten gefüllten Fläche (FF) im Verhältnis zur gesamten Läsionsfläche (LF_{gesamt}).

6.7 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse wurde mit der Software SPSS für Windows 11.5.1 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) durchgeführt. Die Normalverteilung der Daten wurde mittels Shapiro-Wilk Test überprüft. Unterschiede in $P\%_{\text{demin}}$, $F\%_{\text{kav}}$, $\text{InfF}\%_{\text{gesamt}}$ und InfSD zwischen unterschiedlichen ICDAS-Stadien wurden analysiert mittels des Kruskal-Wallis und Mann-Whitney Test. Das Signifikanzniveau wurde auf 5 % festgelegt.

7 Ergebnisse

7.1 Allgemeine Auswertung

Die für die Studie verwendeten Probenzähne wiesen aktive proximale kariöse Läsionen unterschiedlicher Ausdehnung (ICDAS-Stadien 2 bis 5) auf, welche in vier Gruppen aufgeteilt wurden. In einer Gruppe wurden jeweils Probenzähne mit gleichem ICDAS-Stadium zusammengefasst (Abb. 7-1). Mit Hilfe der indirekten fluoreszierenden Färbemethode und der konfokalen Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM) wurden Aufnahmen von diesen Läsionen erzeugt, anhand welcher sich poröse d.h. demineralisierte Bereiche der Läsion von infiltrierten und kavitierten Bereichen unterscheiden ließen (vgl. Kap. 6-6). Porositäten erschienen grün, durch Kunststoff infiltrierte Bereiche rot. Die durch den Kunststoff gefüllten Bereiche innerhalb der Kavitation waren durch eine rötliche Schicht, welche sich zumeist im Zentrum der Kavitation befand, erkennbar. Des Weiteren ließen sich Kavitationen (schwarz) dadurch erkennen, dass die Zahnoberfläche einen charakteristischen Einbruch bzw. eine Diskontinuität aufwies. Andere Bereiche des Zahnes, welche weder infiltriert noch porös waren (z.B. intakter Zahnschmelz), erschienen ebenfalls schwarz.

Von den insgesamt 93 für die vorliegende Studie ausgewählten Läsionen konnten 72 für die Auswertung verwendet werden. Neun Läsionen des ICDAS-Stadiums 2 zeigten in den CLSM-Aufnahmen eine sehr geringe Läsionstiefe ($\leq 500 \mu\text{m}$), so dass sie nicht für die statistische Auswertung verwendet wurden. Bei jeweils sechs Läsionen des ICDAS-Stadiums 4 und 5 kam es zum Bruch der Läsion, so dass keine Parameter vermessen werden konnten.

7.2 Qualitative Auswertung der konfokalmikroskopisch erzeugten Bilder

Für die vorliegende Arbeit wurden demineralisierte, infiltrierte sowie kavitierte Bereiche ausschließlich innerhalb des Zahnschmelzes vermessen und ausgewertet. Viele Läsionen erstreckten sich von peripher nach zentral über den gesamten Schmelzmantel bis an die Schmelz-Dentin-Grenze und bis in das Dentin (Abb. 7-1, E bis H).

Die Läsionen des ICDAS-Stadium 2 und 3 zeigten eine tief greifende, homogene Infiltration des demineralisierten Schmelzes. Oberflächennahe (periphere) Bereiche des demineralisierten Zahnschmelzes konnten durch den getesteten Infiltranten homogener und zuverlässiger (d.h. in der Mehrzahl der Proben) infiltriert werden als tiefer gelegene (zentrale) Bereiche (Abb. 7-1, E). Die demineralisierten Bereiche des Zahnschmelzes konnten bei allen Läsionen unabhängig von der Läsionsausdehnung (ICDAS-Stadien 2 bis 5) tief infiltriert werden (Abb. 7-1, E bis H).

Im Zentrum fortgeschrittener Läsionen (ICDAS-Stadium 5 und teilweise auch 4) lag Dentin frei (Abb. 7-1, C und D, G und H). Weniger fortgeschrittene Läsionen (ICDAS-Stadium 2 und teilweise 3) wiesen hingegen einen weitestgehend intakten Schmelzmantel auf (Abb. 7-1, A und E). Die Läsionen mit ICDAS-Stadium 4 und 5 zeigten im Vergleich zu den Stadien 2 und 3 häufiger durch die Schnitttechnik bedingte Artefakte (Abb. 7-1, G und H). Große Kavitationen führten zu einer Instabilität der Probe, sodass es teilweise zum Bruch der Präparate (ICDAS 4: n=6, ICDAS 5 n=6) kam und diese nicht ausgewertet werden konnten.

Bei einigen Proben (ICDAS-Stadium 3, 4, 5) konnte im Zentrum der Kavitation eine verhältnismäßig dünne Ansammlung des Kunststoffes im Sinne einer „Füllung“ festgestellt werden, welche sich jedoch bei keiner der Proben über die gesamte Kavitation ausdehnte.

Die erhobenen Werte für die Läsionsdimensionen, welche zur Vermessung und zum Vergleich der Proben untereinander dienten, unterschieden sich zum Teil deutlich. Dies ist auf die morphologischen Unterschiede zwischen den verschiedenen weit fortgeschrittenen Läsionen zurückzuführen.

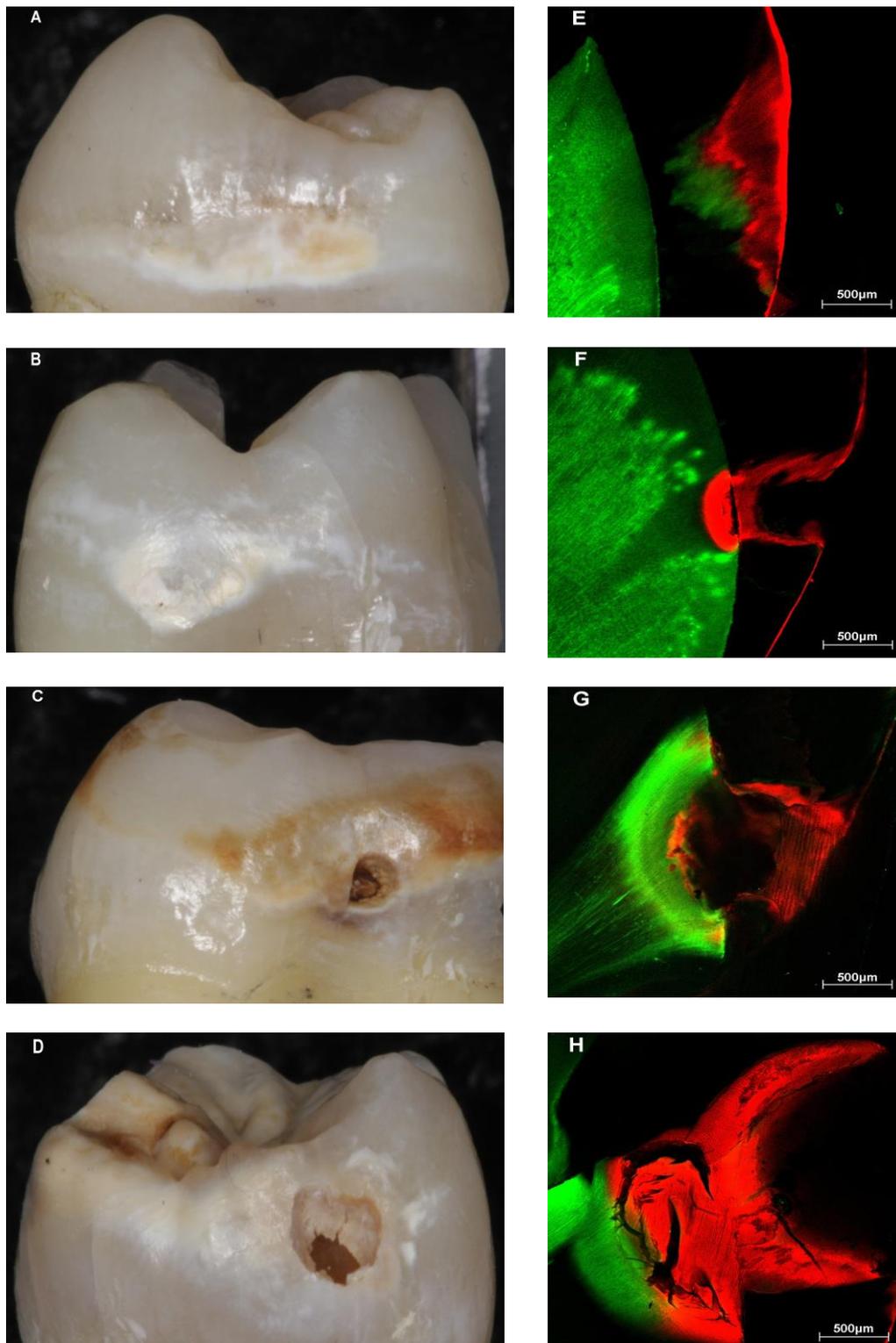


Abb. 7-1: Exemplarische Auswahl verwendeter Probenzähne (**A:** ICDAS 2, **B:** ICDAS 3, **C:** ICDAS 4, **D:** ICDAS 5) und der von diesen Zähnen jeweils gewonnenen konfokalmikroskopisch erzeugten Bilder (**E:** ICDAS 2, **F:** ICDAS 3, **G:** ICDAS 4, **H:** ICDAS 5). Alle Läsionen wiesen eine Ausdehnung nahezu bis zur Schmelz-Dentin-Grenze auf. Im Zentrum fortgeschrittener Läsionen lag Dentin frei (G und H). Der demineralisierte Schmelz konnte bei allen Proben tief infiltriert werden.

7.3 Quantitative Auswertung

7.3.1 Läsionsdimensionen

Die Läsionstiefe (LT), welche im Zentrum der Läsionen gemessen wurde, wies bei allen Gruppen ähnlich große Werte auf (Tab.1), da sich die Mehrzahl der Läsionen über den gesamten Schmelzmantel von peripher nach zentral erstreckten.

Kavitationen wurden in 11 von 20 Proben des ICDAS-Stadiums 3, in 12 von 19 Proben des ICDAS-Stadiums 4 und in allen Proben des ICDAS-Stadiums 5 beobachtet. Fortgeschrittene Läsionen (ICDAS-Stadium 5) wiesen erwartungsgemäß größere Werte für die Kavitationsbreite (KB) und -tiefe (KT) auf als weniger fortgeschrittene (ICDAS-Stadium 3).

Die Fläche des demineralisierten Schmelzes (F_{demin}) gemessen anhand der Dünnschliffe wies für alle Stadien (ICDAS 2 bis 5) ähnlich große Werte auf (Tab.1). Läsionen der ICDAS-Stadien 2 und 3 sind bezüglich ihrer Ausdehnung im Zahnschmelz kleiner (Abb. 7-1, E und F) als fortgeschrittene (ICDAS 4 und 5). Der Anteil des demineralisierten Schmelzes an der gesamten Läsion war jedoch verhältnismäßig groß, da im Vergleich zu den fortgeschrittenen Läsionen (ICDAS 4 und 5) noch kein (erheblicher) Zahnhartsubstanzdefekt im Sinne einer Kavitation aufgetreten war.

Die gesamte Ausdehnung der Läsion ($LF_{\text{gesamt}} = F_{\text{demin}} + F_{\text{kav}}$) nahm hingegen proportional zum Läsionsstadium (von ICDAS-Stadium 2 bis ICDAS-Stadium 5) zu.

Tabelle 1: Ermittelte Läsionsdimensionen anhand unterschiedlicher Läsionsstadien (2 bis 5) nach dem International Caries Detection and Assessment System (ICDAS).

Läsionsdimension	ICDAS 2 (n=16)	ICDAS 3 (n=20)	ICDAS 4 (n=19)	ICDAS 5 (n=17)
LT (μm)	897 (706/1109)	1013 (733/1295)	943 (717/1254)	1154 (911/1424)
KT (μm)	/	172 (97/247)	569 (382/801)	961 (839/1177)
KB (μm)	/	826 (460/1126)	1308 (1059/1497)	1834(1455/2228)
F_{demin} (mm^2)	0,99 (0,49/1,37)	0,88 (0,60/1,36)	1,04 (0,56/1,49)	0,82 (0,25/1,13)
F_{kav} (mm^2)	/	0,07 (0,02/0,21)	0,49 (0,24/0,72)	1,15 (0,67/1,64)
LF_{gesamt} (mm^2)	/	1,03 (0,62/1,41)	1,30 (0,75/1,73)	1,86 (1,40/2,46)

Die angegebenen Werte sind Mediane. Die in den Klammern aufgeführten Werte stehen für das 25. bzw. 75. Perzentil. Da die Läsionen des ICDAS-Stadium 2 keine Kavitationen aufwiesen, wurden die Parameter (KB, KT), welche die Ausdehnung der Kavitation beschreiben, ausschließlich bei Läsionen, die den ICDAS-Stadien 3 bis 5 entsprachen, vermessen.

LT: Läsionstiefe, KT: Kavitationstiefe, KB: Kavitationsbreite, F_{demin} : Läsionsausdehnung des demineralisierten Schmelzes, F_{kav} : Ausdehnung der Kavitation; LF_{gesamt} : Ausdehnung der gesamten Läsion

7.3.2 Dimensionen der Infiltration und Füllung

Die Infiltrantenschichtdicke (InfSD) war bei den Läsionen des ICDAS-Stadiums 5 signifikant kleiner als bei Läsionen der ICDAS-Stadien 2, 3 und 4 ($p > 0,05$; Mann-Whitney Test) (Tab. 2). Dies kann einerseits durch die morphologischen Unterschiede der Läsionen (ICDAS 2 bis 5) erklärt werden: Da der Schmelzmantel im Zentrum fortgeschrittener Läsionen bereits sehr dünn oder nicht mehr vorhanden war (Abb. 7-1, C und D, G und H), konnte auch der Infiltrant nur eine geringe Schicht porösen Schmelzes penetrieren. Selbst wenn eine Füllung in der Kavitation zu erkennen war, war deren Schichtdicke und Ausdehnung (FF) sehr gering (Tab.2). Daher wiesen weniger ausgedehnte Läsionen (ICDAS 2 und 3) einen deutlich größeren Wert für die Infiltrantenschichtdicke auf als ausgedehnte Läsionen (ICDAS 4 und 5).

Die Fläche des demineralisierten Schmelzes, welche durch den Kunststoff penetriert werden konnte (PF), zeigte bei allen Gruppen eine ähnlich große Ausdehnung.

Tabelle 2: Ermittelte Dimensionen der Infiltration und Füllung anhand unterschiedlicher Läsionsstadien (2 bis 5) nach dem International Caries Detections and Assessment System (ICDAS)

Dimension der Infiltration bzw. Füllung	ICDAS 2 (n=16)	ICDAS 3 (n=20)	ICDAS 4 (n=19)	ICDAS 5 (n=17)
InfSD (μm)	606 ^{AB} (285/877)	717 ^A (381/992)	347 ^B (197/596)	0 ^C (0/192)
FF (mm^2)	/	0,00 (0,00/0,00)	0,03 (0,00/0,31)	0,00 (0,00/0,43)
PF (mm^2)	0,52 (0,38/0,87)	0,58 (0,46/1,04)	0,51 (0,56/1,49)	0,63 (0,23/1,02)

Die angegebenen Werte sind Mediane. Die in den Klammern aufgeführten Werte stehen für das 25. bzw. 75. Perzentil. Unterschiedliche hochgestellte Buchstaben repräsentieren signifikante Unterschiede ($p < 0,05$; Mann-Whitney Test). Da die Läsionen des ICDAS-Stadium 2 keine Kavitationen aufwiesen, konnte auch keine Füllungsfläche (FF) ermittelt werden.

InfSD: Infiltrantenschichtdicke, PF: Penetrationsfläche, FF: Füllungsfläche.

7.3.3 Infiltration demineralisierter Bereiche ($P\%_{\text{demin}}$)

Der prozentuale Anteil der Penetration nicht kavittierter Läsionsbereiche ($P\%_{\text{demin}} = PF / F_{\text{demin}} \times 100$) war in allen Gruppen groß (Abb. 7-2). Die Mediane lagen hierfür zwischen 73 und 100 Prozent. Das bedeutet, dass die demineralisierten Anteile der Läsionen aller Stadien (ICDAS 2 bis 5) tiefgehend infiltriert werden konnten. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden ($p > 0,05$, Kruskal-Wallis Test).

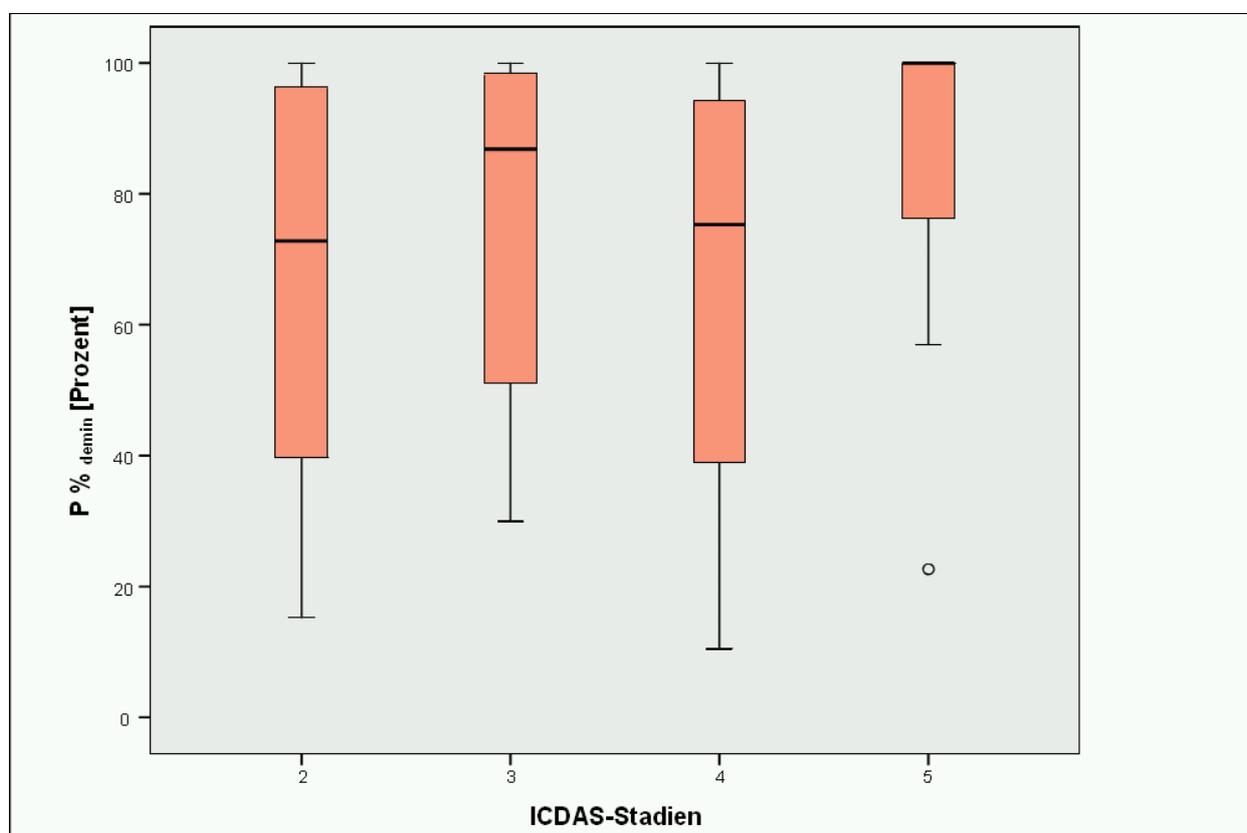


Abb. 7-2: Prozentuale Infiltration demineralisierter Läsionsbereiche ($P\%_{\text{demin}}$) unterschiedlicher ICDAS-Stadien (2 bis 5). Dargestellt sind Box-and-Whisker-Plots mit Medianen und Quartilen.

7.3.4 Füllung der Kavitationen ($Fü\%_{kav}$)

Eine Fläche innerhalb der Kavitation, welche durch den Kunststoff gefüllt wurde (FF), konnte bei 8% der Code 3-Läsionen, bei 50% der Code 4-Läsionen und bei 41% der Code 5-Läsionen beobachtet werden. Der Anteil der Läsionen mit einer Füllung der Kavitäten durch den Kunststoff ($Fü\%_{kav} = FF / F_{kav} \times 100$) war also recht gering (Abb. 7-3). Das bedeutet, dass die Kavitationen aller Stadien (ICDAS 3 bis 5) nahezu ungefüllt blieben. Hinsichtlich der Füllung der Kavitationen ($Fü\%_{kav}$) konnten zwischen den verglichenen ICDAS-Stadien keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p > 0.05$; Kruskal-Wallis Test).

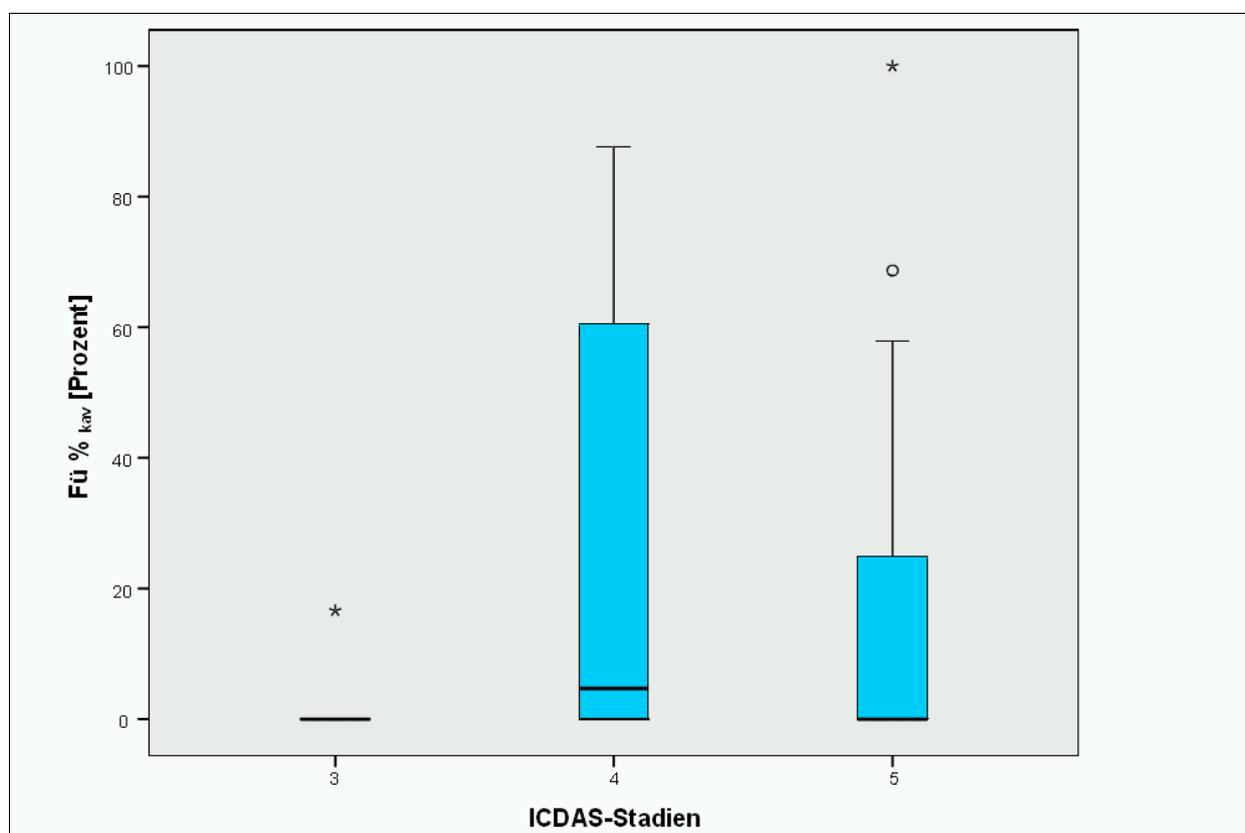


Abb. 7-3: Füllung kavierter Läsionsanteile ($Fü\%_{kav}$) unterschiedlicher ICDAS-Stadien in Prozent. Dargestellt sind Box-and-Whisker-Plots mit Medianen und Quartilen.

7.3.5 Infiltration und Füllung der Läsion ($\text{InfF}\%_{\text{gesamt}}$)

ICDAS-2-Läsionen wiesen eine große Penetrationsfläche (PF) im Verhältnis zur Fläche des demineralisierten Schmelzes (F_{demin}) auf. Die Mehrzahl dieser Läsionen konnten vollständig infiltriert werden (Abb. 7-4).

ICDAS-3-Läsionen ließen eine relativ große Fläche demineralisierten Schmelzes (F_{demin}) sowie eine verhältnismäßig große Penetrationsfläche (PF) erkennen (Tab.1 und 2). Die Fläche der Kavitation (F_{kav}) und die durch den Infiltranten gefüllte Fläche (FF) waren jedoch bei ICDAS-3-Läsionen sehr klein bzw. nicht vorhanden. Dennoch ist der prozentuale Anteil der Penetration und Füllung der gesamten Läsionsfläche ($\text{InfF}\%_{\text{gesamt}} = \text{PF} + \text{FF} / \text{LF}_{\text{gesamt}} \times 100$) hoch (Abb. 7-4), da der Schmelzmantel bei diesen Läsionen im Vergleich zu ICDAS-4 und 5-Läsionen weniger stark zerstört ist. Somit konnte auch bei ICDAS-3-Läsionen eine nahezu vollständige Penetration dieser Läsionen festgestellt werden.

Bei ICDAS-4-Läsionen konnte nur eine relativ kleine Penetrationsfläche (PF) und so gut wie keine Füllungsfläche (FF) festgestellt werden (Tab. 2). Dementsprechend war der prozentuale Anteil der Penetration und Füllung der ICDAS-4-Läsion ($\text{InfF}\%_{\text{gesamt}} = \text{PF} + \text{FF} / \text{LF}_{\text{gesamt}} \times 100$) kleiner als bei ICDAS-2 und ICDAS-3-Läsionen.

Obwohl bei die ICDAS-5-Läsionen eine relativ große Penetrationsfläche festgestellt wurde, war der prozentuale Anteil der Füllung und Infiltration der gesamten Läsion ($\text{InfF}\%_{\text{gesamt}} = \text{PF} + \text{FF} / \text{LF}_{\text{gesamt}} \times 100$) am geringsten (Abb. 7-4). Dies ist auf die ausgedehnte Fläche der Kavitation (F_{kav}) zurückzuführen, welche durch den Infiltranten kaum gefüllt werden konnte, aber einen großen Anteil an der gesamten Läsionsfläche ausmachte.

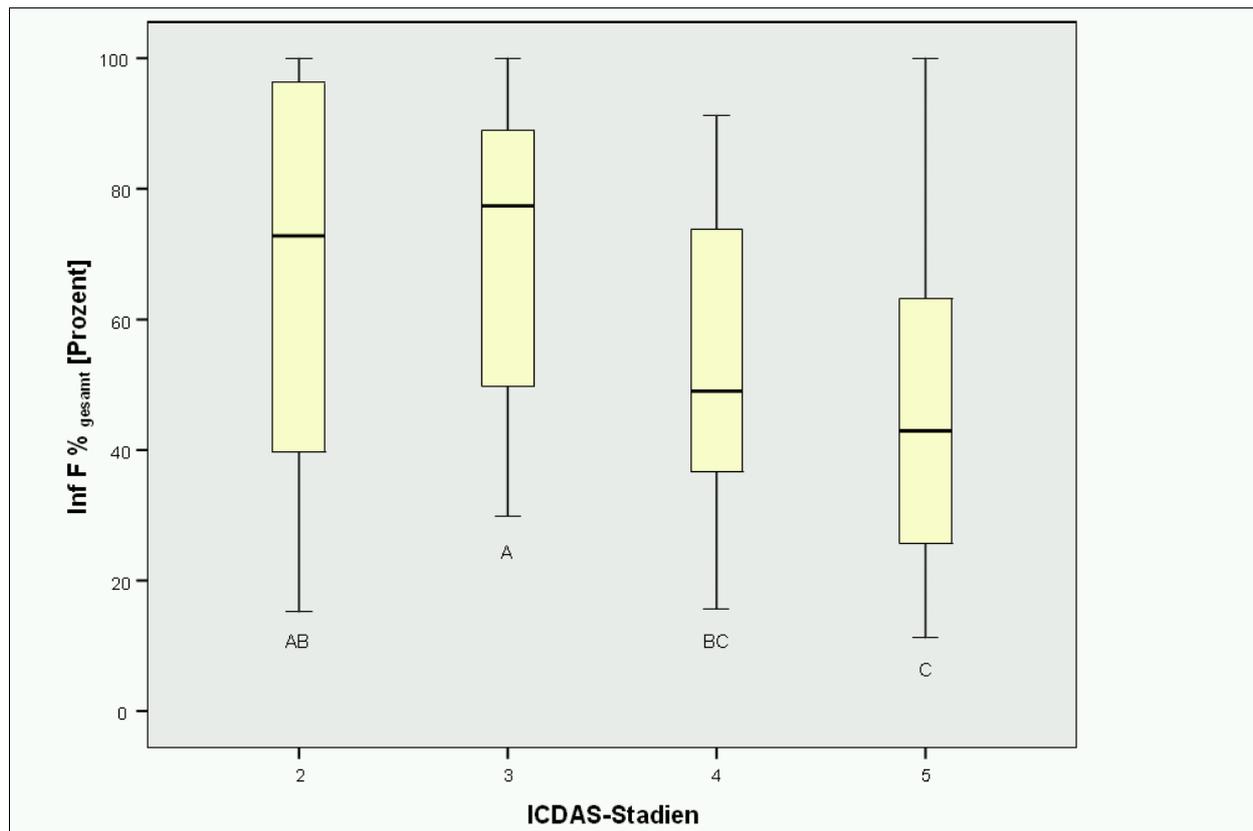


Abb. 7-4: Infiltration und Füllung der gesamten Läsion (InfF%_{gesamt}) unterschiedlicher Läsionsstadien (ICDAS 2 bis 5) in Prozent. Dargestellt sind Box-and-Whisker-Plots mit Medianen und Quartilen. Unterschiedliche Buchstaben unterhalb der Box-and-Whisker-Plots repräsentieren signifikante Unterschiede ($p < 0.05$; Mann-Whitney Test).

8 Diskussion

Die Kariesinfiltration hat das Ziel aktive initiale Läsionen mit einer Ausdehnung bis ins äußere Dentindrittel (D1) (vgl. Kap. 4.1.6) in inaktive Läsionen "umzuwandeln". Bei etwa einem Drittel dieser Läsionen sind zumindest Mikrokavitationen vorhanden (Thylstrup et al. 1986; Pitts und Rimmer 1992; Hintze et al. 1998). Daher ist es nicht auszuschließen, dass mit der Kariesinfiltration Läsionen behandelt werden, die (klinisch nicht feststellbare) Mikrokavitationen aufweisen. Bisher standen jedoch keine Untersuchungen zum Penetrationsverhalten des kommerziell erhältlichen Infiltranten in fortgeschrittene und kavitierte Läsionen (ICDAS 3 bis 5) zur Verfügung. Das Ziel dieser In-vitro-Studie war es daher, die Infiltration nicht kavierter und kavierter Läsionsstadien (ICDAS 2 bis 5) zu vergleichen. Darüber hinaus sollte getestet werden, ob es mittels des Infiltranten gelingt, kariöse Kavitationen aufzufüllen.

8.1 Diskussion von Material und Methode

8.1.1 Humane natürliche proximale Läsionen

Die für die vorliegende Studie verwendeten humanen extrahierten Zähne stammen von einer dentalen Entsorgungsfirma, welche die Zähne von verschiedenen Zahnärzten bezieht. In Deutschland wird die Verwendung menschlicher Körpermaterialien für die medizinische Forschung durch eine Stellungnahme der zentralen Ethikkommission geregelt. Die in § E Abs. II Nr. 8 dieser Stellungnahme beschriebenen Voraussetzungen werden bei den verwendeten Probenzähnen erfüllt. Daher war die Verwendung der humanen Zähne auch ohne die individuelle Einwilligung der Spender ethisch akzeptabel.

Natürliche Läsionen unterliegen Phasen der Progression und Stagnation des kariogenen Prozesses in der Mundhöhle (Hellwig et al. 2007). Sie sind daher für eine In-vitro-Studie geeigneter als künstlich erzeugte Läsionen, um die Penetrationseigenschaften eines Infiltranten zu untersuchen, da sie sich hinsichtlich der interindividuell verschiedenen Dichte, des Porenvolumens und des Mineralgehaltes des Schmelzes unterscheiden.

Das Zusammenbringen geeigneter humaner Probenzähne gestaltete sich allerdings schwierig und zeitaufwendig, da selbst fortgeschrittenere proximale kariöse Läsionen (ICDAS 4 und 5) häufig keine Indikation für eine Extraktion darstellen. Es ist daher davon auszugehen, dass die Mehrzahl der verwendeten Probenzähne aus parodontalen Gründen extrahiert worden waren und von älteren Patienten stammte. Diese Patienten repräsentieren zwar nicht die Hauptzielgruppe für die Kariesinfiltration, da initiale aktive proximale Läsionen am häufigsten im frühen Erwachsenenalter auftreten. Es wurde daher bei der Auswahl der Probenzähne genauestens darauf geachtet, dass die ausgewählten Probenzähne aktive Läsionen aufwiesen.

8.1.2 Applikation des Infiltranten

Um die klinische Situation während der Behandlung der Zähne mit dem Infiltrationssystem so realitätsgetreu wie möglich nachzustellen, wurden Modelle mit Nachbarzähnen verwendet. Nichtsdestotrotz können nicht alle klinischen Umstände in einem In-vitro-Modell simuliert werden. In der Regel sind die Kavitationen *in vivo* so gut wie immer mit einem Biofilm gefüllt, wenn sie nicht vor der Behandlung mit Interdentälbürsten gereinigt worden sind. Daher könnten *in vivo* die Überreste des Biofilms die Penetration des Kunststoffes beeinträchtigen oder verhindern (Baier 1992).

Im Vergleich zu früheren In-vitro-Studien, bei denen der Infiltrant direkt mit Mikrobrushes aufgetragen wurde, konnten in der vorliegenden Studie unter Anwendung des Applikators ähnliche Infiltrantenschichtdicken erreicht werden wie bei anderen nicht kavitierten Läsionen (Meyer-Lückel und Paris 2010).

Mit Hilfe des Doppelfolienapplikators, der eine nur einseitig perforierte Folie beinhaltet, konnten die Materialien wie das Ätzzel oder der Infiltrant gezielt auf die erkrankte Zahnfläche aufgetragen werden. Die Zähne mussten dabei nur leicht separiert werden und der Nachbarzahn konnte vor einer Kontamination geschützt werden.

Der kommerziell erhältliche Infiltrant (Icon, Kariesinfiltrant proximal, DMG; Hamburg, Deutschland) wurde speziell für die Penetration des porösen demineralisierten Schmelzes initialer Läsionen entwickelt (Meyer-Lückel et al. 2012a). Daher ist dieser Kunststoff bestehend aus einer methacrylatbasierten Harzmatrix gekennzeichnet durch eine niedrige Viskosität und einen hohen Penetrationskoeffizienten. Die hohe Fließfähigkeit des Kunststoffes vor der Lichthärtung könnte einen negativen Einfluss auf

die in der vorliegenden Studie untersuchte möglicherweise entstehende „Füllung“ der Kavitationen gehabt haben.

8.1.3 Schnitttechnik

Die Probenzähne wurden während der wassergekühlten Schneide- und Poliervorgänge zur Herstellung der Dünnschliffe relativ hohen Druck- und Scherkräften ausgesetzt. Besonders die fortgeschrittenen, kavitierten Läsionen sind bei diesen Vorgängen bruchgefährdet. Daher wurden die verwendeten Zähne nach der Infiltration koronal in einem schnellhärtendem 2-Komponenten-Einbettmittel auf Basis von hochvernetztem Methylmethacrylat (Technovit transparent 4006; Heraeus Kulzer, Wehrheim) eingebettet, um die Probe zu stabilisieren. Die Transparenz des Einbettmaterials ermöglichte ein exaktes Markieren der für die Dünnschliffe benötigten Schnitte.

In der vorliegenden Studie wurden die Läsionen der Probenzähne in drei ca. 1 mm dünne Präparate überführt. Dieses Vorgehen schien besonders für die Untersuchung fortgeschrittener Läsionen geeignet, welche sich sowohl von zervikal nach koronal als auch von oral nach vestibulär über mehrere Millimeter erstrecken. Es konnten jedoch bei einigen Läsionen (ICDAS 3: n=9, ICDAS 4: n=7) keine Kavitationen in der CLSM-Aufnahme ausfindig gemacht werden. Dies könnte darauf zurückzuführen, dass einige Kavitationen (ICDAS 3 und 4) eher klein (<1 mm) und daher nicht in den Dünnschnitten erkennbar waren.

8.1.4 Visualisierung der für die Studie relevanten Bereiche im

Zahnschmelz

Die konfokale Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM) wird zur Klärung von Aufgabenstellungen sowohl in der Medizin als auch in der Materialkunde verwendet. In der Zahnmedizin wird diese Visualisierungsmethode beispielsweise für die qualitative Untersuchung zum Haftverbund verschiedener Adhäsivsysteme und Komposite am Wurzelkanalentin (Bitter et al. 2009) als auch für die Erforschung der Penetration niedrig visköser Kunststoffe in initiale kariöse Schmelzläsionen genutzt (Meyer-Lückel und Paris 2010; Meyer-Lückel et al. 2011; Paris et al. 2012a; Paris et al. 2012b).

Im Vergleich zur konventionellen Fluoreszenzmikroskopie gelingt es durch die konfokale Laser-Raster-Mikroskopie mit Hilfe einer konfokalen Blende, selbst von dickeren biologischen Strukturen ($>100\mu\text{m}$) hochauflösende Bilder zu erzeugen (Wilhelm et al. 2003). Andere in der Kariologie etablierte Methoden wie die Rasterelektronenmikroskopie (REM) und die transversale Mikroradiographie (TMR) wären für die Visualisierung der Läsionen der vorliegenden Studie nicht geeignet gewesen, da hierfür sehr geringe Schichtdicken ($<100\ \mu\text{m}$) der Präparate notwendig gewesen wären und besonders die fortgeschritteneren kariösen Läsionen (ICDAS 4 und 5) eine geringe Stabilität aufwiesen. Die Anfertigung von Dünnschliffen mit sehr geringer Schichtdicke hätte höchstwahrscheinlich den Bruch einer Mehrzahl der Präparate zur Folge gehabt. Darüber hinaus gelingt es im Gegensatz zu o. g. Methoden mittels der konfokalen Laser-Raster-Mikroskopie im Dualfluoreszenzmodus unterschiedlich markierte Strukturen simultan darzustellen. Die Markierung der unterschiedlichen Strukturen erfolgte mittels fluoreszierender Farbstoffe. Hierfür können unterschiedliche Färbemethoden verwendet werden. Es konnte gezeigt werden, dass im Gegensatz zur konventionellen direkten Färbemethode, bei der der Infiltrant vor der Applikation des Zahnes mit Farbstoff versetzt wird, die indirekte Färbemethode bessere Ergebnisse liefert (Paris et al. 2009). Die indirekte Färbemethode zeigte sowohl im Vergleich zu elektronenmikroskopisch als auch zu mikroradiographisch erzeugten Bildern eine bessere Korrelation als die konventionelle Methode (Paris et al. 2009). Daher wurde diese Methode für die vorliegende Studie verwendet.

8.1.5 Vermessung und Auswertung

Von den drei pro Probenzahn entstandenen Dünnschliffpräparaten wurde jeweils das Präparat, welches die größte Ausdehnung der Läsion im Zahnschmelz aufwies, für die Vermessung ausgewählt. Mit Hilfe der AxioVision Software (AxioVs 40 V 4.6.3.0, Carl Zeiss) war es nunmehr möglich, die gewonnenen CLSM-Bilder zu skalieren und anschließend zu vermessen.

Da sich die für die Studie verwendeten Läsionen (ICDAS 2 bis 5) mehrheitlich über die gesamte Dicke des Schmelzmantels von peripher nach zentral erstreckten, wäre der alleinige Vergleich der Läsionstiefen und Penetrationstiefen anhand von Strecken im Schmelzmantel wenig aufschlussreich gewesen. Daher wurden im Gegensatz zu

anderen In-vitro-Studien zur Infiltration initialer kariöser Läsionen (ICDAS 2) (Meyer-Lückel und Paris 2010, 2008b) in der vorliegenden Studie neben den Strecken (LT, InfSD) auch Flächen vermessen, um die Ausdehnung der Läsionen (F_{demin}), der Kunststoffpenetration (PF) und der Kavitationen (F_{kav}), sowie einer möglichen Füllung der Kavitation (FF) zu ermitteln.

Mit Hilfe dieser für die jeweiligen Stadien (ICDAS 2 bis 5) ermittelten Werte konnten prozentuale Verhältnisse errechnet werden, aus welchen quantitative Rückschlüsse über die Infiltration demineralisierter Bereiche ($P\%_{\text{demin}}$) und den Anteil der Füllung der Kavitationen ($F\%_{\text{kav}}$) gezogen werden konnten.

8.2 Diskussion der Ergebnisse

Demineralisierter Zahnschmelz ist vergleichbar mit einem porösen, locker gepackten Festkörper. Alle kariösen im Schmelz befindlichen Läsionen weisen histologisch einen Läsionskörper auf (Buchalla 2012), welcher durch ein Porenvolumen von mindestens 5 bis 25 % gekennzeichnet ist. Die Poren dieses Festkörpers können modellhaft als Bündel offener, paralleler Kapillaren (Buckton 1995) betrachtet werden. Die in diesem Festkörper wirkenden Kapillarkräfte sind stark genug, um die tiefgehende Penetration niedrig-visköser Flüssigkeiten in den demineralisierten Zahnschmelz zu ermöglichen (Meyer-Lückel et al. 2012a). Der in der vorliegenden Studie getestete Infiltrant konnte daher von den kariösen Läsionen im Zahnschmelz ohne weiteres aufgenommen werden. Mit Hilfe des einseitig perforierten Doppelfolienapplikators konnte der Infiltrant auch kavitierte ausgedehnte Bereiche approximaler Läsionen erreichen. Unabhängig von der Ausdehnung und Morphologie der kariösen Läsionen (ICDAS 2 bis 5) schienen alle demineralisierten Bereiche des Zahnschmelzes tiefgehend penetriert worden zu sein. *Hypothese I* wurde damit bestätigt.

Hypothese II konnte dagegen nicht bestätigt werden, denn es konnte keine Füllung der Kavitation durch den Infiltranten in der Mehrzahl der Läsionen nachgewiesen werden. Innerhalb der Kavitation waren die Kapillarkräfte anscheinend zu schwach, um ein nennenswertes Auffüllen der Kavitationen zu begünstigen. Außerdem könnte die nicht aufgetretene Füllung der Kavitationen zwei andere Ursachen gehabt haben: Erstens könnten die Kavitationen bei der Applikation mit Kunststoff gefüllt worden sein, jedoch könnte es beim Reinigen der Überschüsse durch Zahnseide zu der Entfernung des

Kunststoffes vor der Lichthärtung gekommen sein. Diese Vermutung erscheint plausibel, da die flachen Kavitationen des ICDAS-Stadium 3 weniger aufgefüllt waren als die tieferen Kavitäten der ICDAS-Stadien 4 und 5. Zweitens könnten Luftblasen innerhalb der Kavitation eine Penetration des flüssigen Kunststoffes aufgrund der Oberflächenspannung verhindert haben. Dieses Phänomen ist bei Fissurenversiegeln bekannt (Kersten et al. 2001).

Kavitierte proximale Läsionen sind häufig aktiv, da Plaque nicht effektiv aus der Kavitation entfernt werden kann, wenn ein Nachbarzahn vorhanden ist. Indes ist die Aktivität proximaler Läsionen wegen der begrenzten Einsehbarkeit oft schwer einzuschätzen. Solange die Kavitation nicht aufgefüllt ist, akkumuliert sich ein Biofilm, welcher das Risiko eines Fortschreitens der kariösen Läsion erhöht (Kidd et al. 2008).

In klinischen Studien zur Kariesinfiltration schritten nach 18 Monaten 7 % (Paris et al. 2010) und nach drei Jahren 4 % (Meyer-Lückel et al. 2012b) der untersuchten Läsionen voran. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie legen die Vermutung nahe, dass die Progression dieser Läsionen möglicherweise auf das Vorhandensein klinisch nicht detektierbarer Kavitationen zurückzuführen ist. Da diese Kavitationen durch den Infiltranten nicht ausreichend gefüllt worden waren, konnte sich ein Biofilm akkumulieren und der kariogene Prozess vorangetrieben werden. Der infiltrierte Schmelz am Rande bzw. am Boden der Kavitation könnte jedoch eine Diffusionsbarriere dargestellt und den Prozess der Zerstörung der Zahnschmelze durch Karies verlangsamt haben.

Dicke Kunststoffschichten können die Läsionen vor einer weiteren Demineralisation effektiver schützen als dünne (Meyer-Lückel und Paris 2008b). Bei Läsionen der ICDAS-Stadien 2 und 3 konnten relativ dicke Schichten infiltrierte Schmelzes (InfSD) beobachtet werden, wohingegen diese Schichten bei Code 4 und teilweise bei Code 5 deutlich dünner waren. Deshalb ist es fraglich, ob das getestete Kariesinfiltrationssystem vor dem Voranschreiten der Läsion von Code 4 und 5 schützen kann.

9 Schlussfolgerungen

- 1.) Unter den *in vitro* simulierten Bedingungen konnten die Schmelzporositäten in approximalen Läsionen (ICDAS 2 bis 5) tiefgehend mit dem getesteten Produkt infiltriert werden.
- 2.) Läsionen, welche den ICDAS-Stadien 2 und 3 entsprachen, konnten nahezu vollständig infiltriert werden.
- 3.) Die Kavitationen konnten nur unzureichend gefüllt werden.
- 4.) Die Wirksamkeit der Kunststoffinfiltration kavierter Läsionen könnte besonders in späteren Stadien (ICDAS-Stadien 4 und 5) im Vergleich zu nicht kavitierten Stadien herabgesetzt sein.

10 Literaturverzeichnis

- Alkilzy, M; Berndt, C; Meller, C; Schidlowski, M; Splieth, C (2009): Sealing of proximal surfaces with polyurethane tape: a two-year clinical and radiographic feasibility study. In: *J Adhes Dent* 11 (2), S. 91–94.
- Alkilzy, M; Berndt, C; Splieth, C (2011): Sealing proximal surfaces with polyurethane tape: three-year evaluation. In: *Clin Oral Investig* 15 (6), S. 879–884.
- Amarante, E; Raadal, M; Espelid, I (1998): Impact of diagnostic criteria on the prevalence of dental caries in Norwegian children aged 5, 12 and 18 years. In: *Community Dent Oral Epidemiol* 26 (2), S. 87–94.
- Baier, RE (1992): Principles of adhesion. In: *Oper Dent* (Suppl. 5), S. 1–9.
- Bitter, K; Paris, S; Pfuertner, C; Neumann, K; Kielbassa, AM (2009): Morphological and bond strength evaluation of different resin cements to root dentin. In: *Eur J Oral Sci* 117 (3), S. 326–333.
- Buchalla, W (2012): Histologisches und klinisches Erscheinungsbild der Karies. In: Meyer-Lückel, H; Paris, S; Ekstrand, KR (Hg.): Karies. Wissenschaft und klinische Praxis. Stuttgart: Thieme (ZMK Praxis), S. 43–74.
- Buckton, G (1995): Interfacial phenomena in drug delivery and targeting. Chur: Harwood Academic Publisher.
- Davila, JM; Buonocore, MG; Greeley, CB; Provenza, DV (1975): Adhesive Penetration in Human Artificial and Natural White Spots. In: *J Dent Res* 54 (5), S. 999–1008.
- Doméjean-Orliaguet, S; Tubert-Jeannin, S; Riordan, PJ; Espelid, I; Tveit, AB (2004): French dentists' restorative treatment decisions. In: *Oral Health Prev Dent* 2 (2), S. 125–131.
- Donly, KJ; Ruiz, M (1992): In vitro demineralization inhibition of enamel caries utilizing an unfilled resin. In: *Clin Prev Dent* 14 (6), S. 22–24.
- Eggertson, H (2012): Fissurenversiegelung. In: Meyer-Lückel, H; Paris, S; Ekstrand, KR (Hg.): Karies. Wissenschaft und klinische Praxis. Stuttgart: Thieme (ZMK Praxis), S. 250–263.

- Ekstrand, KR; Martignon, S (2004): Managing approximal carious lesions: A new non-operative approach. In: *Caries Res* 38 (Abstract No.12), S. 361.
- Ekstrand, KR; Bakhshandeh, A; Martignon, S (2010): Treatment of proximal superficial caries lesions on primary molar teeth with resin infiltration and fluoride varnish versus fluoride varnish only: efficacy after 1 year. In: *Caries Res* 44 (1), S. 41–46.
- Elderton, RJ (1993): Overtreatment with restorative dentistry: when to intervene? In: *Int Dent J* 43 (1), S. 17–24.
- Fejerskov, O; Kidd, EAM; Nyvad, B; Baelum, V (2008a): Defining the disease: an introduction. In: Fejerskov, O; Kidd, EAM (Hg.): *Dental caries. The disease and its clinical management*. 2nd Edition. Oxford: Blackwell Munksgaard, S. 1–6.
- Fejerskov, O; Nyvad, B; Kidd, EAM (2008b): Pathology of dental caries. In: Fejerskov, O; Kidd, EAM (Hg.): *Dental caries. The disease and its clinical management*. 2nd Edition. Oxford: Blackwell Munksgaard, S. 19–29.
- Garcia-Godoy, F; Summitt, JB; Donly, KJ (1997): Caries progression of white spot lesions sealed with an unfilled resin. In: *J Clin Pediatr Dent* 21 (2), S. 141–143.
- Glockmann, E; Panzner, KD; Huhn, P; Sigusch, B; Glockmann, K (2011): Ursachen des Zahnverlustes in Deutschland: Dokumentation einer bundesweiten Erhebung (2007). IDZ-Information Nr. 2/2011. Köln: IDZ-Eigenverlag.
- Goepferd, SJ; Olberding, P (1989): The effect of sealing white spot lesions on lesion progression in vitro. In: *Pediatr Dent* 11 (1), S. 14–16.
- Gray, GB; Shellis, P (2002): Infiltration of resin into white spot caries-like lesions of enamel: an in vitro study. In: *Eur J Prosthodont Restor Dent* 10 (1), S. 27–32.
- Griffin, SO; Oong, EM; Kohn, WG et al. (2008): The effectiveness of sealants in managing caries lesions. In: *J Dent Res* 87 (2), S. 169–174.
- Hellwig, E; Klimek J; Attin T (2007): Einführung in die Zahnerhaltung. 4. neu bearb. Auflage. München: Elsevier, Urban und Fischer.
- Hintze, H; Wenzel, A; Danielsen, B; Nyvad, B (1998): Reliability of visual examination, fibre-optic transillumination, and bite-wing radiography, and reproducibility of

- direct visual examination following tooth separation for the identification of cavitated carious lesions in contacting approximal surfaces. In: *Caries Res* 32 (3), S. 204–209.
- International Caries Detection and Assessment System Coordinating Committee (Hg.) (2005): International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II). Workshop; March 12th-14th 2005. Baltimore, Maryland, USA.
- Kersten, S; Lutz, F; Schüpbach, P (2001): Fissure sealing: optimization of sealant penetration and sealing properties. In: *Am J Dent* 14 (3), S. 127–131.
- Kidd, EAM; Fejerskov, O (2004): What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. In: *J Dent Res* 83 (Spec No C), S. C35-38.
- Kidd, EAM; Van Amerongen, JP; Van Amerongen, WE (2008): The role of operative treatment in caries control. In: Fejerskov, O; Kidd, EAM (Hg.): *Dental caries. The disease and its clinical management*. 2nd Edition. Oxford: Blackwell Munksgaard, S. 355–365.
- Larsen, MJ; Fejerskov, O (1989): Chemical and structural challenges in remineralization of dental enamel lesions. In: *Scand J Dent Res* 97 (4), S. 285–296.
- Luan, W; Baelum, V; Fejerskov, O; Chen, X (2000): Ten-year incidence of dental caries in adult and elderly Chinese. In: *Caries Res* 34 (3), S. 205–213.
- Marsh, P; Martin, MV (2003): *Orale Mikrobiologie*. 60 Tabellen. Stuttgart; New York: Thieme.
- Martignon, S; Ekstrand, KR; Ellwood, R (2006): Efficiency of sealing proximal early active lesions: An 18-month clinical study evaluated by conventional and subtraction radiography. In: *Caries Res* 40 (5), S. 382–388.
- Martignon, S; Ekstrand, KR; Gomez, J; Lara, JS; Cortes, A (2012): Infiltrating/sealing proximal caries lesions: a 3-year randomized clinical trial. In: *J Dent Res* 91 (3), S. 288–292.
- Martignon, S, Ekstrand KR (2012): Versiegelung approximaler Zahnflächen. In: Meyer-Lückel, H; Paris, S; Ekstrand, KR (Hg.): *Karies. Wissenschaft und klinische Praxis*. Stuttgart : Thieme (ZMK Praxis), S. 265-269.

- Mejäre, I; Källestal, C; Stenlund, H; Johansson, H (1998): Caries development from 11 to 22 years of age: a prospective radiographic study. Prevalence and distribution. In: *Caries Res* 32 (1), S. 10–16.
- Mejäre, I; Sundberg, H; Espelid, I; Tveit, B (1999): Caries assessment and restorative treatment thresholds reported by Swedish dentists. In: *Acta Odontol Scand* 57 (3), S. 149–154.
- Meyer-Lückel, H; Paris, S (2008a): Improved resin infiltration of natural caries lesions. In: *J Dent Res* 87 (12), S. 1112–1116.
- Meyer-Lückel, H; Paris, S (2008b): Progression of artificial enamel caries lesions after infiltration with experimental light curing resins. In: *Caries Res* 42 (2), S. 117–124.
- Meyer-Lückel, H; Fejerskov, O; Paris, S (2009): Neuartige Therapiemöglichkeiten bei approximaler Karies. In: *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 119 (5), S. 454–461.
- Meyer-Lückel, H; Paris, S (2010): Infiltration of natural caries lesions with experimental resins differing in penetration coefficients and ethanol addition. In: *Caries Res* 44 (4), S. 408–414.
- Meyer-Lückel, H; Chatzidakis, A; Naumann, M; Dorfer, CE; Paris, S (2011): Influence of application time on penetration of an infiltrant into natural enamel caries. In: *J Dent* 39 (7), S. 465–469.
- Meyer-Lückel, H; Paris, S; Ekstrand KR (2012a): Kariesinfiltration. In: Meyer-Lückel, H; Paris, S; Ekstrand, KR (Hg.): Karies. Wissenschaft und klinische Praxis. Stuttgart : Thieme (ZMK Praxis), S. 271–283.
- Meyer-Lückel, H; Bitter, K; Paris, S (2012b): Randomized Controlled Clinical Trial on Proximal Caries Infiltration: Three-Year Follow-Up. In: *Caries Res* 46 (6), S. 544–548.
- Micheelis, W; Hoffmann, T (2006): Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie - (DMS IV). Neue Ergebnisse zu oralen Erkrankungsprävalenzen, Risikogruppen und zum zahnärztlichen Versorgungsgrad in Deutschland 2005. Köln: Dt. Zahnärzter-Verlag (Materialienreihe / Institut der Deutschen Zahnärzte, 31).

- Oong, EM; Griffin, SO; Kohn, WG; Gooch, BF; Caufield, PW (2008): The effect of dental sealants on bacteria levels in caries lesions: a review of the evidence. In: *J Am Dent Assoc* 139 (3), S. 271–278.
- Paris, S; Meyer-Lückel, H; Stiebritz, M; Kielbassa, AM (2007a): Surface layer erosion of enamel caries lesions in primary teeth in preparation for resin infiltration. In: *Caries Res* 41 (2), S. 268-334.
- Paris, S; Meyer-Lückel, H; Cölfen H; Kielbassa, AM (2007b): Penetration coefficients of commercially available and Penetration coefficients of commercially available and experimental composites intended to infiltrate enamel carious lesions. In: *Dental Mater* 23 (6), S. 742–748.
- Paris, S; Bitter, K; Renz, H; Hopfenmüller, W; Meyer-Lückel, H (2009): Validation of two dual fluorescence techniques for confocal microscopic visualization of resin penetration into enamel caries lesions. In: *Microsc Res Tech* 72 (7), S. 489–494.
- Paris, S; Meyer-Lückel, H (2010): Inhibition of caries progression by resin infiltration in situ. In: *Caries Res* 44 (1), S. 47–54.
- Paris, S; Hopfenmüller, W; Meyer-Lückel, H (2010): Resin infiltration of caries lesions: an efficacy randomized trial. In: *J Dent Res* 89 (8), S. 823–826.
- Paris, S; Meyer-Lückel, H (2012): Paradigmenwechsel. In: Meyer-Lückel, H; Paris, S; Ekstrand, KR (Hg.): *Karies. Wissenschaft und klinische Praxis*. Stuttgart: Thieme (ZMK Praxis), S. 71–75.
- Paris, S; Soviero, VM; Chatzidakis, AJ; Meyer-Lückel, H (2012a): Penetration of experimental infiltrants with different penetration coefficients and ethanol addition into natural caries lesions in primary molars. In: *Caries Res* 46 (2), S. 113–117.
- Paris, S; Soviero, VM; Seddig, S; Meyer-Lückel, H (2012b): Penetration depths of an infiltrant into proximal caries lesions in primary molars after different application times in vitro. In: *Int J Paediatr Dent* 22 (5), S. 349–355.
- Pitts, NB; Rimmer, PA (1992): An in vivo comparison of radiographic and directly assessed clinical caries status of posterior approximal surfaces in primary and permanent teeth. In: *Caries Res* 26 (2), S. 146–152.

- Pitts, NB (2004): Are we ready to move from operative to non-operative/preventive treatment of dental caries in clinical practice? In: *Caries Res* 38 (3), S. 294–304.
- Poorterman, JHG; Aartman, IHA; Kalsbeek, H (1999): Underestimation of the prevalence of approximal caries and inadequate restorations in a clinical epidemiological study. In: *Community Dent Oral Epidemiol* 27 (5), S. 331–337.
- Raper, HR (1925): Practical clinical preventive dentistry based upon periodic roentgen-ray examinations. In: *J Am Dent Assoc* (12), S. 1082–1100.
- Robinson, C; Hallsworth, AS; Weatherell, JA; Künzel, W (1976): Arrest and control of carious lesions: a study based on preliminary experiments with resorcinol-formaldehyde resin. In: *J Dent Res* 55 (5), S. 812–818.
- Robinson, C; Brookes, SJ; Kirkham, J; Wood, SR; Shore, RC (2001): In vitro studies of the penetration of adhesive resins into artificial caries-like lesions. In: *Caries Res* 35 (2), S. 136–141.
- Rodda, JC (1983): Impregnation of caries-like lesions with dental resins. In: *N Z Dent J* 79 (358), S. 114–117.
- Sawle, RF; Andlaw, RJ (1988): Has occlusal caries become more difficult to diagnose? A study comparing clinically undetected lesions in molar teeth of 14-16-year old children in 1974 and 1982. In: *Br Dent J* 164 (7), S. 209–211.
- Schmidlin, PR; Zehnder, M; Pasqualetti, T; Imfeld, T; Besek, MJ (2004): Penetration of a bonding agent into De- and remineralized enamel in vitro. In: *J Adhes Dent* 6 (2), S. 111–115.
- Schmidlin, PR; Klück, I; Zimmermann, J; Roulet, J-F; Seemann, R (2006): Caries-preventive potential of an adhesive patch after thermomechanical loading – a microbial-based in vitro study. In: *J Adhes Dent* 8 (1), S. 7–12.
- Schroeder, HE (1983): Pathobiologie oraler Strukturen: Zähne, Pulpa, Parodont. Basel: Karger Verlag.
- Sheiham, A (2001): Dietary effects on dental diseases. In: *Public Health Nutr* 4 (2B), S. 569-591.
- Sheiham, A (2002): Minimal intervention in dental care. In: *Med Princ Pract* 11 (Suppl 1), S. 2–6.

- Silverstone, LM (1973): Structure of carious enamel, including the early lesion. In: *Oral Sci Rev* (3), S. 100–160.
- Silverstone, LM (1983): Remineralisation and Enamel Caries: Significance of Fluoride and Effect on Crystal Diameter. In: Leach, SA; Edgar, WM (Hg.): Demineralisation and remineralisation of the teeth. Proceedings of a workshop, October 11-15, 1982, Samos, Greece. Oxford: IRL Press, S. 185–205.
- Thylstrup, A; Bille, J; Qvist, V (1986): Radiographic and observed tissue changes in approximal carious lesions at the time of operative treatment. In: *Caries Res* 20 (1), S. 75–84.
- Wilhelm, S; Gröbler, B; Gluch, M; Heinz, H (2003): Die konfokale Laser Scanning Mikroskopie: Optische Abbildung, Elektronische Signalverarbeitung, Grundlagen. Jena: Broschüre Carl Zeiss.

11 Anhang

11.1 Materialliste

- Mat. 1** AxioVision; AxioVs40 V 4.6.3.0 Software, 2006-2008, Carl Zeiss Imaging Solutions; Jena, Deutschland
- Mat. 2** Bandsäge Exakt 310, Exakt Apparatebau; Norderstedt, Deutschland
- Mat. 3** Polierer Exakt 400, Exakt Apparatebau; Norderstedt, Deutschland
- Mat. 4** Ethanol absolut Ph. Eur., VWR International GmbH; Darmstadt, Deutschland
- Mat. 5** Exel 2003, Microsoft Deutschland GmbH; Unterschleissheim, Deutschland
- Mat. 6** Fluorescein-Natrium, Karl Roth GmbH+ Co. KG; Karlsruhe, Deutschland
- Mat. 7** Fotoapparat, Canon EOS 40D; Tokio, Japan
- Mat. 8** Honigum, DMG; Hamburg, Deutschland
- Mat. 9** ICON, Kariesinfiltrant approximal, DMG; Hamburg, Deutschland
- Mat. 10** Kofferdam, Ivory; Handewitt, Deutschland
- Mat. 11** konfokales Laser-Raster-Mikroskop (CLSM) LSM 510; Carl Zeiss; Jena, Deutschland
- Mat. 12** Microsoft Word 2003; Redmond, USA
- Mat. 13** Optosil, Heraeus; Hanau, Deutschland
- Mat. 14** Objektträger, Dia Plus; Oststeinbeck, Deutschland
- Mat. 15** Polymerisationslampe; bluephase C8, Ivoclar Vivadent; Ellwangen, Deutschland
- Mat. 16** Silagum, DMG; Hamburg, Deutschland
- Mat. 17** Technovit (4017 und 4006), Heraeus Kulzer GmbH; Werheim, Deutschland
- Mat. 18** Tetrarhodaminisothiocyanat (TRITC), Sigma-Aldrich; Steinheim, Deutschland
- Mat. 19** Thymol 0,08%ig, Merck KGaA; Darmstadt, Deutschland

Mat. 20 Wasserstoffperoxidlösung 30%, Otto Fischer GmbH & Co. KG;
Saarbrücken, Deutschland

Mat. 23 Zahnseide; Elmex, Gaba; Lörrach, Deutschland

11.2 Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Univ.-Prof. Dr. Hendrik Meyer-Lückel und Herrn Priv.-Doz. Dr. Sebastian Paris möchte ich für die Bereitstellung des interessanten Themas und die freundliche Betreuung während der Versuchsdurchführung danken. Insbesondere Herrn Priv.-Doz. Dr. Paris bin ich für seine konstruktiven Hinweise zum Verfassen dieser Dissertation sehr dankbar.

Bei meiner Kommilitonin und guten Freundin Maria Schuch möchte ich mich für die engagierte Zusammenarbeit während der Durchführung der Versuche und für die schöne Zeit in unserer „Doktoranden-WG“ in Waldheim am Brahmsee bedanken.

Herrn Univ.-Prof. Dr. Christof Dörfer danke ich für die Möglichkeit der Nutzung der wissenschaftlichen Laboratorien der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Herrn Univ.-Prof. Dr. Dieter Kabelitz, Institut für Immunologie, und Frau Dr. Marie-Luise Kruse, Klinik für Innere Medizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein in Kiel danke für die Bereitstellung des konfokalen Laser-Raster-Mikroskops.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Michael Stiebritz, Chemisch-technischer Assistent, für seine Hilfe bei labortechnischen Fragen bedanken.

Besonderer Dank gilt meiner Mutter, die mir mein Studium ermöglicht und mich immer unterstützt hat, und meiner gesamten Familie.

Meinem Freund, Sven Knothe, möchte ich für seine Hilfsbereitschaft und sein allzeit offenes Ohr von Herzen danken.

11.3 Curriculum vitae

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

11.4 Publikation der vorliegenden Arbeit

Paper

Paris, S, Bitter, K; Naumann, M; Dörfer, CE; Meyer-Lückel, H (2011):

Resin infiltration of proximal caries lesions differing in ICDAS Codes.

In: *Eur J Oral Sci* 119 (2), S. 182-186

Poster

Meyer-Lückel, H; Schuch, M; Büchting, A; Dörfer, CE; Paris, S (2010):

Caries infiltration in teeth varying in ICDAS-II codes in vitro.

In: *J Dent Res* 89 (Spec Iss A): Abstr. No. 137256

12 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Andrea Büchting, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Kunststoffinfiltration natürlicher approximaler kariöser Läsionen unterschiedlicher Krankheitsstadien *in vitro*“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.“

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Andrea Büchting hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Paris, S, Bitter, K; Naumann, M; Dörfer, CE; Meyer-Lückel, H (2011):

Resin infiltration of proximal caries lesions differing in ICDAS Codes.

In: *Eur J Oral Sci* 119 (2), S. 182-186

Beitrag im Einzelnen:

Mitarbeit am Studiendesign, Herstellung der Proben, Anfertigung der Aufnahmen mittels konfokaler Laser-Raster- Mikroskopie zur Visualisierung der Proben, Entwicklung und Vermessung der läsionsspezifischen Parameter

Meyer-Lückel, H; Schuch, M; Büchting, A; Dörfer, CE; Paris, S (2010):

Caries infiltration in teeth varying in ICDAS-II codes in vitro.

In: *J Dent Res* 89 (Spec Iss A): Abstr. No. 137256

Beitrag im Einzelnen:

Mitarbeit am Studiendesign, Herstellung der Proben, Anfertigung der Aufnahmen mittels konfokaler Laser-Raster-Mikroskopie zur Visualisierung der Läsionen, Entwicklung und Vermessung der läsionsspezifischen Parameter

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin