

Aus der Abteilung für Zahnerhaltung und Präventivzahnmedizin des  
CharitéCentrums 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss verschiedener Präparationsmethoden auf die Zugfestigkeit  
eines Dentin-Komposit-Verbundes und die Auswirkungen auf das  
Frakturverhalten *in vitro*

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Paul Christian Köhler

aus Berlin

Datum der Promotion: 09.12.2016



Meiner Familie in Liebe und Dankbarkeit

## INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS.....	IV
1. ZUSAMMENFASSUNG.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3 EINLEITUNG.....	5
4 LITERATURÜBERSICHT.....	7
4.1 Dentin.....	7
4.2 Rotierende Instrumente.....	8
4.2.1 Hartmetallbohrer.....	8
4.2.2 Diamantschleifer.....	9
4.3 Er:YAG-Laser.....	10
4.3.1 Grundlagen des Lasers.....	10
4.3.2 Laser in der Zahnheilkunde.....	12
4.3.3 Er:YAG-Laser in der konservierenden Zahnheilkunde.....	14
4.4 Komposite.....	17
4.5 Adhäsive.....	18
4.5.1 Erste bis dritte Generation.....	18
4.5.2 Vierte Generation (Total-Ätz-Technik).....	19
4.5.3 Fünfte Generation (Selbstprimende Adhäsive).....	19
4.5.4 Sechste und siebente Generation (Selbstätzende und selbstprimende Adhäsive).....	20
4.6 Zugfestigkeitsprüfverfahren.....	20
4.7 Konfokales Laser-Raster-Mikroskop.....	21
5. FRAGESTELLUNG.....	24
6. MATERIAL UND METHODEN.....	25
6.1 Herstellung der Dentinproben.....	25
6.2 Herstellung der Verbundproben.....	26
6.3 Konfokalmikroskopische Untersuchung der intakten Proben.....	29
6.4 Zugfestigkeitsmessung.....	30
6.5 Konfokalmikroskopische Untersuchung der frakturierten Proben.....	31
6.6 Vermessung der mikroskopischen Aufnahmen.....	31
6.7 Statistische Auswertung.....	32
7 ERGEBNISSE.....	33
7.1.Hybridschicht.....	33

---

7.1.1. Anwesenheit einer Hybridschicht .....	33
7.1.2. Hybridschichtdicke.....	34
7.2 Zugfestigkeitsmessung .....	38
7.3 Frakturverhalten .....	39
8. DISKUSSION .....	43
8.1 Diskussion von Material und Methoden .....	43
8.1.1 Herstellung der Verbundproben .....	43
8.1.2 Konfokalmikroskopische Auswertung.....	44
8.1.3 Zugfestigkeitsmessung .....	45
8.2 Diskussion der Ergebnisse .....	47
9. SCHLUSSFOLGERUNGEN.....	53
10. LITERATURVERZEICHNIS .....	54
11. ANHANG.....	66
11.1 Ergebnisse .....	66
11.2 Abkürzungsverzeichnis .....	67
11.3 Materialverzeichnis .....	69
11.4 Tabellenverzeichnis.....	71
11.5 Abbildungsverzeichnis .....	71
11.6 Danksagung.....	72
11.7 Lebenslauf .....	73
11.8 Eidesstattliche Erklärung.....	74

## 1. ZUSAMMENFASSUNG

**Problemstellung:** Durch die Einführung von Dentallasern stehen verschiedene Präparationsarten für Dentinkavitäten zur Verfügung. Der Einfluss der Er:YAG-Laserpräparation auf den Haftverbund von adhäsiv verankerten Kompositrestaurationen, die Hybridschicht und das Frakturverhalten wurden mit unterschiedlichen Ergebnissen untersucht. **Zielsetzung:** Das Ziel dieser *in-vitro*-Studie war, die Auswirkungen unterschiedlicher Präparationsarten mit zwei gängigen Adhäsivsystemen auf den Dentin-Adhäsiv-Verbund im Zugversuch zu analysieren. Darüber hinaus sollten durch eine Auswertung mit dem konfokalen Laser-Raster-Mikroskop die Hybridschicht und das Frakturverhalten untersucht werden. **Material und Methoden:** Die okklusale Oberfläche 50 humaner Weisheitszähne wurde bis zur Freilegung der Dentinoberfläche entfernt. Diese wurde poliert und in fünf Gruppen mit unterschiedlicher Präparationstechnik bearbeitet (Gruppe 1: Schleifpapier Körnung #600; Gruppe 2: Schleifpapier Körnung #4000; Gruppe 3: Hartmetallbohrer; Gruppe 4: Diamantschleifer; Gruppe 5: Er:YAG-Laser). Aus den Zähnen wurden Probenzylinder ( $\odot$  3 mm; n = 140) entnommen und entweder mit Phosphorsäure (37 %) und dem Etch-and-Rinse-Adhäsiv Excite<sup>®</sup> (Gruppe A) oder dem Self-Etch-Adhäsiv Xeno III<sup>®</sup> (Gruppe B) behandelt. Auf die Adhäsivschicht wurde ein Kompositzylinder modelliert. Die Proben wurden vertikal geteilt und vor sowie nach dem Zugversuch (Prüfgeschwindigkeit: 0,5 mm/min) mit dem konfokalen Laser-Raster-Mikroskop untersucht. **Ergebnisse:** Die Hybridschicht der Gruppe A1 war signifikant dünner [3,6 (2,1)  $\mu$ m] als in den Gruppen B3, A4, B4, A5 und B5 ( $p < 0,05$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey), die der Gruppe A3 war signifikant dünner [3,4 (1,6)  $\mu$ m] als in den Gruppen B1, A2, B3, A4, B4, A5 und B5 ( $p < 0,05$ ). Die Er:YAG-Laserpräparation hatte einen signifikanten Einfluss auf die Schichtdicke, diese war in Gruppe A5 signifikant grösser [17,9 (10,8)  $\mu$ m] als in allen Gruppen, außer B5 ( $p < 0,05$ ). Diese hatte signifikant größere Hybridschichten [16,7 (8,2)  $\mu$ m] als alle Gruppen mit Ausnahme von B3 und A5 ( $p < 0,05$ ). Die Hybridschicht war in allen Gruppen meist nur teilweise ausgebildet (65 %). Die Zugfestigkeitswerte waren in den Gruppen B1 [7,60 (4,54) MPa] und B5 [7,90 (4,65) MPa] signifikant höher als in den Gruppen B2, A3, A4 und B4 ( $p < 0,05$ ). Die Grenze zwischen Dentin und Adhäsiv war in allen Gruppen außer in Gruppe A5 die häufigste (60 %), innerhalb des Komposits immer die geringste Frakturlokalisierung (1 %). **Schlussfolgerungen:** Die Wahl der Präparationstechnik hatte bei Anwendung von Excite<sup>®</sup> keine Auswirkungen auf die Zugfestigkeit. Bei der Verwendung von

Xeno III<sup>®</sup> konnte die Zugfestigkeit durch eine Präparation mit dem Er:YAG-Laser gesteigert werden.

**Schlagwörter:** Er:YAG-Laser, Zugfestigkeit, CLSM, Hybridschicht, Dentin

**Klinische Bedeutung:** Die Wahl der Präparationsart kann bei selbstätzenden Adhäsiven einen Einfluss auf die Festigkeit des Dentin-Komposit-Verbundes haben. Die größte Schwachstelle des Verbundes ist die Grenze zwischen Adhäsiv und Dentin. Durch den Einsatz des Er:YAG-Lasers kann eine Verbesserung der Haftwerte erreicht werden.

## 2. ABSTRACT

**Statement of problem:** With introduction of laser treatment, various methods for dentin preparation are available. The influence of Er:YAG laser preparation on microtensile bond strength of composite resin bonded to dentin, the hybrid layer and fracture characteristics were examined with different results. **Objectives:** The aim of this *in-vitro* study was to evaluate the influence of different preparation techniques and two adhesive systems on composite resin bounded to dentin by means of microtensile bond strength ( $\mu$ TBS). Hybrid layer and fracture characteristics were examined using confocal laser-scanning microscopy (CLSM). **Materials and methods:** The occlusal surface of 50 human third molars were ground flat to expose dentin surface. All teeth were polished and randomly divided into five groups with different preparation procedures (group 1: abrasive paper grit #600; group 2: grit #4000; group 3: tungsten carbide bur; group 4: diamond bur; group 5: Er:YAG Laser). Dentin surfaces of the micro-shaped cut specimen ( $\odot$  3 mm; n = 140) were bonded either by phosphoric acid (37 %) combined with etch-and-rinse adhesive Excite<sup>®</sup> (group A) or by self-etch adhesive Xeno III<sup>®</sup> (group B). Resin composite cylinders were incrementally built up. Specimens were perpendicularly cut and CLSM-examined before and after microtensile bond strength tests (crosshead speed: 0,5 mm/min). **Results:** Hybrid layers in group A were significantly thinner [3,6 (2,1)  $\mu$ m] than in groups B3, A4, B4 and B5, those in group A3 [3,4 (1,6)  $\mu$ m] than in B1, A2, B3, A4, B4, A5 and B5 ( $p < 0,05$ ; one-way Anova, post-hoc Tukey). Er:YAG laser preparation had significant influence on hybrid layer thickness; group A5 [17,9 (10,8)  $\mu$ m] had significantly thicker hybrid layer than all other groups except B5, where they [16,7 (8,2)  $\mu$ m] were significantly thicker than in all groups except B3 and A5 ( $p < 0,05$ ). All groups had mostly partial hybrid layers (65 %).  $\mu$ TBS values in group B1 [7,6 (4,54) MPa] and B5 [7,9 (4,65) MPa] were significantly higher than in group B2, A3, A4 and B4 ( $p < 0,05$ ). Dentin-adhesive interface was the most frequent fracture location (60 %) except in group A5, fractures within composite resin were infrequent (1 %). **Conclusions:** Different preparation techniques had no influence on bond strength when Excite<sup>®</sup> was used. With Xeno III<sup>®</sup>, bond strength data were higher when Er:YAG laser was used.

**Key words:** Er:YAG laser, microtensile bond strength, CLSM, hybrid layer, dentin

**Clinical significance:** The choice of preparation technique could have influence on bond strength of composite resin bonded to dentin. The dentin-adhesive interface is shown to be the weakest part. Er:YAG laser application could improve bond strength values.

### 3 EINLEITUNG

Um einen substanzschonenden und ästhetischen Ersatz von verlorengegangenen Zahnhartgeweben zu ermöglichen, wurden in den letzten Jahrzehnten im Bereich der konservierenden Zahnheilkunde die adhäsiv verankerten direkten Kompositfüllungen eingeführt und weiterentwickelt. Der Verbund zwischen Dentin, Adhäsiv und Komposit ist dabei für die Langlebigkeit von Kompositrestaurationen einer der wichtigsten Faktoren.

Diamantschleifer sind allgemein die am häufigsten eingesetzten Instrumente, um Karies zu exkavieren und Dentinoberflächen zu präparieren. Stahl- oder Wolframkarbidbohrer werden angewendet, um präzise und schmerzarm Dentinkavitäten zu präparieren. Grundsätzlich ist die Dentinoberfläche nach einer Präparation mit rotierenden Instrumenten von einer amorphen Schicht mit organischen und anorganischen Bestandteilen bedeckt, die als Schmierschicht bezeichnet wird [Eick *et al.* 1970]. Die Zusammensetzung und die Dicke dieser Schicht werden von der Größe und Form der Kavität, sowie von der Behandlungsmethode beeinflusst. Sie wird durch die Behandlung mit Adhäsivsystemen entfernt oder modifiziert. Im Grenzbereich zwischen Dentin und Adhäsiv wird eine Hybridschicht gebildet [Nakabayashi *et al.* 1991]. Sie ist ein wichtiges Kriterium für die Haftung des Adhäsivs.

In neuerer Zeit wurden durch die zahnärztliche Forschung neue Präparationstechniken entwickelt, um kariöse Zahnhartsubstanz zu entfernen und Kavitäten zu präparieren. Eine davon ist die Erbium: Yttrium-Aluminium-Granat (Er:YAG)-Laserbehandlung. Durch ihre hohe Sensitivität und die schonende, minimalinvasive Präparationsweise ist sie eine weithin akzeptierte Methode, um Zahnschmelz und Dentin zu entfernen [Visuri *et al.* 1996a]. Sie gilt als Alternative zu hochtourigen und niedertourigen rotierenden Instrumenten.

Der Er:YAG-Laser emittiert Energie im mittleren Infrarotbereich (2,94  $\mu\text{m}$ ), die vom Wasser in der Zahnhartsubstanz absorbiert wird und Ablationen an der Oberfläche erzeugt. Der höhere Zeitaufwand, die notwendigen Sicherheitsvorkehrungen und die höheren Anschaffungskosten sind in der klinischen Praxis zu bedenken. Durch den Er:YAG-Laser wird im Schmelz und im Dentin keine Schmierschicht erzeugt; die Ablationen führen zu einer unregelmäßigen Oberfläche und offenen Dentinkanälchen. Diese Merkmale scheinen für den Dentinverbund einer adhäsiv befestigten Kompositrestauration besser geeignet zu sein als herkömmliche rotierende Instrumente, wie Hartmetallbohrer oder Diamantschleifer [Visuri *et al.* 1996a; Keller & Hibst 1997]. Dies ist jedoch nicht allgemein anerkannt. Sowohl geringere als

auch erhöhte Haftfestigkeiten des mit Er:YAG-Laser präparierten Dentin-Komposit-Verbundes wurden unter experimentellen Bedingungen festgestellt [Shirani *et al.* 2012; Cvikl *et al.* 2015].

Das Ziel dieser Studie war, die Zugfestigkeit des Dentinverbundes zweier marktüblicher Komposithaftvermittler in Abhängigkeit von der Präparationsweise zu untersuchen. Dazu wurden dem Er:YAG-Laser die Diamantschleifer und Hartmetallbohrer gegenübergestellt. Als Kontrollgruppen wurden Proben mit einer Oberflächenbehandlung durch Schleifpapier verschiedener Körnung verwendet. Darüber hinaus wurde anhand von konfokalmikroskopischen Aufnahmen vor und nach dem Zugversuch untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Bildung der Hybridschicht zwischen Haftvermittler und Dentin, der Zugfestigkeit und dem Frakturverhalten besteht.

## 4 LITERATURÜBERSICHT

### 4.1 Dentin

Der überwiegende Teil des menschlichen Zahnes besteht aus Dentin. Es wird mesenchymal gebildet und ist dem Knochen in seiner chemischen Zusammensetzung ähnlich. Das Dentin schließt sich an die Zahnpulpa an und ist koronal vom stark mineralisierten Zahnschmelz und im Bereich des Wurzel dentins vom wenig mineralisierten Zement umgeben. Dentin ist ein lebendes und mineralisiertes Gewebe, welches zu 70 % Gewichtsteilen (40 - 45 % Volumenanteilen) aus anorganischem und zu 20 Gew.-% (30 Vol.-%) aus organischem Material besteht. 10 Gew.-% (20 - 25 Vol.-%) sind Wasser. Der größte Teil des organischen Anteils besteht aus Kollagen (Typ I) und kollagenartigen Verbindungen (90 %) [Kawasaki *et al.* 1997]. Der anorganische Anteil setzt sich hauptsächlich aus Phosphat und Kalzium zusammen. Er liegt größtenteils in kristalliner Form als Hydroxylapatit und als amorphes Kalziumphosphat vor. Die Dentinkristalle liegen nicht wie im Zahnschmelz in Prismenform vor, sondern sind abhängig von der Lokalisation im Dentin unterschiedlich angeordnet.

Das Dentin besteht aus mehreren Schichten: in Pulpanähe befindet sich das wenig mineralisierte Prädentin, danach folgen das mineralisierte Zwischendentin und das zirkumpulpale inhomogene Dentin, welches die größte Schicht ist. Die äußersten Schichten sind nach koronal das weniger mineralisierte Manteldentin mit einer Schichtdicke von 15 - 30 µm, nach apikal die Tomes'sche Körnerschicht und die hyaline Hopwell-Smith-Schicht [Goldberg *et al.* 2011].

Das Elastizitätsmodul des Dentins ist abhängig von der Schichtzugehörigkeit. Es ist mit 15.000 - 20.000 MPa geringer als das des Zahnschmelzes (50.000 - 85.000 MPa). Die Vickershärte des Dentins (60 - 70 VH) liegt ebenfalls unter der des Schmelzes (250 - 550 VH). Die Druckfestigkeit beträgt 250 - 300 MPa [Körper 1995].

Dentin wird von den postmitotischen Odontoblasten in der Zahnpulpa gebildet [Ruch 1998]. Die Odontoblastenfortsätze (Tomes'sche Fasern) sind Zytoplasmafortsätze. Sie liegen in den Dentinkanälchen und versorgen das Dentin mit Proteoglykanen, Lipiden und anderen Proteinen [Pashley 1991]. Das peritubuläre Dentin kleidet die Kanalwand aus und ist stark mineralisiert. Zwischen den Dentinkanälchen liegt das weniger mineralisierte intertubuläre Dentin. Durchmesser und Volumen der Dentinkanälchen hängen aufgrund der lebenslangen Apposition vom Alter der Zähne ab. Pulpanah beträgt ihr Durchmesser 4 - 5 µm und nimmt zur

Schmelz-Dentin-Grenze ab. Die Anzahl der Dentinkanälchen liegt zwischen 18.000 und 21.000 pro mm<sup>2</sup> [Schilke *et al.* 2000]. Darin sind die Odontoblastenfortsätze von Flüssigkeit und organischem Material umgeben. Die Fortsätze besitzen nichtmyelinisierte Nervenfasern, die in das intertubuläre Dentin hineinziehen und über ein mechanisch-sensorisches System untereinander in Verbindung stehen. Die Odontoblastenfortsätze werden von einem Dentinliquor umspült [von Kreudenstein 1955; Magloire *et al.* 2009].

## 4.2 Rotierende Instrumente

Um Zahnhartsubstanz zu entfernen, werden rotierende Instrumente oder Handinstrumente benutzt. Als Handinstrumente gelten beispielsweise Exkavatoren, Gingivalrandschräger und Schmelzmeißel. Rotierende Instrumente unterscheiden sich in Bauform, Materialzusammensetzung und der Anwendungsdrehzahl. Alle Instrumente bearbeiten die Oberfläche durch Spanabhebung. Die ISO-Norm 6360 gibt über Material, Schaft- und Gesamtlänge, Form und Ausführung, sowie die Nenngröße Auskunft. Das Einsatzgebiet des Instruments, die Kühlung, die Maximaldrehzahl und der ausgeübte Präparationsdruck sind bei der Anwendung zu beachten, um starke Wärmeentwicklung und ihre Auswirkung auf die Hartgewebe und die Pulpa, zu vermeiden. Die Wärmeentwicklung hat auch Auswirkungen auf die Arbeitsleistung, die Oberflächenbeschaffenheit und die Instrumentenbeschaffenheit. Vibrationen können durch einen unrunder Lauf eines Instrumentes entstehen. Ein laterales Ausschlagen des Bohrkopfes kann durch einen Lagerschaden des Winkelstücks oder eine Unwucht des Bohrers entstehen. Dabei kann es zur Instrumentenfraktur und zu Unebenheiten oder Schäden auf der präparierten Oberfläche kommen [Watson & Cook 1995].

Die Leistung eines Instrumentes wird durch die Zerspanungsmenge pro Zeit definiert [Siegel & von Fraunhofer 1999]. Die Schnittgeschwindigkeit hängt vom Kopfdurchmesser des Instruments und von der Drehzahl des benutzten Winkelstücks ab.

Die Winkelstücke werden in höchsttourige pneumatische Turbinen (120.000 - 400.000 U/min) sowie hochtourige Schnellläufer (20.000 - 45.000 U/min) und mitteltourige (4500 - 20.000 U/min) und niedertourige Reduzierstücke (500 - 4500 U/min) eingeteilt.

### 4.2.1 Hartmetallbohrer

Stahlbohrer und Hartmetallbohrer (Wolframkarbid) sind schneidende Fräsen, deren Schneiden kreuzverzahnt, geschwungen oder gerade sein können. Dazu zählen auch Rosenbohrer, die

niedertourig und ohne Wasserkühlung eingesetzt werden. Die Vickershärte beträgt meist 1600 HV. Hartmetallbohrer bestehen aus einem Schaft aus rostfreiem Stahl, der über ein Hartlot mit dem Arbeitsteil verbunden ist. Die eingeschliffene Verzahnung im Arbeitsteil und die Winkel der Schneiden bestimmen die Eigenschaften des Bohrers [Greener & Lindenmeyer 1968].

Der Spanwinkel ist üblicherweise negativ und bestimmt die Schneidleistung. Ein großer Keilwinkel verursacht einen erhöhten Kraftaufwand. Durch einen geringen Freiwinkel wird ein Eindringen der Schneiden in die Oberfläche verhindert, sowie die Reibung zwischen Instrument und Oberfläche und dadurch die Wärmeentwicklung verringert. Der Drallwinkel ist bei einem zahnärztlichen Bohrer rechts. Dadurch wird er zur Oberfläche hingezogen. Dies vermindert die Vibration. Bei einer höheren Anzahl der Schneiden verbessert sich die Laufruhe und die Oberflächengüte, die Schneidleistung nimmt aber ab [Ohmoto *et al.* 1994]. Bei zu großer Wärmeentwicklung wird der Bohrer enthärtet und hat keine Schneidfähigkeit. Die Flexibilität nimmt ab und es kann zum Bruch des Bohrers kommen.

Die Anwendung ist unkompliziert, jedoch kann es durch fehlende taktile Kontrolle zu einer Überpräparation mit der Gefahr von Substanzschwächung und Pulpairritation kommen. Nachteilig sind für den Patienten die Wärmeentwicklung, Vibration und der ausgeübte Druck [Banerjee *et al.* 2000].

#### **4.2.2 Diamantschleifer**

Diamantschleifer wurden in ihrer heutigen Form von Drendel & Zweiling 1939 eingeführt [Siegel & von Fraunhofer 1998]. Sie bestehen aus einem Rohling aus Spezialstahl. Über eine galvanisch aufgetragene Metallverbindung sind die Diamantschleifkörner eingearbeitet. Der Verbund der Diamantpartikel mit dem Metallschaft ist die Schwachstelle dieser Instrumente. Die oktaederförmigen Diamanten können eine definierte oder nichtdefinierte Körnung (8 - 150 µm) besitzen. Es werden Naturdiamanten oder synthetisch hergestellte Diamanten in Nickel eingebettet. Der Diamant-Metall-Verbund besteht aus einer Dämpfungsschicht, die für eine lange Verwendungsdauer wichtig ist, der Bindungsschicht, in der die Diamanten verankert sind und oben aufliegend der Abschlusschicht, die einen Abtransport der Späne bewirkt. Diamantschleifer erzeugen bei höherer Drehzahl eine rauere Oberfläche als Hartmetallbohrer. Bei Verwendung einer Turbine kann es durch die höhere Drehzahl zur Temperaturerhöhung und durch das geringere Drehmoment zu einer geringeren Schneidleistung kommen [Ercoli *et al.* 2009].

Die Form des Instruments ist der Kavitätenform anzupassen. Dazu wird dem klinisch arbeitenden Zahnarzt eine große Auswahl angeboten. Diamantschleifer werden mit schnelllaufenden Winkelstücken oder Turbinen eingesetzt.

Eine starke Wasserkühlung (44 ml/min) ist geeigneter als geringere Kühlung (15 ml/min), um Oberflächen- und Pulpaverletzungen vorzubeugen [von Fraunhofer *et al.* 2000].

### 4.3 Er:YAG-Laser

#### 4.3.1 Grundlagen des Lasers

Einstein legte 1917 die theoretischen Grundlagen für den Laser. Er wurde von Gould (1959) eingeführt, und 1960 wurde von Maiman der erste funktionierende Laser gebaut. Die Bezeichnung ist ein Akronym für Lichtverstärkung durch stimulierte Strahlungsemission (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation). Er besteht aus drei wesentlichen Komponenten: der Laserröhre mit dem aktiven Medium, in dieser Studie ein Festkörper (Erbium-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Kristall), einem reflektierenden Spiegel an dem einen und einem teilreflektierenden am anderen Ende der Röhre sowie einer Pumpquelle zur Anregung (vgl. Abb. 1).

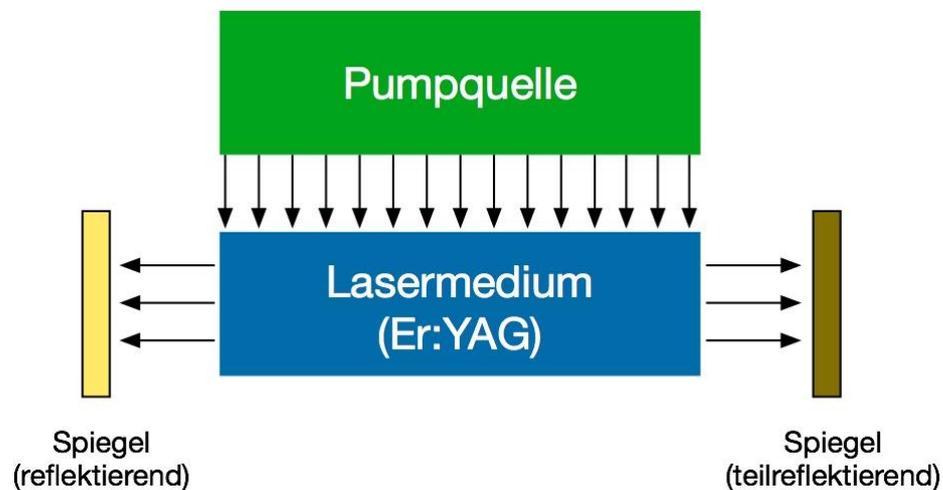
Durch Energiezufuhr, dem Pumpen, werden in Atomen die Elektronen durch Stimulation auf ein erhöhtes Energieniveau gebracht. Dies geschieht durch Photonenaufnahme. Um den Ruhezustand wieder einzunehmen, emittieren die Elektronen nun Photonen mit der gleichen Wellenlänge der zuvor absorbierten Photonen. Das Energieniveau dieser Emission entscheidet über die Wellenlänge des ausgestrahlten Lichts. Bei einer spontanen Anregung ist das entstehende Licht nicht phasengleich, weil die Photonenemissionen zeitlich und räumlich verschieden sind. Bei einer stimulierten Emission werden die Elektronen im erhöhten energetischen Zustand von einem spontan emittierten Photon getroffen und fallen auf das gleiche Energieniveau zurück wie das emittierende Elektron. Die freiwerdenden Photonen besitzen die gleiche Wellenlänge und sind räumlich und zeitlich kohärent (phasengleich). Bei einem Laser entstehen durch Amplifizierung und eine Kettenreaktion weitere angeregte Elektronen, die Lichtquanten emittieren.

Der Pumpvorgang (im Puls- oder im Dauerstrichbetrieb) geschieht bei einem Festkörperlaser wie dem Er:YAG-Laser, durch Blitz- oder Bogenlampen. Das Pumpen führt im

laseraktiven Kristall zu einer Lichtwelle. In der Laserröhre (dem Resonator) wird diese durch Zufuhr von Energie verstärkt. Es werden weitere Elektronen angeregt und Photonen emittiert. Durch den teilreflektierenden Spiegel (siehe Abb. 1) gelangt die überschüssige Energie als Laserstrahl aus der Röhre nach außen [Eichler & Eichler 2010].

Der Laserstrahl ist eine elektromagnetische Welle. Sie besitzt drei wesentliche Merkmale, die sie von üblichem Licht unterscheidet:

1. Phasengleichheit (räumlich und zeitlich)
2. Monochromasie (Frequenzgleichheit)
3. Hohe Leistungsdichte (durch Kohärenz und Kollimation entsteht eine Bündelung der Strahlen)



**Abbildung 1:** Funktionsweise eines Lasers (schematische Darstellung).

Bei einem Dentallaser wird der Strahl über ein fiberoptisches Kabel, einen Hohlleiter oder über einen Spiegelarm in das Handstück weitergeleitet. Der Er:YAG-Laser kann die Anregungsenergie in sehr kurzer Zeit entfalten, wodurch eine sehr hohe Leistungsdichte ermöglicht wird [Gutknecht 1999].

Wenn ein Laserstrahl auf Gewebe trifft, entsteht zwischen seinen Lichtquanten und den Molekülen im Gewebe eine Wechselwirkung. Abhängig von den optischen Eigenschaften des Gewebes kommt es zu einer Reflexion, Streuung, Transmission oder Absorption des Laserlichts. Die Absorption im Gewebe ist von den Chromophoren, im dentalen Bereich meist dem Wasser, dem Hydroxylapatit, Melanin oder Hämoglobin abhängig, die eine bestimmte Neigung für das spezifische Laserlicht haben [Verma *et al.* 2012].

Der Absorptionsgrad des bestrahlten Gewebes für das spezifische Laserlicht bestimmt die therapeutische Wirkung und die physikalische Materialänderung. Die absorbierte Energiemenge hängt bei einem Er:YAG-Laser vor allem von der Menge des sich im Gewebe befindlichen Wassers ab. Durch Reflexion, Streuung und Transmission können Nebenwirkungen in den daneben- oder darunterliegenden, nicht direkt bestrahlten Bereichen entstehen. Bei einer starken Absorption verringert sich die Eindringtiefe des Laserlichts. Dies führt zu einer geringeren Auswirkung der Laserstrahlung auf benachbarte Strukturen. Die Wirkung des Lasers beruht auf vier Reaktionen:

1. thermomechanische Wirkung (Absorption, Druckerhöhung, Gewebeablation)
2. photochemische (Biostimulation, chemische Reaktionen)
3. photothermische Reaktion (Photokoagulation)
4. ionisierende und nichtlineare Prozesse (Photodisruption, Photofragmentation)

Wichtig für die Wirkung des Er:YAG-Lasers im Zahnhartgewebe ist die thermomechanische Reaktion [Frentzen & Koort 1991].

#### **4.3.2 Laser in der Zahnheilkunde**

Seit den 1960er Jahren wird der Einsatz dentaler Laser als Alternative zu den konventionellen rotierenden Instrumenten erforscht [Lobene *et al.* 1968]. Untersucht wurden insbesondere die photothermischen und photoablativen Wirkmechanismen der Laserstrahlung auf die Zahnhartsubstanz [Goldman *et al.* 1964; Gordon 1966; Frentzen & Koort 1991]. Die wesentlichen Vorteile der Laserbehandlung sind eine geringere Schmerzwahrnehmung, eine hartsubstanzschonende Präparationsweise und die selektive Kariesentfernung.

Stern (1974) und Yamamoto & Ooya (1974) untersuchten die Wirkung von CO<sub>2</sub>-Laser und Er:YAG-Laser auf Zahnhartgewebe mit dem Ziel einer Kariesprophylaxe und -prävention. Diese sollten durch eine Modifizierung der Schmelzoberfläche die Säurelöslichkeit der Zahnhartgewebe verringern [Fox *et al.* 1992]. Weitergehende Untersuchungen beschrieben diese Wirkung auf das Dentin und das Wurzelzement [Arakawa *et al.* 1996]. Ein Problem der pulpanahen Laserpräparation ist die Wärmeentwicklung [Lenz & Gilde 1978; Miserendino *et al.* 1989].

Visuri *et al.* (1996b) untersuchten hierzu die Vermeidung starker Temperaturerhöhungen im bestrahlten Gebiet durch Einsatz des Lasers mit Wasser- und Luftkühlung. Die dabei entstehenden Temperaturerhöhungen bis 7°C wurden als nicht pulpaschädigend angesehen.

Seitdem wurden Richtlinien zur Beachtung der thermischen Nebenwirkungen, wie auch der Sicherheit von Behandler und Patienten gefordert und ausgearbeitet, ebenso die Erstellung vorgeschriebener Benutzerwerte [Hoke *et al.* 1990; White *et al.* 1994]. Um einen antimikrobiellen Effekt, zum Beispiel bei der Erhaltung der Pulpa im Rahmen einer direkten Überkappung oder einer Pulpaamputation zu erhalten [Moritz *et al.* 1998; Lee *et al.* 2013], wurde der CO<sub>2</sub>-Laser eingesetzt.

Seit den 1980er Jahren, durch Einführung medizinischer Verfahren, wie der Laser-Doppler-Flussmessung in der Zahnheilkunde, konnten Veränderungen der Pulpa auf thermische, elektrische und chemische Reize, sowie die pulpale Blutzirkulation beschrieben werden [Raab 1989]. Laserinduzierte Verfahren, wie die Fluoreszenzspektroskopie und die Reflektionspektroskopie wurden auch zur Karies- und Wurzelkanaldiagnostik eingesetzt [Baumann & Doll 1997; Sundström *et al.* 1985].

Die Laserbehandlung wurde ausführlich zur Behandlung thermischer und taktiler Dentinhypersensitivitäten untersucht [Fayad *et al.* 1996; Moritz *et al.* 1996]. In neuerer Zeit wurde dazu der Einsatz des Er:YAG-Laser und konventionelle Glutaraldehyd enthaltende Systeme (GLUMA) verglichen [Ehlers *et al.* 2012]. Beide Anwendungsmethoden zeigten eine gute Reduktion zervikaler Dentinhypersensitivitäten.

Dentallaser werden in der zahnärztlichen Chirurgie im Bereich der Implantologie und der Wurzelspitzenresektion eingesetzt [Romanos *et al.* 2013]. CO<sub>2</sub>-Laser werden zur Entfernung benignen Schleimhauttumore verwendet [Abt *et al.* 1987]. Im Vergleich zu konventionellen Schnitttechniken wurde eine bessere Wundheilung beobachtet [Azma & Safavi 2013]. Über die Jahre wurden neue Einsatzmöglichkeiten im Bereich der Oralchirurgie und Implantologie gefunden, müssen aber weitergehend untersucht werden [Deppe & Horch 2007; Asnashaari & Zadsirjan 2014].

Hierzu gehört ebenso der Lasereinsatz bei der ästhetischen Gingivamodellation.

Im Bereich der Parodontologie wird der adjuvante Einsatz der verschiedenen Laserarten unterschiedlich beurteilt; die Behandlung mit einem Diodenlaser scheint bessere Resultate als mit Nd:YAG-Laser oder Erbium-Lasersystem zu erzielen [Smiley *et al.* 2015].

In der Endodontie werden Laserverfahren sowohl bei der Instrumentendesinfektion [Hooks *et al.* 1980] als auch bei der Kavitätendesinfektion eingesetzt. Zakariasen *et al.* (1986) untersuchten die Desinfektionswirkung von CO<sub>2</sub>-Laser bei der Wurzelkanalaufbereitung. Eine komplette Desinfektion wurde aufgrund unzugänglicher Stellen im periapikalen Bereich dabei nicht erreicht. Neuere Studien erzielten auch mit Granatlaser vollständige Keimfreiheit

[Gutknecht *et al.* 1996], insbesondere seit der Einführung flexibler optischer Fasersysteme in den 1990er Jahren [Cheng *et al.* 2012].

#### 4.3.3 Er:YAG-Laser in der konservierenden Zahnheilkunde

Es wurden mehrere Lasersysteme entwickelt, die sich in ihrer Energiemenge und ihrer Wellenlänge unterscheiden (CO<sub>2</sub>-Laser, Nd:YAG-Laser, Er,Cr:YSGG-Laser). Die größte wissenschaftliche Aufmerksamkeit richtet sich jedoch im Bereich der konservierenden Zahnheilkunde bei der Kariesexkavation auf den Erbium:Yttrium-Aluminium-Granat-Laser, [Keller & Hibst 1997]. Er wurde 1974 von Zharikov *et al.* eingeführt.

Der Dentinabtrag durch den Er:YAG-Laser entsteht durch thermomechanische Wechselwirkung zwischen dem Laserlicht und der Oberfläche der Zahnhartsubstanz. Das emittierte Licht des Er:YAG-Lasers hat mit seiner Wellenlänge von 2,94 µm einen ähnlichen Wert wie das Absorptionsmaximum des im Dentin enthaltenen Wasser (2,9 µm). Das Licht wird absorbiert, dadurch kommt es zu einer Erhitzung des Wassers. Dieses verdampft, wodurch kurzfristig ein starker Druck unter der Oberfläche entsteht. Der Druck verursacht unterhalb der Oberfläche eine Mikroexplosion. Die entstandene Oberfläche besteht aus Trümmerzonen mit Rissbildung und flachen, schollenartigen Dentinablationen [Frentzen & Koort 1991]. Durch die kurze Impulsdauer und eine oberflächliche Absorption kommt es in den darunterliegenden Schichten zu keinem großen Temperaturanstieg. In den tieferen Schichten des Kollagennetzwerkes werden die Dentinkanälchen durch die Behandlung nicht verändert [Schein *et al.* 2003].

Der Laser entfernt durch photoablative Effekte in Wurzelkanälen Debris und auf präpariertem Dentin eine eventuell vorhandene Schmierschicht. Es kommt zu einer Freilegung der Dentinkanälchen (Dentintags). Das Entfernen der Schmierschicht ist für die adhäsive Bindung von Kompositen, Kompomeren und keramischen Restaurationen von großer Bedeutung. Die dünne Schmierschicht besteht aus denaturiertem Material, Überresten vitalen oder nekrotischen Gewebes, bakteriellen Komponenten und Flüssigkeit. Durch sie kann es zum Verschluss der Dentinkanälchen und zur Bildung von Dentinplugs kommen. Dies führt zu einer verringerten Dentinpermeabilität, Dentinsensitivität und Oberflächenfeuchtigkeit [Pashley 1992].

Die photothermischen Effekte des Lasers sind indirekt. In den oberen Schichten kann es jedoch durch Verdampfen von Dentinauflagerungen und Verschmelzen der Dentinoberfläche zu Dentinplugs und reduzierten Haftwerten von Restaurationen kommen. Zu starke Wärmebildung kann zu einer Austrocknung des Zahngewebes und einer Schrumpfung des Dentins, bis hin zur

Rissbildung und Karbonisierung führen [Visuri *et al.* 1996b]. Durch Wasserkühlung von 4,5 ml/min wurde ein Wärmeanstieg unter 3°C in der Pulpakammer erreicht. Neuere Studien [Colluci *et al.* 2009] haben darüber hinaus eine Verbesserung der ablativen Wirksamkeit des Er:YAG-Lasers und bessere restaurative Haftwerte durch Wasserkühlung beschrieben. Kuščer & Diaci (2013) fanden in ihrer Studie jedoch eine Verringerung der Ablationseffektivität auf Zahnhartgeweben durch die Wasserkühlung.

Chemische und morphologische Untersuchungen von laserpräpariertem Dentin zeigten die Bedeutung der Benutzereinstellung (Power Settings) in ihrer Wirkung auf die prozentualen Anteile der im Dentin enthaltenen Elemente; der Anteil des Kohlenstoffs verringerte und der des Sauerstoffs und Magnesiums vergrößerten sich. Das Verhältnis von Kalzium und Phosphat wurde verändert. Dies könnte Auswirkungen auf die klinische Anwendung haben [Contreras-Arriaga *et al.* 2015]. Cvíkl *et al.* (2015) untersuchten Dentin im Rasterelektronenmikroskop, welches konventionell mit Diamantbohrer und mit Er:YAG-Laser in verschiedenen Energiemodi (4 W und 8 W) behandelt wurde. Hier zeigte sich bei einer Einstellung auf 4 Watt eine Dentinoberfläche mit weitgehend offenen Dentinkanälchen, was günstig für einen Adhäsivverbund sein dürfte.

Nachteile der Laserpräparation sind der hohe Zeitaufwand und ein unangenehmer Geruch; die subjektive Verträglichkeit durch den Patienten ist jedoch höher als bei einer Diamantpräparation [Mosskull Hjertton & Bagesund 2013].

Neuere Er:YAG-Laser mit einer Variable-Quadrat-Puls-Technologie (VSP-Technologie) besitzen eine Maximalmodus-Einstellung, wobei die Pulsenergie bis zu 1000 mJ bei 20 Hz beträgt. Dadurch beträgt der Substanzabtrag im Dentin durch den Laser mehr als das Achtfache eines Hartmetallbohrers und ist mit dem einer Turbine mit Diamantbohrer vergleichbar. Die rasterelektronenmikroskopische Auswertung zeigte dabei im Schmelz und Dentin eine definierte Oberfläche ohne Schmierschicht [Baraba *et al.* 2009]. Zu starke Pulsenergie führte jedoch zu Schädigungen der Pulpa und der Odontoblasten.

Die antimikrobielle Wirkung des Lasers erscheint im Hinblick auf Sekundärkaries und Pulpaverträglichkeit von Vorteil [Moshonov *et al.* 2001]. Die Dauer einer Kariesexkavation und die Gefahr einer Unterpräparation waren jedoch größer als bei einer Exkavation mit Hartmetallbohrern [Celiberti *et al.* 2006]. Tanabe *et al.* (2002) untersuchten bei Ratten die immunhistochemische Reaktion der Pulpa auf die Kavitätenpräparation mit dem Er:YAG-Laser. In dieser Studie wurde die gleiche Immunreaktion der Pulpa auf den Er:YAG-Laser wie auf herkömmliche Bohrer beobachtet. Bei der Präparation ist auf die Wahl des richtigen Lasertyps und auf die korrekte Einstellung von Pulsenergie, Repetitionsrate und Pulslänge zu achten.

Der Einfluss der Er:YAG-Laserpräparation auf den Haftverbund zwischen Dentin und adhäsiv verankerten Kompositrestaurationen wird in der Wissenschaft kontrovers diskutiert [Lopes *et al.* 2015]. Van Meerbeek *et al.* (2003a) untersuchten in ihrer In-vitro-Studie die Haftwerte unterschiedlicher Adhäsive (Etch-and-Rinse-Adhäsive und Self-Etch-Adhäsive) auf Schmelz und Dentin in Abhängigkeit verschiedener neuerer Präparationsarten (Sonoabration, Luftabration, Er:YAG-Laser) im Vergleich zu den Referenzgruppen Diamantbohrer und Schleifpapierabration. Die Auswertung der Zugversuche ergab, dass die Präparationsart die Effektivität aller Adhäsive signifikant beeinflusste. Die Er:YAG-Laserpräparation erreichte im Schmelz und im Dentin signifikant schlechtere Haftwerte als die Präparation mit Diamantschleifern. Die Präparation mit Sono- und Luftabration war den Werten des Diamantschleifers vergleichbar. Auch neuere Untersuchungen wiesen auf geringere Zugfestigkeitswerte bei Er:YAG-Laseranwendung hin [Ramos *et al.* 2014].

Andere Studien [Visuri *et al.* 1996a; Chen *et al.* 2015] wiesen in Scher- und Zugkraftversuchen bessere Haftwerte mit dem Er:YAG-Laser als mit dem Diamantschleifer nach. In der rasterelektronenmikroskopischen Auswertung waren die Dentinkanälchen nach der Laserbehandlung eröffnet. Die Untersuchungen von Jiang *et al.* (2013) zeigten gleiche Haftwerte für Er:YAG-Laser und Diamantbohrer. In anderen Zugversuchen mit Er:YAG-Laserpräparationen kam es als alleinige Konditionierung von Dentin, vor Applikation eines Adhäsives zu geringeren Haftwerten als nach Säurekonditionierung. Trotzdem waren die Haftwerte geringer als bei einer Präparation mit Diamantschleifer, sowohl bei Etch-and-Rinse-Adhäsivsystemen, wie auch bei Self-Etch-Systemen [De Munck *et al.* 2002]. Ebenso waren die Haftwerte bei Zugkraftversuchen mit bovinem Dentin und Er:Yag-Laserpräparation signifikant schlechter als ohne Er:YAG-Behandlung [Kameyama *et al.* 2002]. Scherkraftfestigkeitsversuche mit Er:YAG-Laser und Diamantschleifer mit drei verschiedenen Adhäsivsystemen waren, bis auf eine Ausnahme (signifikant höhere Haftwerte bei Clearfil tri-S Bond mit Laserpräparation) untereinander ähnlich [Celik *et al.* 2006]. Andere Scherkraftversuche (inklusive mikroskopischer Untersuchungen) zeigten ebenfalls schlechtere Haftwerte und häufigere Frakturen in der Adhäsivschicht bei Laserpräparation als bei Diamantpräparation [Kollinioutou-Koumpia *et al.* 2012].

Dunn *et al.* (2005) untersuchten durch Scherkraftversuche und anschließender Auswertung mit dem Rasterelektronenmikroskop die Auswirkungen von Säurekonditionierung, Er:YAG-Laserkonditionierung und fehlender Konditionierung von Schmelz und Dentin mit einem Etch-and-Rinse-Adhäsiv. Es wurden signifikante Unterschiede festgestellt; mit jeder Präparationsweise wies, sowohl im Schmelz wie im Dentin, die Säureätzung eine höhere

Haftkraft als die Laser-, „Ätzung“ auf, welche wiederum besser als eine fehlende Vorbehandlung bewertet wurde. Somit wurden auch hier bessere Haftwerte für Diamantschleifer als für den Er:YAG-Laser ermittelt. Neuere Studien [Davari *et al.* 2013] zeigten in Scherkraftversuchen, dass bei Diamantpräparation und Etch-and-Rinse-Adhäsiven eine Laserätzung nach einer Säureätzung oder eine Säureätzung nach Laserätzung nicht notwendig sind. Untersuchungen des Einflusses der Er:YAG-Laserpräparation auf die Hybridschicht des Dentin-Adhäsiv-Verbunds mit dem Konfokalen Laser-Raster-Mikroskop (CLSM) wiesen morphologische Veränderungen, wie fehlende oder unvollständige Hybridisierung und Infiltration in der Hybridschicht und den Dentintags nach [De Oliveira *et al.* 2010].

#### 4.4 Komposite

Komposite sind zahnfarbene Füllungsstoffe, die im plastischen Zustand in Kavitäten eingebracht werden und chemisch oder durch Lichtzufuhr ausgehärtet werden. Sie sind eine etablierte Versorgungsart dentaler Kavitäten [Heidemann *et al.* 2003] und bestehen aus einer organischen Matrix (Bisphenol-A-Glycidylmethacrylat; Bis-GMA), eingeführt durch Bowen (1962), die über Silanverbindungen mit dem anorganischen Füllstoff in Form von Makrofüllern (Quarz, Glas, Keramik) und Mikrofüllern (Siliziumdioxid) verbunden wird. Darüber hinaus sind Stabilisatoren, Pigmente und verschiedene Additive, wie Lichtschutzmittel, Weichmacher, Aufheller und Röntgenkontrastmittelzusätze darin enthalten.

Zu unterteilen sind Makrofüller-, Mikrofüller- und Hybridkomposite, sowie weitere Untergruppen, wie Feinpartikelhybridkomposite oder Nanohybridkomposite. Eine große Fülle unterschiedlicher Komposite ist verfügbar, der Einsatz muss genau auf die Indikation abgestimmt sein [Ferracane 2011].

Die Silanschicht der Komposite ist aufgrund der sauren Hydrolyse des chemischen Verbundes eine häufige Ursache für den Verlust von Füllkörpern und dadurch höheren Verschleiß der Materialien [Sideridou & Karabela 2009]. Lichthärtende Komposite werden durch Halogenlichtlampen mit einem Wellenlängenspektrum zwischen 400 und 550 nm ausgehärtet. Dabei absorbiert ein Photoinitiator (Diketon) die Photonen des Lichts und nimmt einen angeregten Energiezustand ein. Es reagiert mit einem aliphatischen Amin zu einem Komplex. Dieser zerfällt in Radikale, die mit den Doppelbindungen der Monomere reagieren, wobei Polymerketten entstehen [Santini *et al.* 2013]. Die dabei auftretende Polymerisationsschrumpfung beträgt zwischen 1,24 und 2,68 Vol.-% [Tantbirojn *et al.* 2015], wodurch Spannungen und Risse auftreten können. Der Restmonomergehalt und die Inhaltsstoffe

bei polymerisierten Füllungen können signifikante zytotoxische und genotoxische Auswirkungen haben [Bakopoulou *et al.* 2009].

#### 4.5 Adhäsive

Seit der Einführung durch Buonocore (1955) ist die adhäsive Befestigung von Kompositfüllungen zur etablierten Versorgung von Kavitäten geworden. Aufgrund der chemischen und strukturellen Zusammensetzung des weitgehend hydrophilen Dentins ist eine mikromechanische Haftung von hydrophoben Kompositen nicht möglich. Dies führte zur Entwicklung geeigneter Dentinhaftvermittler [Van Meerbeek *et al.* 2003b].

Grundsätzlich besteht eine adhäsive Verankerung im Dentin aus drei Schritten. Im ersten Schritt wird die Schmierschicht durch eine Konditionierung modifiziert oder entfernt. Der zweite Schritt ist das Wirken eines bifunktionellen Primers. Er geht mit seiner Methacrylatgruppe eine Verbindung mit dem Komposit und mit einer funktionellen Gruppe eine chemische Verbindung mit dem Dentin ein. Als dritter Schritt soll das Bonding die entstandene Oberfläche auffüllen und im ausgehärteten Zustand eine Verbindung ermöglichen [von Fraunhofer 2012].

Für eine bessere Übersicht ist eine Einteilung in verschiedene Adhäsivgenerationen nach ihrer Anwendung oder ihren Bestandteilen möglich. Sie unterliegt jedoch nicht starren Kriterien, einige Adhäsivsysteme können verschiedenen Klassen zugeordnet werden.

##### 4.5.1 Erste bis dritte Generation

Die Adhäsive der ersten und zweiten Generation wirken durch die Reaktion einer funktionellen Gruppe (hydrophiles Monomer) mit dem Kalzium des Hydroxylapatits oder mit Amino- und Hydroxylgruppen der organischen Dentinanteile, wie dem Kollagen [Kugel & Ferrari, 2000]. Die Haftung auf dem Dentin erwies sich als ungenügend, ebenso eine zusätzliche Konditionierung der Schmierschicht.

Adhäsive der dritten Generation sind Mehr-Komponenten-Systeme, die eine mikromechanische Verbindung zwischen dem Komposit und dem Dentin ermöglichen sollen. Dabei besteht der erste Behandlungsschritt aus einer Demineralisierung des Dentins und damit einer Freilegung des Kollagennetzwerkes durch eine Säure (Phosphorsäure, 10 - 40%). Dabei kommt es zu einem irreversiblen Dentinverlust im Bereich von zirka 10 µm. Das darunterliegende Kollagennetzwerk wird auf bis zu 30 µm freigelegt [Van Meerbeek *et al.* 1998]. Anschließend wird ein Primer appliziert, der durch eine milde Säure (z.B. Maleinsäure)

die Dentinkanälchen öffnet, die Schmierschicht partiell entfernt und durch ein hydrophiles Monomer (z.B. Hydroxyethylmethacrylat, HEMA) in die Dentinkanälchen eindringt. Das Monomer geht eine Verbindung mit dem freigelegten Kollagen ein. Das folgende Dentinadhäsiv stabilisiert durch seine amphiphilen Monomere (z.B. 4-Methacryloyloxyethyl-trimellitatanhydrit, 4-META) den Komplex und bildet eine Interdiffusionszone [van Meerbeek *et al.* 1992].

#### **4.5.2 Vierte Generation (Total-Ätz-Technik)**

Die hohe Techniksensibilität der bestehenden Adhäsivverfahren und der Wunsch nach Vereinfachung führten zur Entwicklung der gemeinsamen Schmelz- und Dentinkonditionierung. Hierbei werden Zahnschmelz (üblicherweise 30 - 45 s) und Dentin (15 - 20 s) gemeinsam mit Phosphorsäure (20 - 37%) angeätzt. Die Säure wird mit Luft und Wasser abgesprüht und die Schmierschicht entfernt. Auch hier kommt es zu einer Dentindemineralisation und einer Freilegung des Kollagennetzwerkes. Damit dieses nicht kollabiert, darf es nicht übertrocknet werden. Um einen Kollaps zu vermeiden, wurde die Technik des Wet- oder Moist-Bondings eingeführt. Nach der Trocknung des Schmelzes wird das Dentin neu angefeuchtet (Rewetting). Dabei quillt das Kollagenetzwerk wieder auf. Es werden Lösungsmittel wie Wasser, Alkohol oder Azeton angewendet, die den amphiphilen Primer in das freiliegende Kollagen bringen sollen. Bei einem Zwei-Flaschen-System verdrängt der Primer das Wasser und modifiziert die hydrophile Oberfläche. Anschließend wird ein hydrophobes Adhäsiv aufgebracht. Es bildet sich eine Hybridschicht, die aus Dentin und Adhäsiv besteht. Die Adhäsive der vierten und fünften Generation gelten als Etch-and-Rinse-Systeme.

#### **4.5.3 Fünfte Generation (Selbstprimende Adhäsive)**

Selbstprimende Adhäsive werden zweimal oder in einem Schritt aufgebracht [Ozer & Blatz, 2013]. Nach der Dentindemineralisation durch ein Phosphorsäuregel kommt es durch das Eindringen des Primer-Adhäsiv-Gemischs in die Dentinkanälchen zur Bildung retentiver Zapfen (Tags) und zur Bildung einer Hybridschicht. Die Hybridschicht aus polymerisiertem Methacrylat und Dentin ist für die mikromechanische Haftung maßgeblich [Nakabayashi *et al.* 1991; van Meerbeek *et al.* 1993]. Bei nicht vollständiger Penetration in das Kollagengeflecht kann es zu postoperativen Hypersensitivitäten und nichtinfiltrierten Bereichen (Nanoleakage) kommen

[Sano *et al.* 1995]. Durch den Verschluss der Dentinkanälchen wird ein Schutz der Pulpa vor exogenen Reizen angenommen.

Frankenberger *et al.* (2000) bewerteten diese Adhäsivtechnik, wie auch die der dritten und vierten Generation aufgrund hoher Haftwertverluste bei Verarbeitungsfehlern als problematisch. Darüber hinaus können diese Fehler Randspaltbildungen begünstigen, die zu Pulpairritationen, marginalen Verfärbungen und Sekundärkaries führen können [van Dijken & Pallesen 2008].

Von vielen Studien wurde jedoch eine Verbesserung der Haftwerte, ausgeprägtere Hybridschichten und längere Verweildauer *in vivo* bestätigt, insbesondere bei einer ausreichenden Schmelzbegrenzung der Restauration [Pashley *et al.* 2011; Ozer & Blatz 2013].

#### **4.5.4 Sechste und siebente Generation (Selbstätzende und selbstprimende Adhäsive)**

Um die Techniksensibilität der Adhäsivsysteme weiter zu verbessern, wurden saure, selbstprimende Adhäsive (Self-Etch-Systeme) entwickelt, welche sowohl Schmelz und Dentin simultan in einem Schritt konditionieren und penetrieren [De Munck *et al.* 2003]. Ein Vorteil dieser Adhäsivtechnik ist, dass die Säure nicht abgesprüht und das Dentin nicht zusätzlich getrocknet werden muss. Dadurch ist die Gefahr einer Beschädigung des offenen Kollagenflechts minimiert. Sie werden als Zwei-Flaschen Systeme (sechste Generation) vor der Applikation vermengt oder als All-In-One-System (siebente Generation) appliziert.

Die Effektivität dieser Systeme wird im Vergleich zu den Systemen der vierten und fünften Generation unterschiedlich beurteilt. Perdigo *et al.* (2006), Cardoso *et al.* (2011) und De Munck *et al.* (2003) bewerteten sie als den Etch-and-Rinse Systemen unterlegen. Neuere Studien bewerten die Adhäsivsysteme als vergleichbar in ihren Eigenschaften [Giannini *et al.* 2015]. Einige Untersuchungen empfehlen die Anwendung dieser Adhäsivsysteme mit vorheriger Konditionierung des Schmelzes [Rosa *et al.* 2015].

#### **4.6 Zugfestigkeitsprüfverfahren**

Adhäsiv verankerte Kompositfüllungen sind vor allem auf Zugkräfte und Biegekräfte empfindlich, Druckkräften gegenüber ist die Empfindlichkeit geringer [Pashley *et al.* 1995]. Zur Bestimmung dentaler Adhäsive eignen sich daher vor allem Scherkraftprüfverfahren (Shear Bond Strength/SBS) und Zugkraftprüfverfahren (Tensile Bond Strength/TBS). Bei SBS-

Testverfahren werden die Prüfkörper horizontal zur zu untersuchenden Verbundfläche belastet und weggeschert; bei TBS-Testverfahren erfolgt die Kraft vertikal ziehend zur Verbundfläche.

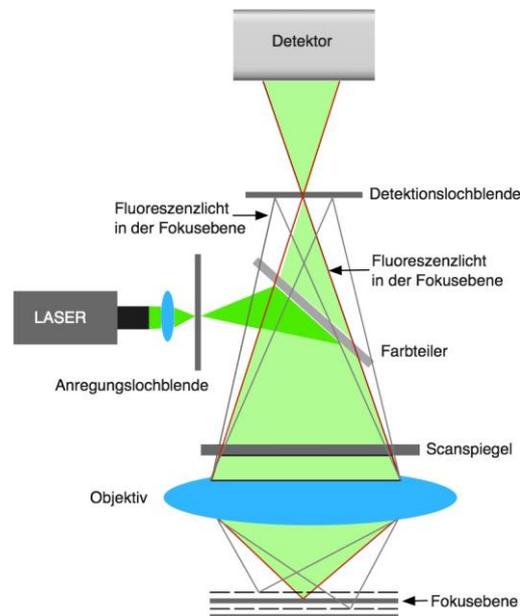
Sano *et al.* (1994) führten die  $\mu$ TBS-Methode ein, sie gilt als anerkanntes Prüfverfahren, ist jedoch aufwendiger als konventionelle Methoden [Pashley 1999]. Es wird keine Matrix zur Begrenzung der Oberfläche benötigt, da der gesamte Probenquerschnitt getestet wird. Dabei sind die Probenquerschnitte kleiner und es können mehr Proben hergestellt werden. Hohe Haftwerte können so ohne kohäsive Dentinfrakturen gemessen werden [Sano *et al.* 1994]. Die Oberflächen und Proben können verschiedene Formen (Vierkantform, Tonnenform, Sanduhrform, Hantelform) haben. Dies kann zu unterschiedlichen Haftwerten führen (Ferreira *et al.* 2011).

#### **4.7 Konfokales Laser-Raster-Mikroskop**

Das konfokale Laser-Raster-Mikroskop (CLSM) wurde von Watson (1989) in die Zahnheilkunde eingeführt und in den folgenden Jahren weiterentwickelt [Pioch *et al.* 1997]. Bei der konventionellen Lichtmikroskopie hängt die Bildqualität von der Schichtdicke der Proben ab, da Schichtebenen außerhalb des Fokus den Bildkontrast beeinflussen.

Bei der Darstellung mit dem CLSM wird ein definierter Punkt einer Probe fokussiert. Die dabei durchgeführten Scanvorgänge können gemacht werden, ohne die Proben wie bei der Rasterelektronenmikroskopie dehydrieren zu müssen. Dadurch können Schrumpfungartefakte vermieden werden. Das CLSM kann quantitative Aussagen zur Dicke von Schichten machen. Üblich ist das Einfärben von Proben mit Rhodamin B und Fluoresceinen [Watson 1991]. Dabei werden Poren durch das mit dem Färbemittel versetzte Wasser eingefärbt und sichtbar. Durch Filter wird im CLSM nur die Wellenlänge der Fluoreszenzmittel erfasst und störendes Licht ausgeblendet. Das Fluorochrom im Färbemittel absorbiert Photonen einer spezifischen Wellenlänge. Während der Anregung werden die Elektronen auf ein höheres Energieniveau angehoben. Bei der Rückkehr auf das Ursprungsniveau wird ein Photon abgegeben (vgl. Kapitel 2.3.1). Während dieser Prozesse wird auch Energie in Form von Wärme frei. Dieser Energieverlust führt zur Erzeugung von Photonen geringerer Energie und dadurch zur Erhöhung der Wellenlänge des emittierten Lichts (Stokes-Verschiebung). Im CLSM wird dabei das Emissionslicht vom Anregungslicht gefiltert, dies führt zu einer Kontrasterhöhung. Der Energieverlust durch Wärme führt dazu, dass sich das Färbemittel verbraucht und sich die Bildqualität verschlechtert.

Ein CLSM besteht aus einem Laser, einer konfokalen Anregungslochblende (Pinhole), einem Farbteiler, Scanspiegeln, einem Objektiv, einer konfokalen Detektionslochblende, einem Detektor und einem Kontrollsystem (vgl. Abb. 2).



**Abbildung 2:** Funktionsprinzip des Konfokalen Laser-Raster-Mikroskops (schematische Darstellung).

Durch die zwei konfokalen Lochblenden wird verhindert, dass Licht, welches außerhalb der Brennebene des Laserstrahls liegt, den Detektor erreicht. Der Laser wird auf die Anregungslochblende fokussiert. Der Farbteiler reflektiert einen großen Teil der Intensität des Strahls, dieser trifft auf zwei bewegliche Spiegel, die ihn durch das Objektiv auf das Objekt abbilden. Das vom Objekt emittierte Fluoreszenzlicht wird durch das Objektiv gesammelt und über Scanspiegel und Farbteiler auf der Detektionslochblende abgebildet. Durch einen dahinterliegenden Lichtdetektor wird das Licht farbselektiert und das Bild punktwise erzeugt. Durch eine Ansteuerung der Scanspiegel wird der Laserstrahl in Zeilen und Spalten über das Objekt geführt. Nur die Signale in der Brennebene werden detektiert, die anderen werden ausgeblendet. Dadurch können verschiedene Schichten bis zu einer Tiefe von 100  $\mu\text{m}$  und einer Dicke von 1  $\mu\text{m}$  aufgenommen werden [Watson 1991].

Die optische Information wird über einen Analog/Digital-Wandler, der die kontinuierliche Signalsequenz des Detektors durch Abtastung erfasst, in Messwerte (Pixel) umgesetzt. Die Auswertung der Aufnahmen wird mit einem Bildbearbeitungsprogramm durchgeführt. Image J ist ein frei verfügbares Programm (Open-Source-Software), dessen Algorithmen publiziert sind. Die Datenmanipulation kann somit nachgeprüft werden. Die Bilder

---

werden im TIFF-Format (Tagged Image File Format) abgespeichert und bearbeitet. Dadurch bleiben die Rohdaten und die Bildqualität erhalten.

## 5. FRAGESTELLUNG

Die vorliegende Studie sollte den Einfluss der Präparationsweise des Dentins durch die zwei gängigen Methoden der Kavitätenpräparation (Hartmetallbohrer und Diamantschleifer) sowie durch den Einsatz des Er:YAG Laser systematisch *in vitro* analysieren. Durch standardisierte Zugkraftversuche ( $\mu$ TBS) sollte die mittlere Zugkraft ermittelt werden, die zur Fraktur des Haftverbundes zwischen Dentin, Adhäsiv und Komposit führt. Darüber hinaus sollte die optische CLSM-Analyse der Frakturen und der Hybridschicht Hinweise auf die Auswirkungen auf den Haftverbund zwischen Dentin und Komposit unter Berücksichtigung der Präparationstechniken sowie der verwendeten Adhäsivsysteme (Etch-and-Rinse Adhäsiv und Self-Etch-Adhäsiv) geben.

Als Arbeitsgrundlage wurde die Nullhypothese aufgestellt, dass die Methode der Dentinpräparation und die Wahl des Adhäsivs keine Auswirkung auf die Haftkraft des Dentin-Komposit-Verbundes hat.

Als Arbeitshypothese wurde angenommen, dass sich durch den Einsatz des Er:YAG Laser aufgrund besserer Makro- und Mikroretention und der fehlenden Schmierschicht die Haftkraft des Dentin-Komposit-Verbundes mit beiden Adhäsivsystemen steigern lässt.

## 6. MATERIAL UND METHODEN

### 6.1 Herstellung der Dentinproben

Für die Untersuchung wurden 50 humane kariesfreie Weisheitszähne extrahiert, bei Raumtemperatur (20°C) in physiologischer Kochsalzlösung (0,9 % NaCl; Delta Select, Pfullingen, Deutschland) gelagert und innerhalb eines Monats verarbeitet.

Die Zähne wurden manuell gereinigt und mit einem Scaler (SH 6/77; Hu-Friedy, Chicago, Illinois, USA) gesäubert. Das obere Drittel der Zähne wurde von der okklusalen Fläche ausgehend mit einer Schleifmaschine und Siliziumkarbid-Schleifpapier (Schleifsystem Bühler Alpha, Schleifpapier Körnung #180, #320; Wirtz-Bühler, Düsseldorf, Deutschland) unter Wasserkühlung entfernt, um eine Dentinoberfläche von ca. 3 × 3 mm<sup>2</sup> unterhalb der Schmelz-Dentin-Grenze freizulegen. Um eine gleichmäßige Schmierschicht zu erhalten, wurden die Proben für 30 Sekunden nass poliert (Schleifpapier Körnung #600, Wirtz-Bühler).

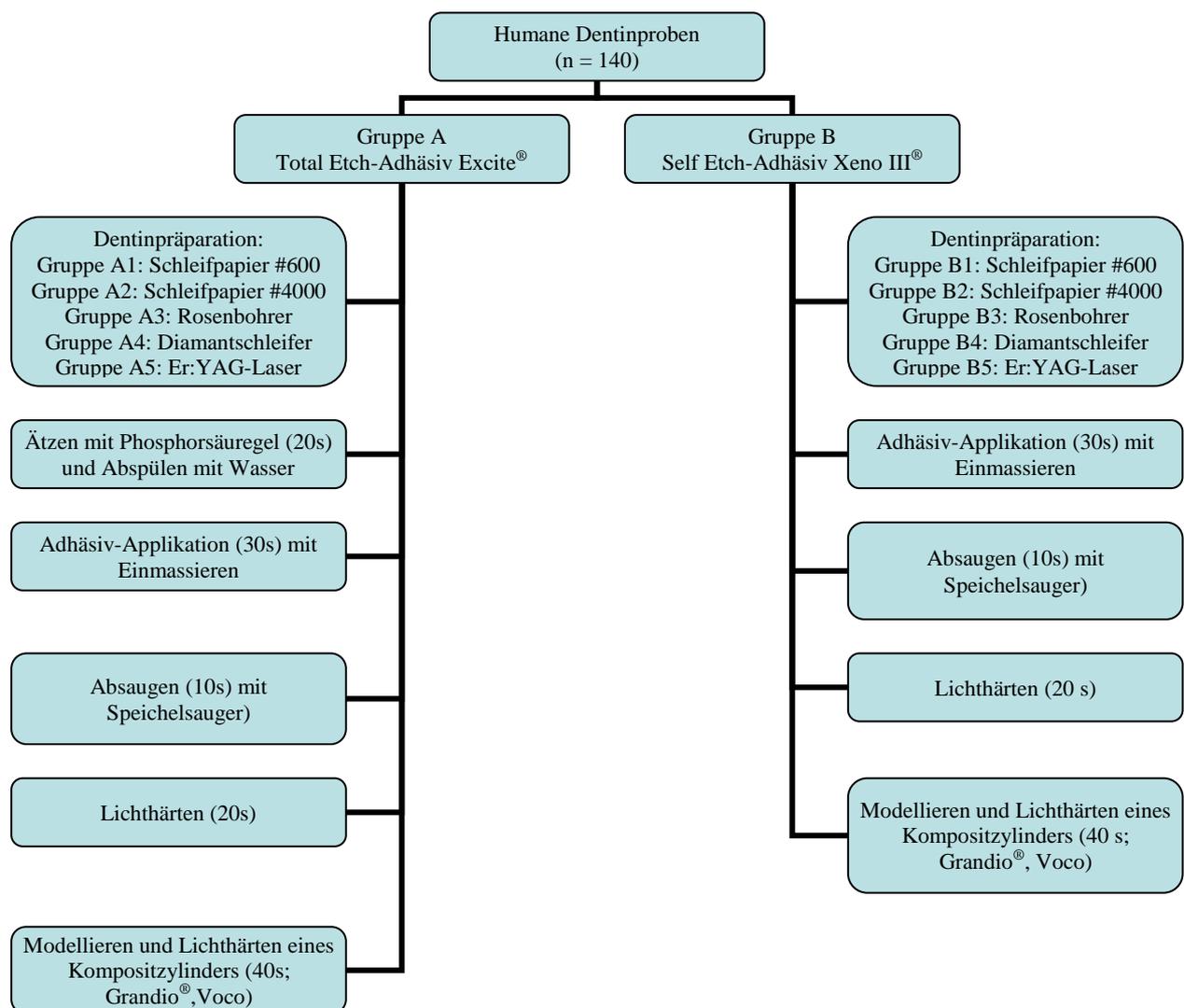
Die standardisierten Dentinproben wurden randomisiert auf fünf Gruppen (n = 28) verteilt und entsprechend der unterschiedlichen Präparationstechnik bearbeitet (vgl. Abb. 3). Jede Gruppe wurde unterteilt in eine Untergruppe A (n = 14), die mit einem Adhäsiv der fünften Generation (Etch-and-Rinse Technik) (Excite<sup>®</sup>, Total Etch<sup>®</sup>; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) und eine Untergruppe B (n = 14), die mit einem Adhäsiv der sechsten Generation (Self-Etch Adhäsiv) (Xeno III<sup>®</sup>; Dentsply DeTrey, Konstanz, Deutschland) behandelt wurde.

Die Proben der Gruppe A1 und B1 wurden lediglich mit dem Schleifpapier der Körnung #600 behandelt, die Proben der Gruppe A2 und B2 zusätzlich mit Schleifpapier der Körnung #4000. Diese ersten beiden Gruppen dienten als Kontrollgruppen.

Die Proben der Gruppe A3 und B3 wurden mit einem Hartmetallbohrer (# H 881 U, Komet; Gebr. Brasseler, Lemgo, Deutschland) bei 40.000 U/min mit einem reduzierenden Winkelstück (Intramatic 20c; KaVo, Biberach a.d. Riß, Deutschland) präpariert.

Die Dentinproben der Gruppen A4 und B4 wurden mit einem Diamantschleifer (# 8845 KR; Komet) und einem schnelllaufendem Winkelstück (Intramatic 20s; KaVo) bei ca. 130.000 U/min mit Wasser- und Luftkühlung (50 ml/min) behandelt.

Die Proben in Gruppe A5 und B5 wurden mit einem Er:YAG-Laser (Key 3<sup>TM</sup>; KaVo) bei einer Wellenlänge von 2,94 µm, einer Pulslänge zwischen 200 und 500 µs, einer Pulsfrequenz von 3 Hz und Energie von 80 mJ für 30 Sekunden mit einem kontaktlosen Handstück behandelt, entsprechend den Angaben des Herstellers.

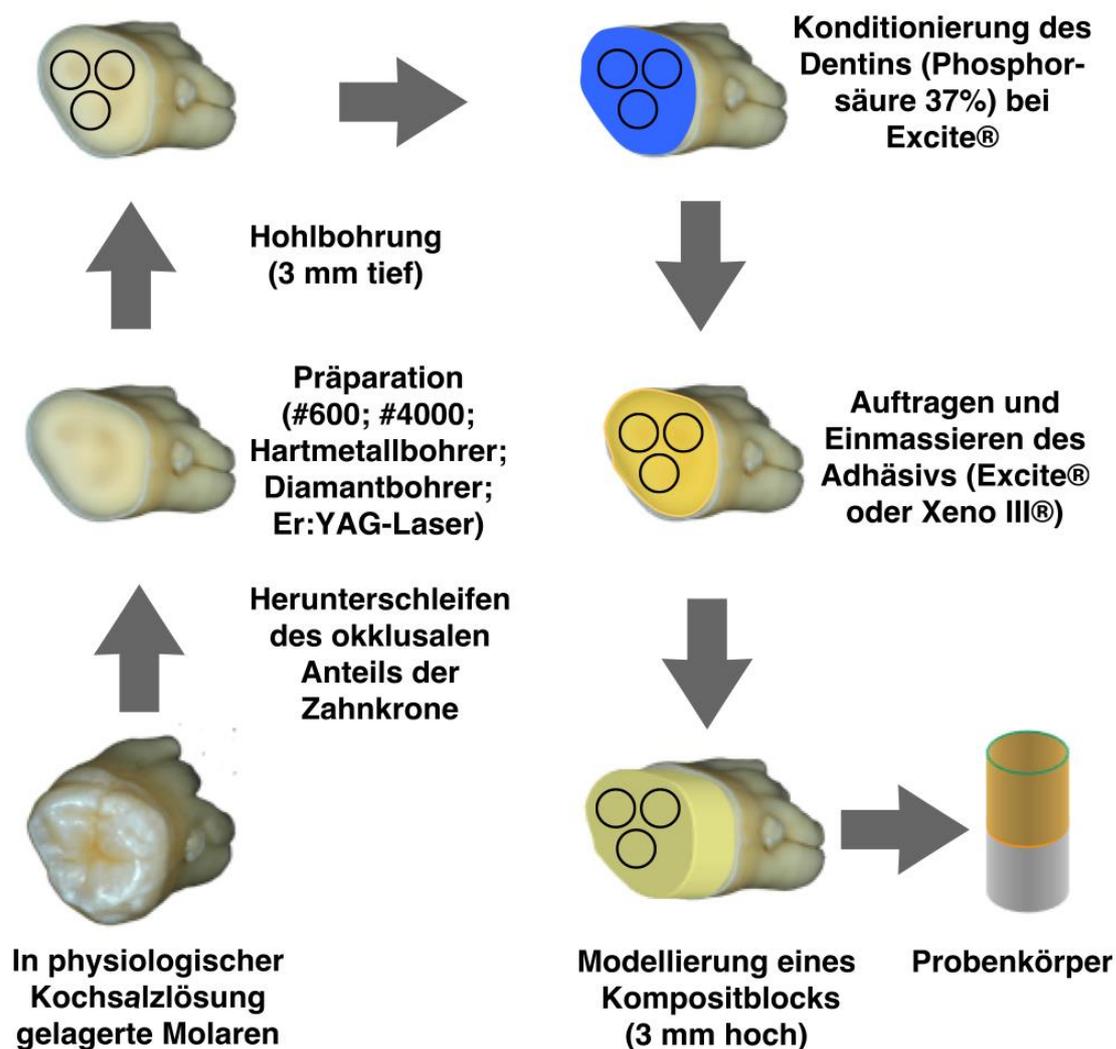


**Abbildung 3:** Übersicht über die Methodik und Gruppeneinteilung der Proben.

Nach der Behandlung mit diesen Techniken wurden aus den Oberflächen Dentinzylinder mithilfe eines zylindrischen Diamanthohlbohrers (3 mm, Komet; Parallelfräsmaschine K11, KaVo) mit einer Höhe von 3 mm und einem Durchmesser von 2,5 mm herausgetrennt.

## 6.2 Herstellung der Verbundproben

Alle Proben wurden einer Oberflächenbehandlung gemäß den Herstellerangaben für eine Kompositfüllung unterzogen (vgl. Abb. 4).



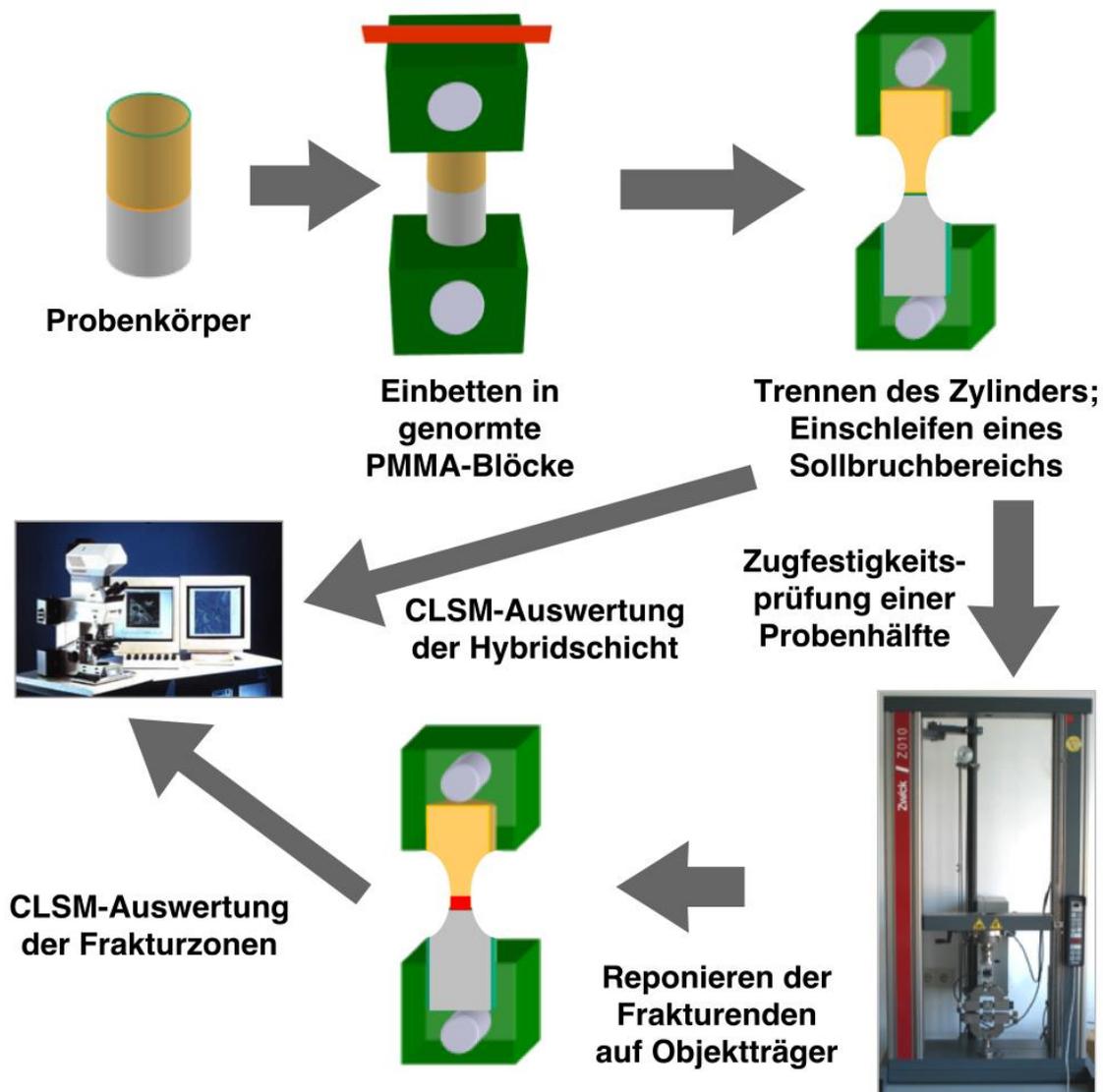
**Abbildung 4:** Darstellung des Versuchsablaufs und Präparation der Probenzylinder.

Auf den Oberflächen der Untergruppen A1, A2, A3, A4 und A5 wurde für 20 Sekunden eine 37%ige Phosphorsäure (Total Etch<sup>®</sup>; Ivoclar Vivadent) appliziert. Anschließend wurde das Phosphorsäuregel mit Wasser (120 ml/min) für 20 Sekunden abgespült. Die Oberfläche wurde mit ölfreier Druckluft (Sprayvitansatz; KaVo) in einem Winkel von 30° soweit getrocknet, bis die überschüssige Feuchtigkeit entfernt war. Dabei wurde darauf geachtet, dass das Dentin bei visueller Inspektion noch feuchtglänzend war. Anschließend wurde das Adhäsiv (Excite<sup>®</sup>; Ivoclar Vivadent) mit einem Kunststoffapplikator (MRA 400; Microbrush<sup>®</sup> International, Grafton, Wisconsin, USA) aufgetragen und mit gleichmäßigem Druck und kreisenden Bewegungen einmassiert (30 s).

Auf den Proben der Untergruppen B1, B2, B3, B4 und B5 wurde nach dem Abspülen und Trocknen wie in Gruppe A ein selbststützendes Adhäsiv (Xeno III<sup>®</sup>, Dentsply DeTrey)



Diamantbohrer unter Wasserkühlung getrimmt, so dass sie eine Hantelform aufwiesen, deren Verbundzonen bei einer Messung horizontal zirka  $1 \times 1$  mm besaßen (SC 6 Absolute Digimatic; Mitutoya, Tokyo, Japan).



**Abbildung 6:** Konfokalmikroskopische Untersuchung ( $\times 40$ ) der intakten Verbundzonen, Durchführung der Zugfestigkeitsprüfung und konfokalmikroskopische Untersuchung ( $\times 10$ ) der Frakturbereiche.

### 6.3 Konfokalmikroskopische Untersuchung der intakten Proben

Die Oberfläche aller Verbundproben mit Objektträger wurden mit dem Schleifgerät und Nassschleifpapier aufsteigender Körnung poliert (Exakt 400 cl; Schleifpapier Körnung #400, #1200, #2500, #4000; Exakt Apparatebau), um während des Trennens entstandene Artefakte bei der mikroskopischen Untersuchung zu vermeiden. Anschließend wurden die Proben für 24

Stunden in einer physiologischer Kochsalzlösung gelagert, die mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC, 0,1 mmol; Sigma-Aldrich) versetzt war, um einen intensiven Farbunterschied zwischen den Porositäten und der Adhäsivschicht zu erhalten (vgl. Abb. 6).

Die Proben wurden mit dem CLSM (TCS NT; Leica Microsystems, Heidelberg, Deutschland) im Fluoreszenzmodus mit einer 40fachen Vergrößerung untersucht, um eine exakte Auflösung und Darstellung der adhäsiven Verbundzone und der Oberflächenbeschaffenheit des Dentins zu erhalten. Die Proben wurden nur an der Oberfläche gescannt, um Artefakte zu vermeiden. Für die Aufnahmen wurde ein 40faches Objektiv (numerische Apertur 1,4) mit einer Ölimmersion (Immersol; Zeiss, Jena, Deutschland) und einer Argon-Krypton Laserquelle benutzt. Diese erzeugt Licht mit einem Wellenmaximum bei 488, 568 und 633 nm. Durch Filterung eines definierten Anteils der Wellenlänge durch einen akustisch-optischen einstellbaren Filter (AOTF) und einen halbdurchlässigen Spiegel (Beamsplitter), trifft nur ein monochromatisches Licht mit einem Wellenlängenmaximum bei 568 nm auf der Probenoberfläche auf. Es erzeugt eine starke fluoreszierende Lichtemission bei RITC (Emissionsmaximum bei 565 nm Wellenlänge des Anregungslichts) und FITC (Emissionsmaximum bei 520 nm Wellenlänge des Anregungslichts). Die maximale Wellenlänge von RITC liegt bei 610 nm, die von FITC bei 620 nm. Die Intensität des Anregungslichts wurde während der Untersuchung nicht verändert. Um kurzweiliges reflektiertes Licht (590 nm) auszublenden, wurde ein Longpassfilter (LP 590) verwendet. Die Aufnahmen wurden durch einen dynamischen Mittelwert von vier Einzelscans (Average-Funktion) angefertigt, um ein hohes Signal/Rausch-Verhältnis zu erhalten. Die erhaltenen Bilder hatten eine Kantenlänge von  $250 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$  und eine Auflösung von  $1024 \times 1024$  Pixel ( $4,1 \text{ Pixel}/\mu\text{m}$ ).

#### **6.4 Zugfestigkeitsmessung**

Die Zugfestigkeitsprüfung wurde mit einer Zwick-Universalprüfmaschine (Zwick Z010; Zwick, Ulm, Deutschland) durchgeführt. Hierzu wurden die Probenhälften ohne Objektträger mit ihren Vorbohrungen an den Haltedornen der Prüfmaschine senkrecht zu den Spannzangen ohne Vorkraft eingehängt. Die untere Spannplattform war stationär, die obere bewegte sich mit einer Prüfgeschwindigkeit von 0,5 mm/min nach oben, so dass die Proben auf Zug bis zur Fraktur belastet wurden. Die Zugkraft wurde mit einer Messdose (200 Newton) ermittelt, die mit den Spannzangen verbunden war. Der genaue Durchmesser der Frakturflächen wurde mit einem digitalen Messschieber (SC 6 Absolute Digimatic; Mituoya) gemessen und die Verbundfläche

berechnet. Die Zugfestigkeit der Proben (in MPa) wurde über die Zugkraft in Abhängigkeit von der Frakturfläche errechnet (Kraft in N/mm<sup>2</sup>).

### **6.5 Konfokalmikroskopische Untersuchung der frakturierten Proben**

Nach der Zugfestigkeitsprüfung wurden die frakturierten Halbzyylinderproben so auf Acrylobjektträger reponiert, dass sich die Frakturflächen in ihrer ursprünglichen Lage zueinander befanden. Anschließend wurden die Proben mit der Schleifmaschine und Nassschleifpapier (Körnung #1000, #2500, #4000; Exakt Apparatebau) poliert und für 24 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9%; Delta Select) mit FITC (0,1 mmol) gelagert, um eine Färbung und Differenzierung der Porositäten und der Adhäsivschicht zu erhalten.

Die Proben wurden mit dem konfokalen Laser-Raster-Mikroskop analog zur vorherigen Untersuchung (jedoch mit einer 10fachen Vergrößerung) begutachtet, um eine Darstellung der gesamten Frakturlinie zu erhalten. Die Bilder hatten eine Auflösung von  $512 \times 512$  Pixel (0,51 Pixel/ $\mu\text{m}$ ) bei einer Kantenlänge der Frakturen von zirka 1000  $\mu\text{m}$ .

### **6.6 Vermessung der mikroskopischen Aufnahmen**

Um die Hybridschicht der intakten Proben und die Bruchmodi der frakturierten Proben zu vermessen und auszuwerten, wurde die Leica Confocal Software (LCS v. 1.4 Lite; Leica) und das Bildverarbeitungsprogramm Image J (National Institute of Health, Rockville, Maryland, USA) benutzt. Die Probenbestandteile, welche das durch RITC gefärbte Adhäsiv enthielten, die Verbundschicht, das penetrierte Dentin und penetrierte Kompositporositäten erschienen im Fluoreszenzbild rot. Die ungefüllten Porositäten im Dentin und im Komposit erschienen aufgrund der durch FITC gefärbten physiologischen Kochsalzlösung grün. Das Dentin und das Komposit erschienen durch die fehlende Fluoreszenz schwarz.

Das Vorhandensein einer Hybridschicht in den nicht frakturierten Proben wurde überprüft. Für die Vermessung der Hybridschicht wurden die Bilder mit dem Programm Image J digital vermessen (Schichtdicke in  $\mu\text{m}$ ). Dazu wurde jede Probe an drei nicht in einem Artefaktbereich liegenden zufällig ausgewählten Stellen gemessen. Die visuelle Definition wurde als der Abstand von der Dentinoberfläche bis zum Ende der im CLSM als grüne Schicht sichtbare Bereich bestimmt. Aus den Werten wurde ein Mittelwert errechnet.

Die frakturierten Proben wurden durch eine genaue visuelle Darstellung und Lagebestimmung des Frakturspaltes innerhalb des Dentin-Komposit-Verbundes ausgewertet und die Länge der einzelnen Bruchanteile digital gemessen. Die Frakturmodi wurden in fünf Gruppen (Dentinfraaktur, Adhäsiv-Dentin-Grenzfraktur, Adhäsivfraktur, Adhäsiv-Komposit-Grenzfraktur und Kompositfraktur) eingeteilt. Wenn die Proben Frakturen durch mehrere Schichten verteilt aufwiesen (Kombinationsfrakturen), wurde die Länge der einzelnen Bruchanteile zur gesamten Frakturlänge ins Verhältnis gesetzt und prozentual ausgewertet.

### **6.7 Statistische Auswertung**

Zur Auswertung des Zugkraftversuches und der Dicke der Hybridschicht wurde durch den Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft, ob eine Normalverteilung vorlag. Trotz geringer Abweichungen wurde der parametrische Ein-Weg-Anova-Test (Analysis of Variance) zur Ermittlung signifikanter Unterschiede angewandt. Bei Vorliegen eines signifikanten Unterschiedes zwischen den Gruppen wurde für den Vergleich der Post-hoc-Test nach Tukey durchgeführt.

Um die Frakturcharakteristik und das vollständige, teilweise oder fehlende Vorhandensein der Hybridschicht zu ermitteln, wurden diese als prozentuale Verteilung deskriptiv beschrieben.

Die statistischen Analysen wurden mit der Software SPSS (SPSS 14.01; Chicago, Illinois, USA) erhoben. Das Signifikanzniveau wurde auf  $\alpha = 0,05$  festgelegt.

## 7 ERGEBNISSE

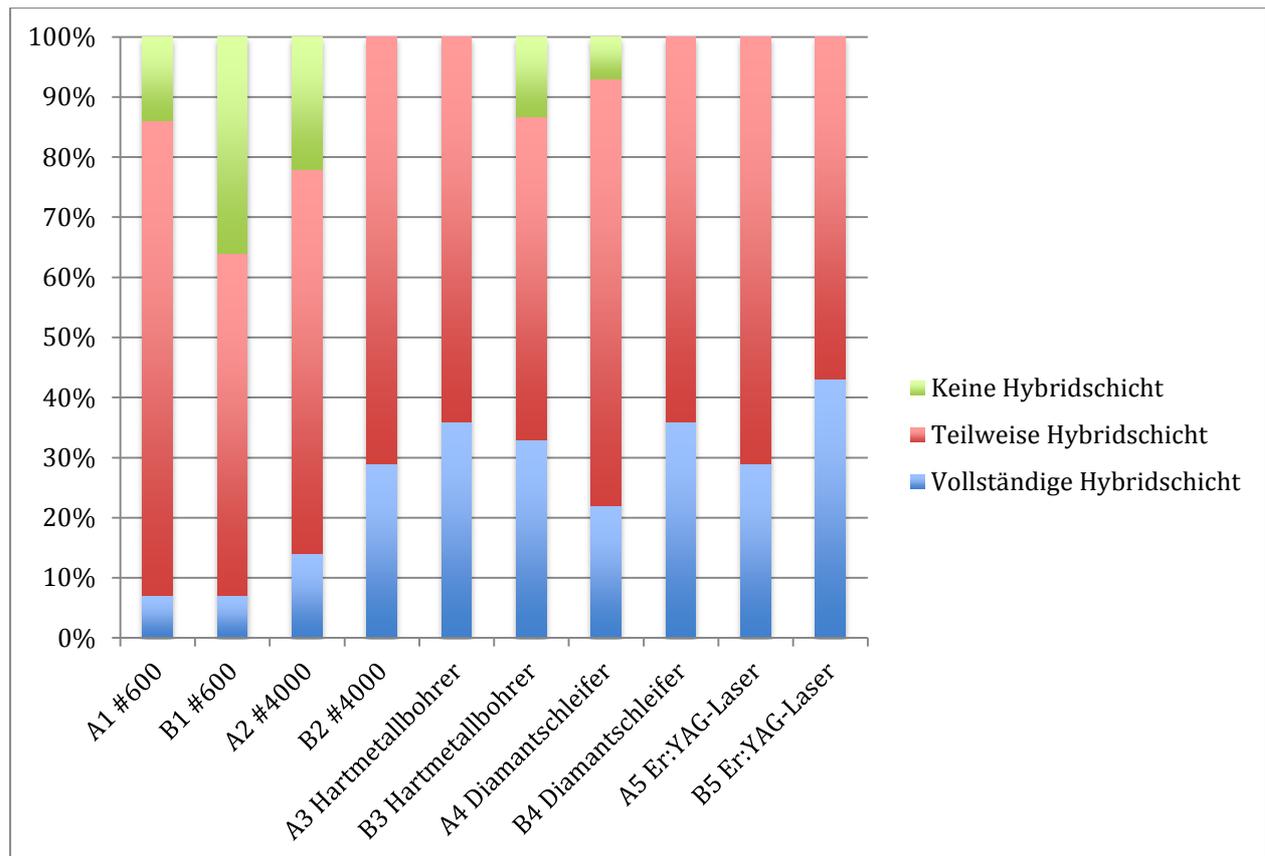
### 7.1. Hybridschicht

#### 7.1.1. Anwesenheit einer Hybridschicht

Die Auswertung der Anwesenheit der Hybridschicht ergab geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Nicht alle Probenkörper zeigten eine vollständige Hybridschicht. Dies beeinflusste jedoch nicht die Frakturmodi. Die Präparationsart hatte keinen Einfluss auf die Anwesenheit einer vollständigen Hybridschicht (vgl. Abb. 9).

In keiner Gruppe besaßen die Proben eine durchgängig optimale Hybridschicht. Es wurde unterschieden, ob in den Probengruppen keine, teilweise oder vollständige Hybridschichten, bezogen auf die gesamte Länge der Adhäsiv-Dentin-Verbundschicht vorhanden waren (vgl. Abb. 7 und Anhang Tab. I).

Der Großteil aller Proben besaß eine teilweise Hybridisierung. Eine größere Häufigkeit einer kompletten Hybridisierung fand sich in den Gruppen, die mit dem Adhäsiv Excite<sup>®</sup> behandelt und mit Hartmetallbohrer, Diamantschleifer oder Er:YAG-Laser präpariert wurden (A3-A5; Abb. 9). Die Referenzgruppen A1 (Schleifpapier Körnung #600) und A2 (Schleifpapier Körnung #4000) zeigten eine geringere vollständige Hybridisierung.



**Abbildung 7:** Auswertung der Hybridschicht (Vorhandensein in Prozent der Proben).

Die mit dem Adhäsiv Xeno III<sup>®</sup> behandelten Proben wiesen vergleichend mit dem Adhäsiv Excite<sup>®</sup> eine ähnliche Verteilung der Hybridschicht auf. Bei der Kontrollgruppe B1 (Schleifpapier, Körnung #600, Xeno III<sup>®</sup>) wurde jedoch häufiger ein komplettes Fehlen der Hybridschicht festgestellt.

In jeder Gruppe war die Penetration des Adhäsivs in die Dentinkanälchen zu sehen. Bei allen Präparationsarten wurden teilweise fehlende Infiltration und grüne oder gelbe Bereiche auf der Dentinoberfläche beobachtet.

### 7.1.2. Hybridschichtdicke

Die Dicke der Hybridschicht unterschied sich in fast allen Gruppen voneinander (vgl. Abb. 8 und Anhang Tab. II).

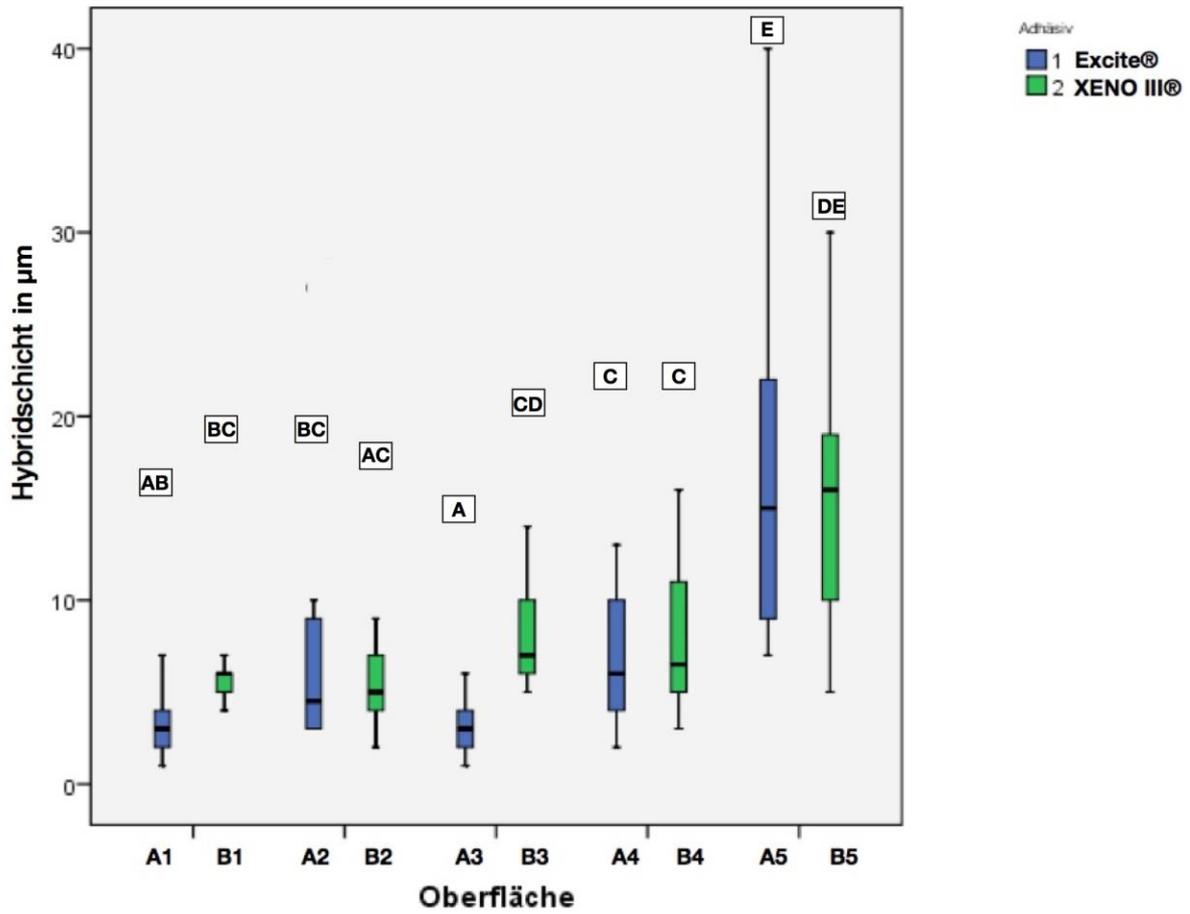
Die Referenzgruppe A1 (Schleifpapier Körnung # 600; Excite<sup>®</sup>) besaß eine signifikant geringere Schichtdicke ( $3,6 \pm 2,1 \mu\text{m}$ ) als die Gruppen B3 ( $p = 0,008$ ; Ein-Weg-Anova-Test,

Post-hoc nach Tukey) und A4 ( $p = 0,018$ ); hochsignifikant war der Unterschied zu den Gruppen B4 ( $p = 0,003$ ), A5 ( $p < 0,001$ ) und B5 ( $p < 0,001$ ).

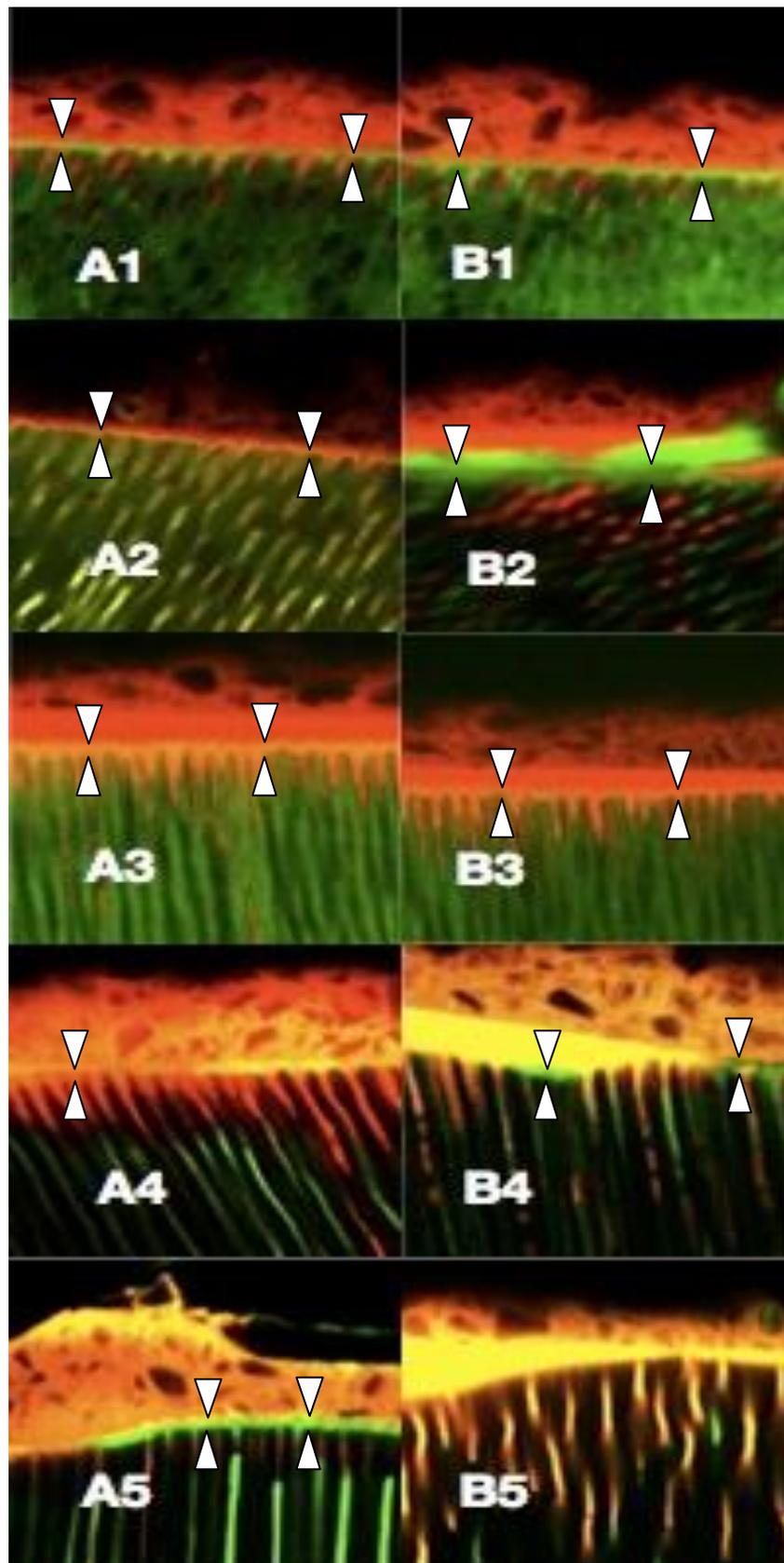
Zusätzlich wiesen die mit Hartmetallbohrer und Excite<sup>®</sup> behandelten Proben (A3) eine signifikant geringere Hybridschicht ( $3,4 \pm 1,6 \mu\text{m}$ ) als die Dentinproben der Gruppen B1 ( $p = 0,03$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey), A2 ( $p = 0,032$ ) und A4 ( $p = 0,007$ ), sowie hochsignifikant geringere als die Proben der Gruppen B3 ( $p < 0,001$ ), B4 ( $p = 0,001$ ), A5 ( $p < 0,001$ ) und B5 ( $p < 0,001$ ) auf. Die Schichtdicken in dieser Gruppe A3 waren die geringsten des gesamten Versuchs.

Die Dicke der Hybridschicht in der mit dem Er:YAG-Laser und Excite<sup>®</sup> behandelten Gruppe A5 ( $17,9 \pm 10,8 \mu\text{m}$ ) war signifikant größer als in Gruppe B3 ( $p = 0,049$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey) und B4 ( $p = 0,009$ ). Der Unterschied war darüber hinaus hochsignifikant zu allen anderen Gruppen ( $p < 0,005$ ), mit Ausnahme der Gruppe B5 (Er:YAG-Laser und Xeno III<sup>®</sup>) ( $p > 0,05$ ).

Diese Gruppe unterschied sich stark signifikant ( $16,7 \pm 8,2 \mu\text{m}$ ) durch eine dickere Hybridschicht von den Gruppen A1, B1, A2, B2, A3 und A4 ( $p \leq 0,001$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey). Ein signifikanter Unterschied der Gruppe B5 bestand zu der Gruppe B4 ( $p = 0,013$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey).



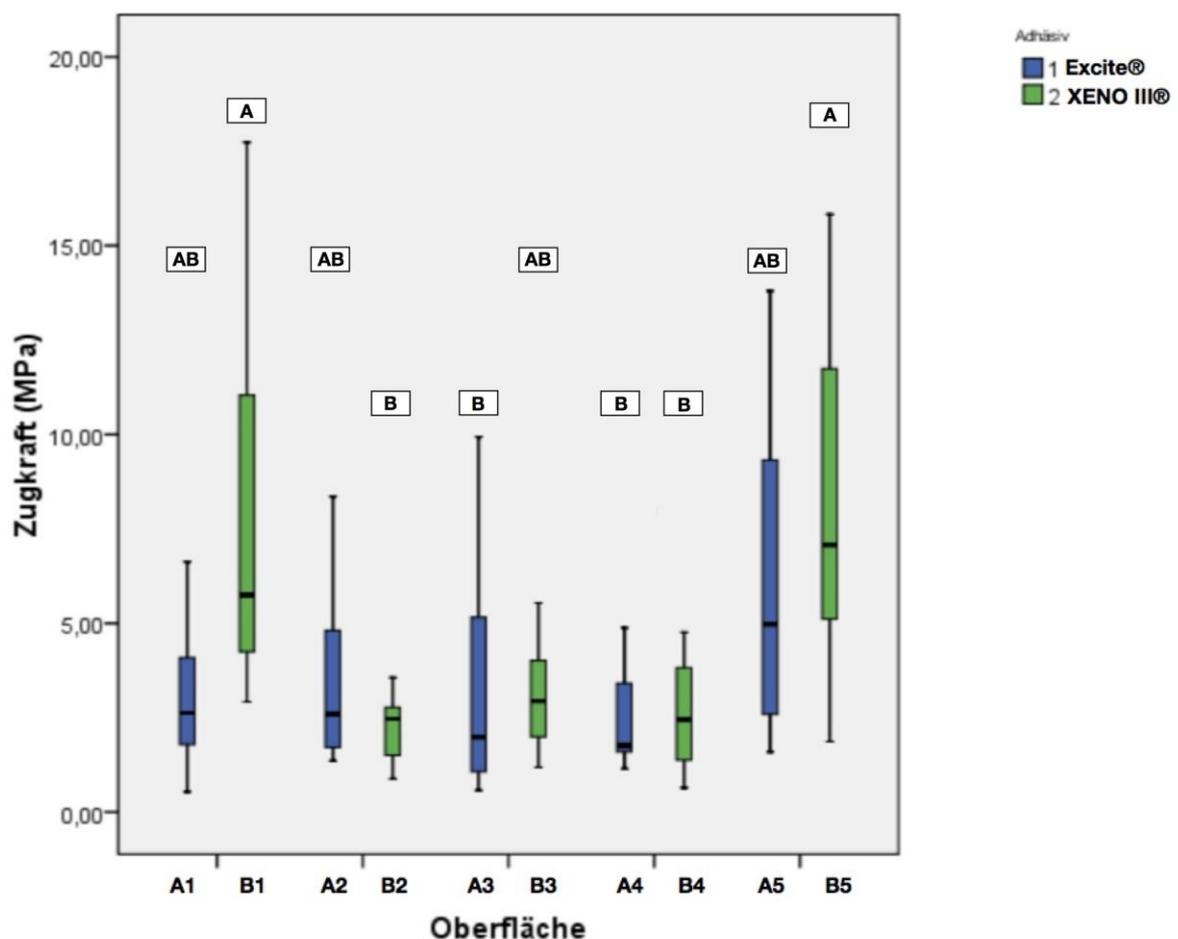
**Abb. 8:** Dicke der Hybridschicht in den Proben­gruppen A1 bis B5 (in µm). In der Box-und-Whisker-Plot-Darstellung sind die Mittelwerte schwarz in der Box und die jeweiligen Perzentile dargestellt. Signifikante Unterschiede sind oberhalb der Box mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet ( $p < 0,05$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey).



**Abbildung 9:** Exemplarische Darstellung der adhäsiven Verbundschichten; repräsentative Bildausschnitte von CLSM-Aufnahmen (40fache Vergrößerung). Die Hybridschicht ist durch Pfeile gekennzeichnet.

## 7.2 Zugfestigkeitsmessung

Die Präparationsmethoden der Gruppen A1 bis A5 (Excite®) zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich ihrer Haftkraft ( $p > 0,05$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey) (vgl. Abb. 10 und Anhang Tab. III). Durch den Einsatz des Er:YAG-Lasers konnte jedoch die Zugfestigkeit gesteigert werden ( $5,75 \pm 3,83$  MPa), die Präparationsarten Hartmetallbohrer und die Referenzgruppen wiesen vergleichbare Haftwerte auf. Die mit dem Diamantschleifer behandelten Proben besaßen die geringste Haftkraft ( $2,69 \pm 1,75$  MPa).



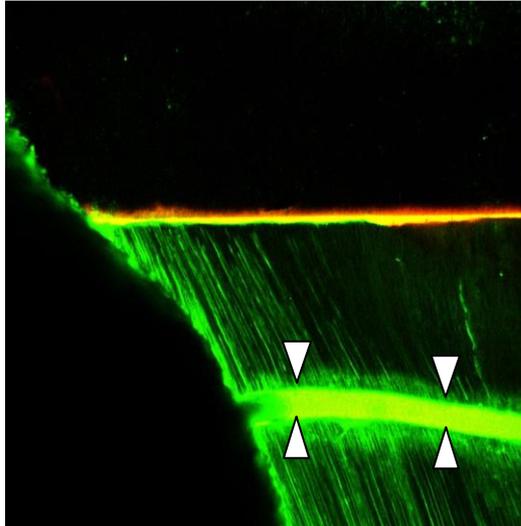
**Abbildung 10:** Zugfestigkeit (in MPa) der Probengruppen (A1 – B5). In der Box-und-Whisker-Plot-Darstellung sind die Mittelwerte schwarz in der Box und die jeweiligen Perzentile wiedergegeben. Signifikante Unterschiede sind mit unterschiedlichen Buchstaben oberhalb der Box gekennzeichnet ( $p < 0,05$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey).

Die Haftwerte der mit Xeno III® hergestellten Gruppen wiesen signifikant höhere Haftwerte ( $7,60 \pm 4,54$  MPa) in der Referenzgruppe B1 (Schleifpapier Körnung # 600) im Vergleich zu den Gruppen B2 (Schleifpapier Körnung #4000; Xeno III®) ( $p = 0,02$ ; Ein-Weg-

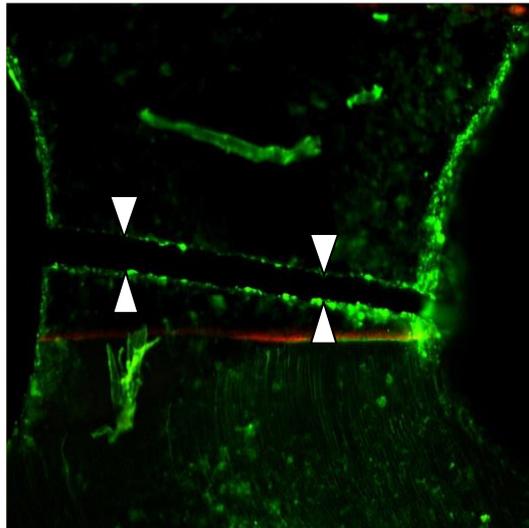
Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey) und hoch signifikant verglichen mit den Gruppen A3 (Hartmetallbohrer; Excite<sup>®</sup>), A4 (Diamantschleifer; Excite<sup>®</sup>) (jeweils  $p = 0,004$ ) und B4 (Diamantschleifer; XENO III<sup>®</sup>) ( $p = 0,003$ ) auf. Durch die Behandlung der Dentinproben mit dem Er:YAG-Laser und Xeno III<sup>®</sup> (B5) wurden signifikant höhere Haftwerte, verglichen mit den Werten der Gruppen B2 ( $p = 0,024$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey) erzielt. Von einer hohen Signifikanz war der Unterschied zu den Gruppen A3, A4 (jeweils  $p = 0,005$ ; Ein-Weg-Anova-Test, Post-hoc-Test nach Tukey) und B4 ( $p = 0,004$ ). Die Werte in der Gruppe B5 lagen im ähnlich hohen Bereich ( $7,90 \pm 4,65$  MPa) wie die der Referenzgruppe B1. Auch in der Gruppe B wiesen die mit Diamantbohrer präparierten Proben (B4) die geringsten Haftwerte ( $2,78 \pm 1,91$  MPa) auf.

### 7.3 Frakturverhalten

Die Probekörper aller Versuchsgruppen wiesen nach dem Zugversuch ähnliche Frakturmuster auf (vgl. Abb. 13 und Anhang Tab. IV). Die Auswertung der 10fach vergrößerten CLSM-Bilder ergab, bezogen auf alle Probekörper, eine gehäufte Fraktur im Grenzbereich zwischen Dentin und Adhäsiv (60 %) (vgl. Abb. 14 Bildausschnitte A1, B1, A2, B2, A3, B3, B4, A5, B5). Lediglich durch den Einsatz des Er:YAG-Lasers im Verbund mit Excite<sup>®</sup> waren Frakturen innerhalb des Adhäsivs häufiger (36 %) und Frakturen zwischen Dentin und Adhäsiv seltener (16 %). Frakturen innerhalb des Komposits wiesen nur sehr wenige Proben in allen Gruppen auf (1 %) (vgl. Abb. 12). Frakturen im Dentin waren nur in geringem Maße zu beobachten (13 %) (vgl. Abb. 11). Ähnlich häufig waren Frakturen in der Adhäsivschicht (14 %) und zwischen Adhäsiv und Komposit (12 %) zu beobachten (vgl. Abb 14 Bildausschnitt A4 Fraktur zwischen Adhäsiv und Komposit sowie Fraktur innerhalb des Adhäsivs).



**Abbildung 11:** Frakturlokalisierung im Dentin. Exemplarische Darstellung im CLSM Bild (10fache Vergrößerung). Der Frakturspalt ist mit Pfeilen gekennzeichnet.



**Abbildung 12:** Frakturlokalisierung im Komposit. Exemplarische Darstellung im CLSM Bild (10fache Vergrößerung). Der Frakturspalt ist mit Pfeilen gekennzeichnet.

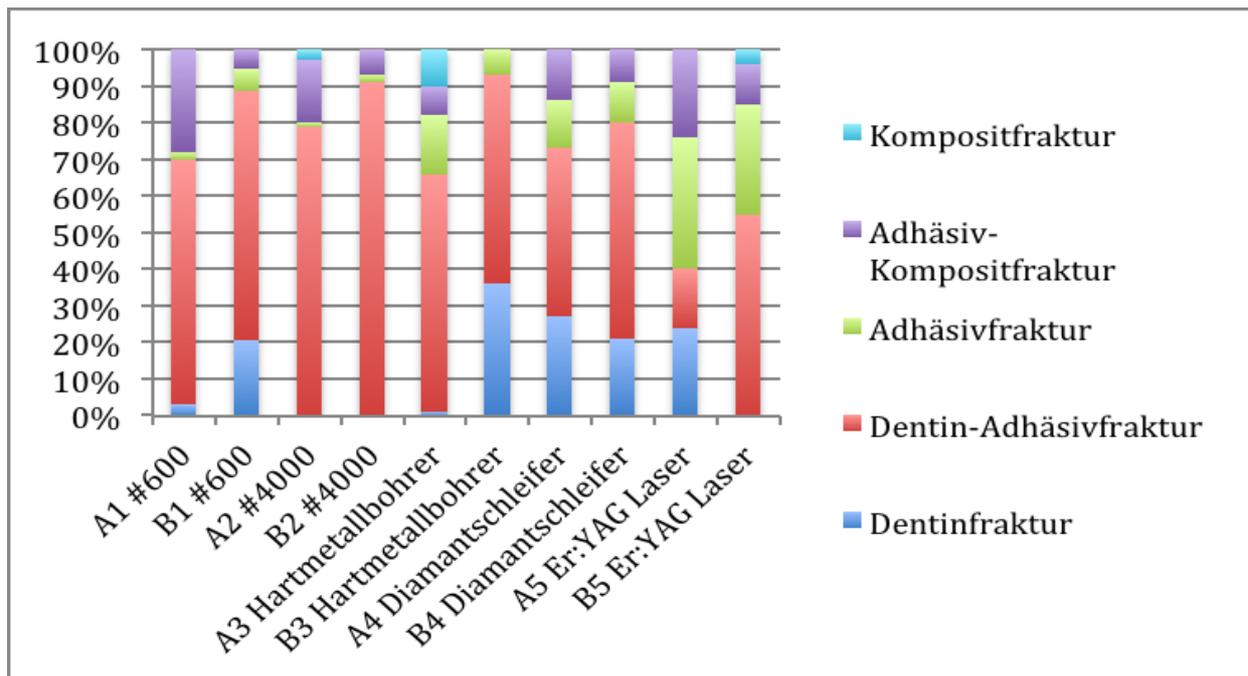
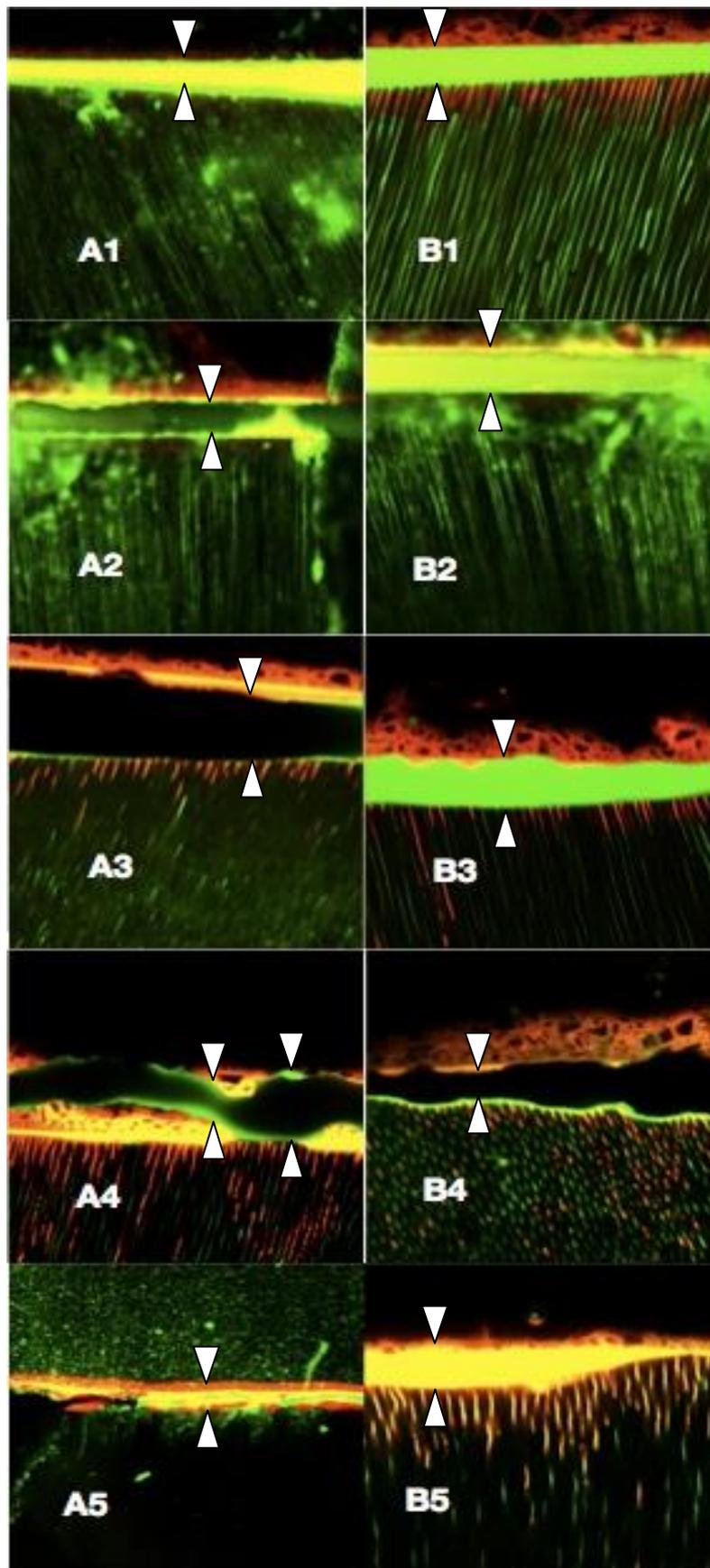


Abbildung 13: Frakturlokalisation in Prozent der gesamten Probenlänge.



**Abbildung 14:** Exemplarische Darstellung frakturierter Verbundproben; repräsentative Bildausschnitte von CLSM-Aufnahmen (10fache Vergrößerung). Der Frakturspalt ist durch Pfeile gekennzeichnet.

## 8. DISKUSSION

### 8.1 Diskussion von Material und Methoden

#### 8.1.1 Herstellung der Verbundproben

In dieser Studie wurden frisch extrahierte humane Zähne verwendet und in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt. Diese Aufbewahrungsweise hat keinen signifikanten Einfluss auf die Zahnstruktur [Kantoor *et al.* 2015]. Die Herstellung und Untersuchung der Proben geschah innerhalb von 24 Stunden. Die Aufbewahrungszeit hat jedoch keinen signifikanten Einfluss auf ein Zugfestigkeitsverfahren [Mobarak *et al.* 2010]. Aufgrund der negativen Einflüsse auf Zugkraftversuche wurden die Zähne nicht mit Natriumhypochloritlösung behandelt, im Autoklaven sterilisiert [Lee *et al.* 2007] oder in Formalin gelagert [DeWald 1997].

Die Herstellung der Proben mit dem Diamanthohlbohrer, das Schleifen und Polieren mit der Schleifmaschine und das Trennen mit der Bandsäge wurde immer unter Wasserkühlung durchgeführt, um eine Austrocknung zu vermeiden. Während der Probenherstellung wurde auf geringe mechanische Einflüsse auf den Haftverbund geachtet. Aus diesem Grund wurde das Aufbringen der Adhäsivschicht und des Kompositaufbaus erst nach der Hohlbohrung durchgeführt, um Einflüsse auf den Dentin-Adhäsiv-Verbund zu minimieren. Um Stresszentren und marginale Stressspitzen in allen Schichten der Probenkörper zu vermeiden, wurden kleine Probendurchmesser und eine Hantelform an der Verbundschicht gewählt [Campillo-Funollet *et al.* 2014; Ghassemieh 2008]. Dennoch ist nicht auszuschließen, dass Kraftspitzen, vor allem während der Probentrennung mit der Bandsäge zu einer verminderten Haftkraft der Versuchsproben führten. Ebenso hat die Reduktion des Dentin-Adhäsiv-Verbundes durch einen Diamantschleifer bei der Herstellung einer Sollbruchstelle Auswirkungen [Goracci *et al.* 2004]. Diese Methode kann dazu führen, dass nur Proben mit relativ starken Haftwerten in die Messung eingehen und die Proben, die bereits während des Herstellungsprozesses frakturieren, nicht statistisch ausgewertet werden. Das kann zu einer geringeren Signifikanz der Haftwerte führen [De Munck *et al.* 2003; Van Meerbeek *et al.* 2003a]. Bedingt durch die Probenherstellung und die Präparation ist es dadurch möglich, dass die klinischen Haftwerte unter denen dieser Untersuchung liegen.

Das in der vorliegenden Studie verwendete Etch-and-Rinse-Adhäsiv und das Self-Etch-Adhäsiv sollten exemplarisch die am Markt vertretenen Adhäsivtypen repräsentieren, die für Kompositrestaurationen im Front- und Seitenzahnbereich geeignet sind. Ihre Materialeigenschaften und Verarbeitungstechniken entsprechen dem Großteil der klinisch verwendeten Systeme. Die Verwendung des Komposits mit verschiedenen Adhäsivtypen ist vom Hersteller freigegeben. Es stellt einen typischen Vertreter eines Nanofüller-Hybridkomposits dar und kann für Restaurationen der Klasse I – IV im Front- und Seitenzahnbereich verwendet werden.

In dieser Studie wurden die initialen Haftwerte kurz nach Herstellung der Verbundproben untersucht. El-Araby *et al.* (2007) ermittelten verringerte Zugfestigkeitswerte nach einer Belastung der Proben durch eine Thermocycling-Behandlung. In mehreren Studien wurde auf verringerte Haftwerte nach einer Langzeitlagerung aufgrund hydrolytischer und hygroskopischer Effekte hingewiesen [Anchieta *et al.* 2015; Erhardt *et al.* 2008]. Carvalho *et al.* (2012) zeigten, dass unter Laborbedingungen durchgeführte Studien teilweise zu schlechteren Ergebnissen als die klinischen Überlebensraten kamen. In der Untersuchung von Do Amaral *et al.* (2008) waren die mit Er:YAG-Laser präparierten Proben durch Langzeitaufbewahrung und Thermocycling stärker betroffen als mit konventionellen Bohrern präparierte Proben. Der Einfluss des Thermocycling auf die Zugfestigkeit hängt von den verschiedenen Adhäsivsystemen ab [De Munck *et al.* 2005]. Die Studie von Blunck *et al.* (2007) zeigte die unterschiedlichen Auswirkungen von Thermocycling und Kurz-, oder Langzeitlagerung auf die Randdichtigkeit von Kompositrestaurationen. Um eine bessere klinische Relevanz der in dieser Studie gezeigten Ergebnisse zu erhalten, könnten anschließend unterschiedliche Langzeituntersuchungen mit verschiedenen Aufbewahrungsflüssigkeiten und Thermocycling-Behandlungen durchgeführt werden.

### **8.1.2 Konfokalmikroskopische Auswertung**

In der vorliegenden Untersuchung wurde die Auswertung des Dentin-Adhäsiv-Verbundes mit dem CLSM durchgeführt. Häufig wird diese Untersuchung mit dem Rasterelektronenmikroskop (REM) oder dem Transmissionselektronenmikroskop (TEM) erstellt [Nakajima *et al.* 2000; De Munck *et al.* 2003]. Diese Methoden sind zeitaufwendig und um die Verbundschicht zu untersuchen, müssen die Proben zusätzlich aufgetrennt und vakuumgetrocknet werden. Dadurch können Artefakte, Schrumpfungen und Risse entstehen [Tay *et al.* 1996]. Durch die konfokale Laser-Raster-Mikroskopie ist eine Untersuchung möglich, ohne die Proben auszutrocknen. Es

entstehen dadurch keine Schrumpfungartefakte. Ein weiterer Vorteil ist, dass nicht nur die Oberfläche wie mit dem REM, sondern auch tiefere Schichten untersucht werden können. Einzelne Komponenten des Adhäsivs können unterschieden werden. Ein Nachteil ist, dass das Vorhandensein, nicht aber die genaue Ausdehnung einer Nanoleakage [Sano *et al.* 1995] bestimmt werden kann [Pioch *et al.* 1997]. Die Auswertung einer Hybridschicht durch das CLSM kann genaue Informationen hinsichtlich des Penetrationsvermögens und der Verteilung von Adhäsiven erbringen [Bitter *et al.* 2009]. Eine quantitative Evaluation des Bruchspalts auch durch mehrere Frakturanteile ist mit dem CLSM möglich, da die Bilder eine große Sensitivität haben und zwei oder mehr Fluoreszenzmittel im Overlay-Modus abgebildet werden können.

Der Einsatz von Fluoreszenzmitteln ist, trotz seines hohen Erkenntnisgewinns, keine standardisierte Methode [D'Alpino *et al.* 2006a]. Durch den Einsatz von Fluoreszenzmitteln, der bei der CLSM-Untersuchung notwendig ist, kann es zu Polymerisationsfehlern bei der Herstellung der Proben kommen, da ein Teil des Polymerisationslichts von den Fluoreszenzmitteln absorbiert wird [D'Alpino *et al.* 2006b]. Auch ist es möglich, dass die Moleküle der Fluoreszenzmittel aufgrund der verschiedenen Bestandteile und Zusammensetzungen unterschiedlicher Adhäsivsysteme, eine unterschiedliche Wirkung auf die Adhäsive haben. Durch den geringen Gehalt an Fluoreszenzstoffen in der Lösung erscheint die Auswirkung auf Zugfestigkeit, Frakturmodus und Hybridschicht jedoch gering [D'Alpino *et al.* 2006a].

Trotz eines festgelegten Aufnahmemodus hatten die Bilder eine teilweise unterschiedlich starke Farbwiedergabe [De Oliveira *et al.* 2010]. Dies könnte durch den unterschiedlichen Anschnitt des Dentins bei der Probenherstellung, sowie die variierende Zusammensetzung aus kollagenen und mineralischen Anteilen in den untersuchten Dentinschichten entstanden sein.

### **8.1.3 Zugfestigkeitsmessung**

Die Studienergebnisse von Haftkraftversuchen sind stark vom Versuchsaufbau, den Proben (Größe und Form), der Beschaffenheit der verwendeten Zähne, der Kompositart und der Testmethode abhängig [Goracci *et al.* 2004]. Durch die permanente Weiterentwicklung ist eine einzelne allgemein gültige Testmethode nicht möglich [Scherrer *et al.* 2010]. Dadurch sind die absoluten Zugfestigkeitswerte nicht signifikant und nur innerhalb einer Studie interpretierbar. Der relative Studienvergleich kann nur dann evidente Aussagen machen, wenn die Versuchsanordnungen zumindest ähnlich oder sogar identisch sind.

Zugfestigkeitsprüfverfahren und Scherfestigkeitsprüfverfahren sind die wichtigsten In-vitro-Methoden, um den Dentin-Adhäsiv-Verbund zu untersuchen. Durch ihre hohe Genauigkeit sind Zugverfahren, insbesondere Mikrotests eine vorzuziehende Methode [Sirisha *et al.* 2014]. Die klinische Evidenz (*in vivo* erzielte Ergebnisse) bleibt aber die wichtigste Methode [Sudsangiam & Van Noort 1999]. Das Prüfverfahren ist bei beiden Methoden bis auf die Krafrichtung ähnlich. Bei Scherfestigkeitsverfahren ist durch die teilweise unterschiedliche Kraftwirkung auf den Dentin-Adhäsiv-Verbund die Haftleistung schwierig zu ermitteln. Dies ist jedoch die wichtigste Größe, auch wenn dieses Verfahren die bessere Simulation der klinischen Situation ist, in der mastikatorische Kräfte auf den Haftverbund wirken. Es sind aber die Zugkräfte, die zum Bruch des Dentin-Adhäsiv-Verbundes führen. Dadurch hat das Zugfestigkeitsverfahren die größere klinische Evidenz [Schreiner *et al.* 1998]. Um diese zu verbessern, haben die Proben bei einem Mikrozugfestigkeitsverfahren Oberflächen von 1 mm<sup>2</sup> [Phrukkanon *et al.* 1998].

In der vorliegenden Studie wurde das  $\mu$ TBS-Verfahren angewandt. Durch dieses Verfahren können mehr Proben hergestellt werden, jedoch ist die Herstellung aufwendiger. Ein Vorteil ist die genaue geometrische Ausrichtung und das spannungsfreie Einsetzen der Proben ohne Vorkraft, wodurch Spannungsspitzen vermieden werden können [Sano *et al.* 1994]. Die Krafrichtung ist bei geringerer Standardabweichung als konventionelle Zugfestigkeitsverfahren gleichförmiger als diese [Pashley *et al.* 1999].

Die Korrelation zwischen Hybridschichtdicke, gefüllten Dentinkanälchen und Zugfestigkeit zeigte in einigen Untersuchungen keine statistische Signifikanz [Van Meerbeek *et al.* 2011; Rahal *et al.* 2012]. Auch De Oliveira *et al.* (2009) und Rahal *et al.* (2011) konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Hybridschichtdicke und der Zugfestigkeit eines Dentin-Kompositverbundes feststellen, allerdings auch nicht zwischen der Zugfestigkeit und der Länge der gefüllten Dentinkanälchen. Andere Studien bestätigten eine signifikante Korrelation zwischen Hybridschichtdicke und Zugfestigkeit [Anchieta *et al.* 2011] oder gehen von einem Zusammenhang aus [Tjäderhane *et al.* 2013]. Zusätzlich zur Dicke einer Hybridschicht ist jedoch auch ihre Zusammensetzung für die Festigkeit von Bedeutung [Stape *et al.* 2015].

Wichtig für die wissenschaftliche Evidenz ist das Vorhandensein von Referenzgruppen. Diese Gruppen (in der vorliegenden Studie A1, B1, A2 und B2) dienen der genauen Interpretation der ermittelten Werte.

## 8.2 Diskussion der Ergebnisse

Die Nullhypothese in der vorliegenden Studie besagte, dass die Präparationsarten Hartmetallbohrer, Diamantschleifer oder Er:YAG-Laser im Dentin keine Auswirkungen auf die Haftkraft des Dentin-Komposit-Verbundes hätten. Dies wurde bei der Verwendung des Etch-and-Rinse-Adhäsivs Excite<sup>®</sup> bestätigt. Bei Anwendung des Self-Etch-Adhäsivs Xeno III<sup>®</sup> wurde die Nullhypothese hingegen abgelehnt. Die Arbeitshypothese lautete, dass durch eine Präparation mit dem Er:YAG-Laser eine Verbesserung der Haftwerte des Dentin-Adhäsiv-Verbundes erzielt werden sollte. Es konnte gezeigt werden, dass die Wahl des Adhäsivtyps eine geringe Veränderung der Haftwerte bewirkt. Durch die Auswertung der mit dem konfokalen Laser-Raster-Mikroskop gemachten Aufnahmen konnten Frakturlokalisierung und Hybridschicht beurteilt werden. Die Dicke der Hybridschicht in den verschiedenen Gruppen unterschied sich teilweise signifikant. Die Proben der Hauptgruppe A (Total Etch<sup>®</sup> & Excite<sup>®</sup>) wiesen Dentindemineralisationen durch das Phosphorsäuregel auf. Es wurden zwischen Dentin und Adhäsiv Hybridschichten gebildet. Die Proben der Hauptgruppe B (Xeno III<sup>®</sup>) wurden durch das saure Adhäsiv demineralisiert. Auch hier kam es zur Bildung von Hybridschichten.

Bemerkenswert war das vollständige Fehlen einer Hybridschicht in einigen Proben der Referenzgruppen A1 (14 %), B1 (36 %) und A2 (22 %). Dies könnte an einer homogenen und dichten Schmierschicht in den Proben der Gruppe A1 und B1 gelegen haben, die eine Ausbildung einer vollständigen Hybridschicht behinderte.

Der überwiegende Teil aller Proben besaß eine zumindest teilweise vorhandene Hybridschicht (zwischen 57 % und 79 %). Das vollständige Vorhandensein einer Hybridschicht war bei den mit klinischen Instrumenten behandelten Proben höher als in den Referenzgruppen. Durch die niedrigeren Haftwerte in den Gruppen A3, B3, A4 und B4 scheint der Einfluss der vollständigen Hybridisierung eine geringe Bedeutung für den Haftverbund zu besitzen. Sattabanasuk *et al.* (2006) beschrieben die Oberflächenbehandlung mit Schleifpapier der Körnung #600 als optimal in Bezug auf eine gleichförmige Oberfläche und Schmierschicht. Dieses Verfahren ist jedoch wenig vergleichbar mit den klinisch angewandten Methoden.

In der vorliegenden Studie wiesen die Proben der Referenzgruppe A1 eine teilweise signifikant dünnere Hybridschicht (3,6 µm) als andere Gruppen auf. Es gab allerdings nur geringe Unterschiede hinsichtlich der Haftwerte. Auch die häufige Lokalisation des Frakturspalts zwischen Dentin und Adhäsiv war in Gruppe A1 mit den anderen Gruppen vergleichbar. Bei der Anwendung von Xeno III<sup>®</sup> wurden in der Referenzgruppe B1 hohe Haftwerte gemessen, hier scheint die Verwendung von Schleifpapier gute Ergebnisse auch bei einer häufig fehlenden Hybridschicht zu erzielen. Die Werte der Referenzgruppen A2 und B2 (Schleifpapier #4000)

zeigten sowohl bei den Zugfestigkeitsmessungen, wie auch bei der Auswertung der Hybridschichten und der Frakturlokalisationen keine signifikanten Unterschiede. Ihre Verwendung als Referenzgruppe scheint damit von Vorteil zu sein, da die Oberfläche und die Schmierschicht im Vergleich zu einer Körnung #600 homogener sein könnte.

Die  $\mu$ TBS-Werte bei Präparationen mit dem Hartmetallbohrer waren bei beiden Adhäsivsystemen höher als bei Diamantpräparationen. Andere Studien [Ogata *et al.* 2001] kamen zu ähnlichen Ergebnissen, allerdings unter Verwendung anderer Adhäsivsysteme. Ursächlich für diesen Unterschied könnte eine dünnere und weniger kompakte Schmierschicht bei der Präparation mit Hartmetallbohrern sein. Dies könnte sich günstig auf die Adhäsivpenetration und die Ausbildung einer Hybridschicht auswirken [Semeraro *et al.* 2006].

Bei Anwendung des Hartmetallbohrers in Verbindung mit Excite<sup>®</sup> (A3) wurde nur eine dünne Hybridschicht beobachtet, ähnlich wie in Gruppe A1. Dies könnte durch die höhere Aggressivität der Phosphorsäure bedingt sein. Im Vergleich zu der milderen Säure in Xeno III<sup>®</sup> greift sie stärker die mineralischen Komponenten an, was an der Oberfläche die Ausbildung einer Hybridschicht behindern könnte. Allerdings traten in der Gruppe A3 keine fehlenden Hybridschichten auf. Bei einer Präparation mit dem Er:YAG-Laser und anschließender Anwendung von Xeno III<sup>®</sup> konnten die besten Haftwertresultate erzielt werden. Durch den Er:YAG-Laser entsteht eine große Dentinablation. Dadurch ist die Oberfläche rauer. Auch die Laserpräparation in Kombination mit der Anwendung von Excite<sup>®</sup> führte tendenziell zu erhöhten Haftwerten. Durch das verdampfende Wasser und andere hydratisierte organische Komponenten steigt der Druck in tieferen Dentinschichten, bis die anorganischen Komponenten an der Dentinoberfläche zerstört werden [Stiesch-Scholz *et al.* 2000]. Das intertubuläre Dentin besitzt mehr Wasser und weniger mineralischen Gehalt als peritubuläres Dentin. Dadurch wird selektiv mehr intertubuläres Dentin ablatiert. Es bleiben vorspringende manschettenförmige Dentinkanälchen zurück, wodurch die Oberfläche vergrößert wird [Van Meerbeek *et al.* 2003a; Hübner & Keller 1989; Aoki *et al.* 1998]. Zusätzlich entstehen Hügel und Täler, im Rasterelektronenmikroskop sind offene Dentinkanälchen sichtbar. Ihre Durchmesser werden durch Säurekonditionierung vergrößert, der dabei entstehende Mineralverlust lässt eine organische Schicht zurück. In älteren Untersuchungen konnte es dadurch zu geringerer Adhäsivhaftung bei der Etch-and-Rinse-Technik kommen [Visuri *et al.* 1996a]. Die vorliegende Untersuchung konnte diesen Unterschied zwischen den beiden Adhäsivsystemen tendenziell (und bei Behandlung mit Schleifpapier (# 600) im signifikanten Ausmaß) bestätigen.

Die Dicke der Hybridschicht ist von der Präparationsweise abhängig [de Oliveira *et al.* 2013]. Die Anwendung des Er:YAG-Laser führt zu einer Veränderung der Säurelöslichkeit des

Dentins. Die Monomere des Adhäsivs diffundieren schlechter durch die denaturierten Kollagenfibrillen, weil der Laser nicht selektiv Hydroxylapatitkristalle entfernen kann, ohne das Kollagenetzwerk zu beschädigen. Es entsteht ein anderes Verhältnis von organischen zu anorganischen Bestandteilen des Dentins. Kalziumpyrophosphat, Kalziummetaphosphat,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Trikalziumphosphat, sowie die durch den Laser veränderten Kollagenfibrillen besitzen eine unterschiedliche Säurelöslichkeit. Die vorliegende Studie konnte den Einfluss der veränderten Säurelöslichkeit des mit Er:YAG-Laser präparierten Dentins auf die Zugfestigkeit nicht nachweisen, da dies nicht Gegenstand der Untersuchung war, die Laserpräparation schien jedoch zu einer Verbesserung des Adhäsivverbundes beizutragen. Im Gegensatz zu Etch-and-Rinse-Systemen besitzen Self-Etch-Adhäsive Metacryloyloxydezyldihydrogenphosphat (10-MDP). Dieses reagiert mit dem Hydroxylapatit und scheint eine bessere Haftwirkung zu erzielen [de Oliveira *et al.* 2013]. Darüber hinaus können die Vorteile von Self-Etch-Adhäsivsystemen, wie geringere Demineralisation, geringere Techniksensitivität und die simultane Monomerinfiltration mit dem Ätzprozess Auswirkungen haben. Es ist möglich, dass diese Simultanität Nanoleakage und Kollagenkollaps verhindert [Jiang *et al.* 2013]. Dies könnte die besseren Haftwerte bei Anwendung von Xeno III<sup>®</sup> als bei Excite<sup>®</sup>-Anwendung erklären. Außerdem ist es möglich, dass nach der Denaturierung der Kollagenfibrillen durch den Laser, zusätzlich die Anwendung der starken Phosphorsäure zu einer verringerten Monomerinfiltration führen könnte. Durch die milden Säuren der Self-Etch-Adhäsive geschieht nur eine teilweise Auflösung der Dentinoberfläche, wobei Hydroxylapatitkristalle verbleiben. Diese können in der Hybridschicht mit Carboxy- und Phosphatgruppen des Adhäsivs eine chemische Verbindung eingehen. Durch Verbleiben von Hydroxylapatitkristallen um die Kollagenfibrillen werden diese vor Hydrolyse geschützt. Mehrere Studien bestätigen bessere TBS-Werte von Self-Etch-Adhäsiven gegenüber Etch-and-Rinse-Systemen [De Munck *et al.* 2002; Van Meerbeek *et al.* 2000; Celik *et al.* 2006]. Dies gilt jedoch vornehmlich für das Dentin [Ozer & Blatz 2013].

In dieser Studie besaßen die laserbehandelten Proben bei beiden Adhäsivsystemen häufiger vollständig ausgebildete und signifikant dickere Hybridschichten, die auch zu den besseren Haftwerten beigetragen haben könnten. De Oliveira *et al.* (2010) gelangten hingegen zu deutlich dünneren Hybridschichten bei der Etch-and-Rinse-Technik und einer Präparation mit Er:YAG-Laser, als bei konventionellen Bohrern. In ihrer Untersuchung wurde durch das Abspülen der Phosphorsäure bei der Etch-and-Rinse-Technik die vom Laser präparierte Dentinschicht entfernt, das darunterliegende denaturierte Kollagengeflecht führte zu geringeren Haftwerten. Bei Anwendung eines Self-Etch-Adhäsivs ohne Phosphorsäureapplikation entstand eine unregelmäßigere Oberfläche mit porösen Stellen, in die das Monomer gut eindringen

konnte. Die Hybridschicht war dicker. Die vorliegende Studie kann dies teilweise in der Gruppe B5 bestätigen. Die Behandlung mit Er:YAG-Laser und Xeno III<sup>®</sup> führte zu signifikant höheren Haftwerten, signifikant dickeren und häufiger gebildeten Hybridschichten. Shirani *et al.* (2012) beschreiben bei der Anwendung des Er:YAG-Lasers auftretende Oberflächenbeschädigungen, wodurch eine Hybridschicht dicker wird, jedoch das darunterliegende Gewebe geschwächt wird. Daraus entstehen niedrigere Haftwerte. Dieses Ergebnis war in der vorliegenden Studie nur in Bezug auf die Hybridschicht gleich. Allerdings kam es bei Verwendung von Er:YAG-Laser und Excite<sup>®</sup> vermehrt zu Kohäsivfrakturen innerhalb des Dentins (24 %), was auf eine Schwächung des tiefer liegenden Kollagennetzwerkes zurückgeführt werden könnte, wie es auch von Van Meerbeek *et al.* (2003a) und De Munck *et al.* (2002) beschrieben wurde. Denaturierte organische Anteile im intertubulären Dentin können zu schlechteren TBS-Werten führen [Ishizaka *et al.* 2002; Camerlingo *et al.* 2004].

Durch die Explosionen in den tieferen Dentinschichten können Mikrofissuren entstehen, in die das Monomer eindringt [Yamada *et al.* 2001]. Sie wären im CLSM-Bild als rote Linien zu erkennen. Ob Ihre Anwesenheit im Sinne von Dentintags eine positive Wirkung auf die Haftkraft eines Adhäsivs hat, oder ob sie eine Schwächung des Dentins darstellt, ist noch ungeklärt. In der vorliegenden Untersuchung konnten im Rahmen des verwendeten Untersuchungsverfahrens keine Mikrofissuren festgestellt werden.

Die Abwesenheit einer Schmierschicht bei Laserpräparation [Visuri *et al.* 1996a] scheint auch in dieser Studie für den Dentin-Adhäsiv-Verbund von Vorteil. Allerdings war die Steigerung der Haftkraft nur bei Anwendung des Self-Etch-Adhäsivs Xeno III<sup>®</sup> statistisch signifikant. Inoue *et al.* (2001) zeigten, dass eine durchlässige und dünne Schmierschicht für Self-Etch-Systeme aufgrund ihrer geringeren Azidität von Vorteil ist. Studien ergaben große Schmierschichtdicken bei der Präparation mit Diamantbohrern, die weder durch Self-Etch-Adhäsive, noch durch Phosphorsäure gut entfernt werden konnten [Oliveira *et al.* 2003]. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung scheinen diese Ergebnisse zu bestätigen. Die höheren Haftwerte der Referenzgruppen (Schleifpapier Körnung #600 und # 4000) gegenüber dem Hartmetallbohrer und dem Diamantschleifer sowie die signifikant besseren Haftwerte bei Laserpräparation könnten aus einer dünnen (Schleifpapierbehandlung) bzw. fehlenden (Er:YAG-Laser) Schmierschicht resultieren.

Der Grad der Demineralisation ist bei sauren Self-Etch-Adhäsiven aufgrund der geringeren Azidität kleiner als bei einer Demineralisation durch Phosphorsäure (pH-Wert < 0,1) [Perdigao *et al.* 2003]. Die Säurewirkung nimmt mit steigender Eindringtiefe in das Dentin ab. Etch-and-Rinse-Systeme, wie das verwendete Excite<sup>®</sup>, besitzen Äthanol als Lösungsmittel.

Dieses verdunstet bei der Applikation schneller als Wasser und fördert den Wasserentzug. Self-Etch-Adhäsive wie Xeno III<sup>®</sup> bestehen aus Wasser und Tetra-Methacryl-Ethyl-Pyrophosphat (Pyro-EMA-SK). Das Pyrophosphat kann mit dem Kalzium des Hydroxylapatits einen Chelatkomplex bilden. Die Ablagerung des hydrophoben Trimethylhexan und des Kalziums können im polymerisierten Verbund eine Ionenbrücke bilden [Gregoire & Millas 2005]. Durch den höheren pH-Wert des Adhäsivs Xeno III<sup>®</sup> wird das Dentin weniger als durch Phosphorsäure geätzt [Inoue *et al.* 2001]. Der Kalziumverlust bei der Applikation von Xeno III<sup>®</sup> hatte in der vorliegenden Studie scheinbar keinen negativen Einfluss auf die Haftkraft. In Self-Etch-Adhäsiven führt der Anteil von Hydroxyethylmethacrylat (HEMA) zu verbesserten Haftwerten. Der Anteil von HEMA ist in den Adhäsiven meist nicht bekannt [Jiang *et al.* 2013]. Es kann allerdings zur Auflösung von HEMA auf der Oberfläche kommen, bevor es polymerisiert wird. Dadurch ist der genaue Einfluss dieses Inhaltsstoffes auf den Dentin-Adhäsiv-Verbund allerdings schwer zu bestimmen.

Das Wasser in Self-Etch-Adhäsiven ist eine wichtige Komponente, um eine Ionisierung des sauren Monomers und eine Demineralisation des Dentins zu ermöglichen. Residualwasser kann aber zu einer inkompletten Polymerisation führen [Tay *et al.* 2002]. Die Festigkeit des Dentin-Adhäsiv-Verbundes hängt jedoch wesentlich von der Festigkeit des polymerisierten Adhäsivs ab [Pashley *et al.* 1995]. Die vorliegende Studie konnte exemplarisch die guten Eigenschaften eines Self-Etch-Adhäsivs, besonders mit Blick auf die Laseranwendung bestätigen. Ebenfalls konnte ein positiver Einfluss der Laseranwendung und der vermutlich daraus resultierenden ausgeprägten Hybridschicht auf die Haftfestigkeit bestätigt werden.

Die Lokalisation des Frakturspaltes scheint keine Auswirkungen auf die Zugfestigkeit zu haben. Das Komposit war aufgrund seiner Homogenität der stabilste Teil der Proben. Kohäsive Kompositfrakturen waren in sieben Gruppen nicht zu finden; lediglich in drei Gruppen kam es mit einem Anteil zwischen 3 % und 10 % hier zu Frakturen. Ein größerer Teil der Frakturen verlief in der Grenze zwischen Komposit und Adhäsiv; in den Gruppen A1, A2 und A4 lag der Anteil sogar zwischen 17 % und 24 %. Die während des Herstellungsprozesses entstandenen Polymerisationsschrumpfungen und Spannungsspitzen während des Zugfestigkeitsversuchs könnten hier zu Defekten geführt haben [Van Meerbeek *et al.* 1998].

Frakturen innerhalb des Adhäsivs hatten bei den Referenzgruppen und bei Verwendung von Hartmetallbohrern und Diamantschleifern einen geringen Anteil (zwischen 1 % und 16 %). Dies könnte auf die homogene Materialstruktur der Adhäsive zurückgeführt werden. Bemerkenswert war die häufigere Frakturlokalisierung innerhalb des Adhäsivs bei der Präparation mit dem Er:YAG-Laser (Excite<sup>®</sup>: 36 %; Xeno III<sup>®</sup>: 30 %). Dies könnte an den stärker

ausgeprägten und häufiger vorhandenen Hybridschichten liegen, die eine bessere Verzahnung von Dentin und Adhäsiv nahelegen. In dieser Studie waren in allen Gruppen die Frakturen am häufigsten in der Verbundschicht zwischen Dentin und Adhäsiv lokalisiert. Die einzige Ausnahme bildete die Gruppe A5 (Er:YAG-Laser & Excite<sup>®</sup>). Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen einer Meta-Analyse mehrerer Studien über den Dentin-Adhäsiv-Verbund [Scherrer *et al.* 2010]. Die geringere Anzahl dieser Frakturlokalisation in der Gruppe A5 könnte allerdings durch die dicke Hybridschicht bedingt sein, wodurch kohäsive Frakturen wahrscheinlicher werden. Andere Studien beschreiben, dass adhäsive Frakturen bei geringen Haftwerten, und kohäsive Brüche eher bei höheren Haftwerten entstehen [Perdigao *et al.* 2006]. Die Phosphorsäureapplikation scheint hier zu einem besseren adhäsiven Verbund zu führen. Der Zugfestigkeitsversuch bestätigte dies tendenziell. Kohäsive Frakturen innerhalb des Dentins traten in den Gruppen in heterogener Verteilung auf; Gruppe B1 und A5 unterstützen die Wahrscheinlichkeit der Häufung bei höheren Haftwerten. Die Proben der Gruppe B5, die die höchsten Haftwerte aufwiesen, zeigten jedoch keine Frakturen im Dentin. Dies scheint die Annahme zu bestätigen, dass die Phosphorsäure bei der Laserpräparation zu einer besseren Dentin-Adhäsiv-Festigkeit, allerdings zu einer Schwächung des darunterliegenden Dentins führen kann. Die Applikation des weniger sauren Adhäsivs Xeno III<sup>®</sup> belässt die tieferliegenden Dentinschichten intakt, sodass keine Frakturen im Dentin auftraten. Die geringe Häufung der Dentinfrakturen in den anderen Gruppen (A4; B3; B4) könnte durch die variable Festigkeit des Dentins bedingt sein.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten bei gleicher Präparationsart keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden verwendeten Adhäsivsystemen. Eine Ausnahme hierzu bildeten die Referenzgruppen A1 und B1. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass die Wahl der Präparationsmittel einen größeren Einfluss auf die Zugfestigkeit hat, als die Wahl des Adhäsivtyps.

## 9. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die in diesem Versuch vorgestellte Untersuchungsmethode konnte den Einfluss der Präparationsart auf den Haftverbund zwischen einem Kompositadhäsiv und Dentin aufzeigen und bewerten. Die Untersuchung der Hybridschicht und des Frakturverhaltens konnte Hinweise auf den Einfluss der Komponenten Präparationsart und Adhäsivtyp auf den Dentinhaftverbund geben.

Die aufgestellte Nullhypothese der vorliegenden Studie konnte zum Teil bestätigt werden. Die Wahl des Präparationsinstrumentes hatte bei Verwendung des Etch-and-Rinse-Adhäsivs Excite<sup>®</sup> keinen signifikanten Einfluss auf die Festigkeit des Dentin-Adhäsiv-Verbundes.

Die Arbeitshypothese konnte teilweise bei Verwendung des Self-Etch-Adhäsivs Xeno III<sup>®</sup> bestätigt werden. Durch den Einsatz des Er:YAG-Lasers konnte die Festigkeit des Haftverbundes signifikant erhöht werden. Die Präparation mit dem Er:YAG-Laser stellt aufgrund der erhöhten Haftwerte eine gute Alternative zur konventionellen Dentinpräparation mit rotierenden Instrumenten dar. Die tendenziell besseren Haftwerte bei Verwendung des Self-Etch-Adhäsivs Xeno III<sup>®</sup> empfehlen sich als Alternative zum Etch-and-Rinse-Adhäsiv Excite<sup>®</sup>.

Die häufigere Frakturlokalisation zwischen Dentin und Adhäsiv zeigt hier die Hauptschwachstelle adhäsiv verankerter Kompositrestaurationen. Die signifikant ausgeprägteren Hybridschichten bei Laseranwendung und die erhöhten Haftwerte sollten weiter untersucht werden

Weitergehende Untersuchungen insbesondere mit Blick auf die Auswirkung des Er:YAG-Lasers auf die tieferen Dentinschichten, die Adhäsivpenetration und die Ausbildung gefüllter Dentinkanälchen sind notwendig. Untersuchungen über längere Zeiträume könnten weitere Ergebnisse über den Einfluss der Hybridschicht auf die Haftkraft erbringen. Auch um evidenzbasierte Schlussfolgerungen ziehen zu können, sind hier noch klinische Studien erforderlich.

**10. LITERATURVERZEICHNIS**

- 1 Abt E, Wigdor H, Lobraico R, Carlson B, Harris D, Pyrcz R. Removal of benign intraoral masses using the CO2 laser. *J Am Dent Assoc.* 1987 Nov;115(5):729-31.
- 2 Anchieta RB, Oliveira FG, Sundfeld RH, Rahal V, Machado LS, Alexandre RS, Sundfeld ML, Rocha EP. Analysis of hybrid layer thickness, resin tag length and their correlation with microtensile bond strength using a total etch adhesive to intact dentin. *Acta Odontol Latinoam.* 2011;24(3):272-8.
- 3 Anchieta RB, Machado LS, Martini AP, Santos PH, Giannini M, Janal M, Tovar N, Sundfeld RH, Rocha EP, Coelho PG. Effect of long-term storage on nanomechanical and morphological properties of dentin-adhesive interfaces. *Dent Mater.* 2015 Feb;31(2):141-53.
- 4 Aoki A, Ishikawa I, Yamada T, Otsuki M, Watanabe H, Tagami J, Ando Y, Yamamoto H. Comparison between Er:YAG laser and conventional technique for root caries treatment in vitro. *J Dent Res.* 1998 Jun;77(6):1404-14.
- 5 Arakawa S, Cobb CM, Rapley JW, Killoy WJ, Spencer P. Treatment of root fracture by CO2 and Nd:YAG lasers: an in vitro study. *J Endod.* 1996 Dec;22(12):662-7.
- 6 Asnaashari M, Zadsirjan S. Application of laser in oral surgery. *J Lasers Med Sci.* 2014 Summer;5(3):97-107.
- 7 Azma E, Safavi N. Diode laser application in soft tissue oral surgery. *J Lasers Med Sci.* 2013 Fall;4(4):206-11.
- 8 Bakopoulou A, Papadopoulos T, Garefis P. Molecular toxicology of substances released from resin-based dental restorative materials. *Int J Mol Sci.* 2009 Sep4;10(9):3861-99.
- 9 Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. *Caries Res.* 2000 Mar-Apr;34(2):144-50.
- 10 Baraba A, Miletic I, Krmek SJ, Perhavec T, Bozic Z, Anic I. Ablative potential of the erbium-doped yttrium aluminium garnet laser and conventional handpieces: a comparative study. *Photomed Laser Surg.* 2009 Dec;27(6):921-7.
- 11 Baumann MA, Doll GM. Spatial reproduction of the root canal system by magnetic resonance microscopy. *J Endod.* 1997 Jan;23(1):49-51.
- 12 Bitter K, Paris S, Mueller J, Neumann K, Kielbassa AM. Correlation of scanning electron and confocal laser scanning microscopic analyses for visualization of dentin/adhesive interfaces in root canal. *J Adhes Dent.* 2009 Feb;11(1):7-14.
- 13 Blunck U, Zaslansky P. Effectiveness of all-in-one adhesive systems tested by thermocycling following short and long-term water storage. *J Adhes Dent.* 2007;9 Suppl 2:231-40.
- 14 Bowen RL, Rodriguez MS. Tensile strength and modulus of elasticity of tooth structure and several restorative materials. *J Am Dent Assoc.* 1962 Mar;64:378-87.

- 15 Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res.* 1955 Dec;34(6):849-53.
- 16 Camerlingo C, Lepore M, Gaeta GM, Riccio C, de Rosa A, De Rosa M. Er:YAG laser treatments on dentine surface: micro-Raman spectroscopy and SEM analysis. *J Dent.* 2004 Jul;32(5):399-405.
- 17 Campillo-Funollet M, Darqush GF, VanSlooten RA, Mollendorf JC, Kim H, Makowka SR. Size-dependent strength of dental adhesive systems. *Dent Mater.* 2014 Aug;30(8):e216-28.
- 18 Cardoso MV, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, Van Meerbeek B. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J.* 2011 Jun;56 Suppl 1:31-44.
- 19 Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater.* 2012 Jan;28(1):72-86.
- 20 Celiberti P, Francescut P, Lussi A. Performance of four dentine excavation methods in deciduous teeth. *Caries Res.* 2006;40(2):117-23.
- 21 Celik EU, Ergücü Z, Türkün LS, Türkün M. Shear bond strength of different adhesives to Er:YAG laser-prepared dentin. *J Adhes Dent.* 2006 Oct;8(5):319-25
- 22 Chen ML, Ding JF, He YJ, Chen Y, Jiang QZ. Effect of pretreatment on Er:YAG laser-irradiated dentin. *Lasers Med Sci.* 2015 Feb;30(2):753-9.
- 23 Cheng X, Guan S, Lu H, Zhao C, Chen X, Li N, Bai Q, Tian Y, Yu Q. Evaluation of the bactericidal effect of Nd:YAG, Er:YAG,Er,Cr:YSGG laser radiation, and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in experimental infected root canals. *Lasers Surg Med.* 2012 Dec;44(10):824-31.
- 24 Colucci V, do Amaral FL, Pécora JD, Palma-Dibb RG, Corona SA. Water flow on erbium:yttrium-aluminium-garnet laser irradiation: effects on dental tissues. *Lasers Med Sci.* 2009 Sep;24(5):811-8.
- 25 Contreras-Arriaga B, Rodriguez-Vilchis LE, Contreras-Bulnes R, Olea-Mejla OF, Scougall-Vichis RJ, Centeno-Pedraza C. Chemical and morphological changes in human dentin after Er:YAG laser irradiation: EDS and SEM analysis. *Microsc Res Tech.* 2015 Sep 23. Doi: 10.1002/jemt.22579.
- 26 Cvikl B, Lilaj B, Franz A, Degendorfer D, Moritz A. Evaluation of the Morphological Characteristics of Laser-Irradiated Dentin. *Photomed Laser Surg.* 2015 Oct;33(10):504-8.
- 27 D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH. Factors affecting use of fluorescent agents in identification of resin-based polymers. *J Adhes Dent.* 2006 Oct;8(5):285-92.

- 28 D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH. Use of fluorescent compounds in assessing bonded resin-based restorations: a literature review. *J Dent.* 2006 Oct;34(9):623-34.
- 29 Davari A, Sadeghi M, Bakhshi H. Shear Bond Strength of an Etch-and-rinse Adhesive to Er:YAG laser-and/or Phosphoric Acid-treated Dentin. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2013;7(2):67-73.
- 30 De Munck J, Van Landuyt K, Coutinho E, Poitevin A, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Micro-tensile bond strength of adhesives bonded to Class-I cavity-bottom dentin after thermos-cycling. *Dent Mater* 2005 Nov;21(11):999-1007.
- 31 De Munck J, Van Meerbeek B, Satoshi I, Vargas M, Yoshida Y, Armstrong S, Lambrechts P, Vanherle G. Microtensile bond strengths of one- and two-step self-etch adhesives to bur-cut enamel and dentin. *Am J Dent.* 2003 Dec;16(6):414-20.
- 32 De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Erbium:YAG-lased vs. Bur-cut enamel and dentin. *Eur J Oral Sci.* 2002 Aug; 110(4):322-9.
- 33 De Oliveira FG, Anchieta RB, Rahal V, de Alexandre RS, Machado LS, Sundefeld ML, Giannini M, Sundfeld RH. Correlation of the hybrid layer thickness and resin tags length with the bond strength of a self-etching adhesive system. *Acta Odontol Latinoam.* 2009;22(3):177-81.
- 34 De Oliveira MT, Arrais CA, Aranha AC, de Paula Eduardo C, Miyake K, Rueggeberg FA, Giannini M. Micromorphology of resin-dentin interfaces using one-bottle etch&rinse and self-etching adhesive systems on laser-treated dentin surfaces: a confocal laser scanning microscope analysis. *Lasers Surg Med.* 2010 Sep;42(7):662-70.
- 35 De Oliveira MT, Reis AF, Arrais CA, Cavalcanti AN, Aranha AC, de Paula Eduardo C, Giannini M. Analysis of the interfacial micromorphology and bond strength of adhesive systems to Er:YAG laser-irradiated dentin. *Lasers Med Sci.* 2013 Jul;28(4):1069-76.
- 36 Deppe H, Horch HH. Laser applications in oral surgery and implant dentistry. *Lasers Med Sci.* 2007 Nov;22(4):217-21.
- 37 DeWald JP. The use of extracted teeth for in vitro bonding studies: a review of infection control considerations. *Dent Mater.* 1997 Mar;13(2):74-81.
- 38 Do Amaral FL, Colluci V, de Souza-Gabriel AE, Chinelatti MA, Palma-Dibb RG, Corona SA. Adhesion to Er:YAG laser-prepared dentin after long-term water storage and thermocycling. *Oper Dent.* 2008 Jan-Feb;33(1):51-8.
- 39 Dunn WJ, Davis JT, Bush AC. Shear bond strength and SEM evaluation of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin and enamel. *Dent Mater.* 2005 Jul;21(7):616-24.

- 40 Ehlers V, Ernst CP, Reich M, Kämmerer P, Willershausen B. Clinical comparison of gluma and Er:YAG laser treatment of cervically exposed hypersensitive dentin. *Am J Dent.* 2012 Jun;25(3):131-5.
- 41 Eichler HJ, Eichler J. *Laser Bauformen, Strahlführung, Anwendungen.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2010, p. 32-34,43-46,55-57.
- 42 Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE. Scanning electron microscopy of tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J Dent Res.* 1970 Nov-Dec;49(6):Suppl:1359-68.
- 43 Einstein A. Zur Quantentheorie der Strahlung. *Physiol Z.* 1917;18:121-8.
- 44 El-Araby AM, Talic YF. The effect of thermocycling on the adhesion of self-etching adhesives on dental enamel and dentin. *J Contemp Dent Pract.* 2007 Feb 1;8(2):17-24.
- 45 Ercoli C, Rotella M, Funkenbusch PD, Russell S, Feng C. In vitro comparison of the cutting efficiency and temperature production of ten different rotary cutting instruments. Part II: electric handpiece and comparison with turbine. *J Prosthet Dent.* 2009 May;101(5):319-31.
- 46 Erhardt MC, Shinohara MS, Bedran-Russo AK, Amaral CM, Pimenta LA. Effect of long-term water storage on etch-and-rinse and self-etching resin-dentin bond strengths. *Gen Dent.* 2008 May-Jun;56(4):372-7.
- 47 Fayad MI, Carter JM, Liebow C. Transient effects of low-energy CO2 laser irradiation on dentinal impedance: implications for treatment of hypersensitive teeth. *J Endod.* 1996 Oct;22(10):526-31.
- 48 Ferracane JL. Resin composite—state of the art. *Dent Mater.* 2011 Jan;27(1):29-38.
- 49 Ferreira RC, Caldas J, Paula GA, Albuquerque RC, Almeida CM, Vasconcellos WA, Caldas RB. Influence of surface area and geometry of specimens on bond strength in a microtensile test: an analysis by the three-dimensional finite element method. *J Prosthodont.* 2011 Aug;20(6):456-63.
- 50 Frankenberger R, Krämer N, Petschelt A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaption. *Oper Dent.* 2000 Jul-Aug;25(4):324-30.
- 51 Frentzen M, Koort HJ. Laser technology in dentistry. *Dtsch Zahnärztl Z.* 1991 Jul;46(7):443-52.
- 52 Fox JL, Yu D, Otsuka M, Higuchi WI, Wong J, Powell GL. Initial dissolution rate studies on dental enamel after CO2 laser irradiation. *Jdent Res.* 1992 Jul;71(7):1389-98.
- 53 Ghassemieh E. Evaluation of sources of uncertainties in microtensile bond strength of dental adhesive system for different specimen geometries. *Dent Mater.* 2008 Apr;24(4):536-47.

- 54 Giannini M, Makishi P, Ayres AP, Vermelho PM, Fronza BM, Nikaido T, Tagami J. Self-etch adhesive systems: a literature review. *Braz Dent J.* 2015 Jan-Feb;26(1):3-10.
- 55 Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed).* 2011 Jan 1;3:711-35.
- 56 Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. *Nature.* 1964 Jul 25;203:417.
- 57 Goracci C, Sadek FT, Monticelli F, Cardoso PE, Ferrari M. Influence of substrate, shape, and thickness on microtensile specimens' structural integrity and their measured bond strengths. *Dent Mater.* 2004 Sep;20(7):643-54.
- 58 Gordon TE Jr. Laser interactions with extracted human teeth: a preliminary report. *Dent Dig.* 1966 Apr;72(4):154-8.
- 59 Greener EH, Lindenmeyer RS. Bur Geometry and Its relationship to Cutting. *JDR* 1968 Jan;47(1):87-97.
- 60 Grégoire G, Millas A. Microscopic evaluation of dentin interface obtained with 10 contemporary self-etching systems: correlation with their pH. *Oper Dent.* 2005 Jul-Aug;30(4):481-91.
- 61 Gutknecht N. Lasertherapie in der zahnärztlichen Praxis. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin 1999, p. 11-39,61-75
- 62 Gutknecht N, Moritz A, Conrads G, Sievert T, Lampert F. Bactericidal effect of the Nd:YAG laser in in vitro root canals. *J Clin Laser Med Surg.* 1996 Apr;14(2):77-80.
- 63 Heidemann D, Hickel R, Staehle HJ, Hellwig E, Klaiber B. Direkte Kompositrestaurationen. *Stellungnahmen der DGZMK. DZZ* 58, 2003, p. 387-388.
- 64 Hibst R, Keller U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med.* 1989;9(4):338-44.
- 65 Hoke JA, Burkes EJ Jr, Gomes ED, Wolbarsht ML. Erbium:YAG (2,94mum) laser effects on dental tissues. *J Laser Appl.* 1990 Summer-Fall;2(3-4):61-5.
- 66 Hooks TW, Adrian JC, Gross A, Bernier WE. Use of the carbon dioxide laser in sterilization of endodontic reamers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980 Mar;49(3):263-5.
- 67 Inoue S, Vargas MA, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Sano H, Van Meerbeek B. Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin. *J Adhes Dent.* 2001 Fall;3(3):237-45.
- 68 Ishizaka Y, Eguro T, Maeda T, Tanaka H. Effects of Er:YAG laser irradiation on human dentin: polarizing microscopic, light microscopic and microradiographic observations, and FT-IR analysis. *Lasers Surg Med.* 2002;31(3):171-6.

- 69 Jiang Q, Chen M, Ding J. Comparison of tensile bond strengths of four one-bottle self-etching adhesive systems with Er:YAG laser-irradiated dentin. *Mol Biol Rep.* 2013 Dec;40(12):7053-9.
- 70 Kameyama A, Kawada E, Amagai T, Takizawa M, Oda Y, Hirai Y. Effect of HEMA on bonding of Er:YAG laser-irradiated bovine dentine and 4-META/MMA-TBB resin. *J Oral Rehabil.* 2002 Aug;29(8):749-55.
- 71 Kantoor P, Srivastava N, Rana V, Adlakha VK. Alterations in the mechanical properties of the extracted human teeth to be used as biological restorations on storing them in different storage media: an in vitro study. *Dent Traumatol.* 2015 Aug;31(4):308-13.
- 72 Kawasaki K, Featherstone JD. Effects of collagenase on root demineralization. *J Dent Res.* 1997 Jan;76(1):588-95.
- 73 Keller U, Hibst R. Effects of Er:YAG laser in caries treatment: a clinical pilot study. *Lasers Surg Med.* 1997;20(1):32-8.
- 74 Keller U, Hibst R, Geurtsen W, Schilke R, Heidemann D, Klaiber B, Raab WH. Erbium:YAG laser application in caries therapy. Evaluation of patient perception and acceptance. *J Dent* 1998 Nov;26(8):649-56.
- 75 Kolliniotou-Koumpia E, Kouros P, Zafiriadis L, Koumpia E, Dionysopoulos P, Karagiannis V. Bonding of adhesives to Er:YAG laser-treated dentin. *Eur J Dent.* 2012 Jan;6(1):16-23.
- 76 Körber K. Zahnärztliche Prothetik. Band I: Funktionslehre, Gnathologie, Traumatologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1995, p. 5-7.
- 77 Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. *J Am Dent Assoc.* 2000 Jun;131 Suppl:20S-25S.
- 78 Kuščer L, Diaci J. Measurements of erbium laser-ablation efficiency in hard dental tissues under different water cooling conditions. *J Biomed Opt.* 2013 Oct;18(10):108002.
- 79 Lee DH, Murakami S, Khan SZ, Matsuzuka K, Inoue T. Pulp responses after CO(2) laser irradiation of rat dentin. *Photomed Laser Surg.* 2013 Feb;31(2):59-64.
- 80 Lee JJ, Nettey-Marbell A, Cook A Jr, Pimenta LA, Leonard R, Ritter AV. Using extracted teeth for research: the effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *J Am Dent Assoc.* 2007 Dec;138(12):1599-603.
- 81 Lenz P, Gilde H. Temperature changes in the pulp cavity after enamel sealing with lasers. *Dtsch Zahnärztl Z.* 1978 Sep;33(9):623-8.
- 82 Lobene RR, Bhussry BR, Fine S. Interaction of carbon dioxide laser radiation with enamel and dentin. *J Dent Res.* 1968 Mar-Apr;47(2):311-7.

- 83 Lopes RM, Trevellin LT, da Cunha SR, de Oliveira RF, de Andrade Salgado DM, de Freitas PM, da Paula Eduardo C, Aranha AC. Dental adhesion to Erbium-Lased Tooth Structure: A Review of the Literature. *Photomed Laser Surg.* 2015 Aug;33(8):393-403.
- 84 Magloire H, Couble ML, Thivichon-Prince B, Maurin JC, Bleicher F. Odontoblast: a mechano-sensory cell. *J Exp Zool B Mol Dev Evol.* 2009 Jul 15;312B(5):416-24.
- 85 Maiman T. Stimulated Optical Radiation in Ruby. *Nature* 187 (06 August 1960), p. 493-494.
- 86 Miserendino LJ, Neiburger EJ, Walia H, Luebke N, Brantley W. Thermal effects of continuous wave CO2 laser exposure on human teeth: an in vitro study. *J Endod.* 1989 Jul;15(7):302-5.
- 87 Mobarak EH, El-Badrawy W, Pashley DH, Jamjoom H. Effect of pretest storage conditions of extracted teeth on their dentin bond strengths. *J Prosthet Dent.* 2010 Aug;104(2):92-7.
- 88 Moritz A, Gutknecht N, Schoop U, Goharkhay K, Ebrahim D, Wernisch J, Sperr W. The advantage of CO2-treated dental necks, in comparison with a standard method: results of an in vivo study. *J Clin Laser Med Surg.* 1996 Feb;14(1):27-32.
- 89 Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Sperr W. The CO2 laser as an aid in direct pulp capping. *J Endod.* 1998 Apr;24(4):248-51.
- 90 Moshonov J, Stabholz A, Leopold Y, Rosenberg I, Stabholz A. Lasers in dentistry. Part B—Interaction with biological tissues and the effect on the soft tissues of the oral cavity, the hard tissues of the tooth and the dental pulp. *Refuat Hapeh Vehashinayim* (1993). 2001 Oct;18(3-4):21-8
- 91 Mosskull Hjertton P, Bagesund M. Er:YAG laser or high-speed bur for cavity preparation in adolescents. *Acta Odontol Scand.* 2013 May-Jul;71(3-4):610-5.
- 92 Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent.* 1991 Jul-Aug;133-8.
- 93 Nakajima M, Kanemura N, Pereira PN, Tagami J, Pashley DH. Comparative microtensile bond strength and SEM analysis of bonding to wet and dry dentin. *Am J Dent.* 2000 Dec;13(6):324-8.
- 94 Ogata M, Harada N, Yamaguchi S, Nakajima M, Pereira PN, Tagami J. Effects of different burs on dentin bond strength of self-etching primer bonding systems. *Oper Dent* 2001 Jul-Aug;26(4):375-82.
- 95 Ohmoto K, Taira M, Shintani H, Yamaki M. Studies on dental high-speed cutting with carbide burs used on bovine dentin. *J Prosthet Dent.* 1994 Mar;71(3):319-23.
- 96 Oliveira SS, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW Jr. The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs. a total-etch system. *Dent Mater.* 2003 Dec;19(8):758-67.

- 97 Ozer F, Blatz MB. Self-etch and etch-and-rinse adhesive systems in clinical dentistry. *Compend Contin Educ Dent*. 2013 Jan;34(1):12-4.
- 98 Pashley DH. Clinical correlations of dentin structure and function. *J Prosthet Dent*. 1991 Dec;66(6):777-81.
- 99 Pashley DH. Smear layer: overview of structure and function. *Proc Finn Dent Soc*. 1992;88 Suppl 1:215-24.
- 100 Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, Fernandes CA, Tay F. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent*. 1999 Winter;1(4):299-309.
- 101 Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater*. 1995 Mar;11(2):117-25.
- 102 Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluy A. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*. 2011 Jan;27(1):1-16.
- 103 Perdigao J, Duarte S Jr, Lopes MM. Advances in dentin adhesion. *Compend Contin Educ Dent*. 2003 Aug;24(8 Suppl):10-6;quiz 61.
- 104 Perdigao J, Frankenberger R, Rosa BT, Breschi L. New trends in dentin/enamel adhesion. *Am J Dent*. 2000 Nov;13(Spec No):25D-30D.
- 105 Perdigao J, Gomes G, Gondo R, Fundingsland JW. In vitro bonding performance of all-in-one adhesives. Part I—microtensile bond strengths. *J Adhes Dent*. 2006 Dec;8(6):367-73.
- 106 Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. The influence of cross-sectional shape and surface area on the microtensile bond test. *Dent Mater*. 1998 Jun;14(3):212-21.
- 107 Pioch T, Stotz S, Staehle HJ, Duschner H. Applications of confocal laser scanning microscopy to dental bonding. *Adv Dent Res*. 1997 Nov;11(4):453-61.
- 108 Raab WH. Laser Doppler Flowmetry: microcirculatory studies in the dental pulp. *Dtsch Zahnärztl Z*. 1989 Mar;44(3):198-200.
- 109 Rahal V, Briso AL, dos Santos PH, Sundfeld ML, Sundfeld RH. Influence of the hybrid layer thickness and resin tag length on microtensile bond strength. *Acta Odontol Latinoam*. 2011;24(1):8-14.
- 110 Rahal V, de Oliveira FG, Briso AL, dos Santos PH, Sundfeld ML, Sundfeld RH. Correlation between hybrid layer thickness, resin tag length and microtensile bond strength of a self-etching adhesive system. *Acta Odontol Latinoam*. 2012;25(2):231-7.

- 111 Ramos TM, Ramos-Oliveira TM, Moretto SG, de Freitas PM, Esteves-Oliveira M, de Paula Eduardo C. Microtensile bond strength analysis of adhesive systems to Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser-treated dentin. *Lasers Med Sci.* 2014 Mar;(29):565-73.
- 112 Romanos GE, Gupta B, Yunker M, Romanos EB, Malmstrom H. Lasers use in dental implantology. *Implant Dent.* 2013 Jun;22(3):282-8.
- 113 Rosa WL, Piva E, Silva AF. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2015 Jul;43(7):765-76.
- 114 Ruch JV. Odontoblast commitment and differentiation. *Biochem Cell Biol.* 1998;76(6):923-38.
- 115 Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength—evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater.* 1994 Jul;10(4):236-40.
- 116 Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent.* 1995 Jan-Feb;20(1):18-25.
- 117 Santini A, Gallegos IT, Felix CM. Photoinitiators in dentistry: a review. *Prim Dent J.* 2013 Oct;2(4):30-3.
- 118 Sattabanasuk V, Burrow MF, Shimada Y, Tagami J. Resin adhesion to caries-affected dentine after different removal methods. *Aust Dent J.* 2006 Jun;51(2):162-9.
- 119 Schein MT, Bocangel JS, Nogueira GE, Schein PA. SEM evaluation of the interaction pattern between dentin and resin after cavity preparation using Er:YAG laser. *J Dent.* 2003 Feb;31(2):127-35.
- 120 Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dent Mater.* 2010 Feb;26(2):e78-93.
- 121 Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol.* 2000 May;45(5):355-61.
- 122 Schreiner RF, Chappell RP, Glaros AG, Eick JD. Microtensile testing of dentin adhesives. *Dent Mater.* 1998 Jun;14(3):194-201.
- 123 Semeraro S, Mezzanzanica D, Spreafico D, Gagliani M, Re D, Tanaka T, Sidhu SK, Sano H. Effect of different bur grinding on the bond strength of self-etching adhesives. *Oper Dent.* 2006 May-Jun;31(3):317-23.
- 124 Shirani F, Birang R, Malekipur MR, Zeilabi A, Shahmoradi M, Kazemi S, Khazaei S. Adhesion to Er:YAG laser and bur prepared root and crown dentine. *Aust Dent J.* 2012 Jun;57(2):138-43.

- 125 Sideridou ID, Karabela MM. Effect of the amount of 3-methacyloxypropyltrimethoxysilane coupling agent on physical properties of dental resin nanocomposites. *Dent Mater.* 2009 Nov;25(11):1315-24.
- 126 Siegel SC, Von Fraunhofer JA. Dental cutting: the historical development of diamond burs. *J Am Dent Assoc.* 1998 Jun;129(6):740-5.
- 127 Siegel SC, von Fraunhofer JA. Comparison of sectioning rates among carbide and diamond burs using three casting alloys. *J Prosthodont.* 1999 Dec;8(4):240-4.
- 128 Sirisha K, Rambabu T, Ravishankar Y, Ravikumar P. Validity of bond strength tests: A critical review-Part II. *J Conserv Dent.* 2014 Sep;17(5):420-6.
- 129 Smiley CJ, Tracy SL, Abt E, Michalowicz BS, John MT, Gunsolley J, Cobb CM, Rossmann J, Harrel SK, Forrest JL, Hujoel PP, Norajan KW, Greenwell H, Frantsve-Hawley J, Estrich C, Hanson N. Systematic review and meta-analysis on the nonsurgical treatment of chronic periodontitis by means of scaling and root planning with or without adjuncts. *J Am Dent Assoc.* 2015 Jul;146(7):508-24.
- 130 Stape TH, Tjäderhane L, Marques MR, Aquiar FH, Martins LR. Effect of dimethyl sulfoxide wet-bonding technique on hybrid layer quality and dentin bond strength. *Dent Mater.* 2015 Jun;31(6):676-83.
- 131 Stern RH. The laser in dentistry: a review of the literature. *J Dent Assoc S Afr.* 1974 Mar;29(3):173-6.
- 132 Stiesch-Scholz M, Hannig M. In vitro study of enamel and dentin marginal integrity of composite and compomer restorations placed in primary teeth after diamond or Er:YAG laser cavity preparation. *J Adhes Dent.* 2000 Autumn;2(3):213-22.
- 133 Sudsangiam S, van Noort R. Do dentin bond strength tests serve a useful purpose? *J Adhes Dent.* 1999 Spring;1(1):57-67.
- 134 Sundström F, Fredriksson K, Montán S, Hafström-Björkman U, Ström J. Laser-induced fluorescence from sound and carious tooth substance: spectroscopic studies. *Swed Dent J.* 1985;9(2):71-80.
- 135 Tanabe K, Yoshida K, Yoshida N, Iwaku M, Ozawa H. Immunohistochemical study on pulpal response in rat molars after cavity preparation by Er:YAG laser. *Eur J Oral Sci.* 2002 Jun;110(3):237-45.
- 136 Tantbirojn D, Pfeifer CS, Amini AN, Versluis A. Simple optical method for measuring free shrinkage. *Dent Mater.* 2015 Sep 2.pii: S0109-5641(15)00364-4.
- 137 Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The overwet phenomenon: a transmission electron microscopic study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. *Am J Dent.* 1996 Aug;9(4):161-6.
- 138 Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent.* 2002 Sep-Nov;30(7-8):371-82.

- 139 Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater.* 2013 Jan;29(1):116-35.
- 140 van Dijken JW, Pallesen U. Long-term dentin retention of etch-and-rinse and self-etch adhesives and a resin-modified glass ionomer cement in non-carious cervical lesions. *Dent Mater.* 2008 Jul;24(7):915-22.
- 141 Van Meerbeek B, De Munck J, Mattar D, Van Landuyt K, Lambrechts P. Microtensile bond strengths of an etch&rinse and self-etch adhesive to enamel and dentin as a function of surface treatment. *Oper Dent.* 2003a Sep-Oct;28(5):647-60.
- 142 Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003b May-Jun;28(3):215-35.
- 143 Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J Dent Res.* 1993 Feb;72(2):495-501.
- 144 Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res.* 1992 Aug;71(8):1530-40.
- 145 Van Meerbeek B, Perdigao J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent.* 1998 Jan;26(1):1-20.
- 146 Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2011 Jan;27(1):17-28.
- 147 Verma SK, Maheshwari S, Singh RK, Chaudhari PK. Laser in dentistry: An innovative tool in modern dental practice. *Natl J Maxillofac Surg.* 2012 Jul;3(2):124-32.
- 148 Visuri SR, Gilbert JL, Wright DD, Wigdor HA, Walsh JT Jr. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin. *J Dent Res.* 1996a Jan;75 (1):599-605.
- 149 Visuri SR, Walsh JT Jr, Wigdor HA. Erbium laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. *Lasers Surg Med.* 1996b;18(3):294-300.
- 150 Von Fraunhofer JA. Adhesion and Cohesion. *Int J Dent.* 2012;2012:951324.
- 151 Von Fraunhofer JA, Siegel SC, Feldman S. Handpiece coolant flow rates and dental cutting. *Oper Dent.* 2000 Nov-Dec;25(6):544-8.
- 152 Von Kreudenstein TS.[Studies of dentin metabolism.I. The dentin liquor.] *Dtsch Zahnarztl Z.* 1955 Mar 15;10(6):473-6.

- 153 Watson TF. Applications of confocal scanning optical microscopy to dentistry. *Br Dent J.* 1991 Nov 9;171(9):287-91.
- 154 Watson TF. A confocal optical microscope study of the morphology of the tooth/restoration interface using Scotchbond 2 dentinadhesive. *J Dent Res.* 1989 Jun;68(6):1124-31.
- 155 Watson TF, Cook RJ. The influence of bur blade concentricity on high-speed tooth-cutting interactions: a video-rate confocal microscopic study. *J Dent Res.* 1995 Nov;74(11):1749-55.
- 156 White JM, Fagan MC, Goodis HE. Intrapulpal temperatures during pulsed Nd:YAG laser treatment of dentin, in vitro. *J Periodontol.* 1994 Mar;65(3):255-9.
- 157 Yamada Y, Hossain M, Suzuki N, Kinoshita JI, Nakamura Y, Matsumoto K. Removal of carious dentin by Er:YAG laser irradiation with and without carisolv. *J Clin Laser Med Surg.* 2001 Jun;19(3):127-31.
- 158 Yamamoto H, Ooya K. Potential of yttrium-aluminium-garnet laser in caries prevention. *J Oral Pathol.* 1974;3(1):7-15.
- 159 Zakariassen KL, Dederich DN, Tulip J, DeCoste S, Jensen SE, Pickard MA. Bactericidal action of carbon dioxide laser radiation in experimental dental root canals. *Can J Microbiol.* 1986 Dec;32(12):942-6.
- 160 Zharikov EV, Zhekov VI, Kulebskii LA, Murina TM, Osiko VV, Prokhorov AM, Savelev AD, Smirnov VV, Starikov BP, Timoshechkin MI. Stimulated emission from Er<sup>3+</sup> ions in yttrium aluminium garnet crystals at  $\lambda=2.94 \mu$ . *Sov J Quantum Electron* 4, 1039-1040 (1975).

## 11. ANHANG

## 11.1 Ergebnisse

**Tabelle I:** Auswertung der Hybridschicht (Vorhandensein in Prozent der Proben)

<b>GRUPPE</b>	<b>VOLLSTÄNDIGE HYBRIDSCHICHT</b>	<b>TEILWEISE HYBRIDSCHICHT</b>	<b>KEINE HYBRIDSCHICHT</b>
A1	7%	79%	14%
B1	7%	57%	36%
A2	14%	64%	22%
B2	29%	71%	0%
A3	36%	64%	0%
B3	35%	57%	14%
A4	22%	71%	7%
B4	36%	64%	0%
A5	29%	71%	0%
B5	43%	57%	0%

**Tabelle II:** Einfluss des Präparationsmodus und des Adhäsivtyps auf die Dicke der Hybridschicht (in  $\mu\text{m}$ ), angegeben sind Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SW)

<b>Gruppe</b>	<b>A1</b>	<b>B1</b>	<b>A2</b>	<b>B2</b>	<b>A3</b>	<b>B3</b>	<b>A4</b>	<b>B4</b>	<b>A5</b>	<b>B5</b>
MW	3,64	5,86	7,64	5,50	3,36	8,14	7,57	8,07	17,86	16,71
SW	2,13	1,61	7,09	2,14	1,65	2,93	4,86	4,56	10,77	8,20

**Tabelle III:** Einfluss des Präparationsmodus und der Adhäsivart auf die Zugfestigkeit (in MPa), angegeben sind Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SW)

<b>Gruppe</b>	<b>A1</b>	<b>B1</b>	<b>A2</b>	<b>B2</b>	<b>A3</b>	<b>B3</b>	<b>A4</b>	<b>B4</b>	<b>A5</b>	<b>B5</b>
MW	4,53	7,60	4,21	3,76	3,67	3,09	2,69	2,78	5,75	7,90
SW	2,65	4,54	3,76	4,40	3,71	1,33	1,33	1,91	3,83	4,65

**Tabelle IV:** Frakturlokalisierung, angegeben sind die anteiligen Frakturbereiche im Verhältnis zur Gesamtbruchlänge in Prozent

<b>Gruppe</b>	<b>A1</b>	<b>B1</b>	<b>A2</b>	<b>B2</b>	<b>A3</b>	<b>B3</b>	<b>A4</b>	<b>B4</b>	<b>A5</b>	<b>B5</b>
Dentin	3	20	0	0	1	36	27	21	24	0
Dentin-Adhäsiv	67	66	79	91	65	57	46	59	16	55
Adhäsiv	2	6	1	2	16	7	13	11	36	30
Adhäsiv-Komposit	28	5	17	7	8	0	14	9	24	11
Komposit	0	0	3	0	10	0	0	0	0	4

## 11.2 Abkürzungsverzeichnis

**Tabelle V:** Gruppeneinteilung

<b>GRUPPE</b>	<b>Präparation</b>	<b>Adhäsiv</b>
A1 Referenzgruppe	Schleifpapier Körnung #600	Excite®
B1 Referenzgruppe	Schleifpapier Körnung #600	Xeno III®
A2 Referenzgruppe	Schleifpapier Körnung #4000	Excite®
B2 Referenzgruppe	Schleifpapier Körnung #4000	Xeno III®
A3	Hartmetallbohrer	Excite®
B3	Hartmetallbohrer	Xeno III®
A4	Diamantschleifer	Excite®
B4	Diamantschleifer	Xeno III®
A5	Er:YAG-Laser	Excite®
B5	Er:YAG-Laser	Xeno III®

**Tabelle VI:** Verwendete Abkürzungen

<b>ABKÜRZUNG</b>	<b>BESCHREIBUNG</b>
A	Ampère
Abb.	Abbildung
Bis-GMA	Bisphenyl-A-Glycidylmethacrylat
°C	Grad Celsius

---

CLSM	Konfokales Laser-Raster-Mikroskop
CO <sub>2</sub>	Karbondioxid
Er,Cr:YSSG	Erbium-Chromium-dotierter Yttrium-Scandium-Gallium-Granat
Er:YAG	Erbium-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat
Gew.-%	Gewichtsprozent
HEMA	Hydroxyethylmethacrylat
HV	Vickershärte
Hz	Hertz
kg	Kilogramm
min	Minute
mJ	Millijoule
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm <sup>2</sup>	Quadratmillimeter
mmol	Millimol
µm	Mikrometer
µTBS	Microtensile bond strength
MPa	Megapascal
N	Newton
NaCl	Natriumchlorid
Nd:YAG	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat
nm	Nanometer
PEM-F	Pentamethacryloxy-Ethylcyclophosphaten-Monofluorid
pH	Negativer Zehnerlogarithmus der Wasserstoffionen-Aktivität
Pyro-EMA-SK	Tetra-Methacryl-Ethyl-Pyrophosphat
REM	Rasterelektronenmikroskop
s	Sekunde
SBS	Shear bond strength
Tab.	Tabelle
TBS	Tensile bond strength
TEGDMA	Triethylenglycoldimethacrylat
TEM	Transmissionselektronenmikroskop
UDMA	Urethan-Dimethacrylat
U/min	Umdrehungen pro Minute
V	Volt
vgl.	vergleiche
Vol.-%	Volumenprozent
W	Watt
%	Prozent
4-META	4-Methacryloyloxyethyl-Trimellitat-Anhydrit
10-MDP	Metacryloyloxydezyldihydrogen-Phosphat

---

### 11.3 Materialverzeichnis

**Tabelle VII:** Inhaltsstoffe der verwendeten Adhäsive und Komposite

<b>MATERIAL (Hersteller)</b>	<b>INHALTSSTOFFE</b>	<b>MENGE (in Gew.-%)</b>
Total Etch <sup>®</sup> (Ivoclar Vivadent)	Phosphorsäure	36
Excite <sup>®</sup> (Ivoclar Vivadent)	Phosphonsäure-Acrylat, HEMA, Bis-GMA, Dimethacrylat Hochdisperses Siliziumdioxid Ethanol Initiatoren, Stabilisatoren,	73,6 0,5 19,5 0,9
Xeno III <sup>®</sup> (Dentsply DeTrey)	<b>Lösung A:</b> HEMA, gereinigtes Wasser, Ethanol, 2,6-Di-Tertbutyl-p-Hydroxytoluen, Nanofüller <b>Lösung B:</b> Pyro-EMA-SK, PEM-F, 1,6-Dimethacryl-Ethyloxycarbonyl-Aminotrimethylhexan, UDMA, 2,6-Di-tert-Butyl-p-Kresol, Kampferchinon, p-Dimethyl-Amin-Ethylbenzoat	k.A.
Grandio <sup>®</sup> (Voco)	Anorganische Füllstoffe Dimethacrylate UDMA Bis-GMA TEGDMA Silikatfüller, Initiatoren, Pigmente, Additiva	87 (71 Vol.-%) 12-14 11-12

**Tabelle VIII:** Er:YAG-Laser Kavo Key 3<sup>TM</sup>1243 (Technische Daten)

<b>LASERDATEN</b>	
Lasertyp	Er:YAG Festkörperlaser, Laserklasse 4
Wellenlänge	2,94 µm
Pulsenergie	40 - 600 mJ
Pulsfrequenz	1-25 Hz
Pulslänge	200 - 700 µs
Pilotstrahl	655 nm/1 mw
Leistungsaufnahme	max. 2,3 kW
Anschluss	230 V, 50/60 Hz, 12 A
Abmessungen	950 x 360 x 660 mm (H×B×T)
Gewicht	78 kg

**Tabelle IX:** Verwendete Materialien

- Mat. 1 Astralis 5™; Fa. Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
- Mat. 2 Bandsäge Exakt 300cl; Fa. Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 3 Diamanthohlbohrer 3 mm; Fa. Komet, Gebr. Brasseler, Lemgo, Deutschland
- Mat. 4 Diamantschleifer #8845; Fa. Komet, Gebr. Brasseler, Lemgo, Deutschland
- Mat. 5 Er:YAG-Laser Key 3™; Fa. KaVo, Biberach a.d. Riß, Deutschland
- Mat. 6 Excite®; Fa. Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
- Mat. 7 Fluoresceinisothiocyanat 0,1 mmol; Fa. Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
- Mat. 8 Grandio® A2; Fa. Voco, Cuxhaven, Deutschland
- Mat. 9 Hartmetallbohrer # H 881 U; Fa. Komet, Gebr. Brasseler, Lemgo, Deutschland
- Mat. 10 Image J; National Institute of Health, Rockville, Maryland, USA
- Mat. 11 Immersol; Fa. Zeiss, Jena, Deutschland
- Mat. 12 Kunststoffapplikator MRA 400; Fa. Microbrush® International, Grafton, Wisconsin, USA
- Mat. 13 Kochsalzlösung 0,9 % NaCl; Fa. Delta Select, Pfullingen, Deutschland
- Mat. 14 Leica Confocal Software LCS v. 1.4 Lite; Fa. Leica Microsystems, Heidelberg, Deutschland
- Mat. 15 Mikroschleifsystem Exakt 400 cl; Fa. Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 16 Objektträger; Fa. Diaplug, Oststeinbeck, Deutschland
- Mat. 17 Parallelfräsmaschine K11; Fa. KaVo, Biberach a.d. Riß, Deutschland
- Mat. 18 Phosphorsäuregel Total Etch®; Fa. Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
- Mat. 19 Rhodamin-B-Isothiocyanat 0,1 mmol; Fa. Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
- Mat. 20 Scaler SH 6/77; Fa. Hu-Friedy, Chicago, Illinois, USA
- Mat. 21 SC 6 Absolute Digimatic; Fa Mitutoyo, Tokyo, Japan
- Mat. 22 Schleifpapier Körnung #180, #320, #400, #600, #1200, #2500, #4000; Fa. Wirtz-Bühler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 23 Schleifsystem Bühler Alpha; Fa. Wirtz-Bühler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 24 Schnellläufer Intramatic 20s; Fa. KaVo, Biberach a.d. Riß, Deutschland
- Mat. 25 Sekundenkleber; Fa. Omnident, Rodgau Nieder-Roden, Deutschland
- Mat. 26 Sprayvitansatz; Fa. KaVo, Biberach a.d. Riß, Deutschland

Mat. 27 Speichelsauger # 16634; Fa. Omnident, Rodgau Nieder-Roden, Deutschland

Mat. 28 SPSS 14.01; Fa. SPSS, Chicago, Illinois, USA

Mat. 29 TCS NT Konfokales Laser-Raster-Mikroskop; Fa. Leica Microsystems, Heidelberg, Deutschland

Mat. 30 Technovit 4071; Fa. Heraeus-Kulzer, Wehrheim, Deutschland

Mat. 31 Winkelstück Intramatic 20c; Fa. KaVo, Biberach a.d. Riß, Deutschland

Mat. 32 Xeno III®; Fa. Dentsply DeTrey, Konstanz, Deutschland

Mat.33 Zwick Z010 Universalprüfmaschine; Fa. Zwick, Ulm, Deutschland

#### 11.4 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle I:</b>	Vorhandensein der Hybridschicht
<b>Tabelle II:</b>	Einfluss des Präparationsmodus und des Adhäsivtyps auf die Dicke der Hybridschicht
<b>Tabelle III:</b>	Einfluss des Präparationsmodus und der Adhäsivart auf die Zugfestigkeit
<b>Tabelle IV:</b>	Frakturlokalisierung
<b>Tabelle V:</b>	Gruppeneinteilung
<b>Tabelle VI:</b>	Verwendete Abkürzungen
<b>Tabelle VII:</b>	Inhaltsstoffe der verwendeten Adhäsive und Komposite
<b>Tabelle VIII:</b>	Er:YAG-Laser Kavo Key 3™ (Technische Daten)
<b>Tabelle IX:</b>	Verwendete Materialien

#### 11.5 Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b>	Funktionsweise eines Lasers
<b>Abb. 2:</b>	Funktionsprinzip des Konfokalen Laser-Raster-Mikroskop
<b>Abb. 3:</b>	Übersicht der Probenherstellung
<b>Abb. 4:</b>	Darstellung des Versuchsablaufs und Präparation der Probenzylinder
<b>Abb. 5:</b>	Probenabmessungen
<b>Abb. 6:</b>	Konfokalmikroskopische Untersuchung und Zugfestigkeitsprüfverfahren
<b>Abb. 7:</b>	Vorhandensein der Hybridschicht
<b>Abb. 8:</b>	Dicke der Hybridschicht
<b>Abb. 9:</b>	Exemplarische Darstellung der adhäsiven Verbundschichten
<b>Abb. 10:</b>	Zugfestigkeit der Probengruppen
<b>Abb. 11:</b>	Frakturlokalisierung im Dentin
<b>Abb. 12:</b>	Frakturlokalisierung im Komposit
<b>Abb. 13:</b>	Frakturlokalisierung in Prozent der Gesamtlänge
<b>Abb. 14:</b>	Exemplarische Darstellung frakturierter Verbundproben

### **11.6 Danksagung**

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Andrej Kielbassa danke ich sehr herzlich für die freundliche Überlassung des interessanten Themas und seine wertvolle Unterstützung.

Herrn Dr. Jan Müller danke ich für die hilfreiche und geduldige Betreuung dieser Arbeit.

Bei Herrn Dr. Konrad Neumann (Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin) bedanke ich mich für die Beratung bei der statistischen Auswertung.

Herrn PD Dr. Michael Hummel (Institut für Pathologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin) danke ich für die Möglichkeit der Nutzung des Konfokalen Laser-Raster-Mikroskops.

Mein Dank gilt Frau Gabriele Bölling (Abteilung für Orale Strukturbiologie des CharitéCentrums 3 für Zahn-, Mund-, und Kieferheilkunde der Medizinischen Fakultät Charité-Universitätsmedizin Berlin) für die freundliche Unterstützung bei den Zugversuchen.

## **11.7 Lebenslauf**

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten

### 11.8 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Paul Christian Köhler, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss verschiedener Präparationsmethoden auf die Zugfestigkeit eines Dentin-Komposit-Verbundes und die Auswirkungen auf das Frakturverhalten *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](http://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.

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."

Berlin, den 18. Juni 2016

Unterschrift