Aus der

Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie des CharitéCentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss der Konditionierung mit verschiedenen Säuregelen auf die Penetration eines Adhäsivs in natürliche Zahnschmelzkaries *in vitro*

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Anja Paris aus Pritzwalk

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

2. Prof. Dr. R. J. Radlanski

3. Prof. Dr. U. Schiffner

Datum der Promotion: 18.09.2009

Meinem Vater Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	7
2	LITERATURÜBERSICHT	8
2.1.	Zahnschmelz	8
2.1.1.	Histologische Struktur	8
2.1.2.	Chemische Zusammensetzung	9
2.2.	Dentin	10
2.2.1.	Histologische Struktur	10
2.2.2.	Chemische Zusammensetzung	11
2.3.	Karies	11
2.3.1.	Allgemeines	11
2.3.2.	Histologie der Schmelzkaries	12
2.3.3.	Histologie der Dentinkaries	14
2.4.	Kariesdetektion und -diagnostik	15
2.5.	Therapie der Karies	17
2.5.1.	Klassische Therapieformen	17
2.5.2.	Versiegelung und Penetration approximaler kariöser Läsionen	18
2.6.	Erosion der Oberflächenschicht	20
3	FRAGESTELLUNG	21
4	MATERIAL UND METHODEN	22
4.1.	Sammlung der Probenzähne	22
4.2.	Charakterisierung der Läsionen	22
4.3.	Aufteilung der Läsionen auf die Gruppen	24
4.4.	Konditionierung der kariösen Läsionen	25
4.5.	Behandlung der kariösen Läsionen mit dem Adhäsiv	25
4.6.	Vorbereitung der Zähne für die konfokalmikroskopische Untersuchung	26
4.7.	Konfokalmikroskopische Untersuchung	27
4.8.	Auswertung der gewonnenen Bilder	28
4.9.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung	30
4.10.	Statistische Auswertung	31

5	ERGEBNISSE	32
5.1.	Qualitative Auswertung	32
5.1.1.	Konfokalmikroskopische Auswertung	32
5.1.2.	Rasterelektronenmikroskopische Auswertung	34
5.2.	Quantitative Auswertung	36
5.2.1.	Penetrationstiefe	36
5.2.2.	Einfluss der Oberflächenschicht	37
6	DISKUSSION	38
6.1.	Diskussion von Material und Methode	38
6.1.1.	Natürliche Schmelzläsionen	38
6.1.2.	Säuren	40
6.1.3.	Applikation des Kunststoffs	41
6.1.4.	Visualisierung der Kunststoffpenetration	42
6.1.5.	Auswertung	44
6.2.	Diskussion der Ergebnisse	45
6.3.	Schlussfolgerungen	48
7	ZUSAMMENFASSUNG	49
8	LITERATURVERZEICHNIS	51
9	ANHANG	56
9.1.	Materialliste	56
9.2.	Danksagung	58
9.3.	Curriculum vitae	59
9.4.	Erklärung	60

1 EINLEITUNG

Dentale Karies ist durch einen Mineralverlust der Zahnhartsubstanzen gekennzeichnet, der durch die metabolische Aktivität des oralen Biofilms verursacht wird. Bei der Entstehung von Zahnschmelzkaries werden Mineralien aus der Schmelzstruktur herausgelöst. Hierbei kommt es zunächst zu der Ausbildung eines stärker demineralisierten, porösen Läsionskörpers unter einer scheinbar intakten Oberflächenschicht. Die heute gängige Behandlung von Schmelzkaries zielt auf eine Remineralisation oder Arretierung der Läsionen ab. Dies wird durch Ernährungslenkung, eine Optimierung der Mundhygiene sowie durch geeignete Fluoridierungsmaßnahmen erreicht. Häufig ist der Erfolg dieser Behandlungsmethoden jedoch durch mangelnde Compliance des Patienten limitiert, so dass invasive Behandlungsmaßnahmen durchgeführt werden müssen. approximaler Karies stellt hierbei die beginnende Kavitation Bei der Läsionsoberfläche eine Schwelle für invasive Behandlungsmethoden dar, bei denen neben der Beseitigung der kariösen Anteile auch relativ große Mengen gesunder Zahnhartsubstanz zerstört werden.

Einen viel versprechenden Therapieansatz für die Arretierung von Schmelzkaries könnte die Infiltration der Läsionen mit niedrig viskösen, lichthärtenden Kunststoffen darstellen. Durch die Obturation der Diffusionswege für organische Säuren und Mineralien könnte eine Progression der Karies auch bei weiterhin bestehendem kariogenem Milieu verhindert werden. Darüber hinaus könnte die poröse Schmelzstruktur durch den penetrierten Kunststoff mechanisch stabilisiert werden.

Natürliche Läsionen weisen häufig eine relativ stark mineralisierte pseudointakte Oberflächenschicht auf. Diese könnte aufgrund des geringen Porenvolumens eine Diffusionsbarriere für den Penetrationskunststoff darstellen und somit die Penetration des Läsionskörpers behindern. Aus diesem Grund scheint eine Entfernung oder Perforation der pseudointakten Oberflächenschicht, für eine erfolgreiche Penetration des Kunststoffes vorteilhaft zu sein. Das Ziel der vorliegenden Studie war es daher, die Eignung zweier Säuregele für die Konditionierung initialer Schmelzläsionen für eine anschließende Penetration mit einem lichthärtenden Kunststoff zu evaluieren.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1. Zahnschmelz

2.1.1. Histologische Struktur

Schmelz ist die härteste Substanz des menschlichen Körpers und im Gegensatz zum Knochen oder Dentin frei von Zellen. Die Struktur des Schmelzes wird durch die Anordnung und den Verlauf der Schmelzprismen bestimmt. Diese sind Ausdruck der Produktionsleistung einzelner Ameloblasten und verlaufen wellenartig und kontinuierlich von der Schmelz-Dentingrenze bis zur Schmelzoberfläche. Nur die oberflächlichste Schmelzlage ist gelegentlich prismenfrei. Jedes Schmelzprisma besteht aus vielen aneinander gelagerten Apatitkristallen (Schroeder 1992).

Im Prismenzentrum sind die Kristallite fast rechtwinklig zur Längsachse der Prismen angeordnet und daher optisch gut gegen die Prismenperipherie abgrenzbar (Abb. 1). Der Bereich, in dem die Ausrichtung der Kristalle eines Prisma entlang seiner Längsachse abrupt in die quer dazu liegenden Kristalle des interprismatischen Schmelzes wechselt, wird als Prismenscheide bezeichnet (Pearce und Nelson 1989). Je nach Anordnung der Ameloblasten während der Amelogenese und des Winkels zwischen der histologischen Schliffebene und der Prismenlängsachse ergeben sich verschiedene Prismentypen. Man unterscheidet demnach eine Zylinder-, Schlüsselloch- oder Hufeisenform (Hellwig et al. 2003). Die Apatitkristalle stellen sich in ihrem Querschnitt annährend hexagonal dar (Hellwig et al. 2003). Mit einer durchschnittlichen Länge von oft mehr als 100 µm und einer Breite von 50 nm sind die Schmelzkristalle im Vergleich zu anderen Hartsubstanzen, wie Dentin oder Knochen, relativ groß (Berkovitz et al. 1992).



Abb. 1: Schematische Darstellung der dreidimensionalen Beziehung zwischen der Struktur der Ameloblasten und der von ihnen gebildeten Schmelzprismen (Wakita und Kobayashi 1983).

2.1.2. Chemische Zusammensetzung

Mit ungefähr 93-98 Gewichtsprozent machen Mineralien den überwiegenden Anteil des Schmelzes aus. Darüber hinaus besteht dieser zu etwa 4 % aus Wasser und zu 1 % aus organischen Substanzen (Gwinnett 1992; Schroeder 1992). Der kristalline Anteil des Schmelzes besteht überwiegend aus Kalzium- und Phosphatverbindungen sowie geringen Anteilen von Magnesium, Natrium, Kalium und Chlorid. Diese Stoffe liegen überwiegend in Form apatitähnlicher Verbindungen vor, wobei das Hydroxylapatit neben dem Fluorapatit und dem Karbonatapatit den größten Anteil ausmacht. An die Apatitkristalle ist der größte Teil des Wassers in Form einer Hydratationsschale gebunden. Der übrige Teil des Wassers ist an die organische Matrix gebunden (Hellwig et al. 2003). Letztere besteht überwiegend aus löslichen und unlöslichen Proteinen und nur geringen Kohlenhydrat- und Lipidanteilen. Gesunder Schmelz weist ein Porenvolumen von etwa 0,1 % auf (Darling et al. 1961; Silverstone 1973). Obwohl Schmelz als zellfreies Mineralgefüge keinen physiologischen Metabolismus aufweist, unterliegt dieser chemischen Veränderungen, die zur Änderung seiner Zusammensetzung beitragen können (Schroeder 1992).

2.2. Dentin

2.2.1. Histologische Struktur

Dentin bildet die Hauptmasse des menschlichen Zahnes. Koronal wird es durch den Schmelz zur Mundhöhle hin abgegrenzt, während es im Wurzelbereich von einer dünnen Zementschicht überzogen wird.

Dentin wird durch Odontoblasten gebildet, deren Zellkörper an der Peripherie der Pulpa liegen und deren Fortsätze das gesamte Dentin in kleinen Dentinkanälchen (Tubuli) durchziehen. Odontoblasten mit ihren Fortsätzen ermöglichen die lebenslange Bildung peritubulären Dentins und machen das Dentin zu einem vitalen Hartgewebe. Das peritubuläre Dentin kleidet die Kanalwände der Dentinkanälchen aus und stellt die am stärksten mineralisierte Dentinstruktur dar. Abhängig vom Alter und von der Lokalisation kann die Dicke des peritubulären Dentins variieren. Durch Apposition peritubulären Dentins kann sich mit zunehmendem Alter des Individuums das Lumen der Dentinkanälchen verengen (sklerosiertes Dentin). Das intertubuläre Dentin trennt die Dentinkanälchen voneinander. Es ist weniger stark mineralisiert als das peritubuläre Dentin, da es etwa zu 50 % aus kollagenen Fasern besteht. Diese Fasern bilden ein Flechtwerk, das quer zu den Dentinkanälchen verlaufend diese umgarnt (Scott et al. 1974; Schroeder 1992).

Die etwa 30 µm dicke Peripherie des Dentins wird durch das Manteldentin gebildet. Diese Dentinschicht ist durch die zahlreichen Gabelungen der odontoblastischen Fortsätze gekennzeichnet. Der Mineralisationsgrad des Manteldentins ist geringer als der des angrenzenden zirkumpulpalen Dentins (Schroeder 1992).

2.2.2. Chemische Zusammensetzung

Dentin ist in seiner chemischen Zusammensetzung dem Knochen sehr ähnlich. Es besteht zu etwa 70 Gewichtsprozent aus anorganischen, zu 20 % aus organischen Substanzen und zu etwa 10 % aus Wasser. Die organische Matrix besteht zu 91-92 % aus Kollagen und zu 8-9 % aus Proteinen, Lipiden, Laktat und Zitrat.

Der Mineralanteil des Dentins enthält überwiegend Kalzium und Phosphat, die ähnlich dem Schmelz in kristalliner Form vorliegen. Die Apatitkristalle des Dentins sind jedoch wesentlich kleiner als die des Schmelzes. Die für den Schmelz typische Anordnung der Kristalle in Prismenform ist beim Dentin nicht zu finden (Schroeder 1992; Hellwig et al. 2003).

2.3. Karies

2.3.1. Allgemeines

Karies stellt die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanzen dar. Zur Kariesentstehung tragen kariogene Mikroorganismen bei, wobei Vertreter der Mutans-Gruppe wie *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sobrinus*, aber auch Laktobazillen eine entscheidende Rolle spielen. Diese haften neben Speichelbestandteilen und Nahrungsresten der Zahnoberfläche als Plaque an. Beim Metabolismus niedermolekularer Kohlenhydrate kommt es zur Bildung von Säuren, was einen Abfall des pH-Wertes unter einen für Zahnschmelz kritischen Wert von 5,2-5,7 innerhalb der Plaque nach sich zieht. Einem Konzentrationsgefälle folgend diffundieren die Säuren entlang der interprismatischen Bereiche in das Schmelzinnere und lösen dort Ionen aus den Kristallgittern heraus, welche anschließend über die gleichen Diffusionswege aus dem Schmelz heraus diffundieren (Ten Cate et al. 2003).

Bleibt das kariogene Milieu bestehen, kommt es zu einer Demineralisation des Schmelzes. Anfangs stellen sich diese Veränderungen als nur elektronenmikroskopisch sichtbare Defekte im Kristallgitter dar. Erst im weiteren Verlauf werden die Veränderungen auch klinisch sichtbar. Initiale aktive Schmelzkaries erscheint klinisch als eine kreidige, opake Veränderung (white spot), deren Oberfläche zwar rau, aber in ihrer Kontinuität nicht unterbrochen ist. Bestehen die kariogenen Faktoren fort, kommt es zu einem Zusammenbruch der Schmelzstruktur und damit zur Kavitation. Mit Beteiligung des Dentins wird eine entzündliche Reaktion der Pulpa hervorgerufen, die sich im weiteren Verlauf zu einer Nekrose entwickeln kann (Hellwig et al. 2003; Ten Cate et al. 2003; Kidd und Fejerskov 2004).

Aufgrund der anatomisch bedingt erschwerten Reinigung ist die Plaqueanlagerung an bestimmten Bereichen des Zahnes begünstigt. Daher entstehen häufig Kariesläsionen an sogenannten Kariesprädilektionsstellen. Hierzu werden unter anderem die Grübchen, Fissuren, Approximalräume und Zahnhälse gezählt.

Für die Entstehung und die Progression der Karies sind neben dem Vorhandensein kariogener Mikroorganismen in der Mundhöhle und dem Überangebot an kariogenen Substraten auch zahlreiche sekundäre Faktoren wie die Speichelzusammensetzung, genetische und sozioökonomische Faktoren verantwortlich (Menaker 1980).

Mit dem Wegfall der kariogenen Faktoren ist eine Remineralisation initialer Läsionen möglich. Durch einen hohen Gehalt an Kalzium und Phosphat stellt der Speichel eine natürliche Remineralisationslösung dar. Werden bei der natürlichen Remineralisation Lebens- oder Genussmittelfarbstoffe in die Schmelzkaries eingelagert, so erscheint diese Veränderung als brauner Fleck (brown spot) (Ten Cate et al. 2003; Kidd und Fejerskov 2004).

2.3.2. Histologie der Schmelzkaries

Dünnschliffe initialer Schmelzläsionen zeigen unter dem Polarisationsmikroskop vier verschiedene Zonen. Unter Zuhilfenahme eines öligen Imbibitionsmediums lassen sich im Inneren des Schmelzes eine "transluzente" und eine "dunkle Zone" erkennen, während mit Wasser als Imbibitionsmedium an der

Schmelzoberfläche eine "**pseudointakte Schicht**" und darunter ein "Läsionskörper" erkennbar sind (Silverstone 1973).



Abb. 2: Schematische Darstellung einer initialen kariösen Schmelzläsion

Transluzente Zone

Die transluzente Zone stellt den am weitesten zum gesunden Schmelzinneren gelegenen Anteil der Läsion dar. Aufgrund der lockeren Kristallitanordnung im Bereich der Prismenscheiden kommt es hier zuerst zu einem Herauslösen von lonen aus dem Apatitkristallgitter (Shellis und Hallsworth 1987). Das daraus resultierende Porenvolumen von etwa 1 % ist im Vergleich zu gesundem Schmelz um das Zehnfache erhöht. Die so erweiterten Schmelzporen stellen Diffusionswege für die Säuren und die herausgelösten lonen dar.

Dunkle Zone

Die dunkle Zone schließt sich unmittelbar der transluzenten Zone nach außen hin an und weist ein Porenvolumen von etwa 2-4 % auf. Wahrscheinlich bedingt durch Rekristallisationsvorgänge sind die Kristalle in dieser Zone größer als die der transluzenten Zone (Silverstone 1973; Silverstone et al. 1988).

Läsionskörper

Der Läsionskörper stellt die Zone des höchsten Mineralverlustes dar. Das Porenvolumen beträgt hier zum Teil mehr als 25 %. Während in der transluzenten und der dunklen Zone die Demineralisation überwiegend die Prismengrenzen betrifft, kommt es im Läsionskörper zu Mineralverlusten vorwiegend in den Prismenkernen (Pearce und Nelson 1989). Im Bereich der Prismenscheiden können Remineralisationsvorgänge auftreten (Shellis und Hallsworth 1987). Der Mineralverlust im Läsionskörper kann über 25 % betragen.

Oberflächenschicht

Die Oberflächenschicht stellt die äußerste Zone der Schmelzkaries dar. Sie entsteht durch die Präzipitation von bereits herausgelöstem Kalzium und Phosphat, die auf ihrem Diffusionsweg zur Läsionsoberfläche dort entweder neue Kristalle bilden oder sich an bereits geschädigte anlagern (Arends und Christoffersen 1986; Silverstone et al. 1988; Klimm 1997; Hellwig et al. 2003). Die Oberflächenschicht ist durch einen Mineralverlust im Bereich der Prismenscheiden charakterisiert (Pearce und Nelson 1989; Frank 1990). Das Porenvolumen ähnelt mit häufig weniger als 5 % dem gesunden Schmelz. Aus diesem Grund wird diese Schicht auch pseudointakte Oberflächenschicht genannt. Die Dicke der Oberflächenschichten kann von Läsion zu Läsion variieren. In der Literatur werden Werte zwischen 30-100 µm angegeben (Bergman und Lind 1966; Hicks und Silverstone 1985).

2.3.3. Histologie der Dentinkaries

Bei einem Fortschreiten der Karies bis in das Dentin beginnen die Odontoblasten mit der Bildung von Reaktionsdentin (Tertiärdentin). Je nach Progression der Dentinkaries lassen sich eine Zone der Sklerose, eine odontoblastenfreie Zone (dead tract) und eine Zone der Demineralisation unterscheiden (Scott et al. 1974; Hellwig et al. 2003).

Wenn die Karies sich in einem fortgeschrittenen Stadium befindet, sind zwei weitere Zonen histologisch nachweisbar. Die Zone der Penetration schließt sich der Zone der Demineralisation zum Kavitätenboden hin an. Nach einer Kavitation dringen Mikroorganismen in die Dentinkanälchen vor und infizieren die Dentinkanälchen. Das Dentin wird durch die proteolytischen Aktivitäten der Bakterien erweicht und es bildet sich eine Zone der Nekrose. Bei anhaltendem Reiz kommt es zu einer entzündlichen Reaktion der Pulpa und im weiteren Verlauf zu deren Absterben.

2.4. Kariesdetektion und -diagnostik

Die Aufgabe der Kariesdiagnostik liegt heute nicht allein darin, kariöse Zahnhartsubstanz von gesundem Schmelz abzugrenzen, sondern darüber hinaus auch aktive Läsionen von inaktiven zu unterscheiden (Nyvad et al. 1999). Die klinische Diagnose von Schmelzkaries an den oralen und bukkalen Glattflächen der Zähne ist relativ einfach. Nach vorangegangener Reinigung und Trocknung lässt sich eine aktive initiale Läsion als raue, weißlich opake Veränderung (white spot) erkennen. Dagegen ist eine glänzende, bräunliche Verfärbung (brown spot) eher ein Zeichen für eine inaktive arretierte Karies (Kidd et al. 2003; Kidd und Fejerskov 2004).

Im Gegensatz zur Schmelzkaries der Glattflächen gestaltet sich die klinische Kariesdiagnostik im Approximalbereich wegen der oftmals fehlenden Einsehbarkeit schwieriger. Bissflügelröntgenaufnahmen ermöglichen die Diagnose klinisch nicht sichtbarer Approximalkaries (Poorterman et al. 2002; Kidd et al. 2003). Die Aufnahmen geben Auskunft über die Ausdehnung der Karies. Allerdings wird diese bei initialen Läsionen meist unterschätzt (Silverstone 1982). Ein Nachteil für die Anwendung der Bissflügelaufnahmen die Belastung des Patienten durch die ionisierenden Strahlen (Pitts und Rimmer 1992; Liebenberg 1996). Allerdings ermöglichen neuere digitale Röntgensysteme eine Reduktion der Strahlendosis um bis zu 50 %.

Ein weiteres diagnostisches Hilfsmittel stellt die Fiberoptische Transilumination (FOTI) dar. Bei dieser Methode können approximale Läsionen aufgrund ihrer veränderten Lichtbrechung von gesundem Schmelz unterschieden werden (Mitropoulos 1985). Allerdings eignet sich die Methode nicht zur Früherkennung approximaler Läsionen, da erst spätere Stadien sicher erkannt werden (Stephen et al. 1986; Hintze et al. 1998).

Eine weitere Aufgabe der Kariesdiagnostik besteht darin, als remineralisierbar einzustufende Läsionen von solchen zu unterscheiden, die nicht mehr remineralisiert werden können. Die Oberfläche nicht kavitierter approximaler Läsionen kann mittels Zahnseide plaquefrei gehalten werden. Daher werden solche Läsionen allgemein als remineralisierbar eingestuft. Bei eingebrochener Oberfläche im Approximalraum geht man davon aus, dass keine suffiziente Plaqueentfernung mehr durchgeführt werden kann und somit die Läsionen als aktiv einzustufen sind. In diesen Fällen wird ein operatives Vorgehen empfohlen. (Kidd und Pitts 1990; Kidd et al. 2003).

Mit Hilfe von Bissflügelaufnahmen können keine verlässlichen Aussagen über eine eventuelle Kavitation approximaler Schmelzkaries getroffen werden, da zwischen röntgenologischer Kariesausdehnung und Kavitation keine gute Korrelation besteht (Marthaler und Germann 1970; Rugg-Gunn 1972). Allerdings geht man heute davon aus, dass Läsionen, die röntgenologisch die Schmelz-Dentin-Grenze überschritten haben, in der Mehrzahl Kavitationen aufwiesen (Rugg-Gunn 1972; Mejare et al. 1985; De Araujo et al. 1992; Ratledge et al. 2001; Kielbassa et al. 2006). Bis heute stellen diese Kenntnisse die Grundlage für ein invasives Vorgehen bei derartigen Läsionen dar.

Die Kariesaktivität stellt ein weiteres Kriterium für den Therapieentscheid zwischen invasiver und operativer Therapie dar. Aktive kariöse Läsionen, welche die Schmelz-Dentin-Grenze überschritten haben, sollten eher operativ therapiert werden als arretierte Läsionen. Leider kann mit einer einmaligen Röntgenaufnahme keine Aussage über die Kariesprogredienz getroffen werden. Hierfür bedarf es mehrerer Aufnahmen über Monate und Jahre hinweg, die eine eventuelle Progression dokumentieren (Kidd et al. 2003; Kidd und van Amerongen 2003).

Eine aktive Approximalkaries korreliert mit der Blutung der Gingiva der benachbarten Papille (Ekstrand et al. 1998). Hierbei deutet die Blutung auf einen erhöhten Entzündungsgrad der angrenzenden Papille hin. Bei parodontal gesunden Patienten kann daher eine Blutung der Papille, hervorgerufen durch vorsichtiges Sondieren, ein hilfreicher diagnostischer Hinweis auf eine aktive approximale Läsion sein.

2.5. Therapie der Karies

2.5.1. Klassische Therapieformen

Die klassischen Therapieformen der Karies gliedern sich in non-operative (nicht invasive, konservative) und operative (invasive, restaurative) Therapien. Daneben wird zwischen primärer, sekundärer und tertiärer Präventionsebene unterschieden.

Primäre Prävention

Bei der primären Kariesprävention wird durch non-operative Maßnahmen wie Mundhygieneoptimierung, Fluoridierung, Fissurenversiegelung und Ernährungslenkung angestrebt, die ätiologischen Faktoren dahingehend zu beeinflussen, dass die Entstehung neuer Karies verhindert wird.

Sekundäre Prävention

Die sekundäre Präventionsebene zielt auf die nicht-invasive Behandlung bereits vorhandener Erkrankungen ab. Das Ziel ist es hierbei, die Karies in einem möglichst frühen Stadium zu diagnostizieren, um diese mittels Mundhygieneoptimierung, Ernährungslenkung, Fluoridierungsmaßnahmen und Fissurenversiegelung zu arretieren und zu remineralisieren (Ellwood und Fejerskov 2003).

Tertiäre Prävention

Die invasive Kariestherapie ist Bestandteil der tertiären Prävention. Hierbei werden als nicht remineralisierbar eingestufte Läsionen mit minimalinvasiven Restaurationstechniken behandelt. Hierbei muss allerdings auch immer gesunde Zahnhartsubstanz geopfert werden. An gut zugänglichen Stellen kann der Verlust an gesunder Zahnhartsubtanz gering gehalten werden. Die klassische Kavitätenpräparation approximaler Läsionen bedingt hingegen, die Entfernung eines weitaus größeren Anteils an gesunder Zahnhartsubstanz, da die oft noch gesunde Randleiste entfernt werden muss, um einen Zugang zur approximalen Läsion zu erlangen (Liebenberg 1996; Ratledge 1999).

2.5.2. Versiegelung und Penetration approximaler kariöser Läsionen

Die klinischen gut dokumentierten Erfolge der Versiegelung von Fissurenkaries (Going et al. 1978; Mertz-Fairhurst et al. 1979; Swift 1988; Mertz-Fairhurst et al. 1998), führten zu der Überlegung auch Karies der Glattflächen mit entsprechenden Kunststoffen zu behandeln, um einer weiteren Progression der Läsion entgegen zu wirken. Schon früh wurde hierbei beobachtet, dass niedrig visköse Kunststoffe in die Poren der Schmelzkaries penetrieren (Davila et al. 1975; Robinson et al. 1976). Der Kunstharz Resorcinol-Formaldehyd zeigte hierbei eine Penetration sowohl in künstliche als auch natürliche Karies, auch wenn hierzu keine quantitativen Angaben gemacht wurden. Aufgrund seiner toxischen Eigenschaften eignete sich dieses Material Resorcinol-Formaldehyd jedoch nicht für die klinische Anwendung (Davila et al. 1975; Robinson et al. 1976).

In neueren Studien zur Penetration von Kunststoffen in kariöse Läsionen wurden daher lichthärtende Haftvermittler und Fissurenversiegler verwendet (Robinson et al. 2001; Gray und Shellis 2002; Schmidlin et al. 2004; Meyer-Lueckel et al. 2006). Diese erwiesen sich als geeignet, um *in vitro* hergestellte Schmelzläsionen zu penetrieren.

Im Vergleich zu gesundem Schmelz weist Schmelzkaries ein erhöhtes Porenvolumen auf. Die Poren innerhalb des Läsionskörpers stellen während der Progression der Karies Diffusionswege für Säuren und Mineralien dar. Durch einen Verschluss dieser Poren durch Penetration mit lichthärtenden Kunststoffen könnte eine Diffusionsbarriere für die Säuren innerhalb der Karies geschaffen werden, die wirksam eine weitere Progression der Karies inhibiert. Eine oberflächliche Kunststoffschicht, wie sie bei der Fissurenversiegelung Anwendung findet, wäre dann eventuell unnötig. Bei einer vollständigen Penetration des Läsionskörpers könnte zudem eine Stabilisierung der porösen, geschädigten Schmelzstruktur erreicht werden. Um das Konzept der alleinigen Obturation der Poren des Läsionskörpers von dem der oberflächlichen Kariesversiegelung abzugrenzen wurde hierfür der Begriff "Kariesinfiltration' eingeführt (Paris et al. 2007c). In den vielen Studien zur Penetration von Kunststoffen in kariöse Läsionen wurde jedoch eine oberflächliche Kunststoffschicht auf der Läsionsoberfläche belassen (Garçía-Godoy et al. 1997; Robinson et al. 2001; Gray und Shellis 2002; Schmidlin et al. 2004). Somit ist nicht bekannt, ob der progressionsinhibierende Effekt durch eine Obturation der Poren oder die oberflächliche Kunststoffschicht erreicht wurde. Auch in einer klinischen Studie, in der die Progression von versiegelten approximalen Läsionen untersucht wurde (Martignon et al. 2006), war eine Kunststoffschicht auf der Oberfläche belassen worden, so dass nicht entschieden werden kann, ob die protektive Wirkung vor allem durch oberflächliche Versiegelung oder aber durch eine teilweise Penetration des Karieskörpers mit Kunststoff erreicht wurde.

Untersuchungen konnten zeigen, Neuere dass eine Verringerung der Kariesprogression in vitro allein durch die Kunststoffpenetration der Poren des Läsionskörpers ohne das Belassen einer oberflächlichen Kunststoffschicht erreicht werden kann (Mueller et al. 2006; Paris et al. 2006; Meyer-Lueckel und Paris 2008). Ohne die Etablierung einer solchen oberflächlichen Kunststoffschicht, scheint allerdings eine möglichst tiefe und vollständige Penetration des Läsionskörpers sinnvoll zu sein. In einigen Untersuchungen wurde daher die Tiefe der Penetration der Kunststoffe in die Karies gemessen. Dabei konnte gezeigt werden, dass neben der Erhöhung der Applikationszeit (Meyer-Lueckel et al. 2006; Paris et al. 2007c) auch eine Ätzung bzw. Trocknung der Läsion vor der Applikation der Kunststoffe zu einer Erhöhung der Penetrationstiefen führte (Gray und Shellis 2002).

Während die klinische Anwendung der Kariesversiegelung bzw. -infiltration an den oralen und vestibulären Glattflächen wegen des guten Zugangs unproblematisch ist, scheint eine Behandlung approximaler Läsionen schwieriger. Um klinisch Zugang zu approximalen Läsion zu erhalten, bietet sich neben der Möglichkeit der Behandlung während der Präparation einer Klasse-II-Kavität am Nachbarzahn, die temporäre Separierung der betroffenen Zähne durch orthodontische Gummiringe an (Martignon et al. 2006). Bei dieser Technik, die in der Kieferorthopädie zum Anbringen von Bändern genutzt wird, wird ein kleiner Gummiring um den zu trennenden Approximalkontakt gespannt. Nach einer Tragezeit von 2-7 Tagen

sind die benachbarten Zähne 0,35-1 mm separiert (Pitts und Longbottom 1987; Seddon 1989). Diese Separation reicht aus, um eine Versiegelung technisch durchzuführen (Martignon et al. 2006).

2.6. Erosion der Oberflächenschicht

Die Oberflächenschicht kariöser Läsionen weist in der Regel ein wesentlich geringeres Porenvolumen und damit eine geringere Porosität als der darunter gelegene Läsionskörper auf (Silverstone 1973). Die pseudointakte Oberflächenschicht wirkt durch ihr geringes Porenvolumen als Diffusionsbarriere, die eine Penetration des Kunststoffes in die Läsion negativ beeinflussen könnte. Eine Perforation oder Entfernung der pseudointakten Oberflächenschicht scheint daher notwendig zu sein, um eine Penetration der Läsion mit Kunststoff zu erreichen. Künstliche Läsionen konnten durch eine kurze Ätzung mit 37%iger Phosphorsäure derart konditioniert werden, dass eine Penetration eines Adhäsivs in den Läsionskörper gezeigt werden konnte (Gray und Shellis 2002). In einer Falldarstellung wurde die mechanische Entfernung der obersten mineralisierten Schicht mit rotierenden Instrumenten beschrieben (Croll 1987). Dieses Vorgehen scheint jedoch für approximale Läsionen, nur bei gleichzeitiger Kavitätenpräparation am benachbarten Zahn anwendbar zu sein.

Im Gegensatz zu künstlichen Läsionen weist natürliche Schmelzkaries häufig wesentlich dickere und inhomogenere Oberflächenschichten auf (Bergman und Lind 1966; Meyer-Lueckel et al. 2007). Daher konnte in einer aktuellen Studie keine vollständige Erosion der Oberflächenschicht natürlicher Karies durch Ätzung mit Phosphorsäure für 30-120 s erreicht werden. Im Gegensatz hierzu wurde nach der Ätzung mit einem experimentellen 15%igen Salzsäuregel eine nahezu vollständige Entfernung der Oberflächenschicht erreicht (Meyer-Lueckel et al. 2007).

3 FRAGESTELLUNG

Die Penetration von Schmelzkaries mit niedrig viskösen Adhäsiven oder Fissurenversieglern könnte neben der Fluoridierung und der Füllungstherapie eine weitere Therapieform zur Behandlung von kariöser Läsionen darstellen. Im Vergleich zu den pseudointakten Oberflächenschichten von *in vitro* erzeugten Läsionen weisen natürliche Läsionen häufig durch Remineralisationsvorgänge ausgebildete, dickere Oberflächenschichten auf. Hierdurch könnte die Penetration eines Kunststoffes trotz zuvoriger Ätzung mit 37%iger Phosphorsäure erschwert werden. Durch eine Ätzung mit 15%igem Salzsäuregel kann eine vergleichbar stärkere Erosion der Oberflächenschicht erreicht werden. Das Ziel der vorliegenden In-vitro-Untersuchung war es daher, die Eignung eines 37%igen Phosphorsäuregels und eines 15%igen Salzsäuregels zur Konditionierung initialer Schmelzläsionen vor anschließender Behandlung mit dem Adhäsiv Excite zu evaluieren.

Hypothesen:

- I. Die Pseudointakte Oberflächenschicht natürlicher Karies verhindert die Penetration eines Adhäsivs in den Läsionskörper.
- II. Nach Konditionierung der kariösen Läsionen mit 15%igem Salzsäuregel für 120 s ist eine tiefere Penetration eines Adhäsivs in den Läsionskörper feststellbar als nach Konditionierung mit 37%igem Phosphorsäuregel.
- III. Die Penetrationstiefe ist abhängig von der röntgenologisch und histologisch ermittelten Läsionsausdehnung.

4. MATERIAL UND METHODEN

4.1. Sammlung der Probenzähne

Für die vorliegende Studie wurden humane permanente Molaren und Prämolaren mit approximalen oder vestibulären initialen kariösen Läsionen verwendet. Zähne die einen zu starken Zerstörungsgrad aufwiesen, wurden ausgeschlossen. Die extrahierten humanen Zähne wurden von einer Entsorgungsfirma für Dentalmaterialien (Enretec, Velten, Deutschland) bezogen. Die Zähne wurden in 20%igem Ethanol angeliefert und nach vorsichtiger Säuberung in isotoner Kochsalzlösung (NaCl-Lösung 0,9 %; Delta Select) gelagert.

4.2. Charakterisierung der Läsionen

Röntgenologische Kariesausdehnung

Von jedem Zahn wurde zunächst die röntgenologische Ausdehnung der Karies erfasst. Eine speziell konstruierte Apparatur diente hierbei der Fixierung der Zähne und der Röntgenbilder (Abb. 3). Im natürlichen Gebiss durchdringen die Röntgenstrahlen Gewebe wie die Wange und den Zahnhalteapparat, bevor diese auf den Zahn und den dahinter befindlichen Film auftreffen. Um diese natürlichen Gewebe zu simulieren, wurde eine 30 mm dicke Plexiglasscheibe in den Strahlengang gelegt.

Mit einem zahnärztlichen Röntgengerät (Heliodent MD; Siemens, Bensheim, Deutschland) wurde dazu ein standardisiertes (0.12 s, 60 kV, 7.5 mA) röntgenologisches Einzelbild (Ektaspeed; Kodak, Stuttgart, Deutschland) angefertigt und anschließend entwickelt (Entwickler XE 24-II; Dürr Dental, Bietigheim-Bissingen, Deutschland).

Die röntgenologische Ausdehnung der Karies wurde von zwei Untersuchern unabhängig voneinander bewertet. Im Fall fehlender Übereinstimmung zwischen beiden Untersuchern wurden die betreffenden Röntgenbilder erneut gemeinsam ausgewertet. Die Kategorisierung der Approximalkaries erfolgte nach folgendem Schema: Karies der äußeren (R1) bzw. der inneren (R2) Schmelzhälfte und Karies des äußeren (R3) oder des inneren pulpanahen (R4) Dentinbereichs (Marthaler und Germann 1970).

Abb. 3: Apparatur zur Fixierung des Einzelzahnes und des Röntgenbildes. Eine 30 mm dicke Plexiglasscheibe diente dabei der Simulation der natürlichen Weichgewebe.

Histologische Kariesausdehnung

Im Folgenden wurde die histologische Ausdehnung der Karies untersucht. Hierzu wurden zunächst die Wurzeln der Zähne unter ständiger Wasserkühlung mit einer Bandsäge (Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) und einem 200 µm dicken Sägeblatt abgetrennt. Ein zweiter Schnitt wurde senkrecht zur Zahnoberfläche durch die Läsionsmitte geführt, so dass je zwei Läsionshälften resultierten. Um den Substanzverlust der Läsionen an der Schnittstelle möglichst gering zu halten, wurde für diesen Schnitt ein 100 µm dickes Sägeblatt verwendet. Von den so entstandenen Zahnhälften wurden zu Dokumentationszwecken digitale Einzelbilder (Nikon D 100, Japan) angefertigt. Anschließend erfolgte eine stereomikroskopische Betrachtung (Stemi SV 11; Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) der Läsionen beider Probenhälften. Hierbei wurde die histologische Ausdehnung der Läsionen bestimmt, wobei analog zu der röntgenologischen Kariesausdehnung (Marthaler und Germann 1970) C1 Läsionen bis zur äußeren Schmelzhälfte, C2 bis in die innere Schmelzhälfte, C3 bis zur Mitte des Dentins und C4 bis zur Pulpa reichten. Auch die Auswertung der histologischen Kariesausdehnung wurde von zwei Untersuchern unabhängig voneinander vorgenommen und im Falle fehlender Übereinstimmung im Konsens bewertet.

4.3. Aufteilung der Läsionen auf die Gruppen

Für den Versuch wurden insgesamt 45 Molaren oder Prämolaren mit approximalen Läsionen verwendet. Korrespondierende Läsionshälften, welche nach der Durchtrennung eine vergleichbare Kariesausdehnung an der jeweiligen Schnittfläche aufwiesen, wurden mit den zwei zu vergleichenden Säuregelen geätzt. Während eine Hälfte jeweils mit 37%iger Phosphorsäure konditioniert wurde, erfolgte die Ätzung der korrespondierenden Hälfte mit 15%iger Salzsäure. Von jeder Läsionsausdehnung (C1, C2, C3) wurden jeweils 10 paarige Hälften mit den zwei Säuregelen konditioniert und anschließend mit einem Adhäsiv behandelt (Abb. 4).

Die Läsionen, die nach dem Durchtrennen eine ungleiche Kariesausdehnung aufwiesen [zum Beispiel: eine der Hälften wies eine Ausdehnung bis in die äußere Schmelzhälfte (C1) und die korrespondierende Hälfte eine Ausdehnung bis in die innere Schmelzhälfte (C2) auf], wurden der unpaarigen negativen Kontrollgruppe zugeordnet. In dieser Gruppe wurden jeweils nur die Zahnhälften mit der tieferen Läsionsausdehnung verwendet. Diese wurden ohne vorherige Konditionierung mit dem Adhäsiv behandelt. Die 30 unpaarigen Zahnhälften wurden ebenfalls in ihrer Kariesausdehnung nach in die Gruppen C1, C2 und C3 eingeteilt (Abb. 4).

Abb. 4: Aufteilung der Läsionshälften auf die verschiedenen Gruppen.

4.4. Konditionierung der kariösen Läsionen

Um einen Kontakt der Säuregele und des Adhäsivs mit den Schnittflächen der Läsionen zu verhindern, wurden diese mit einem Nagellack (Betrix, Frankfurt, Deutschland) abgedeckt. Von den paarigen Läsionshälften wurde jeweils eine Hälfte mit einem experimentellen 15% igem Salzsäuregel (Meyer-Lueckel et al. 2007) (Tab. 1) und die korrespondierende Hälfte mit einem kommerziell erhältlichen 37% igem Phosphorsäuregel (H₃PO₄; total etch; Ivoclar Vivadent, Schaan, Lichtenstein) für jeweils 120 s geätzt (Abb. 5). Anschließend wurden die Gele mittels eines dentalen Sprayaufsatzes für 30 s gründlich abgespült.

Inhaltsstoffe	Menge
HCI-Lösung (25%ig)	60 g
Glycerol	22 g
Hochdisperses Siliziumdioxid	8 g
Methylenblaulösung (1%ig)	10 g

Tab. 1: Zusammensetzung des 15% igen Salzsäuregels (pro 100 g)

Das experimentelle HCI-Gel wurde von der Apotheke der Charité – Universitätsmedizin Berlin für den Versuch hergestellt.

Bei den Läsionen der negativen Kontrollgruppe, wurde auf eine Konditionierung verzichtet. Um das im Läsionskörper verbliebene Wasser zu entfernen, wurden die Proben im Folgenden für 60 s in Ethanol (100 %) gelagert und anschließend mit einem dentalen Sprayaufsatz für weitere 60 s getrocknet.

4.5. Behandlung der kariösen Läsionen mit dem Adhäsiv

Ein zuvor mit 0,1 % rotem Fluoreszenzfarbstoff (Tetramethylrhodaminisothiocyanat; TRITC Sigma Aldrich, Steinheim, Deutschland) markiertes Dentinadhäsiv (Excite; Ivoclar Vivadent) wurde mittels Pinsel auf die Läsion aufgetragen (Abb. 5). Nach einer Applikationszeit von 5 min wurde

überschüssiges Material mit einer Watterolle entfernt und der Kunststoff für 60 s lichtgehärtet (Translux CL; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland).

Abb. 5: Behandlung der Schmelzläsionen

4.6. Vorbereitung der Zähne für die konfokalmikroskopische Untersuchung

Die Zahnproben wurden in speziellen Einbettformen aus Silikon (Protesil DUR; Dentsply, Köln, Deutschland) in einen Methacrylatkunststoff (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) eingebettet. Die so entstandenen Zahnproben wurden hiernach grob zur Schnittfläche parallelisiert und mit Schleifpapier (Körnung 320; Exakt Apparatebau) zu 1 mm dicken Scheiben geschliffen. Anschließend wurden die Proben mit Sekundenkleber (Henkel, Düsseldorf, Deutschland) auf Objektträger aus Plexiglas (Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland) geklebt und mit gewässertem Schleifpapier aufsteigender Körnung (Schleifpapier Körnung 1200, 2500, 4000; Exakt Apparatebau) endgültig parallelisiert und poliert (Exakt Mikroschleifsystem; Exakt Apparatebau).

Um die nicht vom Adhäsiv penetrierten Anteile der Karies in der späteren konfokalmikroskopischen Auswertung sichtbar zu machen, wurden die Proben mit einem zweiten, grün fluoreszierenden, Farbstoff markiert. Hierzu wurden die Proben für drei Stunden bei Raumtemperatur in 0,1 mM Natriumfluorescein (Sigma Aldrich) gelöst in 50% igem Ethanol gelagert. Abbildung 6 veranschaulicht zusammenfassend die Verarbeitung der Proben.

Abb. 6: Versuchsaufbau: Zunächst wurden die Probenzähne in der Mitte durchtrennt und dann nach ihrer histologischen Kariesausdehnung unterteilt. Hiernach wurden die Schnittflächen der Probenhälften mit Nagellack abgedeckt und die zuvor geätzten Läsionen mit dem Adhäsiv penetriert. Im Anschluss wurden Schliffe für die Untersuchung am Konfokalen-Laser-Raster-Mikroskop (CLSM) angefertigt.

4.7. Konfokalmikroskopische Untersuchung

Die Auswertung der Proben erfolgte mit einem Konfokalen-Laser-Raster-TCS Mikroskop (CLSM, NT; Leica, Heidelberg, Deutschland) im Dualfluoreszenzmodus. Das von einem ArKr-Laser emittierte Licht wurde mittels eines akusto-optischen Filterelementes (AOTF) in die Spektralfarben aufgeteilt und gefiltert. Das so gewonnene Anregungslicht hatte zwei Wellenlängenmaxima bei 488 nm und 568 nm. Für die Detektion des vom Natriumfluorescein (FNa) emittierten Lichtes wurde ein 525/50 nm Bandpassfilter verwendet. Das vom Tetramethylrhodaminisothiocyanat (TRITC) emittierte Fluoreszenzlicht wurde durch einen 590 nm Langpassfilter von reflektiertem und gestreutem Licht gefiltert (Abb. 7). Die Aufnahmen erfolgten mit einem 10fach Objektiv bei einer lateralen Auflösung von 1024×1024 Pixeln.

Abb. 7: Schematische Darstellung der Funktionsweise des verwendeten CLSM. Der Argon-Krypton-Laser erzeugt ein Anregungslicht, das durch einen akusto-optischen Filter (AOTF) und halbdurchlässige Spiegel gelenkt wird, um Anregungslicht zweier unterschiedlicher Wellenlängen zu gewinnen. Das emittierte Licht wird ebenfalls durch halbdurchlässige Spiegel und Filter geleitet, um selektiv die verschiedenen Fluoreszenzen darstellen zu können.

4.8. Auswertung der gewonnenen Bilder

Die mit Hilfe des Konfokalmikroskops angefertigten Bilder der Läsionen wurden in roten und grünen Falschfarben dargestellt. Gesunde Bereiche des Schmelzes wurden aufgrund ihrer fehlenden Porosität nicht penetriert und wiesen keine Fluoreszenz auf. Die vom Adhäsiv penetrierten Bereiche der Läsion stellten sich rot dar. Die Anteile der Läsion, die ein erhöhtes Porenvolumen aufwiesen, aber nicht vom Adhäsiv penetriert wurden, stellten sich hingegen grün dar.

Mit Hilfe der Bildbearbeitungssoftware LCS Lite (Leica Confokal Software; Leica) konnten die am CLSM im Dualfluoreszenzmodus angefertigten Bilder übereinander gelegt werden (Abb. 8). Um standardisierte Messwerte der Proben

zu erhalten, wurde mit Hilfe des Bildbearbeitungsprogramms Image J (National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA) jedes Bild mit einem 100 μm-Raster unterlegt. Somit konnten bei jeder Probe je nach Läsionsgröße bis zu zehn Messwerte entlang der Rasterlinien im Abstand von 100 μm gemessen werden.

Abb. 8: Am CLSM gewonnene Bilder, die im Overlaymodus übereinander gelegt und anschließend mit einem Raster versehen wurden.

Die Auswertung der Bilder erfolgte mit der Mikroskopiesoftware (Axio Vision 4.2; Zeiss, München, Deutschland). Bei allen Proben wurden die Läsionstiefe, die Penetrationstiefe des Adhäsivs und die verbliebene pseudointakte Oberflächenschicht vermessen (Abb. 9).

Läsionstiefe:

Die Läsionstiefe wurde als der Bereich definiert, der von der Probenoberfläche bis zu den Schmelzprismen in der Läsion reichte, die nicht mehr von grün fluoreszierendem Kunststoff ausgefüllt waren.

Penetrationstiefe:

Als Penetrationstiefe wurde die Zone definiert, die sich zwischen der Probenoberfläche und dem Ende der Schicht des fluoreszierenden Adhäsivs rot darstellte.

Pseudointakte Oberflächenschicht:

Als pseudointakte Oberflächenschicht wurde der Bereich definiert, der sich gelegentlich zwischen der Probenoberfläche und den grün oder rot fluoreszierenden Schmelzprismen erstreckte und sich schwarz darstellte.

Abb. 9: Schematische Darstellung der Vermessung der Proben am CLSM

4.9. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Um die Auswirkungen der Ätzung mit den zwei Säuregelen auf die Läsionsoberfläche zu demonstrieren, wurden vier exemplarische initiale Läsionen vor und nach der Ätzung mit den zwei Säuregelen (siehe 4.4.) sowie nach der Penetration mit dem Adhäsiv (siehe 4.5.) rasterelektronenmikroskopisch untersucht.

Die Proben wurden bei 21 ℃ für 24 Stunden getrocknet und mit Gold besputtert (Sputtergerät SCD 040; Balzers. Liechtenstein). Die anschließende rasterelektronenmikroskopische (REM) Untersuchung erfolgte bei einer Anodenspannung von 16 kV im Sekundärelektronenmodus (Cam Scan Maxim 2940; Electron Optics, Waterbeach, Großbritannien) bei 2200facher Vergrößerung.

4.10. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software SPSS (Version 12.0 für Windows; SPSS GmbH, München, Deutschland). Die ermittelten Werte für die Penetrations- und Läsionstiefen wurden zunächst mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung geprüft. Anschließend wurden die Daten entsprechend ihrer Verteilung mit nonparametischen Tests (Kruskal-Wallis Test, Mann-Whitney-Test, Wilcoxon-Test) analysiert. Für alle statistischen Tests wurde ein Signifikanzniveau von 5 % gewählt.

5 ERGEBNISSE

5.1. Qualitative Auswertung

5.1.1. Konfokalmikroskopische Auswertung

Die Methode der Dualfluoreszenz ermöglichte eine differenzierte Darstellung verschiedener Strukturen durch Falschfarben in den konfokalmikroskopischen Bildern (Abb. 10C-F). Poröse Strukturen wie der Läsionskörper (LK) stellten sich durch Imbibition mit Natriumfluoresceinlösung grün dar. Strukturen mit geringem Porenvolumen wie gesunder Schmelz (GS) und die pseudointakte Oberflächenschicht (OS) zeigten keine Fluoreszenz und erschienen daher in den konfokalmikroskopischen Bildern schwarz. Kunststoffpenetrierte Bereiche (A) waren durch eine rote Fluoreszenz gekennzeichnet.

Die Läsionshälften, die mit 15% igem Salzsäuregel geätzt worden waren, zeigten regelmäßig eine deutliche Penetration der oberflächlichen Anteile des Läsionskörpers (Abb. 10C). Charakteristisch für das Penetrationsverhalten war, dass der Kunststoff zunächst entlang der Prismenzentren in den Läsionskörper penetrierte, während die Porositäten der Prismenscheiden erst später penetriert wurden (Abb. 10E).

Die Läsionshälften, welche mit 37% iger Phosphorsäure geätzt worden waren, zeigten nur eine oberflächliche Penetration mit Adhäsiv. Eine pseudointakte Oberflächenschicht wurde in fast allen Läsionen nachgewiesen (Abb. 10D).

Die Läsionen der unbehandelten Kontrollgruppe zeigten keine Anzeichen von Kunststoffpenetration. Der rote Farbstoff war lediglich als dünne, kaum sichtbare oberflächliche Schicht bei einigen Läsionen erkennbar. An der Oberfläche der kariösen Läsionen war bei fast allen Proben eine Oberflächenschicht mit geringem Porenvolumen erkennbar (Abb. 10F).

Abb. 10: Exemplarische Darstellung von Schmelzläsionen vor (A, B: Stereomikroskop) und nach Kunststoffpenetration (C-E: CLSM). **A:** Aufsicht auf eine approximale Schmelzkaries. **B:** Nach dem Trennen der Läsion in zwei Hälften ist die Ausdehnung bis in die innere Schmelzkälfte (C2) zu erkennen. **C:** Die mit HCI-Gel geätzte Läsionshälfte zeigt eine Penetration des rot markierten Adhäsivs (A) in die oberflächlichen Teile des Läsionskörpers (LK). Gesunder Schmelz (GS) ist schwarz dargestellt. Zur besseren Veranschaulichung ist die Läsionsoberfläche durch eine gestrichelte Linie markiert. **D:** Die mit H₃PO₄-Gel geätzte korrespondierende Hälfte zeigt eine nur sehr oberflächliche Penetration des Adhäsivs (A). Eine deutliche Oberflächenschicht (OS) ist erkennbar. **E:** Vergrößerte konfokalmikroskopische Darstellung der von Kunststoff penetrierten Anteile des Läsionskörpers einer mit HCI-Gel konditionierten Läsion. Die Penetration des Adhäsivs (A) entlang der Prismenkerne in den Läsionskörper (LK) ist deutlich erkennbar. **F:** Bei den nicht konditionierten (geätzten) Läsionen der Kontrollgruppe war keine Kunststoffpenetration erkennbar. Eine Oberflächenschicht (OS) war dagegen regelmäßig zu beobachten. [Bilder aus (Paris et al. 2007d)]

5.1.2. Rasterelektronenmikroskopische Auswertung

Die rasterelektronenmikroskopische Darstellung ungeätzter Läsionen zeigte im Vergleich zu gesundem Schmelz etwas unregelmäßigere Oberflächen. Nur relativ wenige Porositäten der Oberfläche waren erkennbar (Abb. 11A).

Läsionen, welche mit Salzsäuregel für 120 s geätzt worden waren, zeigten dagegen ein charakteristisches Ätzmuster mit Akzentuierung der Prismenstruktur. Häufig wurden Erosionen im Bereich der Prismenkerne beobachtet (Atzmuster I). Etwas seltener fanden sich stärkere Erosionen in der Prismenperipherie (Ätzmuster II). Im Allgemeinen traten beide Ätzmuster jedoch nebeneinander und ungeordnet auf (Ätzmuster III). Durch die Ätzung wurden einzelne Kristallite freigelegt. Porositäten zwischen den Kristalliten und trichterförmigen Löchern konnten bevorzugt in den Prismenkernen beobachtet werden (Abb. 11B).

Im Gegensatz dazu zeigten Oberflächen, welche mit Phosphorsäuregel für 120 s geätzt worden waren ein unregelmäßigeres Ätzmuster. Eine Prismenstruktur war seltener erkennbar und auch Porositäten wurden seltener als nach Salzsäureätzung beobachtet (Abb. 11C).

Mit Hilfe der rasterelektronenmikroskopischen Bilder kunststoffpenetrierter Läsionsoberflächen konnte gezeigt werden, dass nach dem Abwischen überstehender Kunststoffreste vor dem Aushärten des Materials keine Kunststoffschicht an der Oberfläche verblieb. Die Kunststoffapplikation führte zu einem Verschluss fast aller zuvor durch Ätzung freigelegter Poren. Die Prismenstruktur, welche nach der Ätzung beobachtet werden konnte, war nur noch schemenhaft erkennbar (Abb. 11D).

Abb. 11: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Oberfläche einer initialen Läsion. **A:** Die unbehandelte Läsionsoberfläche zeigt kaum Porositäten. **B:** Die mit Salzsäuregel geätzte Oberfläche zeigt eine charakteristische Prismenstruktur. Einzelne Kristallite sind freigelegt. Im Bereich der Prismenkerne sind viele Porositäten erkennbar. **C:** Die mit Phosphorsäure geätzte Oberfläche zeigt nur wenige Porositäten. Eine Prismenstruktur ist kaum erkennbar. **D:** Die Oberfläche einer mit Salzsäure geätzten und kunststoffpenetrierten Läsion zeigt deutlich weniger Porositäten als vor der Applikation des Kunststoffes. Die aufgeraute Struktur lässt auf das Fehlen einer Kunststoffschicht auf der Läsionsoberfläche schließen [Bilder aus (Paris et al. 2007d)].

5.2. Quantitative Auswertung

5.2.1. Penetrationstiefe

Läsionen, welche mit Salzsäuregel geätzt worden waren, zeigten signifikant höhere Penetrationstiefen [Mittelwert (Standardabweichung)] [58 (37) μ m] als die mit H₃PO₄-Gel konditionierten korrespondierenden Hälften [18 (11) μ m] (p < 0,001; Wilcoxon). Die ohne vorherige Konditionierung behandelten Läsionen zeigten fast keine Kunststoffpenetration [0 (1) μ m)] (Abb. 12).

Für keine der drei Vorbehandlungen konnten signifikante Unterschiede zwischen unterschiedlichen mikroskopischen Läsionsausdehnungen (C1-C3; Abb. 12 a) und röntgenologischen Stadien (R0-R4; Abb. 12b) nachgewiesen werden (p > 0,05; Kruskal Wallis).

Abb. 12: Penetrationstiefen des Adhäsivs für die verschiedenen Vorbehandlungen (unbehandelte Kontrolle: KTR; mit Phosphorsäuregel geätzte Läsionen: H₃PO₄; mit Salzsäuregel geätzte Läsionen: HCl) **A:** Unterteilung der Läsionen nach histologischer Kariesausdehnung C1-C3 (n = 10 pro Gruppe) **B:** Unterteilung der Läsionen nach röntgenologischer Stadien R0-R3 (Fallzahl über den jeweiligen Boxplots). Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mit Sternen gekennzeichnet (*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,01; Wilcoxon, Mann Whitney).

5.2.2. Einfluss der Oberflächenschicht

Läsionen bei denen die Oberflächenschicht durch das Ätzen komplett entfernt werden konnte (KTR: n = 0; H₃PO₄: n = 2; HCI: n = 8), wiesen signifikant höhere Penetrationstiefen auf [65 (35) μ m] als Läsionen, die nach Ätzung noch Reste der Oberflächenschicht aufwiesen [33 (31) μ m] (p < 0,01; Mann-Whitney).

Die Läsionen der Kontrollgruppe ohne Säurekonditionierung zeigten eine mittlere Oberflächenschichtdicke von [42 (23) μ m]. In der Gruppe mit H₃PO₄-Ätzung wurden verbleibende mittlere Oberflächenschichtdicken von [37 (42) μ m] gemessen. In der Gruppe mit HCI-Konditionierung wurden im Verglich zu den anderen beiden Gruppen signifikant geringere Oberflächenschichtdicken [20 (18) μ m] beobachtet (p < 0,05).

6 DISKUSSION

6.1. Diskussion von Material und Methode

6.1.1. Natürliche Schmelzläsionen

Für die Zwecke der vorliegenden Studie wurden humane Molaren und Prämolaren natürlichen kariösen Läsionen verwendet. In der mit bisher zur Kunststoffpenetration kariöser Läsionen verfügbaren Literatur wurde überwiegend die Behandlung künstlicher Läsionen beschrieben (Garçía-Godoy et al. 1997; Gray und Shellis 2002; Mueller et al. 2006; Paris et al. 2006; Meyer-Lueckel und Paris 2008). Lediglich in zwei älteren Studien wurde die Penetration von Kunststoffen auch in natürliche Läsionen exemplarisch beschrieben, ohne jedoch quantitative Aussagen zu treffen (Davila et al. 1975; Robinson et al. 1976). Natürliche Läsionen weisen im Vergleich zu den in der Vergangenheit häufig untersuchten künstlichen Läsionen entscheidende strukturelle Unterschiede auf. Während natürliche Läsionen im Schliffbild eine typische Keilform zeigen, weisen künstlich erzeugte Läsionen eine über ihre Fläche relativ konstante Läsionstiefe auf. Bei künstlichen Läsionen werden Oberflächenschichten von 20-30 um Dicke gefunden (Silverstone 1973). Natürliche Läsionen sind im Munde des Patienten, je nach Ernährungsverhalten und Mundhygiene, unterschiedlich ausgeprägten Deund Remineralisationsvorgängen ausgesetzt, was dazu führt, dass die Dicke der Oberflächenschicht von Zahn zu Zahn beträchtlich variieren kann (Meyer-Lueckel et al. 2007). Aufgrund der inhomogenen Plaqueanlagerung auf der Oberfläche einzelner Läsionen während der Entstehung natürlicher Karies variieren Läsionstiefe, Dicke der Oberflächenschicht, Porenvolumen und Mineralverlust zudem auch innerhalb einzelner kariöser Läsionen (Meyer-Lueckel et al. 2007). Aufgrund der genannten strukturellen Unterschiede zwischen künstlichen und natürlichen kariösen Läsionen ist es daher sinnvoll, die Konditionierung in Vorbereitung auf eine Kariesinfiltration an natürlichen Läsionen zu evaluieren.

Im Gegensatz zu künstlichen Läsionen, die in großen Mengen mit relativ geringem Aufwand hergestellt werden können, ist die Beschaffung von natürlichen kariösen Zähnen in ausreichender Menge problematischer. In der vorliegenden Untersuchung wurden die extrahierten Zähne von einer dentalen Entsorgungsfirma bezogen. Die Zähne wurden von verschiedenen Zahnärzten gesammelt, in der Firma vorsortiert und bis zur weiteren Verwendung bzw. Entsorgung in 20%iger Ethanollösung gelagert. Obwohl eine Lagerung in 100%iger Luftfeuchtigkeit wünschenswert gewesen wäre, weil hierbei jegliche chemische Interaktion mit dem Lagerungsmedium ausgeschlossen werden könnte, scheint die Lagerung in alkoholischer Lösung keine nachweislich negativen Auswirkungen auf das Demineralisationsverhalten von Schmelz zu haben (Rieben et al. 2006). Dennoch kann eine Beeinflussung des Penetrationsverhaltens durch das alkoholische Lagerungsmedium nicht völlig ausgeschlossen werden.

Die ethischen Aspekte der Verwendung menschlicher Körpermaterialien für medizinische Forschung wird in Deutschland durch eine Stellungnahme der zentralen Ethikkommission beschrieben (Zentrale-Ethikkommission 2003). Die Verwendung der Zähne in der vorliegenden Untersuchung erfüllte die unter Paragraph E II 8 der Stellungnahme beschriebenen Voraussetzungen und war somit auch ohne individuelle Einwilligung der Spender ethisch vertretbar.

Wie anhand von Konkrementen und dem geringen kariösen Zerstörungsgrad einiger der gesammelten Zähne zu vermuten war, erfolgte deren Extraktion wahrscheinlich teilweise aus parodontologischen Gründen. Extraktionen, die aufgrund parodontaler Erkrankungen indiziert sind, werden vorwiegend bei älteren Menschen vorgenommen. Die Inzidenz approximaler Karies hat jedoch einen Höhepunkt in der Adoleszenz und im frühen Erwachsenenalter. Die Beschaffung von Zähnen mit approximalen Läsionen dieser Altersgruppe gestaltet sich jedoch schwierig. Aufgrund des frühen Extraktionszeitpunktes im Rahmen kieferorthopädischer Behandlungen weisen die dort entfernten Zähne häufig noch keine approximalen kariösen Läsionen auf. Die Zähne älterer Patienten waren im Laufe des Lebens häufiger De- und Remineralisationsphasen ausgesetzt, was zu strukturellen Unterschieden (vor allem im Mineralisationsgrad) geführt haben könnte. Es ist daher nicht auszuschließen, dass ein Teil der verwendeten Läsionen arretiert war bzw. zu einem Zeitpunkt geringer Kariesaktivität extrahiert wurde. Die Evaluation der Kariesaktivität einzelner Läsionen war bei dem gegebenen Versuchsaufbau post extraktionem nicht möglich.

Auch für den klinischen tätigen Zahnarzt ist es kaum möglich, bei einer einmaligen Inspektion einer kariösen Läsion eine Aussage über deren Kariesaktivität zu treffen (Ekstrand et al. 1998). Demzufolge werden in der klinischen Anwendung der Kariesinfiltration neben Läsionen höherer Kariesaktivität auch solche niedrigerer Kariesaktivität bzw. teilweise arretierte Läsionen behandelt werden. Aus diesem Grund sollte auch die Behandlung teilweise arretierter Läsionen mit einem niedrig viskösen Kunststoff zu voraussagbar sicheren Behandlungsergebnissen im Sinne einer ausreichenden Kunststoffpenetration führen.

6.1.2. Säuren

Das Ziel der vorliegenden Studie war der Vergleich zweier Säuregele, hinsichtlich Läsionen für ihrer Fähigkeit natürliche kariöse eine anschließende Kunststoffpenetration zu konditionieren. In einer vorangegangenen Studie der Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass mit einer Konditionierung mit 37% igem Phosphorsäuregel keine vollständige Erosion der Oberflächenschicht natürlicher kariöser Läsionen erreicht werden kann (Meyer-Lueckel et al. 2007). Im Gegensatz hierzu führte in der genannten Studie die Konditionierung mit 15% igem Salzsäuregel zu einer signifikant stärkeren Erosion der Oberflächenschicht. Diese Erkenntnisse bildeten die Grundlage für die Erstellung der Hypothesen der vorliegenden Studie.

In der vorliegenden Arbeit wurden ein experimentelles 15% iges Salzsäuregel und handelsübliches 37% iges Phosphorsäuregel verwendet. Phosphorsäure findet in der Zahnmedizin für die Konditionierung von Schmelz und Dentin für die adhäsive Befestigung zahnfarbener Restaurationen eine breite Anwendung. Phosphorsäure ist eine schwache, also unvollständig dissoziierende Säure, deren Verwendung in Konzentrationen von bis zu 40 % in der Mundhöhle unbedenklich erscheint.

Salzsäure ist eine starke, also vollständig dissoziierende Säure. Sie ist in der Zahnmedizin weit weniger verbreitet als Phosphorsäure, findet aber in der Ästhetischen Zahnheilkunde bei der Schmelz-Mikroabrasion Anwendung. Hierbei wird die Säure in einem Gemisch mit Bimsstein verwendet, um Verfärbungen der Schmelzoberfläche zu reduzieren (Croll und Cavanaugh 1986). Da ein längerer Kontakt der Säure mit Gingiva und anderen Weichgeweben in der Mundhöhle des Patienten zu Ulzerationen führen kann (Croll 1987), sollte Kofferdam verwendet werden. Um das Verletzungsrisiko für den Behandler zu minimieren, empfiehlt sich darüber hinaus die Verwendung von Handschuhen und Schutzbrille.

In dieser Studie wurde Salzsäure in einer Gelform verwendet. Salzsäure ist in Gelform bisher nicht kommerziell erhältlich und wurde eigens für den Versuch hergestellt. Die Gelform hat im Vergleich zur flüssigen Form neben der sichereren Applikation den Vorteil, dass sich die Ätzwirkung der Säure durch die erhöhte Viskosität auf die Läsionsoberfläche beschränkt.

6.1.3 Applikation des Kunststoffes

In der vorliegenden Studie wurde der verwendete Kunststoff einmalig mit einer Einwirkdauer von fünf Minuten appliziert. Die relativ lange Einwirkdauer sollte eine ausreichende Penetration des Läsionskörpers gewährleisten. Da die Penetration von Flüssigkeiten in poröse Festkörper eine Funktion der Zeit ist, kann die Penetrationstiefe durch längere Applikationszeit erhöht werden (Meyer-Lueckel et al. 2006; Paris et al. 2007a). In einer früheren Studie konnte an künstlichen Schmelzläsionen gezeigt werden, dass eine wiederholte Applikation die Progression der Läsionen bei erneuter Säureexposition stärker hemmt als die einmalige Anwendung (Mueller et al. 2006). Die Zielgröße der vorliegenden Studie war die primär erreichte Penetrationstiefe des Kunststoffes. Daher wurde auf eine zweimalige Applikation des Materials verzichtet. Bei der klinischen Anwendung der Infiltration ist jedoch die Progression der Läsion, gerade in Anbetracht der oft mangelnden Compliance des Patienten, der entscheidende Parameter. Es erscheint daher sinnvoll, in zukünftigen klinischen Studien zu evaluieren, ob eine mehrmalige Applikation sowohl die Penetration als auch die Progression positiv beeinflusst.

Darüber hinaus sollte die klinische Applikation optimiert werden. Approximale Läsionen sind für eine Infiltration nur selten direkt zugänglich. Durch eine Erweiterung des Approximalraumes mittels kieferorthopädischer Gummiringe über mehrere Tage kann ein direkter Zugang zu den Läsionen geschaffen werden (Pitts und Rimmer 1992). In vorhergehenden Studien wurde diese Methode gewählt, um approximale Läsionen mit Adhäsiven zu versiegeln (Martignon et al. 2006). Wird bei der Infiltration der Läsionen die oberflächliche Kunststoffschicht vor der Lichthärtung entfernt, so kann eventuell auf die zeitaufwändige temporäre

Zahnseparation mit Gummiringen verzichtet werden. In eigenen Versuchen reichte eine Separierung der Zähne um 50-100 µm mittels Keilchen aus, um sowohl das Ätzgel als auch den Infiltrationskunststoff mit speziellen Steifen zu applizieren (Meyer-Lückel 2008). Somit könnte die klinische Applikation entscheidend vereinfacht werden.

6.1.4. Visualisierung der Kunststoffpenetration

Zur Visualisierung der Penetration des Kunststoffes in natürliche Schmelzläsionen wurde in der vorliegenden Studie ein Konfokales-Laser-Raster-Mikroskop (CLSM) im Dual-Fluoreszenzmodus verwendet. In bisherigen Studien zur Penetration von niedrig viskösen Kunststoffen in künstliche Schmelzläsionen wurde entweder dem Versiegelungskunststoff ein fluoreszierender Farbstoff beigemengt (Schmidlin et al. 2004) oder die verbleibenden Porositäten der Schmelzdemineralisationen angefärbt und somit der penetrierte Kunststoff indirekt sichtbar gemacht (Meyer-Lueckel et al. 2006; Mueller et al. 2006; Paris et al. 2006).

In der vorliegenden Studie wurde erstmals durch die Kombination der beiden Methoden ein Weg gefunden, sowohl den Kunststoff (rot) als auch die Porositäten der Schmelzdemineralisation (grün) mit verschiedenen Farbstoffen zu markieren. Vorversuche hatten gezeigt, dass die Darstellung des penetrierten Kunststoffes mit Natriumfluorescein oder Fluoresceinisothiocyanat nicht zuverlässig möglich war. Das Adhäsiv mit dem rot fluoreszierenden Farbstoff Tetramethylrhodaminisothiocyanat (TRITC) konnte im Gegensatz dazu gut angefärbt werden. Es konnten keine Hinweise darauf gefunden werden, dass der Farbstoff den Kunststoff bei der Penetration behinderte. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Penetrationseigenschaften geringfügig von der Farbstoffbeimengung beeinflusst wurden.

Die nicht von Adhäsiv ausgefüllten Läsionsbereiche wurden mit alkoholischer Natriumfluoresceinlösung, einem grün fluoreszierenden Farbstoff, angefärbt. Hierdurch konnte zusätzlich zwischen porösen (grün) und nicht porösen Strukturen (keine Fluoreszenz) innerhalb einer Probe unterschieden werden (González-Cabezas et al. 1998). Durch das Übereinanderlegen der für jeden Farbstoff einzeln angefertigten Bilder konnte der penetrierte Kunststoff und die verbliebenen Porenvolumina in einem Bild dargestellt werden. Durch dieses Verfahren der Dualfluoreszenzdarstellung war es möglich, die Läsionstiefe und die Penetrationstiefe gleichzeitig zu erfassen und zu quantifizieren.

Gesunder Schmelz und auch die pseudointakte Oberflächenschicht stellen Bereiche stärkeren Mineralisationsgrades dar, die aufgrund ihres geringen Porenvolumens für Farbstoffe unzugänglich sind. Sowohl bei früher verwendeten Färbemethoden (Schmidlin et al. 2004; Mueller et al. 2006; Paris et al. 2006; Meyer-Lueckel und Paris 2008) als auch bei der Dualfluoreszenzmethode werden diese Bereiche schwarz dargestellt. Bei Färbemethoden, die ausschließlich die verbleibenden Porositäten der Schmelzdemineralisation anfärben, ist eine Differenzierung von Oberflächenschicht und kunststoffpenetrierter Schicht nicht möglich, da beide keine Fluoreszenz aufweisen. Aufgrund unterschiedlicher Oberflächenschichtdicken und Mineralisationsgrade innerhalb einer Läsion ist es nicht immer möglich, die Oberflächenschicht vollständig zu reduzieren. Daher ist es notwendig, diese Bereiche von penetrierten Bereichen abgrenzen zu können.

6.1.5. Auswertung

Die Proben wurden mit einem Konfokalen Laser Raster Mikroskop (CLSM) ausgewertet. Mit dem CLSM ist die Erzeugung scharfer, hochauflösender Bilder aus Schichten unterhalb der Probenoberfläche möglich. Der gewählte Dual-Fluoreszenzmodus erlaubt die Erzeugung von Bildern, in denen nur farbstoffmarkierte Strukturen abgebildet werden. Somit zeigen die gewonnenen Bilder nur poröse Strukturen, deren Leuchtintensität Rückschlüsse auf das vorhandene Porenvolumen erlaubt. Bisher kann bei der Konfokalmikroskopie der jeweiligen Leuchtintensität noch kein bestimmtes Porenvolumen zugeordnet werden. Eine Bestimmung des Mineralgehaltes wie bei der Transversalen Mirkroradiografie (TMR), einer etablierten Methode in der Kariologie, ist hierbei ebenfalls nicht möglich. Bei der TMR wird mittels einer Aluminiumtreppe (step welche den gleichen Strahlenabschwächungskoeffizienten wedge), wie Hydroxylapatit hat, jedem Grauwert im Mikroradiogramm ein definierter Mineralgehalt zugeordnet (Thomas et al. 2006). Belichtungsfehler können somit kompensiert werden. Für die konfokalmikroskopische Methode gibt es eine solche "Eichtreppe" nicht, um Messfehler zu korrigieren.

Allerdings ist es mit der hier vorgestellten Methode möglich, auf einem Bild sowohl die Tiefe einer kariösen Läsion, als auch die Tiefe der Penetration des versiegelnden Kunststoffes zu messen. Darüber hinaus können Aussagen über nicht weggeätzte Anteile der Oberflächenschicht und die Struktur der kariösen Zahnhartsubstanz getroffen werden. Um die Auswertung der einzelnen Läsionen zu standardisieren, wurde über jedes angefertigte Bild ein Raster aus zehn Linien mit einem Abstand von je 100 µm gelegt. Hierdurch war es möglich, die Läsionen standardisiert und reproduzierbar zu vermessen.

Zusätzlich wurden einzelne Proben mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM) untersucht, um die Auswirkungen der Ätzung und Kunststoffpenetration auf die Läsionsoberfläche zu analysieren. Mit dem REM können wesentlich kleinere Strukturen sichtbar gemacht werden als mit dem CLSM. Zudem eignet es sich besser zur Analyse von dreidimensionalen Oberflächenstrukturen.

6.2. Diskussion der Ergebnisse

Åtzung der vorliegenden Studie konnte ohne eine vorherige der In Läsionsoberfläche keine Kunststoff die initialen Penetration von in Schmelzläsionen gezeigt werden. Wie die **REM-Analyse** ungeätzter Läsionsoberflächen zeigte, finden sich in der pseudointakten Läsionsoberfläche nur relativ wenig Porositäten, durch die der Kunststoff in den darunter liegenden Läsionskörper penetrieren kann. Die Oberflächenschicht scheint somit eine Barriere für den Kunststoff darzustellen; das bestätigt Hypothese I.

Erst nach einer Konditionierung der Läsionsoberfläche mit 15%igem Salzsäuregel oder 37%igem Phosphorsäuregel penetrierte der niedrig visköse Kunststoff in die Läsionen. Hierbei erwies sich die Ätzung mit 15%igem Salzsäuregel für 120 s gegenüber der Ätzung mit 37%igem Phosphorsäuregel als vorteilhaft, da hierbei signifikant höhere Penetrationstiefen gemessen wurden. Somit konnte auch Hypothese II bestätigt werden. Die REM-Analyse geätzter Läsionsoberflächen zeigte, dass nach Erosion der Oberflächenschicht mit Salzsäuregel wesentlich mehr Porositäten freigelegt werden als nach Ätzung mit Phosphorsäuregel.

Die Penetration dentaler Adhäsive in initiale Schmelzläsionen ist ein Vorgang, welcher vornehmlich durch Kapillarkräfte angetrieben wird, da bei den geringen Mengen die Gravitation als treibende Kraft vernachlässigt werden kann (Paris 2005). Der Läsionskörper einer initialen Schmelzkaries ist vergleichbar mit einem porösen, locker gepackten Festkörper. Ein Modell, welches die Penetration von Flüssigkeiten in solche poröse Festkörper beschreibt, ist die Washburn-Gleichung, in welcher der poröse Festkörper vereinfacht als Bündel offener, paralleler Kapillaren beschrieben wird (Buckton 1995) (Gleichung 1). Der Penetrationskoeffizient (Gleichung 2) beschreibt die Flüssigkeitseigenschaften, welche für eine Penetration in Kapillaren ausschlaggebend sind.

$$d^{2} = \left(\frac{\gamma \cdot \cos \theta}{2\eta}\right) r \cdot t$$
 Gleichung 1
$$PC = \left(\frac{\gamma \cdot \cos \theta}{2\eta}\right)$$
 Gleichung 2

Der pro Zeit (*t*) zurückgelegte Weg (*d*) einer Flüssigkeit bei der Penetration in einen solchen Festkörper ist danach abhängig vom Radius (*r*) der Kapillaren (Poren), dem Kontaktwinkel der Flüssigkeit zum Festkörper (θ) sowie der Oberflächenspannung (γ) und Viskosität (η) der Flüssigkeit.

Die Porenvolumina der verschiedenen Zonen der Schmelzkaries variieren ist das Porenvolumen allerdings erheblich. So der pseudointakten Oberflächenschicht um ein vielfaches kleiner als das Porenvolumen des darunter liegenden Läsionskörpers (Klimm 1997). Daher scheint die Oberflächenschicht mit ihrem geringeren Porenvolumen (und damit Kapillardurchmesser) eine Diffusionsbarriere für den penetrierenden Kunststoff darzustellen, was wie bereits erwähnt durch die fehlende Penetration ohne vorherige Konditionierung in dieser Arbeit bestätigt werden konnte. Erst die Entfernung oder Reduktion der Oberflächenschicht führte zu einer Penetration des darunter gelegenen Läsionskörpers. Auch die höheren Penetrationstiefen nach Salzsäureätzung im Vergleich zur Phosphorsäureätzung stützen die Annahme, dass die Oberfläche eine Diffusionsbarriere für den Kunststoff darstellt. In einer früheren Studie, konnte eine signifikant bessere Reduktion der Oberflächenschicht nach 15%iger Salzsäuregelätzung im Vergleich zu 37%iger Phosphorsäuregelätzung gefunden werden (Meyer-Lueckel et al. 2007).

Maßgebend für die Verwendung des Excite als Penetrationskunststoff in der vorliegenden Untersuchung waren die Ergebnisse vorangegangener Studien (Meyer-Lueckel et al. 2005; Meyer-Lueckel et al. 2006), bei der Excite die höchsten Penetrationstiefen von sechs getesteten kommerziell erhältlichen Haftvermittlern und Fissurenversieglern zeigte und die Mehrzahl der im Durchschnitt 104 µm tiefen Schmelzläsionen vollständig penetrierte. Die in der vorliegenden Studie gemessenen Werte der durchschnittlichen Penetrationstiefen in natürlichen Schmelzläsionen liegen deutlich niedriger als die durchschnittlichen Penetrationstiefen einer vorangegangenen Studie, bei welcher künstliche initiale Schmelzdemineralisationen behandelt worden waren (Paris et al. 2007b).

Ein Grund für diese Diskrepanz könnten strukturelle Unterschiede zwischen den in der genannten Studie verwendeten künstlichen bovinen Schmelzläsionen und den in der vorliegenden Studie verwendeten natürlichen Schmelzkaries sein. Die bisher im Labor erzeugten künstlichen initialen Läsionen sind natürlich initialen Schmelzdemineralisationen weitestgehend entstandenen ähnlich (Silverstone 1973). Allerdings gelang es bisher nur unzureichend, kariöse Läsionen über das initiale Stadium hinausgehend zu erzeugen, so dass diese strukturell einer fortgeschrittenen natürlichen Läsion (C2-C3) ähneln. Ein Grund hierfür könnte die Komplexität und Variabilität natürlich entstandener Läsionen Diese entsteht dadurch, dass die Zähne fortwährend Deund sein. Remineralisationsphasen durchlaufen dabei innerhalb und der Läsion unterschiedliche Mineralisationsgrade und Oberflächenschichtdicken entwickeln. Darüber hinaus sind natürliche Läsionen während ihrer Entstehung permanent einem Milieu ausgesetzt, das reich an Proteinen, Fetten und Kohlenhydraten ist. Der Schmelz besitzt im Gegensatz zu Kunststoffen eine relativ hohe Oberflächenenergie, so dass er von energieärmeren Kunststoffen benetzt wird. Wenn nun durch die Anlagerung von Proteinen und Fetten auf den Schmelzstrukturen deren Oberflächenenergie herabgesetzt wird, so findet eine Benetzung mit Kunststoff nur bedingt oder gar nicht statt (Baier 1992). Durch die Ätzung mit Phosphorsäure und die Trocknung mit Ethanol (100 %) und Druckluft versucht man organische Bestandteile oberflächlich zu entfernen, um das Anhaften des Kunststoffes zu verbessern. Allerdings verbleiben in den tieferen Schichten natürlich entstehender Läsionen immer Anteile von Proteinen zurück. Da künstlich erzeugte Läsionen im Gegensatz zu natürlichen Läsionen mit derartigen organischen Substanzen nicht in Kontakt gelangen, könnte dies ein weiterer Grund für ein tieferes Penetrieren des Kunststoffes in künstliche initiale Läsionen im Vergleich zu natürlichen Läsionen sein.

Der Haftvermittler Excite wurde entsprechend seiner Bestimmung nicht für die Penetration kariöser Läsionen sondern für adhäsive Zwecke entwickelt und optimiert. In einer neueren Studie konnte gezeigt werden, dass mit speziellen Infiltrationskunststoffen, so genannten Infiltranten, welche höhere Penetrationskoeffizienten (Gleichung 2) als dentale Haftvermittler aufweisen, wesentlich höhere Penetrationsgeschwindigkeiten erreicht werden können (Paris et al. 2007c). Diese Materialien könnten zukünftig auch in natürlichen Läsionen nach einer Konditionierung mit Salzsäuregel wesentlich höhere Penetrationstiefen als in der vorliegenden Studie erreichen.

In der vorliegenden Arbeit wurden Läsionen mit einer mikroskopischen Kariesausdehnung von C1-C3 und den röntgenologischen Stadien (R0-R3) verwendet. Für keine der drei untersuchten Vorbehandlungsgruppen konnten signifikante Unterschiede zwischen unterschiedlichen mikroskopischen Läsionsstadien (C1-C3) und röntgenologischen Stadien (R0-R3) nachgewiesen werden. Somit konnte Hypothese III nicht bestätigt werden. Zumindest eine oberflächliche Penetration, wie sie in der vorliegenden Studie erreicht wurde, scheint folglich nicht radiologischen oder histologischen von der Kariesausdehnung beeinflusst zu werden.

6.3. Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

- Ohne vorherige Konditionierung der Läsionsoberfläche natürlicher Läsionen findet keine Penetration eines niedrig viskösen Kunststoffes (Adhäsivs) statt, da hierbei die pseudointakte Oberflächenschicht eine Diffusionsbarriere für das Material darstellt.
- Durch die Ätzung mit 15%igem Salzsäuregel können bei gleicher Applikationsdauer in Vergleich zur Ätzung mit 37%igem Phosphorsäuregel signifikant höhere Penetrationstiefen erreicht werden.
- 3. Mit dem kommerziellen Adhäsiv Excite ist auch nach einer Konditionierung der Läsionsoberfläche mit HCI-Gel und einer fünfminütigen Applikationszeit nur eine oberflächliche Penetration des Läsionskörpers möglich.
- Bei einer oberflächlichen Penetration des Kunststoffes, wie sie in der vorliegenden Studie beobachtet wurde, wird die Penetrationstiefe des Adhäsivs nicht signifikant von der mikroskopischen (C1-C3) und den röntgenologischen Läsionsstadien (R0-R3) der Karies beeinflusst.

7 ZUSAMMENFASSUNG

Die Infiltration von Schmelzkaries mit niedrig viskösen Kunststoffen stellt einen neuartigen Therapieansatz zur Arretierung der Läsionen dar. Die pseudointakte Oberflächenschicht natürlicher Schmelzkaries könnte jedoch eine Penetration niedrig visköser Kunststoffe in den Läsionskörper behindern. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, die Penetration eines Adhäsivs in natürliche Schmelzkaries nach einer Konditionierung der Läsionsoberfläche mit 37%igem Phosphorsäuregel sowie 15%igem Salzsäuregel *in vitro* zu evaluieren.

Extrahierte humane Molaren und Prämolaren mit approximalen kariösen Läsionen wurden senkrecht zur Läsionsoberfläche durch die Läsionsmitte getrennt. Korrespondierende Läsionshälften mit ähnlicher Läsionsausdehnung wurden für 120 s mit 37% igem Phosphorsäuregel oder mit 15% igem Salzsäuregel geätzt. Bei ungleicher Läsionsausdehnung zweier korrespondierender Hälften wurde die Zahnhälfte arößerer Läsionsausdehnung einer Kontrollgruppe ohne Vorbehandlung der Läsionsoberfläche zugeordnet. Die Läsionshälften wurden mit einem mit Fluoreszenzfarbstoff markierten Adhäsiv für 5 min penetriert. Die Penetration des Kunststoffes wurde konfokalmikroskopisch (CLSM) im Dual-Fluoreszenzmodus Zusätzlich wurden ausgewertet. rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt.

Die mittleren Penetrationstiefen (Standardabweichung) waren nach der Ätzung der Läsionen mit 15% igem Salzsäuregel für 120 s [58 (37) μ m] signifikant höher als nach der Konditionierung mit 37% igem Phosphorsäuregel [18 (11) μ m] (p < 0,001; Wilcoxon). In der Kontrollgruppe ohne Vorbehandlung wurde fast keine Penetration [0 (1) μ m] beobachtet. Die rasterelektronenmikroskopische Analyse zeigte nach Ätzung mit Salzsäure eine größere Anzahl Porositäten und regelmäßigere Ätzmuster als nach Phosphorsäureätzung.

Daher scheint die Ätzung natürlicher Schmelzkaries mit 15% igem Salzsäuregel besser für die Konditionierung vor anschließender Penetration mit einem Adhäsiv geeignet als die Ätzung mit 37% igem Phosphorsäuregel.

8 LITERATURVERZEICHNIS

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

Baier RE. Principles of adhesion. Oper Dent 1992; Suppl 5: 1-9

Bergman G, Lind PO. A quantitative microradiographic study of incipient enamel caries. J Dent Res 1966; 45: 1477-84

Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. Oral Anatomy. London, England: Mosby-Wolfe, 1992

Buckton G. Interfacial phenomena in drug delivery and targeting. Chur, Schweiz: Harwood Academic Publishers, 1995

Croll TP. Bonded resin sealant for smooth surface enamel defects: new concepts in "microrestorative" dentistry. Quintessence Int 1987; 18: 5-10

Croll TP, Cavanaugh RR. Enamel color modification by controlled hydrochloric acid-pumice abrasion. I. Technique and examples. Quintessence Int 1986; 17: 81-7

Darling AI, Mortimer KV, Poole DF, Ollis WD. Molecular sieve behaviour of normal and carious human dental enamel. Arch Oral Biol 1961; 5: 251-73

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

De Araujo FB, Rosito DB, Toigo E, dos Santos CK. Diagnosis of approximal caries: radiographic versus clinical examination using tooth separation. Am J Dent 1992; 5: 245-8

Ekstrand KR, Bruun G, Bruun M. Plaque and gingival status as indicators for caries progression on approximal surfaces. Caries Res 1998; 32: 41-5

Ellwood R, Fejerskov O. Clinical use of fluoride. In: O. Fejerskov and E. Kidd, eds. Dental caries. The disease and its clinical management. Oxford, England: Blackwell Munksgaard, 2003: 189-222

Frank RM. Structural events in the caries process in enamel, cementum, and dentin. J Dent Res 1990; 69 Spec No: 559-66

Garçía-Godoy F, Summitt JB, Donly KJ. Caries progression of white spot lesions sealed with an unfilled resin. J Clin Pediatr Dent 1997; 21: 141-3

Going RE, Loesche WJ, Grainger DA, Syed SA. The viability of microorganisms in carious lesions five years after covering with a fissure sealant. J Am Dent Assoc 1978; 97: 455-62

González-Cabezas C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, Stookey GK. Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. A correlational study. Caries Res 1998; 32: 385-92

Gray GB, Shellis P. Infiltration of resin into white spot caries-like lesions of enamel: An in vitro study. Eur J Prosthodont Restor Dent 2002; 10: 27-32

Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. Oper Dent 1992; Suppl 5: 10-7

Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. München: Urban & Fischer, 2003

Hicks MJ, Silverstone LM. Internal morphology of surface zones from acid-etched caries-like lesions: a scanning electron microscopic study. J Dent Res 1985; 64: 1296-301

Hintze H, Wenzel A, Danielsen B, Nyvad B. Reliability of visual examination, fibreoptic transillumination, and bite-wing radiography, and reproducibility of direct visual examination following tooth separation for the identification of cavitated carious lesions in contacting approximal surfaces. Caries Res 1998; 32: 204-9

Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. J Dent Res 2004; 83 Spec No C: C35-8

Kidd EAM, Mejare I, Nyvad B. Clinical and radiographic diagnosis. In: O. Fejerskov and E. Kidd, eds. Dental caries: The disease and its clinical management. Oxford, England: Blackwell Munksgaard, 2003:

Kidd EAM, Pitts NB. A reappraisal of the value of the bitewing radiograph in the diagnosis of posterior approximal caries. Br Dent J 1990; 169: 195-200

Kidd EAM, van Amerongen JP. The role of operative treatment. In: O. Fejerskov and E. Kidd, eds. Dental caries: The disease and its clinical management. Oxford, England: Blackwell Munksgaard, 2003: 245-50

Kielbassa AM, Paris S, Lussi A, Meyer-Lueckel H. Evaluation of cavitations in proximal caries lesions at various magnification levels in vitro. J Dent 2006; 34: 817-22

Klimm W. Kariologie. München Wien: Carl Hanser Verlag, 1997

Liebenberg WH. Direct access to equivocal approximal carious lesions. Quintessence Int 1996; 27: 607-17

Marthaler TM, Germann M. Radiographic and visual appearance of small smooth surface caries lesions studied on extracted teeth. Caries Res 1970; 4: 224-42

Martignon S, Ekstrand KR, Ellwood R. Efficacy of sealing proximal early active lesions: an 18-month clinical study evaluated by conventional and subtraction radiography. Caries Res 2006; 40: 382-8

Mejare I, Grondahl HG, Carlstedt K, Grever AC, Ottosson E. Accuracy at radiography and probing for the diagnosis of proximal caries. Scand J Dent Res 1985; 93: 178-84

Menaker L. The biologic basis of dental caries. Hagerstown: Harper & Row, 1980

Mertz-Fairhurst EJ, Curtis JW, Jr., Ergle JW, Rueggeberg FA, Adair SM. Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: results at year 10. J Am Dent Assoc 1998; 129: 55-66

Mertz-Fairhurst EJ, Schuster GS, Williams JE, Fairhurst CW. Clinical progress of sealed and unsealed caries. Part I: Depth changes and bacterial counts. J Prosthet Dent 1979; 42: 521-6

Meyer-Lückel H. Mikroinvasive Behandlung der Karies durch Kunststoffinfiltration. Habilitationsschrift, Berlin, 2008

Meyer-Lueckel H, Mueller J, Paris S, Hummel M, Kielbassa AM. [The penetration of various adhesives into early enamel lesions in vitro]. Schweiz Monatsschr Zahnmed 2005; 115: 316-23

Meyer-Lueckel H, Paris S. Progression of artificial enamel caries lesions after infiltration with experimental light curing resins. Caries Res 2008; 42: 117-24

Meyer-Lueckel H, Paris S, Kielbassa AM. Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration. Caries Res 2007; 41: 223-30

Meyer-Lueckel H, Paris S, Mueller J, Colfen H, Kielbassa AM. Influence of the application time on the penetration of different dental adhesives and a fissure sealant into artificial subsurface lesions in bovine enamel. Dent Mater 2006; 22: 22-8

Mitropoulos CM. The use of fibre-optic transillumination in the diagnosis of posterior approximal caries in clinical trials. Caries Res 1985; 19: 379-84

Mueller J, Meyer-Lueckel H, Paris S, Hopfenmuller W, Kielbassa AM. Inhibition of lesion progression by the penetration of resins in vitro: Influence of the application procedure. Oper Dent 2006; 31: 338-45

Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V. Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. Caries Res 1999; 33: 252-60

Paris S. Versiegelung initialer Schmelzdemineralisationen mit verschiedenen Haftvermittlern und einem Fissurenversiegler bei unterschiedlicher Penetrationszeit in vitro. Dissertation, Berlin, 2005

Paris S, Meyer-Lueckel H, Colfen H, Kielbassa AM. Penetration coefficients of commercially available and experimental composites intended to infiltrate enamel carious lesions. Dent Mater 2007a; 23: 742-8

Paris S, Meyer-Lueckel H, Colfen H, Kielbassa AM. Resin infiltration of artificial enamel caries lesions with experimental light curing resins. Dent Mater J 2007b; 26: 582-8

Paris S, Meyer-Lueckel H, Colfen H, Kielbassa AM. Resin Infiltration of Artificial Enamel Caries Lesions with Experimental Light Curing Resins. Dent Mater J 2007c; 26: 582-8

Paris S, Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. Resin infiltration of natural caries lesions. J Dent Res 2007d; 86: 662-6

Paris S, Meyer-Lueckel H, Mueller J, Hummel M, Kielbassa AM. Progression of sealed initial bovine enamel lesions under demineralizing conditions in vitro. Caries Res 2006; 40: 124-9

Pearce EI, Nelson DG. Microstructural features of carious human enamel imaged with back-scattered electrons. J Dent Res 1989; 68: 113-8

Pitts NB, Longbottom C. Temporary tooth separation with special reference to the diagnosis and preventive management of equivocal approximal carious lesions. Quintessence Int 1987; 18: 563-73

Pitts NB, Rimmer PA. An in vivo comparison of radiographic and directly assessed clinical caries status of posterior approximal surfaces in primary and permanent teeth. Caries Res 1992; 26: 146-52

Poorterman JH, Aartman IH, Kieft JA. Radiographic prevalence of approximal enamel lesions and relationship with dentine lesions and restorations in Dutch adolescents. Int Dent J 2002; 52: 15-9

Ratledge DK. A clinical and laboratory investigation of the tunnel restoration. PhD Thesis, London, 1999

Ratledge DK, Kidd EA, Beighton D. A clinical and microbiological study of approximal carious lesions. Part 1: The relationship between cavitation, radiographic lesion depth, the site-specific gingival index and the level of infection of the dentine. Caries Res 2001; 35: 3-7

Rieben AS, Baumeister AS, Neumann K, Kielbassa AM. Influence of storage and grinding on demineralization of bovine enamel. Caries Res 2006; 40: 313 (Abstract. No. 28)

Robinson C, Brookes SJ, Kirkham J, Wood SR, Shore RC. In vitro studies of the penetration of adhesive resins into artificial caries-like lesions. Caries Res 2001; 35: 136-41

Robinson C, Hallsworth AS, Weatherell JA, Kunzel W. Arrest and control of carious lesions: A study based on preliminary experiments with resorcinol-formaldehyde resin. J Dent Res 1976; 55: 812-8

Rugg-Gunn AJ. Approximal carious lesions. A comparison of the radiological and clinical appearances. Br Dent J 1972; 133: 481-4

Schmidlin PR, Zehnder M, Pasqualetti T, Imfeld T, Besek MJ. Penetration of a bonding agent into de- and remineralized enamel in vitro. J Adhes Dent 2004; 6: 111-5

Schroeder H. Orale Strukturbiologie. Stuttgart: Thieme, 1992

Scott DB, Simmelink JW, Nygaard V. Structural aspects of dental caries. J Dent Res 1974; 53: 165-78

Seddon RP. The detection of cavitation in carious approximal surfaces in vivo by tooth separation, impression and scanning electron microscopy. J Dent 1989; 17: 117-20

Shellis RP, Hallsworth AS. The use of scanning electron microscopy in studying enamel caries. Scanning Microsc 1987; 1: 1109-23

Silverstone LM. Structure of carious enamel, including the early lesion. Oral Sci Rev 1973; 3: 100-60

Silverstone LM. Relationship of the macroscopic, histological, and radiographic appearace of interproximal lesions in human teeth: in vitro study using artificial caries technique. Pediatr Dent 1982; 3: 414-22

Silverstone LM, Hicks MJ, Featherstone MJ. Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel. Part I. The dynamic nature of enamel caries. Quintessence Int 1988; 19: 683-711

Stephen KW, Russel JI, Creanor SL, Burchell CK. A clinical, radiographic and fibre-optic transillumination caries study - 2 yr data. J Dent Res 1986; 65: 492

Swift EJ, Jr. The effect of sealants on dental caries: a review. J Am Dent Assoc 1988; 116: 700-4

Ten Cate JM, Larsen MJ, Pearce EIF, Fejerskov O. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. In: O. Fejerskov and E. A. M. Kidd, eds. Dental Caries. Oxford, England: Blackwell Munksgaard, 2003: 49-69

Thomas RZ, Ruben JL, de Vries J, ten Bosch JJ, Huysmans MC. Transversal wavelength-independent microradiography, a method for monitoring caries lesions

over time, validated with transversal microradiography. Caries Res 2006; 40: 281-91

Wakita M, Kobayashi S. The tree-dimensional structure of Thomes' processes and the development of the microstructural organisation of tooth enamel. In: S. Suga, eds. Mechanisms of tooth and enamel formation. Berlin: Quintessenz, 1983: 165

Zentrale-Ethikkommission. Die (Weiter-)Verwendung von menschlichen Körpermaterialien für die Zwecke medizinischer Forschung. Berlin, 2003. (Zugegriffen am 01.09.2008, unter <u>http://www.zentrale-ethikkommission.de/</u>)

9 ANHANG

9.1. Materialliste

Mat. 1	Analysewaage Typ AG204; Mettler, Gießen, Deutschland
Mat. 2	Adper Promt L-Pop; 3M Espe, Seefeld, Deutschland
Mat. 3	AxioVision LE Software; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Mat. 4	Bandsäge Exakt 300cl ; Exact Apparatebau, Norderstedt,
	Deutschland
Mat. 5	Dentales Röntgengerät Heliodent MD; Siemens, Bensheim,
	Deutschland
Mat. 6	Entwicklungsgerät XR 24II; Dürr Dental, Bietigheim-Bissingen,
	Deutschland
Mat. 7	Excite; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
Mat. 8	Excel 2000; Microsoft, Unterschleissheim, Deutschland
Mat. 9	total etch, 37% Phosphorsäuregel; Ivoclar Vivadent, Schaan,
	Liechtenstein
Mat. 10	Image J; National Institutes of Health; Bethesda, Maryland, USA
Mat. 11	Leica confocal Software (LSC Lite); Leica, Heidelberg, Deutschland
Mat. 12	Nagellack; Betrix, Frankfurt/Main, Deutschland
Mat. 13	Natriumchlorid 0,9 % Lösung; DeltaSelect, Pfufflingen, Deutschland
Mat. 14	Natriumfluorescein (FNa); Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim,
	Deutschland
Mat. 15	D 100, digitale Spiegelreflexkamera; Nikon, Tokyo, Japan
Mat. 16	Objektträger; Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland
Mat. 17	Rasterelektronenmikroskop (REM); Cam Scan Maxim 2940; Electron
	Optics, Waterbeach, Großbritannien
Mat. 18	Sekundenkleber; Henkel, Düsseldorf, Deutschland
Mat. 19	Schleifpapier Körnung 500, 1200, 2500, 4000; Exakt Apparatebau,
	Norderstedt, Deutschland
Mat. 20	Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler,
	Düsseldorf, Deutschland

Mat. 21	Schleifsystem Exakt 400cs; Exakt Apparatebau, Norderstedt,
	Deutschland
Mat. 22	SPSS 11.5 für Windows; SPSS, München, Deutschland
Mat. 23	Sputtergerät SCD 040; Balzers, Lichtenstein
Mat. 24	Stereomikroskop Stemi SV 11; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Mat. 25	Technovit 4071; Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Ceutschland
Mat. 26	TCS NT Konfokales Laser Raster Mikroskop (CLSM); Leica,
	Heidelberg, Deutschland
Mat. 27	TCS Software 1.6.587; Leica, Heidelberg, Deutschland
Mat. 28	Tetramethyl rhodaminisothiocyanat (TRITC); Sigma-Aldrich Chemie,
	Pfufflingen, Deutschland
Mat. 29	Translux CL; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland

9.2. Danksagung

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

Bei Herrn Dr. Sebastian Paris bedanke ich mich für die engagierte Betreuung und noch viel mehr für die aufgebrachte Geduld und die umfangreiche Unterstützung.

Frau Julia Heinrich danke ich für die zuverlässige Zusammenarbeit während der Durchführung der praktischen Versuche.

Herrn Rainer Toll und Herrn Michael Stiebritz möchte ich herzlich für die Hilfestellung bei technischen Fragen danken.

Herrn Professor Dr. Andrej M. Kielbassa danke ich für Möglichkeit der Nutzung der wissenschaftlichen Laboratorien seiner Abteilung.

Bei Herrn Dr. Herbert Renz bedanke ich mich herzlich für die Durchführung der Rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen.

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

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

Darüber hinaus gilt meiner Familie ein ganz besonderer Dank für die Unterstützung und die Geduld, die sie in den Jahren des Studiums und der Erstellung dieser Arbeit aufgebracht hat.

9.3. Curriculum Vitae

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

9.4. Erklärung

"Ich, Anja Paris, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: ,Einfluss der Konditionierung mit verschiedenen Säuregelen auf die Penetration eines Adhäsivs in natürliche Zahnschmelzkaries *in vitro*' selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe."

Anja Paris