

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR ZAHNERHALTUNG UND PARODONTOLOGIE

DIREKTOR: PROF. DR. G. SCHMALZ

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

Effekte zweier experimenteller Adhäsive auf die Permeabilität von Dentin

Eine In vitro Studie

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES
DER ZAHNHEILKUNDE

DER
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

VORGELEGT VON
JUDITH KREMZOW
AUS MÜNCHEN

2009

Dekan:

Prof. Dr. Bernhard Weber

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. Gottfried Schmalz

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Dr. Peter Proff

Tag der mündlichen Prüfung:

28.01.2010

Meiner Familie und Martin

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
2	Literaturübersicht	8
2.1	Anatomische und physiologische Grundlagen.....	8
2.1.1	Dentin	8
2.1.1.1	Anatomie, Morphologie, Zusammensetzung und Dentinogenese.....	8
2.1.1.2	Dentintubuli und Dentinpermeabilität.....	9
2.1.1.3	Permeabilität des Dentins gegenüber Dentinadhäsiven und ihren Bestand- teilen	11
2.1.1.4	Vergleich zwischen humanem und bovinem Dentin	13
2.1.1.5	Dentin und seine Sterilisation bzw. Desinfektion	14
2.1.2	Schmierschicht und ihre Entfernung.....	15
2.2	Dentinadhäsive	18
2.2.1	Mikromechanischer Verbund.....	18
2.2.2	Chemischer Verbund	19
2.3	Physikalische Grundlagen der Flüssigkeitsdynamik	19
2.4	Methoden zur Permeabilitätsbestimmung	20
2.4.1	Beobachtung von Flüssigkeitsbewegungen in Kapillaren	20
2.4.2	Andere Methoden.....	21
3	Fragestellung	23
4	Material und Methode	24
4.1	Übersicht der verwendeten Materialien	24
4.1.1	Dentin	24
4.1.2	Untersuchte Materialien	24
4.1.2.1	Gluma Desensitizer	25
4.1.2.2	Adper Prompt L- Pop	26
4.1.2.3	EXL 683	26
4.1.2.4	EXM678A & EXM671C	26
4.2	Beschreibung der verwendeten Geräte.....	27
4.2.1	Flodec- Messapparatur	28
4.2.2	Permeabilitätsmesskammer	30
4.3	Praktische Vorgehensweise bei den Messungen	32
4.3.1	Schneiden der Zähne.....	33
4.3.2	Ätzung.....	33
4.3.3	Herstellung einer definierten Schmierschicht.....	34
4.3.4	Lagerung der Scheiben	34
4.3.5	Permeabilitätsmessung	34
4.3.6	Materialauftrag	35
4.3.7	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen.....	36
4.4	Datenverarbeitung und statistische Auswertung	37

4.4.1	Rohdatenerfassung.....	37
4.4.2	Ermittlung des mittleren Durchflusses.....	37
4.4.3	Berechnung der hydraulischen Leitfähigkeit L_p	39
4.4.4	Statistische Analyse.....	40
5	Ergebnisse	41
5.1	Permeabilitätsmessungen	41
5.2	Variabilität der Daten	45
5.3	Rasterelektronenmikroskopische Darstellungen	46
5.3.1	Kontrolle	46
5.3.2	Gluma Desensitizer	47
5.3.3	Adper Prompt L- Pop	48
5.3.4	EXL 683.....	49
5.3.5	EXM 678A & EXM671C	51
5.4	Zusammenfassung.....	53
6	Diskussion	54
6.1	Material und Methoden.....	54
6.1.1	Flodec- Messaparatur.....	54
6.1.2	Permeabilitätsmesskammer und Schlauchsystem	56
6.1.3	Hydrostatischer Druck.....	56
6.1.4	Rasterelektronenmikroskopische (REM) Untersuchungen	57
6.1.5	Probengut.....	58
6.1.6	Materialauswahl.....	59
6.2	Diskussion der Ergebnisse.....	60
6.2.1	Messungen ohne Material.....	60
6.2.2	Gluma Desensitizer	61
6.2.3	Adper Prompt L- Pop	61
6.2.4	EXL 683.....	62
6.2.5	EXM 678A & EXM671C	63
6.3	Schlussfolgerung	63
7	Zusammenfassung	65
8	Anhang	66
8.1	Geräte und Materialliste.....	66
8.2	Abkürzungsverzeichnis.....	68
9	Literaturverzeichnis.....	69
10	Danksagung	80
11	Lebenslauf.....	81

1 Einleitung

Dentinadhäsive sind aus der modernen restaurativen Zahnheilkunde nicht mehr wegzudenken. Die Entwicklung der Dentinhaftvermittler begann in den 50er Jahren. Ihre Anwendung stellt heute ein Standardprozedere bei der Verwendung bzw. Verarbeitung adhäsiver Füllungsmaterialien dar. Sie bestehen in der Regel aus den drei Komponenten Konditionierer, Primer und Adhäsiv.

Die Befestigung von Kompositen an Schmelz oder Dentin erfordert eine sorgfältige Konditionierung der Zahnhartsubstanz. Während Schmelz nach der Konditionierung mit Säuren ein mikroretentives Relief aufweist, an welchem niedrigvisköse Komposite anhaften können, erfordert die Konditionierung des hydrophileren Dentins komplexere Maßnahmen (65). Der eigentliche Hafthalt erfolgt durch eine Mikroverzahnung im (partiell) demineralisierten, intertubulären Dentin durch die Etablierung einer sog. Hybridschicht. Diese Hybridschicht stellt eine „Mischstruktur“ aus demineralisiertem Dentin und in seine nach der Konditionierung entstandenen Hohlräume infiltrierte Monomere dar. Die in den Dentintubuli vorzufindenden „Resin- Tags“, jenen Kunststoffzapfen, welche die Dentintubuli bis zu einer gewissen Tiefe füllen, haben für den Haftverbund eher untergeordnete Bedeutung. Der Erfolg bzw. Misserfolg der Adhäsivtechnik hängt stark von der Qualität und Ausdehnung der beschriebenen Hybridschicht ab. Geeignete funktionelle Monomere mit polaren Gruppen müssen in der Lage sein, aufgrund ihrer Penetrationsfähigkeit, die wiederum von dem verwendeten Lösungsmittel abhängig ist, die entstandenen Hohlräume auszufüllen. Auch das im Folgenden zu applizierende eigentliche Bonding muss in der Lage sein, diese Hohlräume komplett zu erschließen. Hierfür die geeigneten Monomere mit relevanten Viskositäten zu generieren und auszuwählen, ist die eigentliche Kunst der Dentinadhäsiv- Herstellung (49).

Ziel der vorliegenden in- vitro Studie war es, an pulpanahen Scheiben aus Rinderzähnen quantitative Aussagen über die Fähigkeit von zwei experimentellen Adhäsivsystemen zur Verminderung der Dentinpermeabilität zu treffen, sodass Rückschlüsse auf deren Haftverbund gezogen werden können. Die Ergebnisse wurden mit den erneuten Messungen bereits erprobter Materialien (Adper Prompt L- Pop, Gluma Desensitizer) verglichen. Zur besseren Beurteilung der Ergebnisse wurden von allen Materialien rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen gefertigt.

2 Literaturübersicht

2.1 Anatomische und physiologische Grundlagen

2.1.1 Dentin

2.1.1.1 Anatomie, Morphologie, Zusammensetzung und Dentinogenese

Die mineralisierte Hartsubstanz Dentin (= Zahnbein) nimmt den größten Volumenanteil an der Masse eines Zahnes ein. Es beherbergt die Pulpa und wird koronal von Schmelz und im Wurzelbereich von Zement überzogen. Es besteht zu 70 Gew.-% aus anorganischem Material, das in kristalliner Form als Apatit bzw. als amorphes $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ vorliegt, zu 20 Gew.-% aus organischem Material und zu 10 Gew.-% aus Wasser. Die organische Matrix besteht zu über 90% aus Kollagen und kollagenartigen Verbindungen. Im gesunden menschlichen Dentin findet man, ebenso wie in Knochen oder Zement, überwiegend Kollagen vom Typ I. Daher ist Dentin dem Faserknochen und Wurzelzement ähnlich, unterscheidet sich in seiner Zusammensetzung jedoch deutlich vom Schmelz. Charakteristisch sind die Dentintubuli, welche die Odontoblastenfortsätze enthalten und geschwungen von der Schmelz- Dentin- bzw. Zement- Dentin- Grenze in Richtung Pulpa verlaufen (69,98,144,169).

Die Bildung des Dentins beginnt am Ende des 4. Entwicklungsmonats durch Odontoblasten, hochdifferenzierte Zellen, die dem Ektomesenchym entstammen. Die Odontoblastenkörper befinden sich in der Zahnpulpa an der Grenze zu Dentin und sind dort palisadenartig angeordnet. Ihre Zellfortsätze verlaufen in den Dentintubuli (s.o.) die Dentinliquor enthalten. Odontoblasten entwickeln sich über ein Zwischenstadium, den Präodontoblasten, aus Mesenchymzellen an der Oberfläche der Zahnpapille. Dies geschieht unter dem Einfluss des inneren Schmelzepithels bzw. der Präameloblasten, welche der Neuralleiste entstammen und somit ektodermaler Herkunft sind. Die Odontoblastenschicht wird vom mineralisierten Dentin von einer 10- 40 μm dicken unmineralisierter Matrix, dem Prädentin, getrennt. Es wird von den sekretorisch aktiven Odontoblasten ausgeschieden und besteht vorwiegend aus Proteinen (v.a. Kollagen, Phosphoproteine, Glykoproteine) und Proteoglykanen. In mehreren Schritten folgt die Reifung des Prädentins durch Mineralisation mit Hydroxylapatitsalzen und

damit auch die Bildung von Dentin. Dabei bleibt der Zelleib der Odontoblasten stets ausserhalb des Dentins. Dem Prädentin liegt das zirkumpulpare Dentin an und peripher das nur ca. 30 µm dicke Manteldentin mit besonders dicken Kollagenbündeln (Korff- Fasern) und geringerem Mineralisationsgrad (5,69,87,139,144).

Die Prädentinsekretion hält während des Reifungsvorganges an und es kommt zu einem Dickenwachstum der Dentinhülle um die Odontoblastenschicht. Hierbei wird jeder Odontoblastenfortsatz von reifenden Dentin umhüllt bzw. eingeschlossen, sodass ein Dentintubulus mit einem Odontoblastenfortsatz als Inhalt entsteht. Das Dentin in direkter Nachbarschaft zum Odontoblastenfortsatz bezeichnet man als peritubuläres Dentin. Es kleidet somit die Kanalwand aus, ist kollagenarm aber reichlich und homogen mineralisiert. Das in den Zwischenräumen der Dentintubuli liegende Dentin wird als intertubuläres Dentin bezeichnet und weist einen geringeren Mineralisationsgrad auf (139,168).

Der Ausdruck Pulpa- Dentin- Einheit (Odontoblastenfortsätze und die sie umgebenden Tubuli) verdeutlicht die enge Beziehung zwischen Dentin und Odontoblasten, welche Bestandteil der Pulpa sind. Dies wird besonders deutlich, wenn Karies den Zahn befällt und das Dentin erreicht. Der Dentin- Pulpa- Komplex wird stimuliert und antwortet sofort defensiv als funktionelle Einheit um das Pulpagewebe vor Irritationen zu schützen. Dabei bildet er sklerotisches Dentin durch Kalzifikation der Dentintubuli und/oder befördert reaktionäre/reparative Dentinformationen über pulpale Odontoblasten, welche rasch Dentin ablagern (84).

2.1.1.2 Dentintubuli und Dentinpermeabilität

Im Dentin befinden sich die Dentinkanälchen, in denen die Fortsätze der Odontoblasten liegen. Diese Odontoblastenfortsätze versorgen das Dentin auch nach Abschluss der Zahnbildung physiologisch. Im Kronenbereich eines Zahnes verlaufen die Dentinkanälchen s- förmig gekrümmt, im Wurzelbereich geradlinig nach aussen. Die Odontoblastenfortsätze weisen Seitenäste auf, welche tief in das intertubuläre Dentin hineinziehen und mit benachbarten Seitenästen anastomosieren. *KAWABATA* et al. (76) bezieht sich auf Ergebnisse von *MJÖR* und *NORDAHL* (97), die drei Typen von Tubuliästen hinsichtlich ihrer Größe klassifizieren: (i) Große Äste, mit einem Durchmesser von 0,5- 1,0 µm und Y- Form. Sie sind v.a. an der Schmelz- Dentin- und Zement- Dentin- Grenze zu finden. Gelegentlich findet man sie auch in der Hauptmasse des Dentins. (ii) Feine Äste mit einem Durchmesser von 300- 700 nm. Diese zweigen von den Haupttubuli ab und können überall im Dentin gefunden werden. Sie anastomosieren häufig mit anderen Ästen ähnlicher Größe. (iii)

Mikroäste, mit einem Durchmesser von 50- 100 nm, die sich oft senkrecht von den Haupttubuli ausbreiten. Diese verzweigen sich dann weiter und verbinden sich mit angrenzenden Tubuli.

Pulpanahes und pulpafernes Dentin unterscheidet sich in Anzahl und Durchmesser der Dentintubuli, wie *WANG* et al. zeigten (166). Hierfür wurden Scheiben aus dem mittleren Kronendrittel von extrahierten dritten Molaren untersucht. Nahe der Pulpa zeigen die Dentintubuli einen Durchmesser von 3- 4 μm mit einer Anzahl von $7,5 \times 10^4 \text{ mm}^{-2}$. In pulpafernen Regionen nimmt der Durchmesser der Dentintubuli um 60% (56) ab und ihre Anzahl reduziert sich auf $3 \times 10^4 \text{ mm}^{-2}$. Im Querschnitt bestehen pulpanah ca. 80% der Gesamtquerschnittsfläche des Dentins aus dem Lumen der Dentinkanälchen, peripher nur ca. 2- 4%. Durchmesser und Volumen der Dentinkanälchen sind aber auch vom Alter des untersuchten Zahnes abhängig (37,56,97). Doch müssen Zahlen zum Durchmesser, zur Dichte und Häufigkeit der Dentinkanälchen immer kritisch betrachtet werden, da sie zum einen individuell sehr unterschiedlich sind und zum anderen von den jeweils angewendeten Untersuchungsparametern abhängen (97). Die angegebenen Unterschiede zwischen pulpanahem und pulpafernem Dentin sind aber prinzipiell richtig (50,69).

Die Dentintubuli enthalten den sog. Dentinliquor, eine Pulpaflüssigkeit mit ähnlicher Zusammensetzung wie Plasmaflüssigkeit. Die Druckverhältnisse in der Pulpa liegen bei ca. 25- 30 mmHg und hängen mit der Vasokonstriktion bzw. Vasodilatation in der Pulpa zusammen. Die Dentintubuli kommunizieren über die Odontoblastenfortsätze direkt mit der Pulpa. Innerhalb des Lumens der Tubuli können andere fibröse organische Strukturen gefunden werden, die das Lumen der Tubuli verengen und damit auch die Permeabilität verringern, wie z.B. die Lamina limitans (76,128,131).

Die Permeabilität von Dentin hängt mit einer Anzahl physikalischer Faktoren zusammen: Anzahl der Dentintubuli, funktioneller Durchmesser der Dentintubuli und Dentindicke, Wasser- und Dentinflüssigkeitskonzentration, Anwesenheit einer Schmierschicht und anderer Präzipitate. Je größer der Durchmesser der Dentintubuli, desto höher ist die Dentinflüssigkeitsfließrate und folglich auch die Dentinpermeabilität. Eine Schmierschicht kann die Flüssigkeitsfließrate auf Null reduzieren (131).

Nach Berechnungen von *PASHLEY* (112,115) nehmen die Dentintubuli im schmelznahen Dentin 1% der gesamten Dentinfläche ein, wohingegen die Tubuli nahe der Pulpakammer ungefähr 45% der gesamten Dentinfläche einnehmen. Deshalb ist pulpanahes Dentin permeabler als pulpafernes (146).

Auch zeigen sich Unterschiede in der Lokalisation des Dentins. Innerhalb des Kronendentins variiert die Permeabilität in Abhängigkeit von der Entfernung zur Pulpa ungefähr um den Faktor 4. Bei hoher Dentindicke (3,5 mm) ist sie etwa um den Faktor 12 niedriger als bei geringerer Dentindicke über der Pulpa. Innerhalb des Wurzeldentins schwankt die

Permeabilität etwa um den Faktor 10. Die Permeabilität nimmt sowohl im Kronen- als auch im Wurzeldentin mit zunehmender Entfernung zur Pulpa ab. Kronendentin ist ca. fünfmal permeabler als Wurzeldentin (51,89,105,157).

Nach *CARRIGAN* et al. (24) nimmt die Anzahl der Dentintubuli pro Flächeneinheit von 44000 Tubuli pro mm² im Kronendentin auf 8000 Tubuli pro mm² im apikalen Dentin ab.

Der Flüssigkeitstransport über die Dentintubuli findet durch Diffusion, aber auch durch Konvektion statt. Aufgrund des Druckes in der Pulpa (s.o.) kann Flüssigkeit von der Pulpa zur Oberfläche gelangen. Fließraten von 0,36 µl min⁻¹cm⁻² wurden berichtet. Generell hat pulpanahes Dentin eine höhere hydraulische Leitfähigkeit als pulpafernes, da ihre Tubuli kürzer sind, einen größeren Durchmesser haben und näher zusammen stehen. Daher hängt die Dentinpermeabilität auch umgekehrt mit der Dentindicke zusammen (44,76,132).

In den Dentintubuli findet der Substanz Austausch v.a. über Diffusion und Filtration statt (113). Verkleinert wird die effektiv permeable Fläche v.a. durch den Inhalt der Dentintubuli, wie Odontoblastenfortsätze, Kollagenfasern, Nervengewebe, peri- und intratubuläre Strukturen sowie proteinhaltige Flüssigkeit und deren Präzipitate. Dadurch wird der funktionelle Tubulusradius kleiner als der anatomische (54,89,94,95,119,128).

2.1.1.3 Permeabilität des Dentins gegenüber Dentinadhäsiven und ihren Bestandteilen

Die polymerisierbare Matrix von Dentinadhäsiven enthält viele Monomere wie Bis- GMA (Bisphenol-A-Glycidyl-Methacrylat), TEGDMA (Triethylen-Glycol-Dimethacrylat), HEMA (2-Hydroxyethyl-Methacrylat) und UDMA (Urethandimethacrylat). Es ist bekannt, dass diese Monomere nicht biologisch inert sind und bis hin zur Pulpa diffundieren können. Dort kommt es dann zur Bildung von reaktiven Sauerstoff- Molekülen, welche oxidativen Stress auslösen können, sobald die zellulären Antioxidantien, wie z.B. Glutathion, erschöpft sind bzw. die Anzahl an Oxidantien überwiegt (26,34).

CAMPS et al. (21) zeigten unter anderem, dass die Restdentindicke über der Pulpa eine ganz entscheidende Rolle spielt. Dabei wurden Dentinstärken von (i) 500 µm, (ii) 500- 1000 µm und (iii) >1000 µm über der Pulpa auf ihre Durchlässigkeit für applizierte Materialien getestet und die Entzündungsreaktion der Pulpa untersucht. 60% der schweren Reaktionen fanden sich bei Gruppe (i), 35% bei Gruppe (ii) und nur 5% bei Gruppe (iii), also je dünner die Restdentindicke, desto größer die Permeabilität und schwerer die Entzündungsreaktion der Pulpa.

Fast alle auf dem Markt erhältlichen Adhäsivsysteme enthalten HEMA in einer Menge von 35- 50% um die Viskosität zu reduzieren, den kollagenen Kollaps zu vermeiden und um die Haftkraft zu erhöhen. Aufgrund seines geringen Molekulargewichtes und seiner Hydrophilie kann es durch Dentin diffundieren und sich u.a. auf die Zellteilung und Zellaktivität der darunter liegenden Odontoblasten auswirken. Außerdem löst es allergische Reaktionen und Immunreaktionen aus (26,133).

RATHKE et al. (133) untersuchten die Diffusion von HEMA in selbstkonditionierenden Adhäsivsystemen (self- etch) und in Adhäsivsystemen mit vorheriger separater Ätzung (etch- and- rinse). Die selbstkonditionierenden Adhäsivsysteme wurden zusätzlich mit vorheriger Ätzung (Phosphorsäure) untersucht. Hierfür wurden in Molaren von Menschen okklusale Kavitäten mit einer Restdentindicke über der Pulpa von 0,5 mm und 0,25 mm präpariert. Die höhere Konzentration von HEMA fand sich bei 0,25 mm Restdentindicke und bei den etch- and- rinse- Systemen. Bei den selbstkonditionierenden Systemen fand sich eine doppelt so hohe HEMA- Konzentration in der Pulpakammer, wenn zusätzlich vorher noch mit Phosphorsäure geätzt worden war. Deswegen sollen Adhäsivsysteme mit separater Ätzung in tiefen Kavitäten vermieden werden.

Warum dünneres Dentin permeabler bei etch- and- rinse- Systemen ist, kann man auch mit der Pufferkapazität des Dentins erklären. Gibt man Phosphorsäure auf eine Dentinoberfläche so führt dies zur oberflächlichen Auflösung des Apatits. Die Protonen der Säure verbinden sich mit den OH^- - Ionen und den PO_4^{3-} - Ionen des Apatits und werden neutralisiert. Bei dünnen Dentinschichten ist die Pufferkapazität bald erschöpft und durch die weitere Auflösung des Apatits steigt die Permeabilität des Dentins bis hin zur Pulpaeröffnung (55).

TEGDMA findet man in vielen Adhäsivsystemen und Kompositen zur Reduktion der Viskosität und um die Anwendung der verschiedenen Materialien zu vereinfachen. Das Molekulargewicht von HEMA liegt bei 130,14 und das von TEGDMA bei 286,33. Außerdem ist HEMA wasserlöslicher als TEGDMA. Deswegen diffundiert HEMA leichter und schneller durch Dentin als TEGDMA. Auch konnte gezeigt werden, dass der hydrostatische Druck in der Pulpa die Diffusion von TEGDMA stärker beeinträchtigt als von HEMA (58,66) und dass die Haftfestigkeit unter pulpalen Druck bei Adhäsivsystemen mit HEMA als Basis am stärksten abnimmt (137). Zudem weist TEGDMA eine höhere Konversionsrate auf als HEMA und diffundiert daher in niedrigeren Konzentrationen, wie in Versuchen von *HAMID* et al. (66) gezeigt wurde. Bis- GMA wurde gar nicht in der Pulpakammer gefunden. Das kann an seinem hohen Molekulargewicht, seiner geringen Wasserlöslichkeit oder an seiner hohen Konversionsrate liegen.

SANTINI et al. (135) stellten fest, dass bei den etch- and- rinse Systemen die Tiefe der Demineralisation größer ist als die Penetrationstiefe des Adhäsivs. Mit separater

Konditionierung ist die Demineralisationstiefe größer als bei den self-etch-Systemen und damit auch die Penetration des Adhäsivs. Doch werden bei der etch- and- rinse Technik ca. 30% des demineralisierten Dentins nicht mit Monomer infiltriert, wohingegen bei den self-etch-Systemen weniger als 1 µm demineralisierten Dentins unfiltriert bleiben.

2.1.1.4 Vergleich zwischen humanen und bovinen Dentin

Mit dem Alter verändert Dentin seine mechanischen und physikalischen Eigenschaften. Die Tubulidurchmesser nehmen durch Mineralablagerungen ab und können im Alter sogar ganz verschlossen werden. Dies hat zur Folge, dass seine Permeabilität, Flexibilität und sein viskoelastisches Verhalten sinken. Die Verwendung von humanen Dentin würde die in vivo-Situation am besten simulieren, doch ist es schwierig die entsprechend benötigte Anzahl an karies- bzw. füllungsreifen und gleich alten Zähnen zu besorgen. Für die Standardisierung von Testverfahren ist dies jedoch notwendig. Daher werden Alternativen zu humanen Zähnen gesucht (52).

Bovine Zähne von Tieren mit gleicher genetischer Abstammung und gleicher Ernährung zeigen mehr Homogenität in der Mineralzusammensetzung als Zähne die von den verschiedensten Menschen mit unterschiedlicher Ernährung und Fluoridzufuhr gesammelt werden. Auch kann man Rinderzähne leicht in großer Menge im Schlachthof besorgen, da man für sie keine weitere Verwendung weiß. Aufgrund der Größe dieser Zähne bieten sie außerdem eine größere Fläche für die verschiedensten Testverfahren (170).

TANAKA et al. (156) stellten fest, dass im Durchschnitt die Dichte von bovinen Schmelz höher ist als die von humanen Schmelz. Das ist eine Indikation dafür, dass die Rinderzähne stärker mineralisiert sind als die humanen Zähne oder dass die Mineralzusammensetzung des Rinderdentinschmelzes sich geringfügig vom menschlichen Schmelz unterscheidet. Die Dichte des Dentins in der Zahnkrone war bei Rindern im Durchschnitt geringer als beim Menschen. Doch zeigen Abrasions- und Erosionsversuche von WEGEHAUPT et al. (170) mit unteren Rinderinzisivi und dritten Molaren von Menschen, dass es bezüglich des Zahnhartsubstanzverlustes bei Mensch und Rind keinen signifikanten Unterschied gibt. Auch Härte-tests (KHN = Knoop hardness numbers) zeigen, dass Dentin von verschiedenen Altersgruppen bei Mensch und Rind gleich hart ist. Dabei wurden Zähne von 20, 30, 38 und 48 Monate alten Rindern untersucht und mit Zähnen von 20-30 Jahre alten Menschen verglichen (52). Der Schmelz zeigte nur bei den jüngeren Rinderzähnen (20 Monate alte Rinder) einen signifikanten Härteunterschied zwischen Mensch und Rind. In dieser

Altersgruppe der Rinderzähne war der Schmelz weniger hart als bei den untersuchten menschlichen Zähnen.

Die Anzahl der Tubuli pro mm² im Kronendentin sind für Molaren beim Mensch und für Rinderfrontzähne gleich. Genauso gibt es keinen signifikanten Unterschied im Durchmesser der Tubuli. Dagegen ist der Durchmesser der Tubuli im Wurzelndentin bei Rindern wesentlich größer als beim Menschen, wie *SCHILKE* et al. (140) und *CAMARGO* et al. (18) zeigten. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von *CAMARGO* et al. (19) mit sklerotischen Dentin von Mensch und Rind zeigen, dass die Anzahl der offenen Dentintubuli bei beiden gleich sind. Die untersuchten Dentinflächen waren 62,09 µm x 36,96 µm groß. Menschliches Dentin zeigte 31,89 ± 23,94 offene Tubuli pro untersuchter Fläche und bovines Dentin 30,33 ± 18,14.

Vergleiche zur Haftfestigkeit von Adhäsivsystemen und Kompositen zwischen humanen Zähnen und Rinderzähnen zeigen keinen signifikanten Unterschied (80,160). Genauso zeigen Permeabilitätsversuche zwischen Rinderdentin (nahe der Schmelz- Zement- Grenze) und humanen koronalen Dentin keinen signifikanten Unterschied, wie *SCHMALZ* et al. (141) zeigten.

2.1.1.5 Dentin und seine Sterilisation bzw. Desinfektion

Bei der Entwicklung und bei Tests von restaurativen zahnärztlichen Materialien werden extrahierte Zähne verwendet, die eine Quelle für die im oralen Milieu befindlichen Pathogene sind und somit eine potentielle Infektionsgefahr darstellen. Desinfektionsmittel und Sterilisationsverfahren, welche für diese Zähne verwendet werden, müssen diese Pathogene eliminieren. Dabei sollen sich die Gewebeeigenschaften möglichst nicht verändern.

LEE et al. (83) untersuchten den Dentin- Komposit- Verbund in Abhängigkeit von verschiedenen Lagerungsmedien der Zähne und der Sterilisation. Dabei erfolgte die Lagerung von Rinderzähnen in destillierten Wasser, 0,9%iger NaCl- Lösung, 0,5%iger Chloramin- T- Lösung, 5,25%iger NaOCl- Lösung, 2%igen Glutaraldehyd und 10%igen Formalin bei 37°C für 60 Tage. Einige Zähne wurden anschließend noch für 40 Minuten in destillierten Wasser autoklaviert und von jeder Lösung wurden zusätzlich noch 10 Proben entnommen und für 14 Tage in 10%igen Formalin gelagert. Die schlechtesten Haftwerte fanden sich bei der Lagerung in NaOCl. Sie ist daher nicht zu empfehlen. Für die Lagerung in destillierten Wasser waren die Werte höher als bei Proben, die in NaCl oder NaOCl lagerten. Wahrscheinlich beeinflussen Reste von Chlorid die Haftfestigkeit negativ. Bei der Sterilisation im Autoklaven fanden sich die schlechtesten Haftwerte für die Lagerung in dest.

Wasser und 10%igen Formalin. Die Sterilisation mit 10%igen Formalin für 14 Tage hatte keinen negativen Einfluss auf die Haftwerte.

Die Verwendung von Gamma- Strahlen stellt eine weitere Möglichkeit der Sterilisation dar, wie *BRAUER* et al. 2008 zeigten (13). Die dabei entstehenden Veränderungen in Schmelz und Dentin beeinflussen die mechanischen Eigenschaften, wie Härte und Elastizitätsmodul, nur gering. Auch die Permeabilität des Dentins wird dadurch nicht signifikant verändert (171). Die älteste Methode zur Sterilisation von extrahierten Zähnen stellt die Verwendung von Ethylenoxidgas (C_2H_4O) dar. Bereits 1974 wurden bovine Schmelzblöcke mit 1%igen Ethylenoxidgas behandelt (79). 1993 verglichen *PASHLEY* et al. (127) die Auswirkungen des Autoklavierens bzw. der Sterilisation durch Ethylenoxidgas mit unsterilisierten Kronensegmenten menschlicher Zähne hinsichtlich Dentinpermeabilität und Scherhaftfestigkeit. Im Vergleich zur Kontrollgruppe stellte man fest, dass weder Permeabilität noch Haftfestigkeit unter den Behandlungen litten. *THOMAS* et al. (159) untersuchten 2007 den Effekt der Ethylenoxidgas- Sterilisation auf die Schmelz- und Dentindemineralisation in vitro. Dabei wurden gesunde und mit Karies befallene Proben untersucht. Im demineralisierten Schmelz fand man nach Sterilisation eine zusätzliche signifikante Reduktion der Läsionen um 9,8 μm . Dies sollte jedoch für De- und Remineralisationsversuche in situ irrelevant sein.

2.1.2 Schmierschicht und ihre Entfernung

Bei der Präparation von Zahnhartgeweben mit zahnärztlichen Instrumenten entsteht eine sog. Schmierschicht (engl. smear layer). Diese besteht aus einer Mischung von mineralischen Bestandteilen, Zell- und Zahnhartgewebetrümmern, denaturierten Kollagenfibrillen, Bakterien und Dentinliquor. Sie bedeckt die normalen strukturellen Bestandteile des Dentins und kann einige Mikrometer in die Dentintubuli hinein penetrieren und sog. smear plugs bilden. Zusammen mit der Schmierschicht verringern die smear plugs die Dentinpermeabilität, die Dentinsensitivität und die Oberflächenfeuchtigkeit (69,117,128,161). Dicke und Struktur der Schmierschicht sind abhängig von der Art des verwendeten Präparationsinstrumentes und dessen Kühlung. Dabei werden ohne Kühlung Schichtstärken von bis zu 15 μm erreicht, wohingegen bei verwendeter Kühlung ca. 1- 5 μm starke Schichten entstehen. Smear plugs können Tiefen von 5- 40 μm erreichen. Die Schmierschicht ist sehr hartnäckig und lässt sich nicht mit Wasser oder Wattepellets entfernen (14,62,91,112).

TAGAMI et al. (155) zeigten, dass grobe Diamantbohrer eine dickere Schmierschicht produzieren als Karbidbohrer. Auch wurde gezeigt, dass die Schmierschicht, die durch schnell rotierende Diamantbohrer produziert wird (mit oder ohne Wasserkühlung), der durch 80- grit SiC abrasiven Papier (unter Wasserkühlung) entstandenen Schmierschicht gleicht. Letztere ist jedoch leichter durch saure Lösungen zu entfernen, da sie wahrscheinlich kürzere smear plugs bilden.

1970 wurde erstmals die genaue Zusammensetzung und Morphologie der Schmierschicht untersucht (43). Demnach besteht die Schmierschicht aus 0,5- 15 µm großen anorganischen Hydroxylapatitteilen, welche als kleine Plättchen in eine Matrix aus organischen Kollagenbestandteilen eingelagert sind. Dabei ist das Kollagen an der Oberfläche der Schmierschicht denaturiert (40,41).

Anderen Studien zufolge bildet die Schmierschicht eine globuläre Struktur mit Untereinheiten von 0,05- 0,1 µm im Durchmesser, welche von kleinen, mit Flüssigkeit gefüllten Kanälchen umgeben werden (117,124). Bezüglich der chemischen Zusammensetzung ähneln sich Dentin und die daraus entstehende Schmierschicht (48,110,149,167). Außerdem können Bakterien und Toxine zusätzlich noch enthalten sein (113,167), v.a. bei der Aufbereitung von Wurzelkanälen während einer endodontischen Therapie. Dort findet man zusätzlich noch Gewebereste der Pulpa (147).

Aus der Zusammensetzung der Schmierschicht kann man Schlussfolgerungen bezüglich ihrer Eigenschaften ziehen. Die einzelnen Partikel der Schmierschicht haften untereinander, sowie am strukturierten Dentin (40,116). Die Permeabilität des Dentins wird durch die Schmierschicht nur herabgesetzt, aber nicht vollständig verhindert (2,64,110,111), da ihre globulären Strukturen von mit Flüssigkeit gefüllten Kanälchen umgeben sind (117,124).

Submikrometer große Porositäten der smear plugs gewährleisten somit dennoch Flüssigkeitsbewegungen. Obwohl die Schmierschicht als „Diffusionsbarriere“ die Dentinpermeabilität herabsetzt, muss sie auch als Hindernis betrachtet werden bei der Befestigung von Kompositen mit Dentinadhäsiven (128). Ebenso behindert sie bei endodontischen Behandlungen die optimale Penetration von Chemikalien bzw. Medikamenten und damit eine optimale Adaption von Wurzelfüllmaterialien (91).

Für die Entfernung der Schmierschicht gibt es verschiedene physikalische Methoden und chemische Agenzien. Physikalische Methoden zur Entfernung der Schmierschicht sind die Verwendung von Ultraschall (endosonics) und Impulsen durch Mittelinfrarot- Laser. Beide verursachen Kavitationen und Druckwellen innerhalb des Wurzelkanallumens (57,124). Als Agenzien werden Komplexbildner, Säuren und Monomere eingesetzt. Ethylendiamintetraacetat (EDTA) ist ein Chelatbildner und wirkt entmineralisierend (25). Es werden anorganische Säuren, wie Phosphorsäure, und organische Säuren, wie

Zitronensäure, Polyacrylsäure oder Maleinsäure, verwendet. Auch Gerbsäure und Milchsäure sind in der Literatur beschrieben (9,12,36,134,152).

Bei der Verwendung der chemischen Agenzien spielt die Einwirkzeit eine entscheidende Rolle. *BRAJDIC* et al. (10) untersuchten die Wirkung von 37%iger Orthophosphorsäure bei 10 Sekunden und 30 Sekunden. Im Gegensatz zur 10 Sekunden Einwirkzeit ergab sich bei der längeren 30 Sekunden Einwirkzeit folgender Befund: (I) eine größere Anzahl an Dentintubuli, (II) größere Tubulidurchmesser, (III) prozentual größere Tubulioberfläche, (IV) prozentual verminderte Fläche von Intertubulardentin, (V) porös aussehende Zonen der Dentinoberfläche, die Schmierschicht und demineralisierte Reste von Kollagenpartikeln enthalten mit Demineralisationsprodukten von Dentin in Säurekügelchen, und (VI) komplett aufgelöstes Peritubulardentin. Somit ergeben sich unter Verwendung der gleichen Säure bei längerer Einwirkzeit morphologische Veränderungen der demineralisierten Dentinoberfläche.

PEREZ- HEREDIA et al. (130) untersuchten den Dekalzifizierungseffekt von 15%igen EDTA, 15%iger Zitronensäure, 5%iger Phosphorsäure und 2,5%igen NaOCl auf Wurzelkanaldentin in 5, 10 und 15 Minuten. In den drei Zeitperioden lösten die 15%ige EDTA- Lösung und die 15%ige Zitronensäure die größte Menge an Kalzium, ohne signifikanten Unterschied. Die 2,5%ige NaOCl- Lösung löste insignifikante Mengen an Kalzium. In den ersten 5 Minuten waren bei der 15%igen EDTA- Lösung 86,72% des Kalziums extrahiert. Die Zitronensäure löste 77,03% und die Phosphorsäure 67,08% des Kalziums in den ersten 5 Minuten. Bei jedem Agenz nahm die Dekalzifizierung mit der Zeit zu. Zu jeder Zeit waren die Werte für 15%iges EDTA und 15%ige Zitronensäure höher als für die 5%ige Phosphorsäure.

Für die eigene Untersuchungsmethode ist Zitronensäure verwendet worden (vgl. Kap. 4.3.2). *EIBL* zeigte, dass die Schmierschicht mit 50%iger Zitronensäure bei 30 Sekunden Einwirkzeit vollständig entfernt werden konnte. Dabei waren die Dentinkanälchen ohne Trichterbildung an den Tubuluseingängen eröffnet, wohingegen einminütiges Ätzen bereits zur Trichterbildung führte (39,142).

Bei endodontischen Behandlungen werden verschiedene Kombinationen empfohlen, um die anorganischen und organischen Bestandteile der Schmierschicht zu entfernen. Dabei spielt das NaOCl eine entscheidende Rolle, da es gewebeauflösend wirkt. Zusammen mit einem Chelatbildner oder einer Säure ist es möglich, die Schmierschicht vollständig zu entfernen (17,30,77).

2.2 Dentinadhäsive

Adhäsivsysteme dienen als Dentinhaftvermittler für die Adhäsion von Kompositen und bestehen in der Regel aus den drei Komponenten Konditionierer, Primer und Adhäsiv. Nach Konditionierung des Dentins durch geeignete Säuren oder säurehaltige Primer können die Haftvermittler in das freigelegte Kollagenetzwerk des Dentins penetrieren und über die Ausbildung einer Hybridschicht den Haftverbund zwischen Komposit und Dentin bewirken (69,128,172).

Die heutigen Adhäsivsysteme interagieren mit dem Dentin auf zwei verschiedenen Wegen: die Schmierschicht wird entfernt (etch- and rinse) oder modifiziert (self- etch). Die Klassifikation dieser Adhäsive basiert auf der Anzahl der Schritte während ihrer Anwendung. Etch- and- rinse Adhäsivsysteme gibt es als Drei- Schritt- oder Zwei- Schritt- Systeme, wobei in letzterer Gruppe Primer und Adhäsiv in einer Flasche vereint sind. Genauso können Self-etch Adhäsivsysteme als Zwei- Schritt- oder Ein- Schritt- Systeme vorliegen. Letzteres nennt man auch all- in- one Systeme (128,136).

2.2.1 Mikromechanischer Verbund

Die mikromechanische Verankerung spielt bei den modernen Adhäsivsystemen die tragende Rolle beim Verbund zum Dentin. Sie erfolgt grundsätzlich auf zwei Wegen (102):

- Eindringen von Monomeren in das durch Demineralisation des Dentins freigelegte Kollagenetzwerk und nach anschließender Polymerisation Ausbildung der sogenannten *Kunststoff- Dentin- Hybridschicht*. Diese wird vorwiegend für den adhäsiven Verbund verantwortlich gemacht (3,101,128).
- Eindringen von Monomeren in die Dentintubuli und nach anschließender Polymerisation Ausbildung von teilweise quervernetzten Kunststofffortsätzen, den sogenannten *Tags* (97,128).

2.2.2 Chemischer Verbund

Die chemische Bindung spielt eine untergeordnete Rolle beim Verbund zwischen dem Dentin und modernen Adhäsivsystemen (46,102). Bis zum Ende der 80er Jahre vermutete man, dass es sich um chemische Wechselwirkungen zwischen dem Adhäsivsystem und den organischen/anorganischen Bestandteilen des Dentins handle. Man nahm an, dass es eine kovalente Bindung zum Kollagen (82) gab oder eine Ionen- bzw. Chelatbindung (8,16,85,100) bestimmter Monomere mit den Kalziumionen des Hydroxylapatits. Neuere Untersuchungen ergaben jedoch, dass diese Art von Bindungen eher selten zustande kommt, da ionische Bindungen an den Grenzflächen nicht spezifisch und evtl. gebildete Kalziumkarboxylate chemisch nicht stabil sind (42,45,47). Die Demineralisierung des Dentins nach dem Ätzzvorgang führt außerdem dazu, dass das für die Bindung benötigte Kalzium nur noch an der Grenze zum gesunden Dentin zur Verfügung steht (103). Kollagenfibrillen sind von stark hydratisierten Proteinen umgeben, was eine kovalente Bindung mit bestimmten Monomeren nahezu unmöglich macht.

2.3 Physikalische Grundlagen der Flüssigkeitsdynamik

Bei der Permeabilitätsbestimmung von Dentin mittels Perfusion werden Druckgradienten genutzt, wobei Messungen mittels Diffusion diese vermeiden. In beiden Fällen wird ein perfundiertes bzw. diffundiertes Volumen zu einer Zeit in Beziehung gesetzt. Für vorliegende Arbeit ist die druckvermittelte Permeabilität von Bedeutung, daher sei zu Erläuterungen zur Diffusion auf die entsprechende Literatur (141,152) verwiesen.

PAPPENHEIMER beschrieb 1953 das Fließverhalten von Flüssigkeiten in mikroporösen Membranen. Demnach ist die Flussrate umgekehrt proportional zur Viskosität der Flüssigkeit, proportional zum hydrostatischen Druckgradienten über der Membran und temperaturabhängig. Zudem stellt die Viskosität selbst eine temperaturabhängige Konstante dar (109,141).

Aufgrund dieser Beobachtung kann in mikroporösen Membranen von laminaren Strömungsverhältnissen ausgegangen werden (143). Daher kann zur Berechnung von Filtrations- bzw. Perfusionsraten das Darcy'sche Gesetz herangezogen werden (109,165) (vgl. Diss. *VRANA* (165)).

Für die verschiedenen Berechnungen sind außerdem das Hagen- Poiseuille- Gesetz (109) und die Hydraulische Leitfähigkeit (162) von Bedeutung. Für genauere Erläuterungen sei auf die angegebene Literatur und auf vorherige Arbeiten verwiesen (165) (vgl. Diss. *DAUBNER*). Von weiterer Bedeutung ist der sog. Jamin- Effekt. Er entsteht, wenn Kapillarkräfte in Kapillaren wirken, welche abwechselnd Luftblasen und Wasser enthalten (74). Die Luftblasen behindern den Strom der Messflüssigkeit so, dass ein gewisser Minimaldruck aufgebracht werden muss, um überhaupt Messungen durchführen zu können (88). Um diesen Effekt zu verringern wurde im benutzten Versuchsaufbau (vgl. Kap. 4.2.1) ein Miniskus und keine Luftblase vermessen.

2.4 Methoden zur Permeabilitätsbestimmung

Um die Permeabilitätseigenschaften von Dentin zu bestimmen, sind in den letzten Jahrzehnten eine Vielzahl von Methoden entwickelt worden, die nachfolgend kurz beschrieben werden sollen. Die Mikroliterpipettenmethode nach *REEDER* et al. (134) ist die wohl verbreitetste Methode. Alle anderen genannten Methoden genauer zu beschreiben, würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen und sie werden daher nur knapp erläutert. Um weitere Informationen zu erhalten sei auf die entsprechende Literatur verwiesen.

2.4.1 Beobachtung von Flüssigkeitsbewegungen in Kapillaren

1978 entwickelte *REEDER* et al. (134) eine Methode, um die Filtrationseigenschaften von Dentin zu bestimmen. Dabei trennt eine Dentinscheibe bzw. ein Zahnsegment eine mit Flüssigkeit gefüllte Kammer in zwei Hälften. Von der einen Kammerhälfte aus wirkt ein hydrostatischer Druck auf die Dentinprobe, die andere Kammerhälfte ist mit einer gläsernen Mikroliterpipette bekannten Innendurchmessers verbunden. Das Messsystem ist bis auf ein Luftbläschen in der Pipette vollständig mit Flüssigkeit gefüllt. Aufgrund des Druckgradienten entsteht eine Volumenverschiebung über dem Dentin, welche eine Bewegung der Luftblase in der Mikroliterpipette bewirkt. Die Bewegung des Luftbläschens pro Zeiteinheit wird ermittelt und macht die Volumenverschiebung über die Dentinscheibe als Filtrationsrate bzw. Perfusionsrate quantifizierbar. Verbessert wurde diese Apparatur von *PASHLEY* et al. vor allem in Bezug auf die Regulierbarkeit des Druckgradienten (119,122).

Um das aufwändige Platzieren des Luftbläschens in der Kapillare zu vermeiden, ersetzten *VONGSAVAN* und *MATHEWS* das als Messflüssigkeit verwendete Wasser mit Milch. Damit

kann die mikroskopische Zählung der Fettröpfchen als Maß für die Perfusionsmessung genutzt werden und der sog. Jamin- Effekt (vgl. Diss. VRANA (165)) vermieden werden, was die Messempfindlichkeit erhöht. Im Prinzip sind mit dieser Mikroliterpipettenmethode auch In-vivo- Anwendungen möglich (164).

Eine weitere Variation der erläuterten Methode stellt die in dieser Studie verwendete Flodec-Methode (vgl. Kap. 4.2.1) dar (20,28,32,60,61,68,107).

2.4.2 Andere Methoden

Die Markierung der Messflüssigkeit mit Radioisotopen (Tracern) stellt eine Alternative zu der in Kap. 2.4.1 genannten Perfusionsmessung dar. Hierbei sind ebenfalls Permeabilitätsmessungen in vivo möglich (118,125). Auf einer Seite liegt der Dentinprobe eine Lösung der radioaktiv markierten Substanz mit bekannter Konzentration an und auf der anderen Seite der Dentinprobe wird die permeierte markierte Substanz gesammelt. Diese kann beispielsweise durch Flüssigkeitsszintillationszählung quantifiziert werden. Die Permeationsrate wird aus der ermittelten Radioaktivität berechnet. Voraussetzung für diese Berechnung ist, dass die permeierte Radioaktivität proportional zum tatsächlich permeierten Volumen ist und dass eine verlässliche Bindung des Tracers zur markierten Substanz vorliegt (148). Folgende Marker werden gern verwendet: ^3H (36,120), $^3\text{H}_2\text{O}$ (120), ^{125}I (92,105), ^{131}I (106,118,119), ^{135}I (120,121), ^{14}C - urea (120), ^{45}C (151) und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (120).

Farbstoffe, wie z.B. Methylenblau oder Trypanblau, eignen sich vor allem zur qualitativen Analyse der Permeabilität in Penetrationsversuchen (29,115). Wünscht man für die Farbpenetration quantitative Ansätze der Auswertung, wird entweder die Eindringtiefe des Farbstoffes ins Dentin oder die penetrierte Fläche als Basis für Rückschlüsse auf die Dentinpermeabilität gemessen (115). Ein standardisiertes Grading von Fläche und Eindringtiefe ermöglicht den Vergleich der Ergebnisse. Ein Beispiel hierfür ist der sog. Dentin Penetration Index (DPI) (29,90). Einige klinisch relevante Substanzen besitzen optische Eigenschaften oder bewirken optische Reaktionen bei Farbstoffen. Sie können für den quantitativen Nachweis ihrer Diffusions- oder Perfusionseigenschaften in Dentin genutzt werden (67).

Mit Methoden, bei denen die Einflüsse von Schmierschicht und Dentindicke sehr empfindlich wiedergegeben werden können, wird die Elektrochemische Impedanz von Dentinproben gemessen. Dabei sind die Dentinproben mit einem Elektrolyten bekannten spezifischen Widerstands gesättigt. Damit lässt sich auf den Anteil der permeablen Dentinfläche schließen (71,86). Weitere Untersuchungen die zur Dentinpermeabilität durchgeführt wurden

stützen sich auf Flüssigkeitschromatographie (4), pH- Metrie (150) oder immunologische Methoden (7,63).

3 Fragestellung

Es sollen in der vorliegenden In- vitro- Untersuchung an Scheiben von Rinderzähnen quantitative Aussagen zur Fähigkeit der Verminderung der hydraulischen Leitfähigkeit von vier verschiedenen zahnärztlichen Substanzen getroffen werden.

Bei den getesteten Substanzen handelt es sich um drei verschiedene Adhäsivsysteme und um einen Werkstoff, der zur Behandlung von überempfindlichem freiliegendem Dentin vorgesehen ist.

Auf folgende Aspekte soll im Einzelnen genauer eingegangen werden:

- Welchen Einfluss haben die getesteten Materialien auf die Permeabilität von pulpanahen Rinderdentinproben?
- Welchen Unterschied zeigen die Ergebnisse im Vergleich zu nicht pulpanahen Rinderdentinproben?
- Inwieweit lassen sich die Ergebnisse der Perfusionstests anhand rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen nachvollziehen?

4 Material und Methode

4.1 Übersicht der verwendeten Materialien

4.1.1 Dentin

Als Zahnmaterial wurden die vier mittleren Frontzähne frisch geschlachteter Rinder im Alter zwischen fünf und acht Jahren verwendet. 2007 zeigte *DAUBNER* (31), dass Zähne medianen und lateralen Ursprungs gleich durchlässig sind (44 bzw. 40% aller Scheiben). Jüngere Zähne (2-5 Jahre) sind zwar häufiger durchgängig (46%), jedoch ist die Ausbeute an brauchbaren Scheiben pro Zahn wegen des größeren Pulpenkavums geringer. Die Wahl fiel auch deshalb auf Zähne von 5-8jährigen Rindern, da diese aus quantitativen Gründen wesentlich einfacher zu beschaffen waren als jüngere bzw. > 8 Jahre alte Rinderzähne.

Die Zähne wurden im Schlachthof postmortal extrahiert und anschließend mit einem Skalpell von Geweberesten gesäubert. Bis zu ihrer Verwendung lagerten sie in 0,5%iger Chloramin-T-Lösung bei 4°C.

Bovines Dentin aus dem Bereich der Schmelz- Zement- Grenze besitzt ähnliche Permeabilitäts- und Adhäsionseigenschaften wie humanes koronales Dentin, wie *SCHMALZ* et al. 2001 zeigten (141).

Damit ist die Übertragung der Ergebnisse von in vitro Versuchen vom Rinderzahn auf den humanen Zahn möglich (vgl. Kap. 2.1.1.4).

4.1.2 Untersuchte Materialien

Gemäß Medizinproduktegesetz (MPG) zählen die getesteten Materialien zu den Produkten der Klasse IIa (15).

Die nachfolgende Tabelle 1 zeigt einen Überblick über die untersuchten zahnärztlichen Materialien.

Testmaterial	Gruppe	Hersteller	Chargenbezeichnung
Gluma Desensitizer	Desensibilisierungslack	Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, Hanau, Deutschland	LOT: 010076
Adper-Prompt L-Pop	Selbstätzender Dentinhaftvermittler	3M Espe AG, Seefeld, Deutschland	LOT: 271188
EXL 683	Selbstätzender Dentinhaftvermittler	3M Espe AG Seefeld, Deutschland	LOT: P- 0275
EXM678A & EXM671C	Selbstätzender Dentinhaftvermittler	3M Espe AG Seefeld, Deutschland	LOT ₁ :MFG135L002-AB LOT ₂ :MFG135L001-AC-2

Tabelle 1: Untersuchte zahnärztliche Materialien

4.1.2.1 Gluma Desensitizer

Eingesetzt wird Gluma Desensitizer zur Behandlung hypersensiblen Dentins. Die wässrige Lösung enthält 5% Glutardialdehyd und 35% 2- Hydroxyethylmethacrylat (HEMA). Die Reduktion der Dentinpermeabilität wird dadurch bewirkt, dass Glutardialdehyd durch Ausfällung von Plasmaproteinen die peripheren Dentintubuli verschließt. Die tiefe Penetration des Glutardialdehyds bis tief in die Dentintubuli hinein wird durch die Wasserlöslichkeit des HEMA begünstigt (145). Damit soll die tubuläre Flüssigkeitsbewegung, welche für die Schmerzempfindung ursächlich ist, gestoppt werden. Deshalb empfiehlt der Hersteller von Gluma Desensitizer die Anwendung sowohl zur Schmerzausschaltung bei freiliegenden, nicht restaurationsbedürftigen Zahnhalsbereichen als auch zur Reduktion oder Vermeidung der Dentinempfindlichkeit nach der Präparation von Zähnen zur Aufnahme festsitzenden Zahnersatzes (38).

Gluma Desensitizer wurde nach Angaben des Herstellers verarbeitet. Die Dentinscheibe wurde oberflächlich getrocknet und mit einem Einmal- Applikator- Tip mit dem Agens bestrichen. Das Agens wurde für 45 Sekunden mit dem Einmal- Applikator- Tip einmassiert und anschließend der Überschuss soweit verblasen, bis der Flüssigkeitsfilm verschwunden war. Zuletzt wurde reichlich mit Aqua dest. gespült.

4.1.2.2 Adper Prompt L- Pop

Adper Prompt L- Pop ist ein selbstätzendes lichthärtendes Adhäsiv, welches als Ein-Flaschen- System vorliegt. Es besteht aus Mono- und Dihydroxyethylmethacrylatphosphaten, Bis- GMA, Kampferchinon, substituierten aromatischen Aminen und Aminobenzoaten sowie Phosphinoxiden (60). In seiner Blisterverpackung wird es für jede Applikation frisch angemischt. Das Material wird auf die zu versiegelnde Dentinfläche über den Einmal- Applikator- Tip aufgebracht und für 15 Sekunden einmassiert. Die Überschüsse werden soweit verblasen, bis kein beweglicher Flüssigkeitsfilm mehr zu sehen ist. Anschließend erfolgt die Aushärtung durch Lichtpolymerisation für 10 Sekunden. Im vorliegenden Fall wurde die Lichthärtung mit der Polymerisationslampe Demetron Optilux 400 mit einer Lichtleistung von 610 mW cm^{-2} durchgeführt.

4.1.2.3 EXL 683

EXL 683 ist ein selbstätzendes lichthärtendes Einflaschenadhäsiv. Es besteht aus Wasser, 2- Hydroxyethylmethacrylaten, 1,6- Hexandioldimethacrylaten, Phosphinoxiden, Kampferchinon, Ethanol, Bis- GMA, (Dimethylamino)Ethylmethacrylaten, Phosphorsäure-Methacryloxy- Hexylester, silanbehandelten Silikat und Copolymeren von Acryl- und Itakonsäure. Zur Applikation auf die Dentinscheiben wurde ein Tropfen EXL 683 in ein Dappenglas dosiert und anschließend mit einem Einmalapplikator für 15 Sekunden sanft eingerieben. Danach wurde die Flüssigkeit soweit verblasen, bis sich die Flüssigkeit nicht mehr bewegte. Die Lichthärtung erfolgte für 10 Sekunden mit der gleichen Polymerisationslampe wie in 4.1.2.2.

4.1.2.4 EXM678A & EXM671C

Bei diesem Material handelt es sich um ein selbstätzendes lichthärtendes Adhäsivsystem, welches als Zwei- Flaschen- System vorliegt. Der Primer EXM678A besteht aus Wasser, 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA) und Polyethylen- Polypropylen- Glykol. Das Adhäsiv enthält Di- HEMA- Phosphate, Triethylen- Glycol- Dimethacrylate (TEGDMA), Trimethylolpropan- Trimethacrylate (TMPTMA), Diurethandimethacrylate, 6-

Methacryloxyhexacryloxyphosphate, Ethyl 4- Dimethyl- Aminobenzoate, DL-Kampferchinone und modifizierte Zirkonium- Dioxide. Zunächst wurde ein Tropfen des Primers EXM678A in ein Dappenglas dosiert. Anschließend wurde das Material für 15 Sekunden sanft auf die Dentinscheibe einmassiert, so dass diese einheitlich rosa gefärbt war. Der verwendete Applikator wurde verworfen. Nachdem ein Tropfen des Adhäsivs EXM671C in ein zweites Dappenglas gefüllt worden war wurde es mit einem neuen Einmalapplikator für 20 Sekunden mit leichtem Fingerdruck einmassiert. Die Rosaverfärbung verschwand hierdurch, was ein Indiz für die Aktivität der Ätzkomponenten ist. Anschließend wurde der Flüssigkeitsfilm für 10 Sekunden vorsichtig verblasen. Das Auftragen des Adhäsivs wurde ein zweites Mal wiederholt und der Flüssigkeitsfilm soweit verblasen, bis keine Flüssigkeitsbewegung mehr sichtbar war. Zuletzt erfolgte die Lichthärtung wie bei den Materialien zuvor.

4.2 Beschreibung der verwendeten Geräte

Abbildung 1 gibt einen Überblick über den verwendeten Versuchsaufbau. Die detaillierte Beschreibung der einzelnen Komponenten erfolgt in den Kapiteln 4.2.1 und 4.2.2

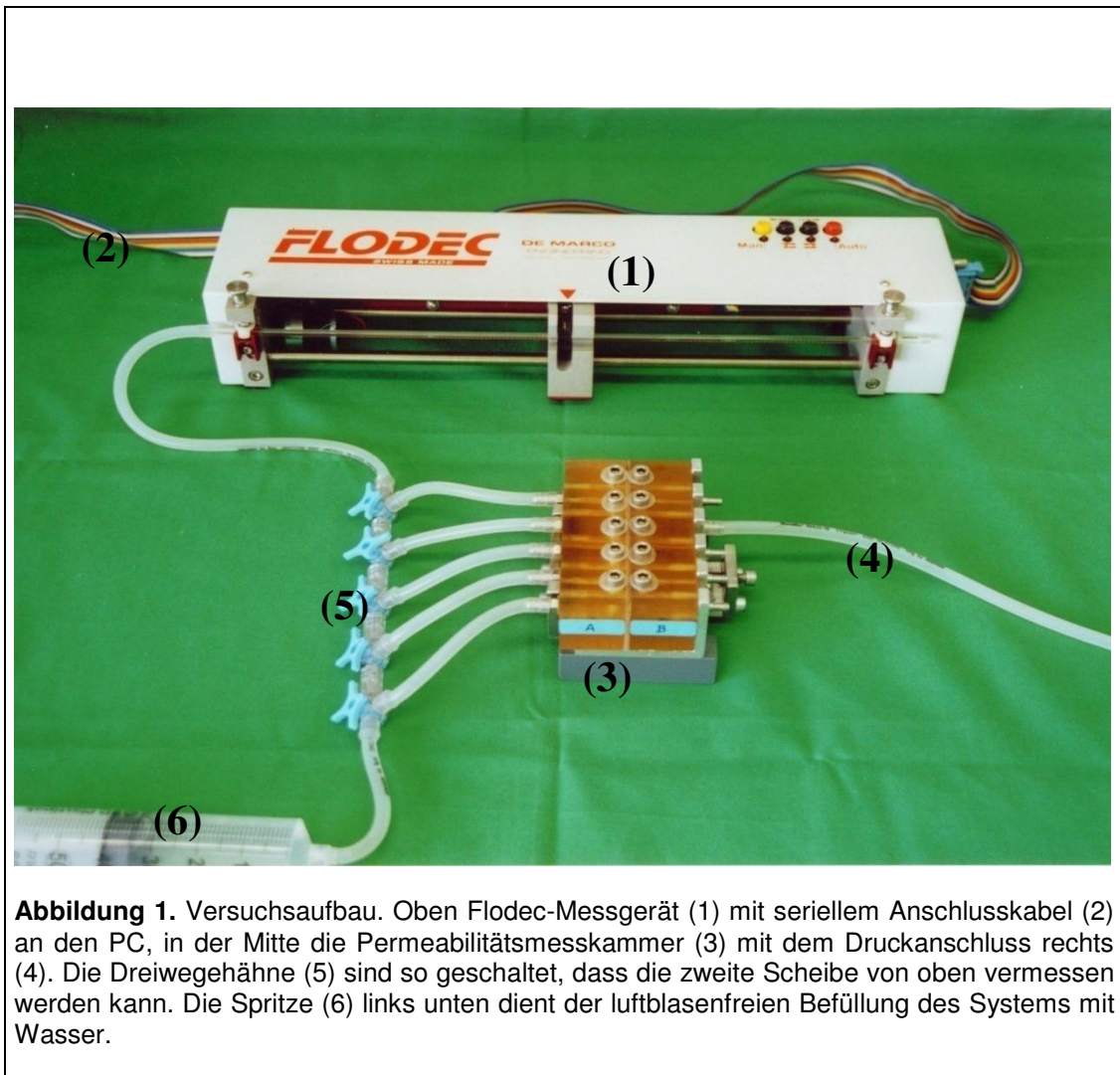


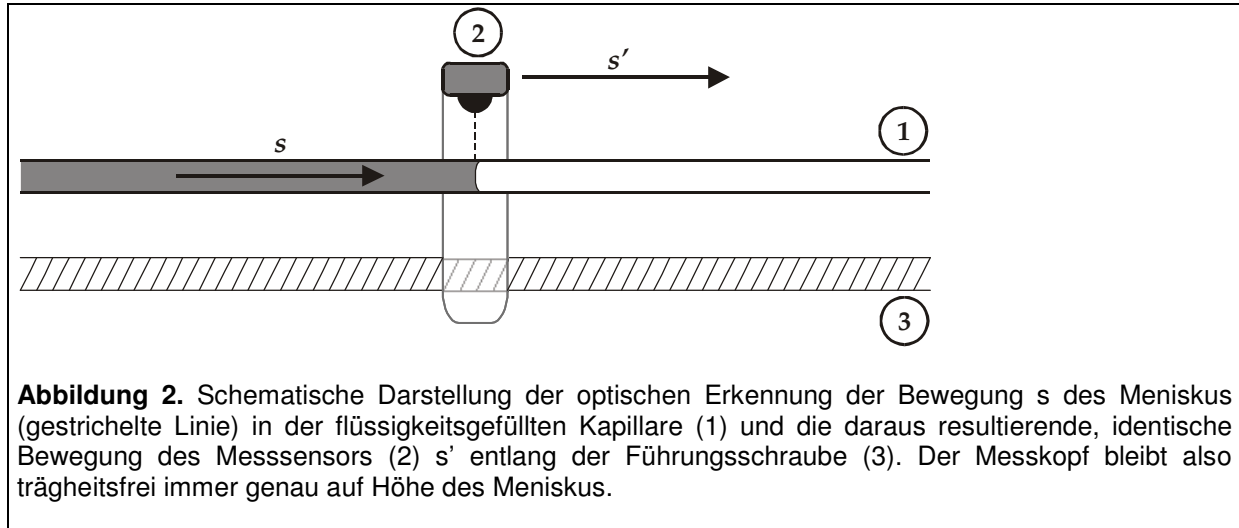
Abbildung 1. Versuchsaufbau. Oben Flodec-Messgerät (1) mit seriellen Anschlusskabel (2) an den PC, in der Mitte die Permeabilitätsmesskammer (3) mit dem Druckanschluss rechts (4). Die Dreiwegehähne (5) sind so geschaltet, dass die zweite Scheibe von oben vermessen werden kann. Die Spritze (6) links unten dient der luftblasenfreien Befüllung des Systems mit Wasser.

4.2.1 Flodec- Messapparatur

Mittels elektrooptischer Verfolgung eines Miniskus in einer Glaskapillare wurde die Flüssigkeitsverschiebung gemessen. Die verwendete Kapillare besitzt einen konstanten Innendurchmesser; unter dieser Voraussetzung ergibt sich eine Proportionalitätskonstante aus dem Quotienten des Volumens der Kapillare und ihrer Länge, sodass die lineare Auslenkung in eine Volumenauslenkung umgerechnet werden kann (134).

Mit einem hochauflösenden Servomechanismus verfolgt Flodec die Position eines Miniskus an der Grenzfläche von Wasser und Luft in einer Glaskapillare. Erfasst wird der Miniskus über ein optisches System, welches selbst keinerlei Einwirkung auf die Flüssigkeitsbewegung im Innern der Kapillare hat. Die Datenausgabe des optischen Detektors wird verstärkt und mit einem Referenzwert verglichen. Die entstehende Differenz

wird zur Ansteuerung eines Elektromotors verrechnet, der entlang der Führungsschraube den Photodetektor bewegt (vgl. Abbildung 2).



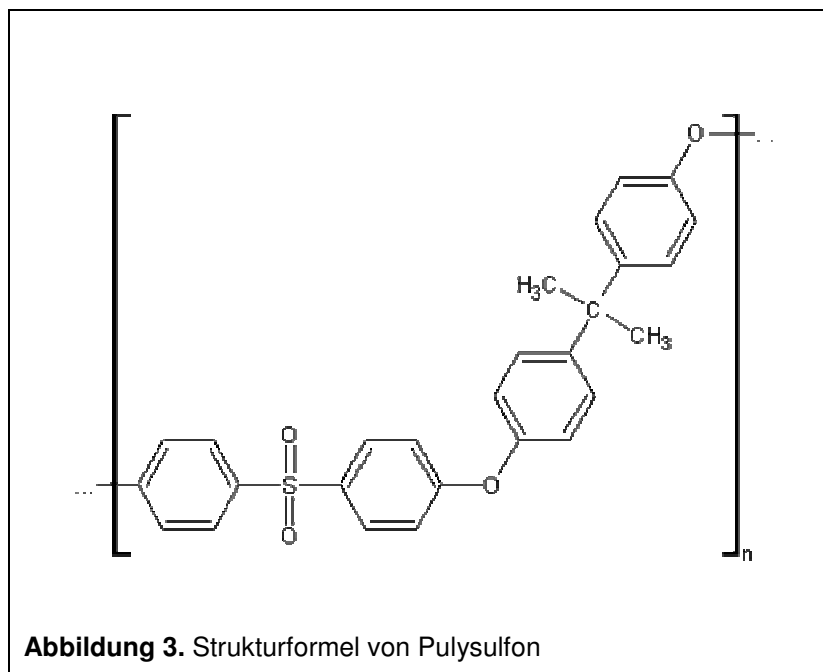
Mit Hilfe dieses Systems kann die Position des Miniskus durch Erfassung der Zahl der Umdrehungen (oder Bruchteilen einer Umdrehung) der Führungsschraube, welche den Photodetektor bewegt, bestimmt werden. Die Messung erfolgt mit einem optischen Encoder, der 500 Impulse pro Umdrehung abgibt. Diese Impulse werden digital gezählt und über die serielle Schnittstellenkarte im IBM- PC direkt am Computer lesbar gemacht. Durch die Charakteristik der Führungsschraube und durch die Anzahl der Impulse pro Umdrehung des optischen Encoders wird die Genauigkeit dieses Systems vorgegeben. Eine Einheit des Encoders entspricht einer Auslenkung von $5 \mu\text{m}$ (33).

Das Auflösungsvermögen von Flodec, also das kleinste messbare Volumen, das nachgewiesen werden kann, beträgt im vorliegenden Versuchsaufbau $2,7 \text{ nl}$ in Abhängigkeit vom Kapillarinne Durchmesser ($0,83 \text{ mm}$) und damit vom sogenannten Kapillarenfaktor c_f ($\approx 1,85 \text{ mm}/\mu\text{l}$). Dadurch dass der Kapillarenfaktor c_f , der ein bestimmtes Volumen mit einer Länge in Beziehung setzt, gegeben ist, können die Flüssigkeitsverschiebungen in der Flodec- Kapillare und in den Dentintubuli als gleich betrachtet werden. Unter diesen Bedingungen lässt sich folglich die hydraulische Leitfähigkeit (vgl. Kap. 2.3) berechnen.

Durch luftblasenfreie Anlagerung der Dentinscheiben an die nachstehend erläuterte Messvorrichtung konnte die entstehende Druckänderung über das benutzte Schlauch- und Rohrsystem eine entsprechende Flüssigkeitsverschiebung in der Glaskapillare verursachen.

4.2.2 Permeabilitätsmesskammer

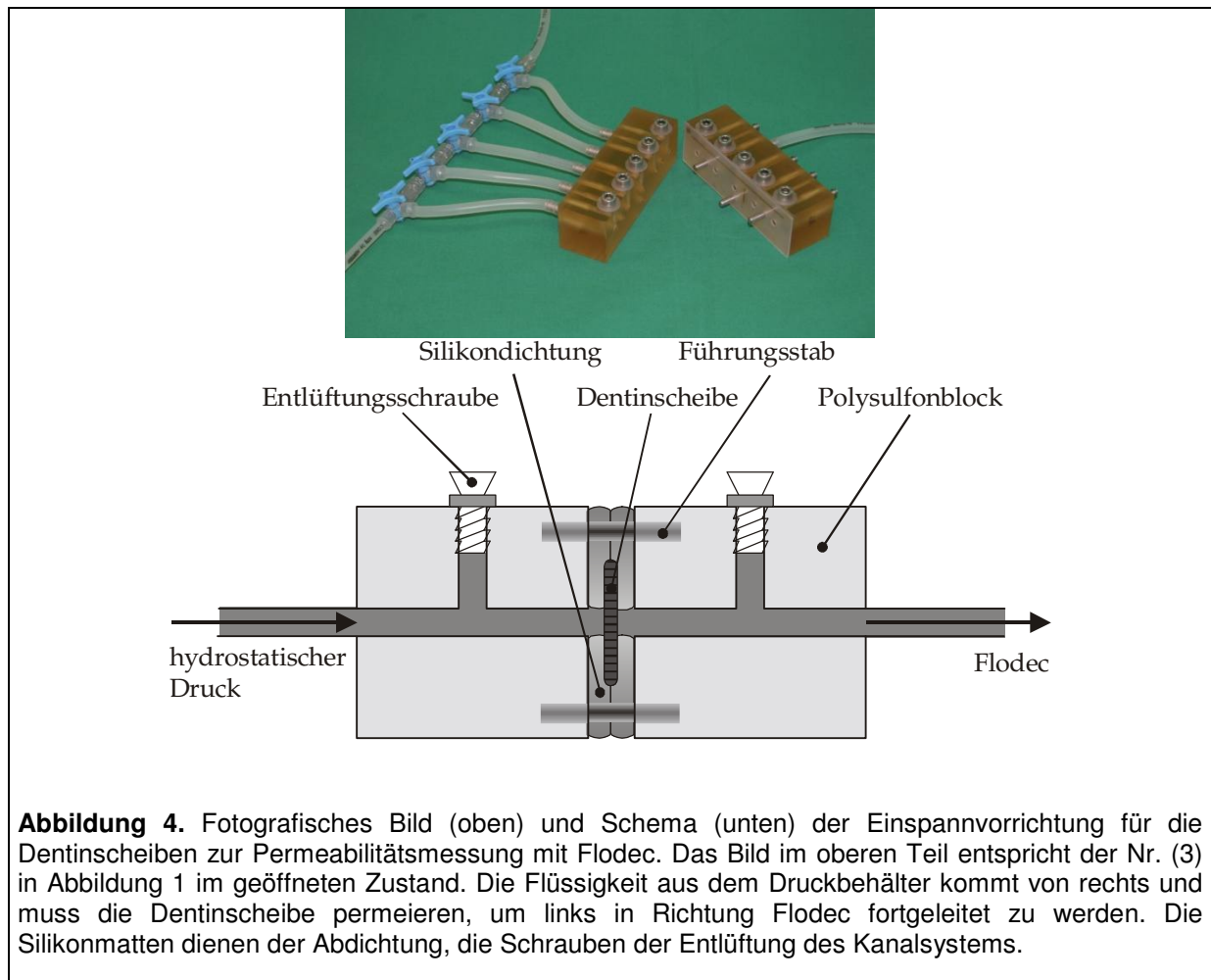
Die Messvorrichtung stellt eine modifizierte Kammer nach *HILLER* et al. dar (70). Die Basis bilden zwei Kunststoffblöcke aus Polysulfon (vgl. Abbildung 3). Polysulfon (PSU) ist ein amorphes thermoplastisches Polykondensationsprodukt, das Formteilen bei hoher Dimensionsstabilität Festigkeit, Steifheit und Zähigkeit bis in die Nähe der Glasübergangstemperatur verleiht. Auch ist es für eine Sterilisation im Autoklaven geeignet, da Polysulfon (Handelsname Ultrason[®] S) bis 220 °C temperaturbeständig ist (6).



Dieser Block ist mit fünf Bohrungen mit einem Durchmesser von je 4 mm versehen. Zwischen zwei entsprechend gelochten Silikonplatten zur Abdichtung wurden fünf Dentinscheiben gelegt. Dabei wurde stets auf Luftblasenfreiheit geachtet. Fixiert wurden die Dentinscheiben in dieser Permeationskammer durch Einspannung mit einem zweiten durchbohrten Polysulfonblock in eine Einspannvorrichtung aus V2A- Stahl. Die Lagesicherung der beiden Polysulfonblöcke gegeneinander erfolgte mit Hilfe von drei Führungsstäben aus V4A- Stahl. Anschließend wurde die Kammer an das Schlauchsystem angeschlossen und mit der Flodec- Einheit verbunden (vgl. Kapitel 4.2.1).

Um eine ordnungsgemäße hydraulische Ankopplung zu ermöglichen, war es erforderlich die restliche noch im System befindliche Luft über Nebenbohrungen entweichen zu lassen.

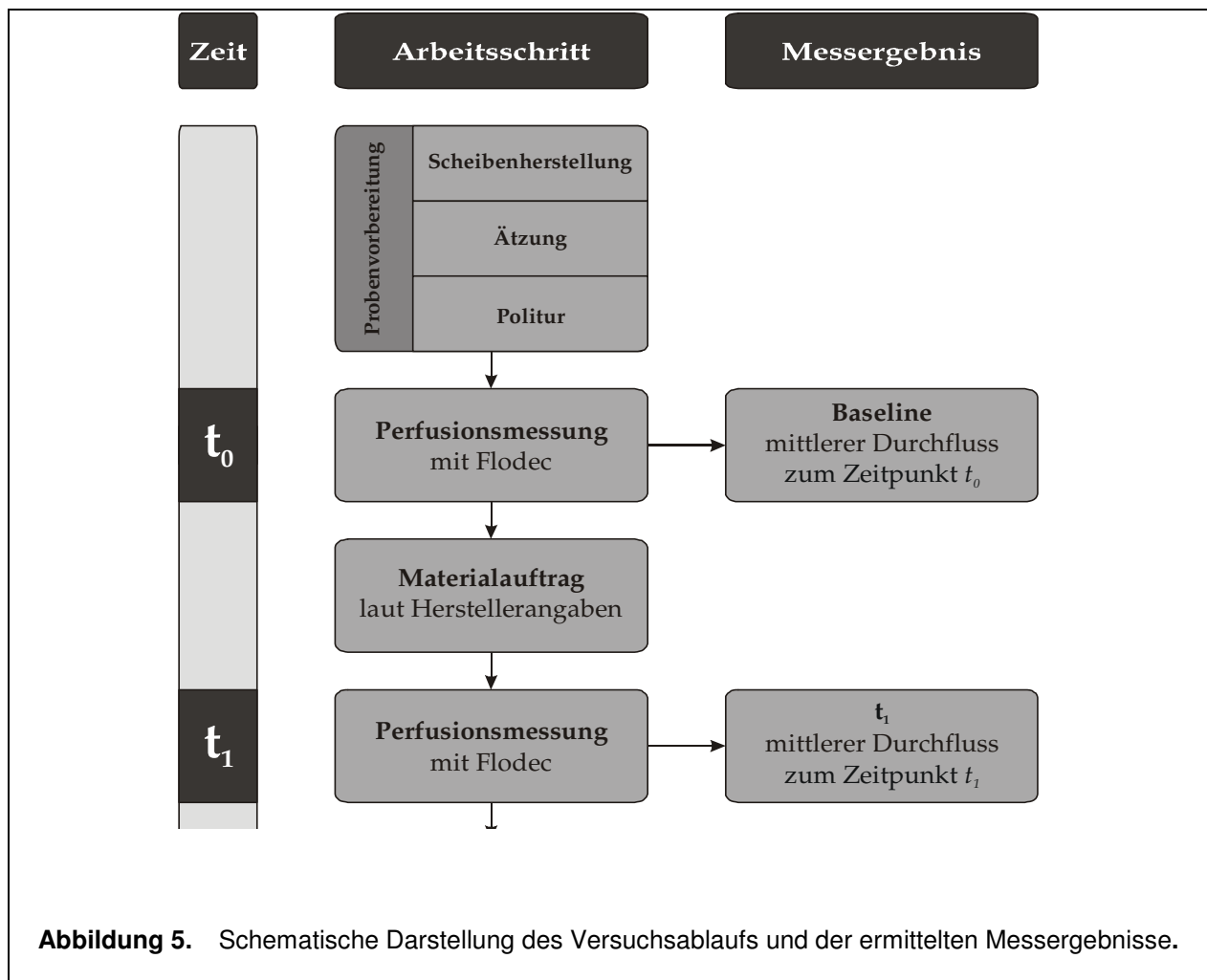
Diese waren durch V4A- Schrauben und Silikondichtungen verschließbar und standen senkrecht zu den Hauptbohrungen in den Polysulfonblöcken (vgl. Abbildung 4)



Nun konnte über Drei- Wege- Hähne und Silikonschläuche (Innendurchmesser 3 mm) die jeweils zu vermessende Dentinscheibe mit der Flodec- Einheit hydraulisch zusammengeschaltet werden. An der pulpanahen geätzten Seite der Dentinscheibe betrug der angelegte Druck ΔP 140 cm Wassersäule, was in SI- Einheiten ausgedrückt 13,7 kPa sind.

4.3 Praktische Vorgehensweise bei den Messungen

Abbildung 5 zeigt einen Überblick über die Reihenfolge des Versuchsablaufs. Die detaillierte Darstellung der einzelnen Positionen erfolgt in den Kapiteln 4.3.1 bis 4.3.7. Es sei jedoch an dieser Stelle schon auf die Bezeichnung der an den entsprechenden Stellen ermittelten Messergebnisse hingewiesen.



4.3.1 Schneiden der Zähne

Die Zähne wurden in mesio- distaler Richtung in Längsscheiben mit 200 µm Dicke geschnitten. Verwendet wurde hierfür eine wassergekühlte, niedertourige, diamantbesetzte Innenlochsäge mit einem Sägeblattloch von 80 mm im Durchmesser. Bei 600 Umdrehungen pro Minute betrug der Vorschub 0,6 mm/s. Mit Hilfe von Zwei- Komponenten- Kaltpolymerisat auf Methacrylatbasis wurden die Zähne an der Haltevorrichtung des Sägemikrotoms fixiert. Vorversuche von *VRANA* (165) zeigen, dass Scheiben mit mesio- distaler Schnittrichtung einen höheren Anteil (47%) permeabler Scheiben lieferten als Scheiben mit oro- vestibulärer Schnittrichtung (23%).

Es wurden lediglich Dentinscheiben mit einer Dicke von 200 µm ± 20 µm zugelassen. Die Messung bzw. Überprüfung der Scheibendicke erfolgte mit Hilfe einer digitalen Bügelmessschraube. Verwendet wurden nur die Scheiben jeweils oberhalb und unterhalb des Pulpenkavums mit intakter Ober- bzw. Unterfläche. Alle anderen Scheiben und nicht planparallele Scheiben wurden verworfen. Pulpanahe Dentinscheiben weisen eine höhere Permeabilität auf als Scheiben aus pulpafernen Regionen da sie u.a. mehr Dentintubuli je Flächeneinheit besitzen (vgl. Kap. 2.1.1.2).

4.3.2 Ätzung

Die Oberfläche des pulpanahen Schnittes wurde mit einer 50%igen wässrigen Lösung von Zitronensäure für 30 Sekunden angeätzt und hierdurch die Schmierschicht entfernt. Damit sollen realitätsgetreue Verhältnisse geschaffen werden. Anschließend wurde zweimal mit destilliertem Wasser gespült. Damit stimmt die Ätzmethode, wie in der Literaturübersicht angegeben (vgl. Kap. 2.1.2), mit derjenigen von *EIBL*, *DAUBNER* und *VRANA* überein (31,39,165). Der Ätzvorgang wurde vor dem Beschleifen der pulpafernen Seite (vgl. Kap. 4.3.3) durchgeführt. Damit soll verhindert werden, dass die Säure, die unter Umständen die Dentintubuli passieren könnte, die pulpaferne Seite ebenso anätzt und somit die neu entstandene Schmierschicht verändert oder gar entfernt.

4.3.3 Herstellung einer definierten Schmierschicht

Auf der pulpaferen Seite wurde die Schmierschicht belassen, da diese Scheibenseite nicht geätzt worden war. Mit Hilfe der Schleif- und Poliermaschine Metaserv Motopol 8 wurde diese Seite der Scheibe mit einer SiC- Körnung von 600 grit und einem Anpressdruck von 1,47 Pa (150 g) für 10 Sekunden bei 100 Umdrehungen pro Minute beschliffen. Nach dem Schleifvorgang wurde nochmals die Dicke der Scheiben kontrolliert. Scheiben, welche eine Dicke < 180 µm aufwiesen, wurden verworfen.

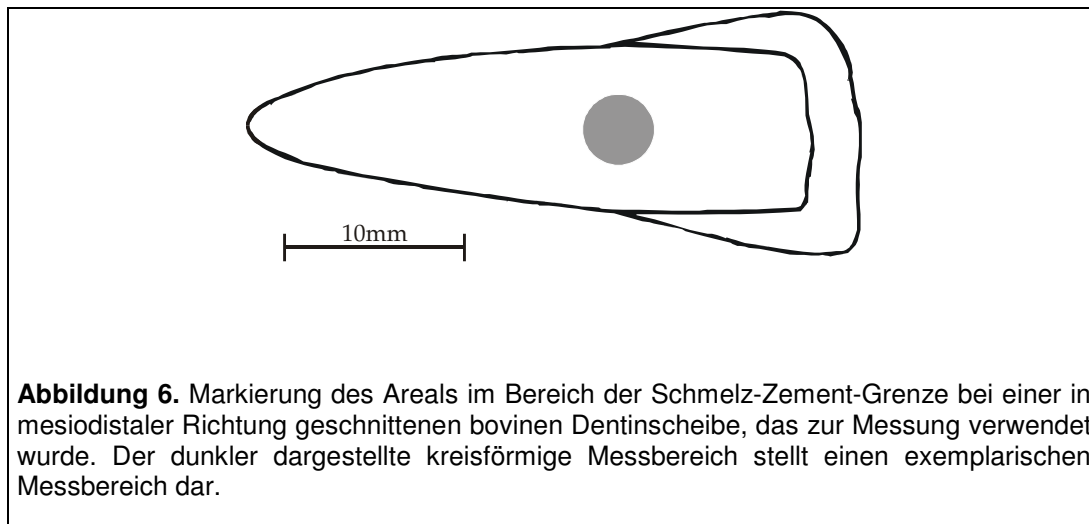
4.3.4 Lagerung der Scheiben

Die fertig vorbereiteten Dentinscheiben lagerten maximal 36 Stunden bei 4°C in physiologischer Kochsalzlösung (0,9% NaCl). Aus arbeitsergonomischen Gründen erwiesen sich längere Lagerzeiten als nicht praktikabel. Auch konnte aufgrund der kurzen Lagerungszeiten der Dentinscheiben von einer Desinfektion oder gar Sterilisation der Scheiben abgesehen werden (31,127). Zumal beeinflussen die Lagerungszeit und das Medium die Permeabilität und hydraulische Leitfähigkeit der Dentintubuli vernachlässigbar gering (107).

4.3.5 Permeabilitätsmessung

Die Dentinscheiben wurden in die oben beschriebene Messvorrichtung (vgl. Kap 4.2.1 mit 4.2.2 und Abbildung 1) eingespannt und sowohl vor Materialauftrag (Baseline, t_0) als auch nach Materialauftrag (Baseline, t_1) auf ihre Permeabilität hin vermessen. Jede Scheibe war durchnummeriert und lag dabei so in der Messeinheit, dass sie immer an der gleichen Bohrung (insgesamt 5) zu liegen kam und dank einer Markierung auch immer wieder identisch zu reponieren war. Dies gewährleistete, dass auch immer der gleiche Ausschnitt einer Dentinscheibe permeiert und damit vermessen wurde. Abbildung 6 stellt den gewählten Bereich dar, welcher zur Permeabilitätsmessung verwendet wurde. Der Radius des kreisförmigen Bereichs beträgt dabei 2 mm , folglich betrug die Fläche des Messbereichs $A = \pi r^2 = (2 \text{ mm})^2 \pi = 0,12566 \text{ cm}^2$.

Der angelegte Druck betrug bei jeder Messung 140 cmH₂O (= 13,7 kPa). Als Permeationsmedium wurde Aqua dest. verwendet. Gemessen wurde bei Raumtemperatur (22 ± 2 °C) bei einem Stichprobenumfang von $n = 30$ je Testmaterial und Kontrolle (vgl. dazu auch Tabelle 2).



4.3.6 Materialauftrag

Damit ein Verrutschen der Dentinscheiben ausgeschlossen werden konnte, wurde vor dem Materialauftrag die Messkammer behutsam geöffnet. Nach Fixierung des Polysulfonblocks in einer Halterung (vgl. Abbildung 7) wurde die abdeckende Silikonmatte vorsichtig entfernt und die Lage der Scheiben kontrolliert. Die in Kap. 4.1.2 genannten Materialien wurden nun wie vom jeweiligen Hersteller gefordert (vgl. Kap. 4.1.2.1, 4.1.2.2, 4.1.2.3 und 4.1.2.4) auf die pulpaferne Seite der freiliegenden Scheiben appliziert. Nach der Materialapplikation wurden über die Führungsstäbe die Silikonmatte und der zweite Polysulfonblock wieder ordnungsgemäß befestigt. Die Messvorrichtung wurde kontrolliert, entlüftet und wieder so vorbereitet (vgl. Kap. 4.2.2), dass eine neue Permeabilitätsmessung durchgeführt werden konnte. Die nicht mit Material versehenen Kontrollscheiben wurden im zweiten Messdurchgang genauso behandelt wie beschickte Scheiben und somit nochmals vermessen.



Abbildung 7. Geöffnete Messkammer mit Dentinscheiben. Dargestellt ist eine Hälfte der Messkammer (vgl. Abbildung 4.) mit aufliegender Silikondichtungsmatte und fünf Dentinscheiben, die an den schwarzen Markierungslinien orientiert liegen. Die drei Führungsstäbe ermöglichen die Lagesicherung zum zweiten Polysulfonblock. Die Halterung fixiert den Block für den Zeitraum des Materialauftrags.

4.3.7 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

An einigen Dentinscheiben, eigens für die fotografische Dokumentation hergestellt, wurden Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (Quanta FEG 400) vorgenommen. Die Scheiben wurden genauso behandelt wie diejenigen im Perfusionsteil der Studie.

Die Dentinscheiben wurden direkt nach Materialauftrag, ohne Materialauftrag mit Perfusionsmessung und nach Materialauftrag mit Perfusionsmessung untersucht. Transportiert wurden die zu untersuchenden Scheiben in Petrischalen, welche zuvor mit Aqua bidest. Gefüllt wurden. Dies sollte ein Austrocknen der Scheiben während des Transportes verhindern. Für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der Aufsicht wurden die Scheiben im feuchten Zustand auf Stubs befestigt und sofort im Low- Vacuum-Modus (LV) im Rasterelektronenmikroskop mit Feldemissionsmethode untersucht. Zur Anwendung kam ein Large Field Detector (LFD) mit einer Pressure Limiting Apperture (PLA). Die Beschleunigungsspannung betrug 4 kV, der Arbeitsabstand (working distance,

WD) 7-8 mm bei 1,5 Torr (entspricht 0,2 kPa) Umgebungsdruck. Es entstanden Aufnahmen in 500facher, 1 000facher, 2 500facher, 5 000facher und 10 000facher Vergrößerung.

Für die Aufnahmen, welche die Bruchkanten der Scheiben zeigen, wurden die Scheiben ebenfalls in Petrischalen transportiert. Anschließend wurden die Dentinscheiben im feuchten Zustand zwischen je zwei Glasobjektträger gelegt und in Zahnängsachse so mittig wie möglich gebrochen. Nach Befestigung der Scheibe im Probenhalter in gekippten Zustand (tilt 5°) erfolgte die Untersuchung der Scheibe wiederum im Low- Vacuum- Modus mit LFD und PLA bei 4 kV Beschleunigungsspannung, 1,5 Torr Umgebungsdruck und einer WD von 10mm in 500facher, 1 000facher, 2 500facher, 5 000facher und 10 000facher Vergrößerung.

4.4 Datenverarbeitung und statistische Auswertung

4.4.1 Rohdatenerfassung

Jede Dentinscheibe wurde nummeriert und für jeweils 120 Sekunden zu den Zeitpunkten t_0 und t_1 gemessen. Hierbei wurde die Auslenkung des Miniskus in der Flodec- Kapillare verfolgt und die jeweiligen Messwerte pro Sekunde am PC registriert. Die Rohdaten lagen im ASCII- Dateiformat vor und konnten mit Excel (Microsoft Excel 2000) dargestellt werden. Um einen Sicherheitsabstand zu gewinnen, wurden in einem ersten Schritt die Daten der ersten und letzten 15 Sekunden verworfen. Dies sorgte dafür, dass eventuelle Druckereignisse, welche im Zusammenhang mit der An- oder Abkoppelung vom Druckbehälter standen, nicht in die Messung mit einfließen. Dadurch wurde der Forderung, das System solle weitgehend sich selbst überlassen und unabhängig von Umwelteinflüssen sein, nachgekommen. Nun konnten für die effektive Messung der einzelnen Dentinscheiben die mittleren 90 Sekunden herangezogen werden.

4.4.2 Ermittlung des mittleren Durchflusses

Die über die Flodec- Einheit gewonnenen Messwerte waren Datenpaare bestehend aus Zeit in Sekunden und Position des Flüssigkeitsminiskus in der Kapillare in Millimeter. Diese wurden in Sigma Plot (Sigma Plot 8.0) übernommen und grafisch in einem Weg- Zeit- Diagramm dargestellt (vgl. Abbildung 8).

Die Ermittlung einer mittleren Steigung der Messwerte diente zur Bestimmung des mittleren Durchflusses, also der Positionsänderung des Miniskus pro Zeit (in mm/s). Hierfür wurden diese einem linearen Fit unterworfen und die so angepasste Gerade $y = a + bx$ bestimmt, wobei b die Steigung der Geraden bezeichnet. Somit gibt der Wert von b für eine einzelne Messung den mittleren Durchfluss pro Zeiteinheit an. Je gleichmäßiger der Anstieg der Meniskusposition verläuft, desto aussagekräftiger erscheint diese Gerade und damit der Wert von b . Deswegen wurde zusätzlich ein sog. Bestimmtheitsmaß, nämlich das Quadrat des Pearson'schen Korrelationskoeffizienten r , ermittelt. Dieses r^2 ist ein dimensionsloser Index und liegt im Wertebereich $0 \leq r^2 \leq 1$. Es gibt den Grad der Übereinstimmung zwischen der gemittelten Geraden und den tatsächlichen Daten an. Je näher sich der Betrag des Bestimmtheitsmaßes dem Wert 1 nähert, desto höher ist die Verlässlichkeit einer Ausgleichsgeraden. Der Grenzwert wurde arbiträr festgelegt. Somit wurden in die statistische Auswertung nur Dentinscheiben aufgenommen, deren r^2 bei keiner der drei Messungen kleiner als 0,6 war. Dies sollte verhindern, dass Messungen von Scheiben, bei denen der Flodec- Messkopf beispielsweise nur einen einzigen Sprung innerhalb der 90 Sekunden machte, die Messergebnisse verfälschten. Auf diese Weise ergab sich ein Stichprobenumfang von $n = 30$ je Untersuchungsgruppe (vgl. Tabelle 2).

Danach wurden die ermittelten b - Werte der jeweiligen Messung von t_1 zu der zugehörigen Baseline in Relation gesetzt und somit die relativen b - Werte registriert. Der b - Wert zum Zeitpunkt t_0 entspricht somit 100%. Jede Dentinscheibe diente also selber als ihre eigene Kontrolle. So bedeutet beispielsweise ein relativer b - Wert aus t_1 von 30% eine dementsprechende Reduktion der Dentinpermeabilität um 70%.

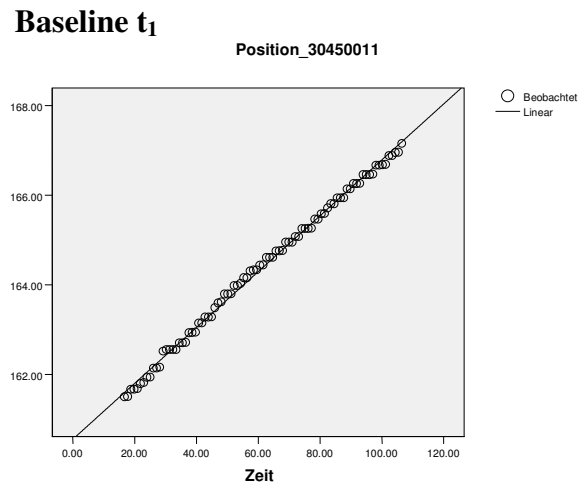
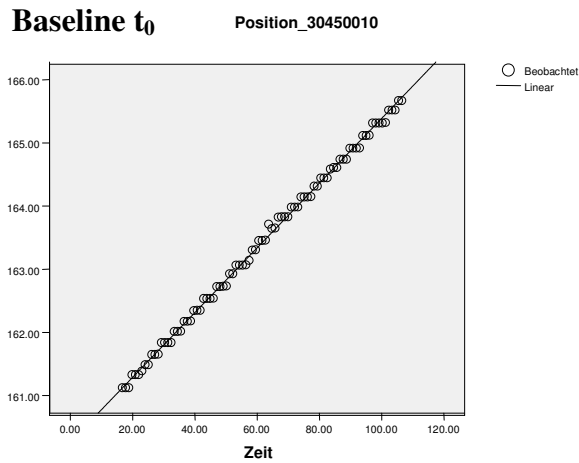


Abbildung 8. Visualisierung der Messwerte und Darstellung des mittleren Durchflusses. Die Messzeit beträgt jeweils 120 Sekunden. Die Steigung b des linearen Fits ergibt den mittleren Durchfluss. Die dargestellten Diagramme stammen von Scheibe Nr. 450, wobei die Korrelationskoeffizienten r^2 bei 0,998 zum Zeitpunkt t_0 lagen und bei 0,997 zum Zeitpunkt t_1 .

4.4.3 Berechnung der hydraulischen Leitfähigkeit L_p

Jetzt ist es möglich, den mittleren Durchfluss b (vgl. Abbildung 8), welcher sich aus der primären Auswertung der Rohdaten ergibt, in die Formel für die hydraulische Leitfähigkeit (vgl. Diss. VRANA (165) Gleichung 3 in Kap. 3.2.3) einzusetzen. Der Kapillarenfaktor c_f der

benutzten Flodec- Kapillare beträgt 1,8482211 mm/μl. Die Umrechnung der Druckeinheit „cmH₂O“ in SI- Einheit erfolgt mit Hilfe eines Faktors (vgl. (165) Gleichung 5 in Kap. 3.2.3). Somit konnte L_p in Abhängigkeit vom jeweiligen b berechnet werden:

$$\begin{aligned}
 L_p &= \frac{R_{perf}}{\Delta P \cdot A} = \frac{b}{\Delta P \cdot A \cdot c_f} = \\
 &= \frac{b}{140 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot 0,12566 \text{ cm}^2 \cdot 1,8482211 \frac{\mu\text{l}}{\text{s}}} = \\
 &= \frac{b \cdot 10^{-9} \text{ m}^3}{(140 \cdot 98,0665) \frac{\text{N}}{\text{m}^2} \cdot 0,12566 \cdot (10^{-2} \text{ m})^2 \cdot 1,8482211 \text{ s}} = \\
 &= \frac{b \cdot 10^{-7}}{31,88597422} \cdot \frac{\text{m}^3}{\text{N} \cdot \text{s}} = b \cdot 3,13617515 \cdot 10^{-9} \frac{\text{m}^3}{\text{N} \cdot \text{s}}
 \end{aligned}$$

4.4.4 Statistische Analyse

Die deskriptive Darstellung der Daten erfolgt als Mediane mit den entsprechenden 25%- und 75%- Quantilen (vgl. Abbildung 9.). Anhand der ermittelten mittleren Durchflüsse werden mit Hilfe von SPSS (SPSS for windows 11.0) für die unabhängigen Stichproben Mann- Whitney- Tests und für die abhängigen Stichproben Wilcoxon- Tests auf dem Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ durchgeführt. Unter Verwendung der Error- Rates- Methode ergeben sich hieraus Erkenntnisse über den Einfluss der Parameter (96). Hierbei wird das Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ adjustiert zu $\alpha^*(k) = 1 - \sqrt[k]{1 - \alpha}$, wobei k die Anzahl der zu betrachtenden paarweisen Tests ist.

Anhand eines Variationskoeffizienten (angegeben in %) wurde untersucht, ob die Variation der Ergebnisse in vorliegender Studie mit pulpanahen Dentinscheiben sich von den Ergebnissen vorheriger Studien mit pulpafernen Dentinscheiben (vgl. (31,165)) unterscheiden.

Variationskoeffizient (%) = Streuung/ Werte der zentralen Tendenz

5 Ergebnisse

5.1 Permeabilitätsmessungen

In den folgenden gezeigten Ergebnissen werden die Werte der Steigungen der Geraden, also des mittleren Durchflusses b , dargestellt. Die pulpanahen Rinderdentinscheiben wurden fünf Materialgruppen zugeteilt und wie in Tabelle 2 ersichtlich zugeordnet und zur Analyse gesampelt.

Material	Anzahl der Stichproben	Gesampelt zur Analyse
Kontrolle ohne Material	41	30
Gluma Desensitizer	35	30
Adper- Prompt L- Pop	36	30
EXL 683	30	30
EXM678A & EXM671C	31	30

Tabelle 2. Verteilung der Stichproben auf die eingesetzten Materialien.

Vor der Beschickung mit dem jeweils vorgesehenen Material wurden die pulpanahen Dentinscheiben auf ihre hydraulische Leitfähigkeit L_p hin vermessen (t_0). Zum Zeitpunkt t_0 war die Permeabilität der Scheiben, welche später als Kontrollen ohne Materialauftrag den gesamten Versuchsablauf durchliefen, etwa genauso hoch wie die der Scheiben, die später mit Gluma Desensitizer, Adper- Prompt L- Pop, EXL 683 und EXM678A & EXM671C behandelt wurden. Dabei variierte der Median der L_p - Werte zwischen $0,024 \times 10^{-9} \text{ m}^3 \text{ N}^{-1} \text{ s}^{-1}$ und $0,032 \times 10^{-9} \text{ m}^3 \text{ N}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Diese Basisdaten unterscheiden sich nicht signifikant unter den Materialien. Die Ergebnisse sind in Abbildung 9 grafisch und in Tabelle 3 dargestellt.

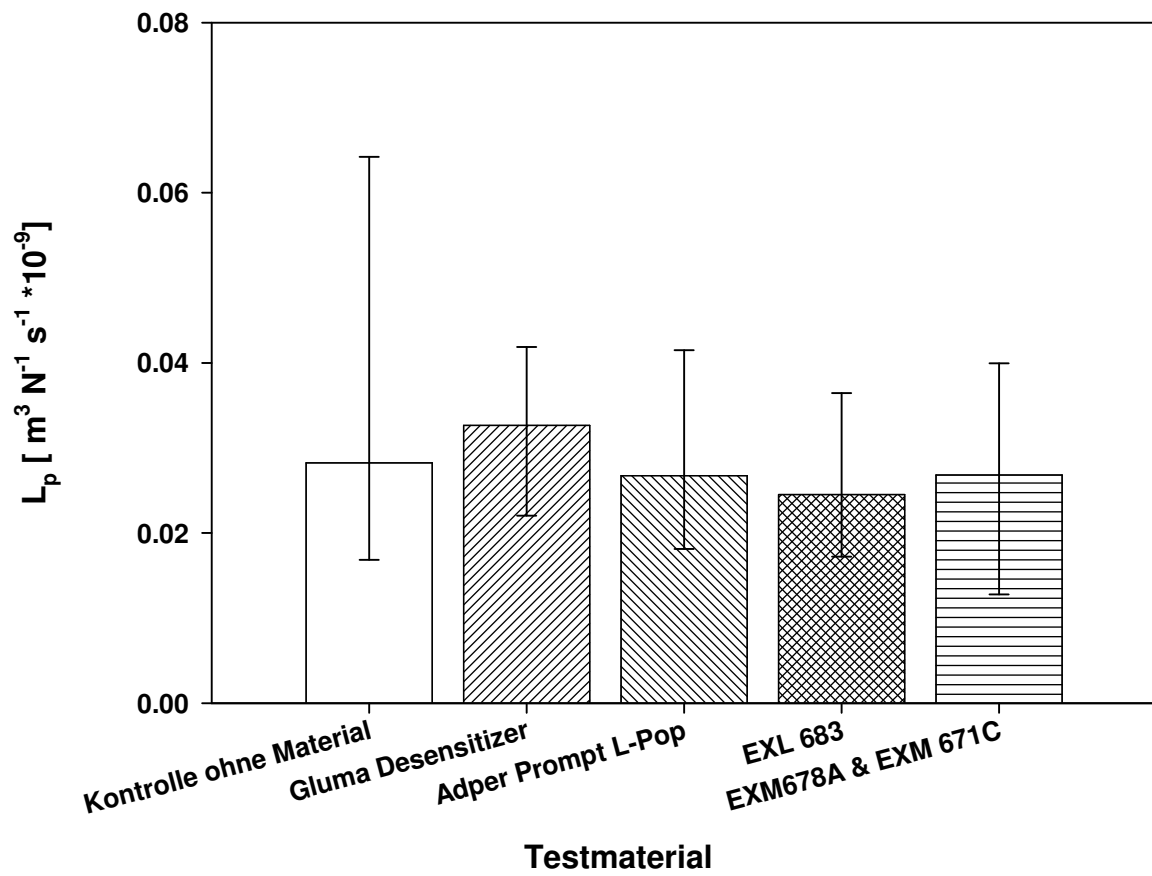


Abbildung 9. Darstellung der hydraulischen Leitfähigkeit L_p der pulpanahen Dentinscheiben vor Materialauftrag, also zum Zeitpunkt t_0 (Median und 25%- 75%- Quantile).

Material	50% Perzentile	25% Perzentile	75% Perzentile
Kontrolle ohne Material	.0282653	.0168259	.0642194
Gluma Desensitizer	.0326609	.0220511	.0418744
Adper Prompt L- Pop	.0267641	.0181511	.0415115
EXL 683	.0245280	.0172395	.0364665
EXM678A & EXM671C	.0268023	.0127680	.0399683

Tabelle 3. Relativer Durchfluss der Testmaterialien zum Zeitpunkt t_0 . Angegeben ist der Median und die 25%- 75% Perzentile.

Die Mediane der dazu relativen L_p - Werte ($L_{p\ rel}$) der folgenden Messung t_1 - also Durchfluss nach Materialauftrag- ergab sich wie aus Tabelle 4 ersichtlich. In Klammern angegeben sind jeweils die 25%- und 75%- Quantilen.

Material	$L_{p\ rel}$ (%) nach Materialauftrag
Kontrolle ohne Material	100,7 (79- 121)
Gluma Desensitizer	77,3 (48- 115)
Adper Prompt L- Pop	35,7 (23- 61)
EXL 683	48,1 (24- 68)
EXM678A & EXM671C	40,2 (12- 74)

Tabelle 4. Ergebnisse der Messungen der hydraulischen Leitfähigkeit $L_{p\ rel}$. Die Prozentangaben beziehen sich auf den L_p - Wert der Baseline- Messung (100%). Angegeben ist jeweils der Median und in Klammern die 25%- 75%- Quantile.

Dieser relative Durchfluss- in Prozent der zugrunde liegenden Messung vor Materialauftrag je Material- ist für die Messung nach Materialauftrag in Abbildung 10 dargestellt. Die Beschreibung der Ergebnisse der Signifikanztests zeigt Tabelle 5.

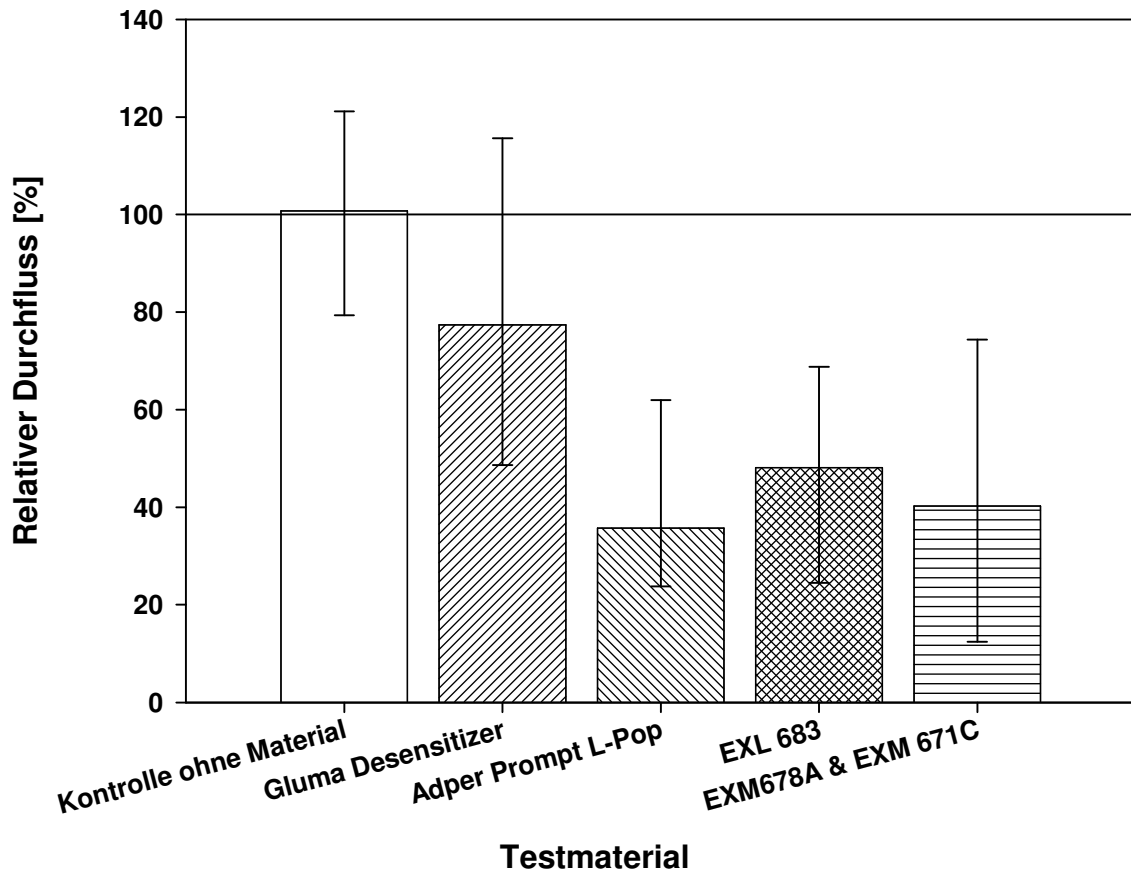


Abbildung 10. Relativer Durchfluss durch die pulpanahen Dentinscheiben der verwendeten Materialien im Vergleich, also zum Zeitpunkt t_1 . Die horizontale Linie bei 100% zeigt den Referenzwert der Scheiben ohne Behandlung (Baseline).

	Kontrolle	Gluma Desensitizer	Adper Prompt L- Pop	EXL 683	EXM678A & EXM671C	Relativer Durchfluss in %
Kontrolle	-	nicht signifikant	0,00	0,001	0,000	
Gluma Desensitizer	nicht signifikant	-	0,001	0,014	0,002	
Adper Prompt L- Pop	nicht signifikant	nicht signifikant	-	nicht signifikant	nicht signifikant	
EXL 683	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	-	nicht signifikant	
EXM678A & EXM671C	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	-	
L_p vor Materialauftrag						

Tabelle 5. Irrtumswahrscheinlichkeiten p der paarweisen Tests.

Anschließend ergaben sich unter Verwendung der Error- Rates- Methode mit angepasstem Signifikanzniveau mit $\alpha^*(k)=1-\sqrt[k]{1-\alpha}$ (mit k als Anzahl der beim jeweiligen Versuch auftretenden Testkombinationen) folgende Erkenntnisse:

- Materialauftrag reduziert die hydraulische Leitfähigkeit gegenüber der Kontrolle signifikant.
- Die experimentellen Formulierungen unterscheiden sich nicht signifikant vom Adper Prompt L-Pop.

5.2 Variabilität der Daten

Die Variationskoeffizienten konnten bei der Kontrolle und bei Adper Prompt L- Pop durch die Verwendung pulpanaher Dentinscheiben deutlich verringert werden, wie Tabelle 6 zeigt (vgl. (31,165)).

Material	vorliegende Ergebnisse	frühere Ergebnisse (31,165)
Kontrolle	20,8	28,0
Gluma Desensitizer	43,3	36,7
Adper Prompt L- Pop	53,4	89,1

Tabelle 6. Variationskoeffizienten der einzelnen „Testmaterialien“

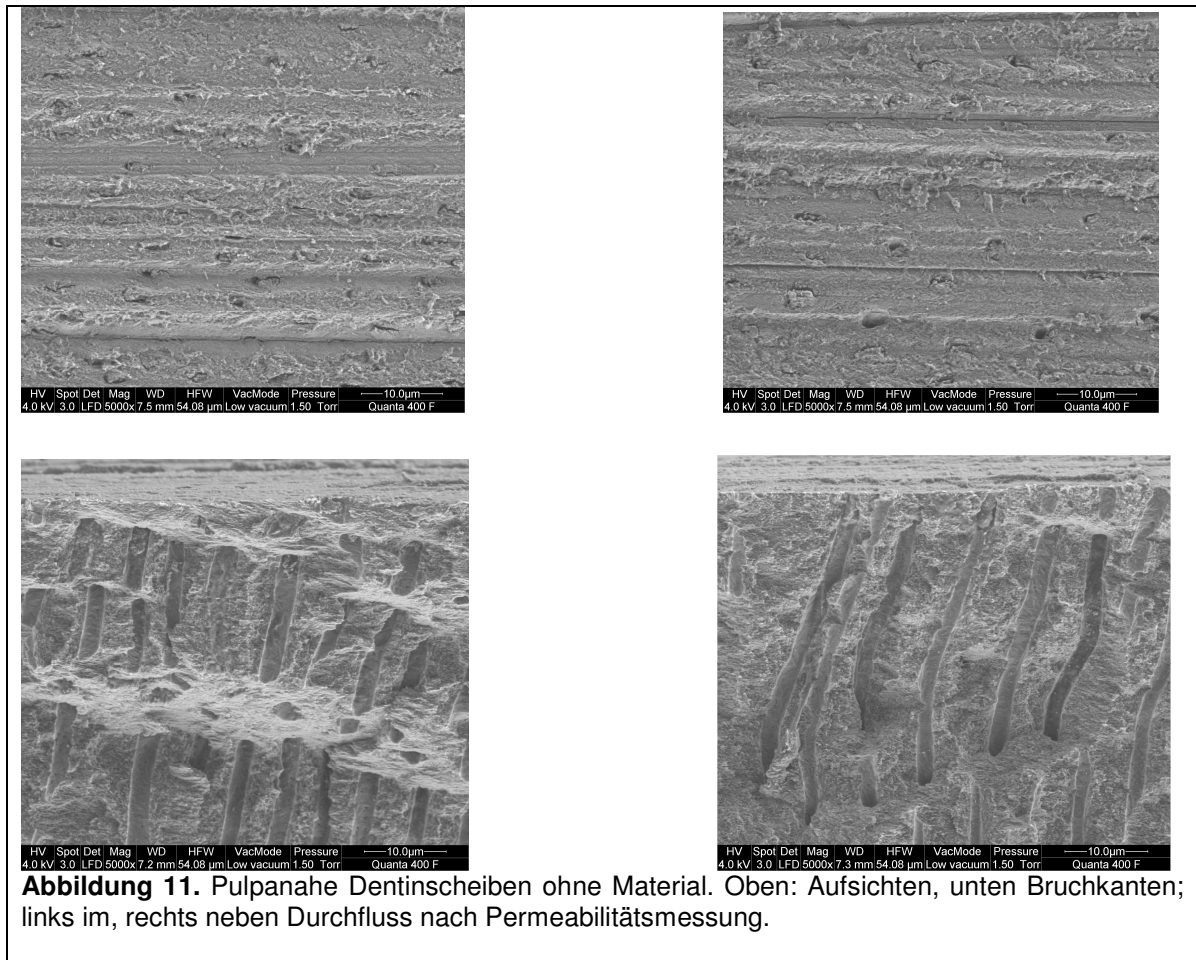
5.3 Rasterelektronenmikroskopische Darstellungen

Die nachfolgenden Abbildungen wurden entsprechend den Angaben in Kapitel 4.3.7 angefertigt. Sie zeigen, wenn nicht anders angegeben, Dentinscheiben in 5 000facher Originalvergrößerung und sollen zum Verständnis der gefundenen Ergebnisse aus Kapitel 5.1 beitragen.

5.3.1 Kontrolle

Abbildung 11 zeigt zunächst einen Vergleich einer nicht mit Material beschickten pulpanahen Kontrollscheibe im und neben dem Durchflussbereich nach Permeabilitätsmessung. Sowohl im als auch neben der Durchflussstelle zeigt die Aufsicht- Aufnahme das typische Muster der Polierschmierschicht. Die Dentintubulieingänge sind sichtbar, leicht gefüllt und nicht dicht verschlossen.

Bei den Bruchfläche- Aufnahmen sind sowohl im als auch neben dem Durchflussbereich Reste der Schmierschicht in den Öffnungen der Dentintubuli zu sehen. In der Tiefe der Scheiben finden sich organische Reste innerhalb der Dentintubuli.

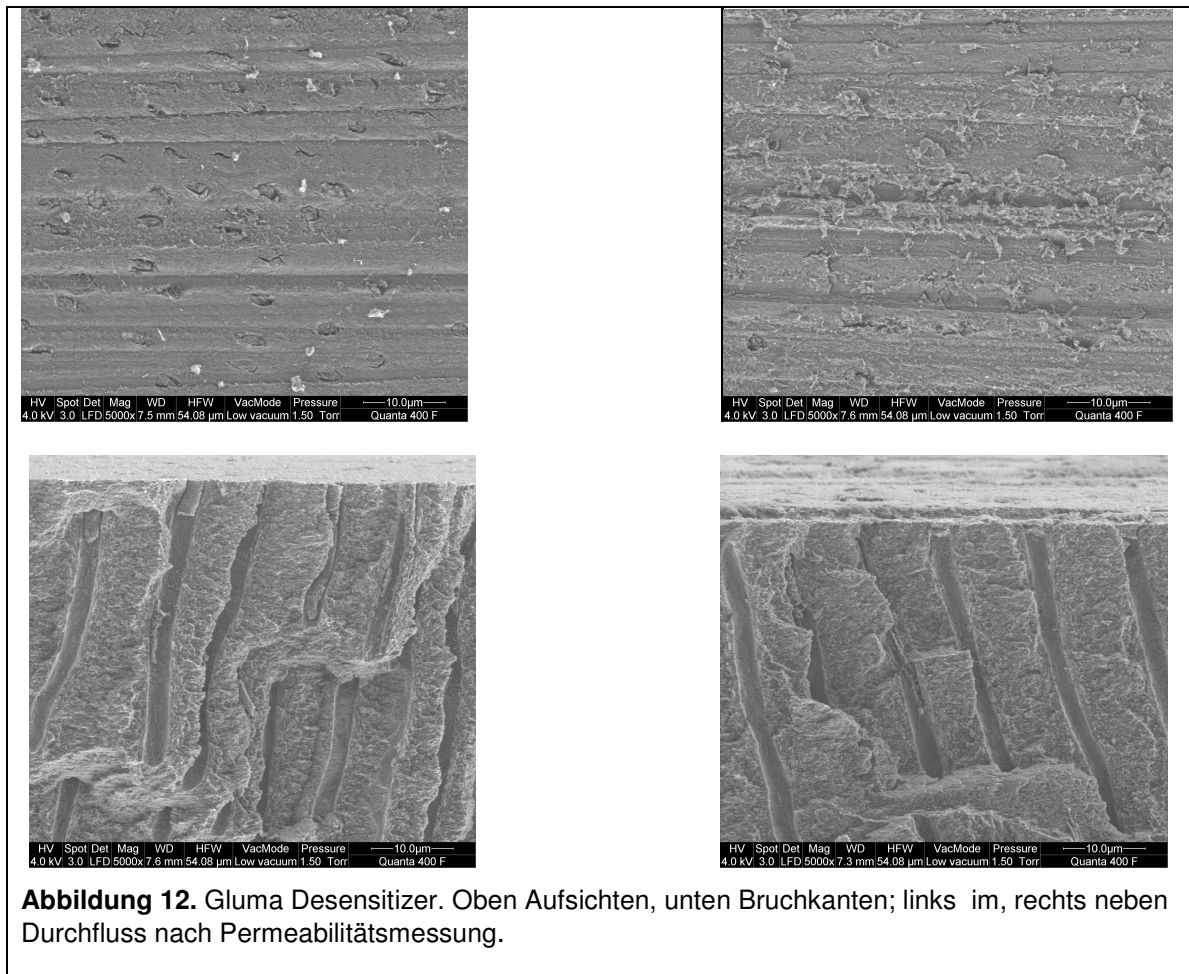


5.3.2 Gluma Desensitizer

Die Aufsicht- Aufnahme im Durchflussbereich (Abbildung 12, oben links) zeigt punktförmige Auflagerungen auf dem Dentin bei denen es sich evtl. um Gluma Desensitizer/Dentin- Reste handelt. Es ist keine geschlossene Schicht des Materials sichtbar, aber ein Riefen- Muster vom Polieren (600 grit). Die Dentintubulieingänge sind sichtbar, leicht gefüllt aber nicht verschlossen. Neben dem Durchflussbereich zeigt die Aufsichtaufnahme (Abbildung 12, oben rechts) keine punktförmigen Auflagerungen. Es ist keine geschlossene Schicht des Materials sichtbar, aber eine faserige Dentineoberfläche, welche wahrscheinlich durch Kontakt/Abziehen der Silikonmatte entstanden ist.

Die Bruchkante-Aufnahme zeigt im Durchflussbereich (Abbildung 12, unten links) keine oberflächliche Gluma Desensitizer- Schicht. In den Dentintubuli finden sich Reste der Schmierschicht, „filzartige“ Tags, bei denen es sich evtl. um Gluma Desensitizer/Dentin-

Reste handelt. Außerdem findet sich in einigen Tubuli ein fadenförmiger Inhalt, der evtl. organische Reste darstellt die durch den Wasserdruck (140 cm H₂O) von der Dentintubuliwand gelöst worden sind. Vereinzelt findet man dies jedoch auch im Bereich neben dem Durchflussbereich (Abbildung 12, unten rechts), der ebenfalls keine oberflächliche Gluma Desensitizer- Schicht aufweist. Dort sind die Dentintubuli an der Oberfläche deckelartig durch die Schmierschicht verschlossen.



5.3.3 Adper Prompt L- Pop

Die Aufsicht- Aufnahme im Bereich des Durchflusses (Abbildung13, oben links) zeigt eine kompakte, wellige Materialschicht mit aufgelagerten Blasen unterschiedlicher Größe. Die Dentintubulieingänge sind nicht sichtbar. Neben dem Durchflussbereich sieht man in der

Aufsicht (Abbildung 13, oben rechts) eine kompakte, nahezu strukturlose Materialschicht mit aufgelagerten Blasen, die durch die Silikonmatte beim Messen flachgedrückt wurden.

Die Aufnahme der Bruchkante zeigt im und neben dem Durchflussbereich (Abbildung 13, unten links & rechts) eine oberflächlich eng anliegende Schicht mit häufiger Tagbildung die schuppig bricht. Die Tags sind ca. 20 µm lang und haben stumpfe oder spitz auslaufende „milchige“ Enden (evtl. dünnfließende Komponente). Jedoch stellt sich die Materialschicht im Durchflussbereich im oberen Bereich heller (zweischichtig) dar (s. Pfeil).

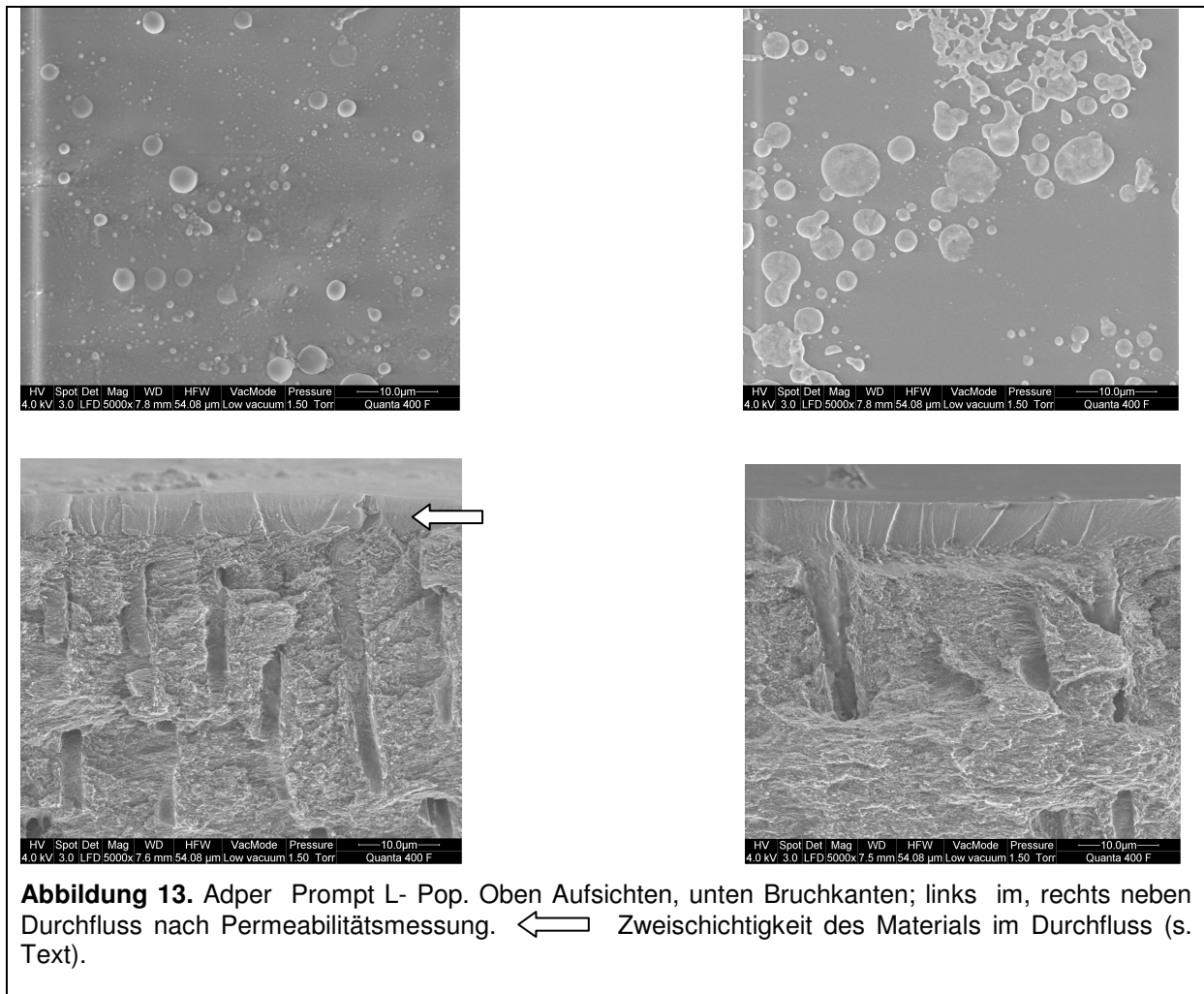


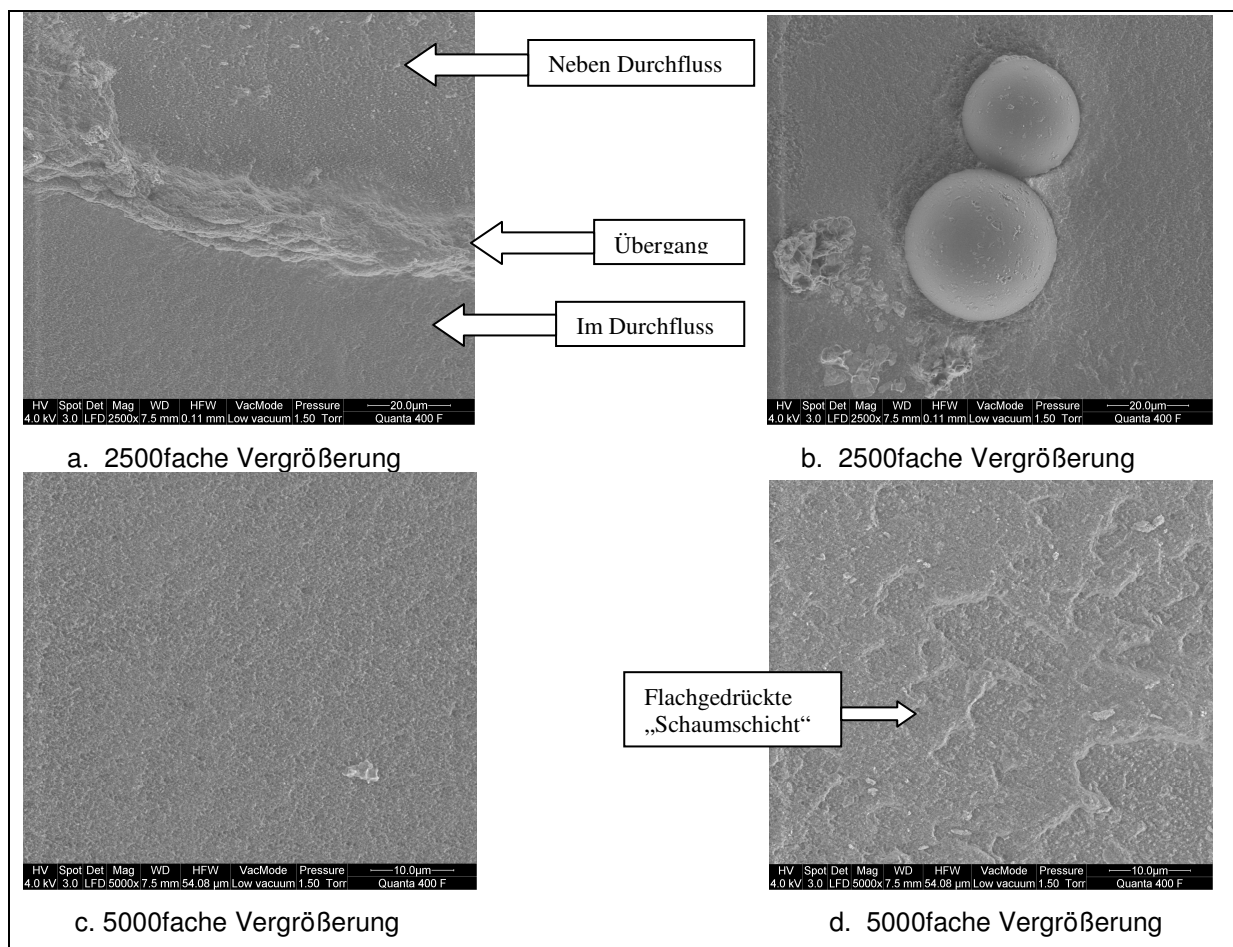
Abbildung 13. Adper Prompt L- Pop. Oben Aufsichten, unten Bruchkanten; links im, rechts neben Durchfluss nach Permeabilitätsmessung. ← Zweischichtigkeit des Materials im Durchfluss (s. Text).

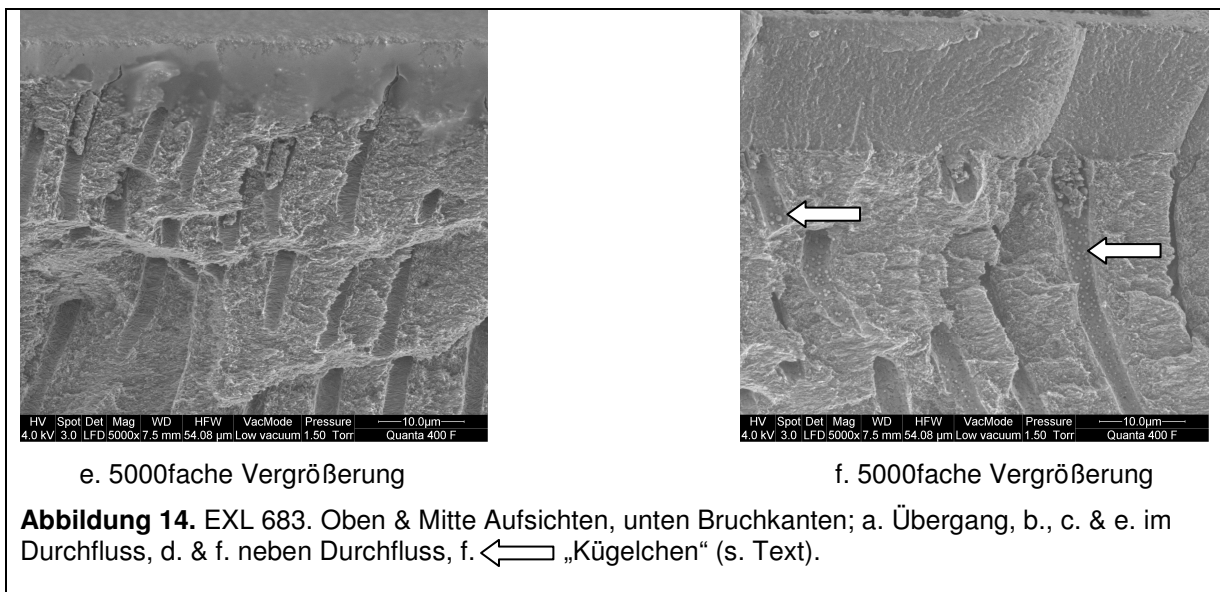
5.3.4 EXL 683

Der Übergang im/neben dem Durchflussbereich ist in der Aufsicht (Abbildung 14 a.) gut zu erkennen. Die Grenze ist durch einen aufgeworfenen Randwall gekennzeichnet. Im Durchflussbereich fehlt die aufgelagerte „Schaumschicht“ (Abbildung 14 a.,c.). In der Mikrostruktur sind Pulver/Füller sichtbar, die nicht immer gleichmäßig, sondern zu Wellen

zusammengeschoben sind. Vereinzelt findet man hier auffällige, große Kugeln mit unterschiedlicher Struktur, die bei näheren Betrachtungsversuchen äußerst strahlempfindlich sind (Abbildung 14 b.). Neben dem Durchflussbereich ist in der Aufsicht- Aufnahme (Abbildung 14 d.) eine stark strukturierte Doppelschicht erkennbar mit deutlich flachgedrückter „Schaumschicht“ (Abbildung 14 d. \longleftrightarrow). Auch hier sind in der Mikrostruktur Pulver/Füller sichtbar, die durch die Silikonmatte zu Haufen zusammengesoben sind.

Die Bruchkante- Aufnahme zeigt im Durchflussbereich (Abbildung 14 e.) eine oberflächlich eng anliegende Schicht mit untypischen Tags. Die Auskleidung der Dentintubuli ist faserig. Die oberflächliche Schicht scheint sich mit dem Wasser vom Messen verbunden zu haben und hat eine milchige Struktur. Außerdem sind keine Schuppen vom Brechen zu erkennen. Im Bereich neben des Durchflusses sieht man in der Bruchkante- Aufnahme (Abbildung 14 f.) eine oberflächlich eng anliegende, schuppig gebrochene Schicht mit ebenfalls untypischen Tags. Die Auskleidung der Dentintubuli ist glatt und man findet häufig „Kügelchen“ darin (s. Pfeile in Abbildung 14 f.).





e. 5000fache Vergrößerung

f. 5000fache Vergrößerung

Abbildung 14. EXL 683. Oben & Mitte Aufsichten, unten Bruchkanten; a. Übergang, b., c. & e. im Durchfluss, d. & f. neben Durchfluss, f. \leftarrow „Kügelchen“ (s. Text).

5.3.5 EXM 678A & EXM671C

Der Materialauftrag war bei dieser Probe allgemein unregelmäßig (wahrscheinlich durch das Verblasen außerhalb des Durchflussbereichs dicker). Im Durchflussbereich zeigt die Aufsicht- Aufnahme (Abbildung 15, oben links) häufig sackartige „Beulen“ (s. Pfeil), deren Struktur durch die Wasseraufnahme milchig erscheint. Auf der Materialoberfläche kann man „schaumige“ Stellen unterschiedlicher Dichte erkennen. Im Bereich neben dem Durchfluss kann man in der Aufsicht (Abbildung 18, oben rechts) eine stark strukturierte Doppelschicht erkennen: deutlich flachgedrückte „Schaumschicht“ auf einer feinstrukturierten „Netzschicht“. In der Mikrostruktur sind Pulver/Füller sichtbar, welche ähnlich wie bei dem Material EXL 683 durch die Silikonmatte zu Haufen zusammengeschoben sind.

Im Durchflussbereich sieht man auf der Bruchfläche- Aufnahme (Abbildung 15, unten links) eine oberflächlich eng anliegende, schuppig gebrochene Schicht mit Tagbildung. Die Tags und die oberflächliche Schicht scheinen sich mit dem Wasser vom Messen verbunden zu haben, da die „schaumige“ Struktur auch in der Tiefe zu finden ist. Die Tags enden konvex. Die Auskleidung der Dentintubuli ist glatt und man findet häufig einen fadenförmigen Inhalt (evtl. organische Reste von Dentinwand gelöst). Im Bereich neben dem Durchfluss zeigt die Bruchkante- Aufnahme (Abbildung 15, unten rechts) eine oberflächlich eng anliegende, glatt gebrochene Schicht mit Tagbildung. Außerdem erscheint das Dentin faserig, dessen oberflächliche Fasern in das Material „einschießen“. Einige Tags zeigen wieder die bekannte „Kollagenfaser- Struktur“. Auch hier enden die Tags konkav und man kann auch wie im Durchflussbereich einen „fadenförmigen“ Inhalt in den Dentintubuli finden (s.o.).

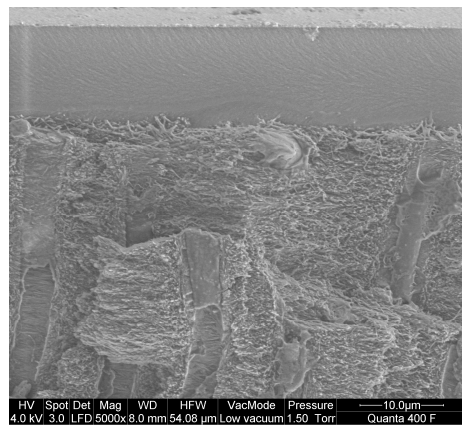
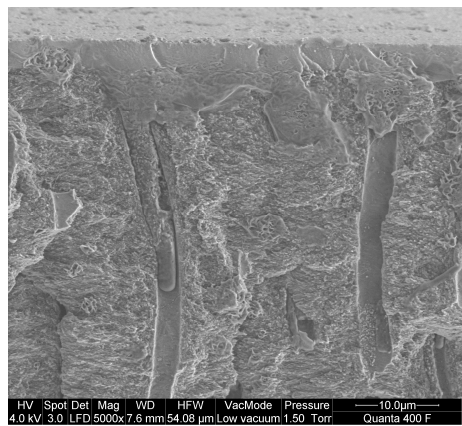
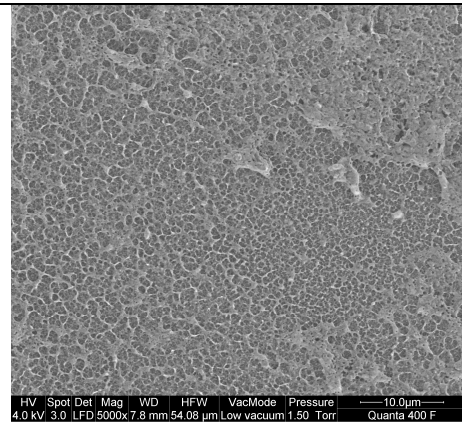
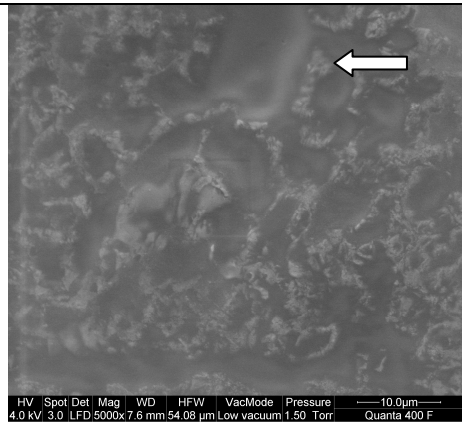



Abbildung 15. EXM 678A & EXM671C. Oben Aufsichten, unten Bruchkanten; links im, rechts neben Durchfluss nach Permeabilitätsmessung.  „Beulen“ (s. Text).

5.4 Zusammenfassung

Es lässt sich festhalten, dass durch die Auswahl der pulpanahen Dentinscheiben die Variationskoeffizienten für die Kontrolle und für Adper Prompt L- Pop deutlich verringert werden konnten. Materialauftrag reduziert die hydraulische Leitfähigkeit gegenüber der Kontrolle signifikant. Die experimentellen Formulierungen EXL 683 und EXM678A & EXM671C unterscheiden sich bezüglich der Reduzierung der hydraulischen Leitfähigkeit nicht signifikant vom Adper Prompt L- Pop, wohl aber signifikant von Gluma Desensitizer.

6 Diskussion

6.1 Material und Methoden

6.1.1 Flodec- Messapparatur

Die in Kapitel 4.2.1 vorgestellte Flodec- Methode wurde aus mehreren Gründen als Untersuchungsmethode gewählt. Im Vergleich zu anderen Methoden, welche auf radioaktiv markierten Testsubstanzen und Szintillationszählungen basieren, ist diese Methode weder für den Benutzer und das Personal noch für die Umwelt bedenklich. Folglich kann die außerordentlich umständliche und finanziell aufwändige Nutzung eines Isotopenlabors entfallen. Genauso sind die anderen in Kapitel 2.4.2 genannten Methoden (Farbstoffpenetration, elektrochemische Methoden usw.) vom Versuchsaufbau her komplizierter und damit für einfache Screeningtests mit großem Stichprobenumfang wenig geeignet.

Die Messungen mit der Flodec- Methode können schneller durchgeführt werden als bei anderen Methoden. In der vorliegenden Studie wurde jede Scheibe 120 Sekunden lang gemessen. Messungen mit radioaktiven Tracern dauerten, je nach Versuchsansatz, bis zu drei Stunden pro Dentinscheibe (22,141). Dies ist besonders hinsichtlich eines Einsatzes als Standardprüfungsinstrumentarium von Bedeutung.

Entscheidend für die Genauigkeit der Messungen mit der Flodec- Methode ist der Innendurchmesser der Kapillare. Für die vorliegende Studie betrug dieser 0,83 mm. Andere Benutzer dieser Methode verwendeten Kapillaren mit ähnlichen (0,83 mm (107), 0,75 mm (60,61), 0,70 mm (28,68), 0,68 mm (32)) oder unterschiedlichen Innendurchmessern (2,0 mm (20)). Jedoch ist nicht der absolute Durchmesser entscheidend, sondern dass während der gesamten Versuchsreihe ein und dieselbe Kapillare verwendet wird. Dann bietet das System mit einem vom Kapillareninnendurchmesser abhängigen Auflösungsvermögen von 2,7 nl ausreichende und hinlängliche Genauigkeit für die durchgeführten Messungen.

Die im Innern der Kapillare wirkenden Kräfte können nur schwer beurteilt oder gar genormt werden. So nimmt die Oberflächenspannung eines Mediums mit Verringerung des Kapillareninnendurchmessers zu (72). Genauso besitzen unterschiedliche Flüssigkeiten verschiedene Oberflächenspannungen. In der durchgeführten Versuchsreihe wurde aber immer das selbe Medium (Aqua dest.) verwendet. Letztendlich liegt es an der Fragestellung,

welches Medium Verwendung findet. Neben Aqua dest. findet sich in der Literatur u. a. physiologische Kochsalzlösung (60,61), auch mit Serumanteil (20) oder 0,8%ige wässrige Albuminlösung (107).

Ein weiterer Vorteil der Flodec- Methode ist, dass die Dentinscheiben in Abhängigkeit vom gewählten Medium während der Messungen keinen Veränderungen, sei es chemischer oder physikalischer Art, neben den Veränderungen durch Materialauftrag bedingt ausgesetzt sind. Somit wäre eine weitere Verwendung z. B. in Dentinbarrietetests durchaus denkbar.

Eine weitere Methode, Permeabilitätsmessungen durchzuführen, ist die Mikroliterpipettenmethode, ein der Flodec- Methode ähnliches Verfahren. 1967 wurde sie von der Grundidee schon von *BRANNSTRÖM* et al. (11) angewandt, aber vor allem von der Arbeitsgruppe um *PASHLEY* benutzt (35,51,59,94,134,154,157). Vom Prinzip her sind die beiden Methoden ähnlich und auch von den Ergebnissen vergleichbar (32). Dennoch hat die Methode nach *PASHLEY* zwei schwerwiegende Nachteile gegenüber der Flodec- Methode: Da die Flüssigkeitsbewegung durch ein eingeschlossenes Luftbläschen sichtbar gemacht wird, ergibt sich eine Bewegungsträgheit der Messflüssigkeit, welche durch einen bestimmten Minimaldruck überwunden werden muss, unterhalb dessen keine Messungen möglich sind (88). Dieser sog. Jamin- Effekt (vgl. Kap. 2.3) wird bei der Flodec- Methode zwar nicht vollständig beseitigt, aber dadurch reduziert, dass ein Meniskus beobachtet wird. 1992 gaben *VONGSAVAN* und *MATTHEWS* (164) an, dass ein Druckgradient von 0,28 kPa nötig sei, um in einer Kapillare mit 0,20 mm Innendurchmesser den Schwellenwert des Jamin- Effekts zu überschreiten und Messungen durchführen zu können. Deswegen ist der ausgewählte Druck von 13,7 kPa bei einem Kapillareninnendurchmesser von 0,83 mm ausreichend, um die Schwelle des Jamin- Effekts zu überschreiten. Eine Berechnung der Größenordnung dieses Effekts war daher nicht nötig und mit den zur Verfügung stehenden Mitteln auch nicht möglich.

Da mit der Flodec- Methode die Ablesung der Ergebnisse automatisch und kontinuierlich via EDV geschieht, können diese unabhängig vom Benutzer gefunden werden. Bei der Mikroliterpipettenmethode nach *PASHLEY* müssen die Ergebnisse manuell abgelesen werden, was erfahrungsgemäß zu interindividuellen Ablesefehlern führt. Zudem wird nicht kontinuierlich in verschiedenen Zeitabständen abgelesen, weshalb eine kontinuierliche Verfolgung des Durchflusses unmöglich ist (32).

Die Flodec- Methode bietet also ein standardisierbares Instrumentarium zur Überprüfung der Permeabilität von Dentinscheiben, mit den die Messungen auf einfache Art und Weise durchgeführt werden können (165).

6.1.2 Permeabilitätsmesskammer und Schlauchsystem

Das transparente Material der Permeabilitätsmesskammer und aller Schläuche ermöglicht die visuelle Überprüfung, ob sich Luftblasen in der Kammer oder dem Schlauchsystem befinden. Luftblasenfreiheit ist für die korrekte Durchführung der Messungen unabdingbar.

Von Nachteil dürfte die Tatsache sein, dass die Verschraubungen und Fixierungen an der Permeabilitätsmesskammer nicht kraftnormiert sind, sodass andere Anwender die Schrauben unterschiedlich stark anziehen. Die resultierenden Auswirkungen sind aber nur marginal: Entweder entweicht Wasser, da der Verschluss zu leicht gewählt wurde oder aber die Dentinscheiben brechen unter dem großen Druck. In beiden Fällen sind Messungen jedoch nicht durchführbar.

Da das Schlauchsystem derart empfindlich gegenüber Erschütterungen von außen ist, kann das System nur in absoluter Ruhe zuverlässige Messungen liefern. Dies wurde dadurch ermöglicht, dass die Messungen erst nach einem Zeitraum von 15 Sekunden nach Änderung der Konfiguration der einzelnen Bestandteile des Systems starteten und es damit dem System möglich war sich in dieser Zeit zu beruhigen. Ein großer Vorteil des verwendeten, relativ weichen Schlauchmaterials liegt darin, dass Luftblasen schnell und problemlos aus dem System entfernt werden können. Die Verwendung eines starrereren Schlauchmaterials wurde zwar versucht, aber durch erschwerte Koppelbarkeit der Bestandteile wieder verworfen (165).

6.1.3 Hydrostatischer Druck

Bei der Flodec- Methode handelt es sich um eine Perfusionsmethode. Daher benötigt sie immer einen gewissen hydrostatischen Druck. Messungen, die auf Diffusion beruhen, sind durch die Konzeption des Messsystems nicht möglich. Der angelegte hydrostatische Druck betrug 13,7 kPa. Im Vergleich dazu wird in der Literatur der physiologische Pulpendruck mit 1,38 kPa (= $14,1 \pm 2,5$ cm H₂O) angegeben (28), also ca. 10% davon. Im Idealfall sollte der Versuchsaufbau mit eben diesem Druck auskommen.

1978 führten *REEDER* et al. (134) die hydraulische Leitfähigkeit L_p in die Zahnmedizin ein. Seither gilt sie als Standard bei der Diskussion der Dentinpermeabilität. Auch in vorliegender Arbeit wurden die Messwerte, um vergleichbar zu sein, in L_p umgerechnet.

CAMPS et al. (22) stellten fest, dass die hydraulische Leitfähigkeit bei niedrigen Druck von 1,3 kPa und einem hohen Druck von 53,3 kPa konstant bleibt. Bei einem Druck höher als 53,3 kPa ist der Tubulusinhalt zu stark verdichtet, sodass kein konstanter Flüssigkeitsstrom

zustande kommt. Der in der vorliegenden Studie gewählte Druck entspricht einem mittleren Druck nach CAMPS et al (22) und somit hat die Zeit keinen entscheidenden Einfluss auf die hydraulische Leitfähigkeit, und die Dentinproben konnten in der kurzen Zeit von 120 bzw. 90 Sekunden vermessen werden.

In der Literatur sind niedrigere Drücke als in vorliegender Studie beschrieben, wie z.B. 13,5 cm H₂O (= 1,3 kPa) (1), 15 cm H₂O (= 1,47 kPa) (163,164), 20 cm H₂O (= 1,96 kPa) (68,114), 29 cm H₂O (= 2,84 kPa) (107) und 36 cm H₂O (= 3,53 kPa) (58). Aber auch höhere Drücke als in vorliegender Studie wurden zur Untersuchung der Dentinpermeabilität verwendet, wie z.B. 180 cm H₂O (=17,7 kPa) (67), 200 cm H₂O (= 19,6 kPa) (60,61) und 240 cm H₂O (= 23,5 kPa) (92,134).

Ein höherer hydrostatischer Druck wird bisweilen dazu verwendet, um die Messdauer zu verkürzen. Da sich aber bei dem für diese Studie gewählten Druck in der Versuchszeit die hydraulische Leitfähigkeit nicht ändert (22), ist die vorliegende Druckwahl als guter Kompromiss zwischen Druckhöhe und Messdauer zu werten. Dadurch ist es möglich eine relativ große Anzahl an Stichproben in entsprechend kurzer Zeit zu vermessen.

6.1.4 Rasterelektronenmikroskopische (REM) Untersuchungen

Ein Vorteil des verwendeten Rasterelektronenmikroskops mit Feldemissionskathode ist, dass nicht im Hochvakuum gearbeitet werden muss und eine niedrige Beschleunigungsspannung angelegt werden kann. Damit können die feuchten Dentinproben schonend untersucht werden ohne die sonst erforderliche Bedampfung mit Gold, Probentrocknung oder Abdrucknahme. Artefakte, die bei herkömmlichen Rasterelektronenmikroskopen durch die hohe Spannung in der Struktur des Dentins entstehen und v.a. durch die Schrumpfung organischer Bestandteile bedingt sind, lassen sich dadurch vermeiden (20,173).

Da die Weiterverwendung der Dentinscheiben nach der REM- Untersuchung aus technischen Gründen nicht mehr möglich ist, lassen sich keine direkten Vergleiche zwischen der hydraulischen Leitfähigkeit L_p und den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen ziehen. Ein verschlossener Tubulus im rasterelektronenmikroskopischen Befund bedeutet keineswegs eine verminderte Permeabilität der Dentinscheibe (20,78). Inwieweit sich quantitative Aussagen mit den REM- Erkenntnissen decken, müssen Kombinationen mit anderen Untersuchungen zeigen.

6.1.5 Probengut

Vergleiche zur Haftfestigkeit von Adhäsivsystemen und Kompositen zwischen humanen Zähnen und Rinderzähnen zeigen keinen signifikanten Unterschied (80,160), ebenso Permeabilitätsversuche zwischen Rinderdentin nahe der Schmelz- Zement- Grenze und humanen koronalen Dentin, wie *SCHMALZ* et al. (141) zeigten. Daher ist die Extrapolation vom Rinderzahn auf den humanen Zahn möglich (vgl. Kap. 2.1.1.4).

Das Zahnmaterial stammte analog zu den Dissertationen von *DAUBNER* (31) und *VRANA* (165) von Rindern der Altersgruppe von 5 bis 8 Jahren. Außerdem wurden nur die mittleren vier Inzisivi sowie ausschließlich pulpanahe Scheiben verwendet, denn nach *FOGEL* et al. (51) ist die Permeabilität einer Dentinscheibe signifikant abhängig vom Abstand zur Pulpenkammer (vgl. Kap. 2.1.1.2). Zudem diente jede Dentinscheibe als ihre eigene Kontrolle. *SHELLENBERG* et al. (138) zeigten, dass ein höherer Anteil permeabler Scheiben gewonnen werden konnte, wenn in mesio- distaler Richtung geschnitten wurde (47%) als in oro- vestibulärer Schnittrichtung (23%). Dadurch, dass die Auswahl der Zähne bzw. der Scheiben eng begrenzt war (vgl. Kap. 4.1.1 und Kap. 4.3.1), konnte die Streuung, welche sich durch diese Einflussfaktoren bezüglich der Permeabilität ergäbe, reduziert werden.

Das zur Herstellung der Dentinscheiben verwendete Sägemikrotom mit seiner niedrigen Umdrehungszahl von nur 600 Umdrehungen pro Minute wurde unter ständiger Wasserkühlung verwendet und zerstört die Struktur der Dentinoberfläche nur geringfügig (123). Außerdem wird damit eine mechanisch wenig resistente Schmierschicht mit unbeträchtlich weit in die Dentintubuli reichenden smear plugs produziert (27). Damit ist eine besonders schonende Herstellungsmethode der Dentinscheiben gewährleistet.

Die in dieser Studie gewählte Dicke der Dentinscheiben von $200\ \mu\text{m} \pm 20\ \mu\text{m}$ ist im Vergleich zu anderen Studien eher gering. In der Literatur schwankt die Dicke der Dentinscheiben zwischen $100\ \mu\text{m}$ und $2000\ \mu\text{m}$ (20,60,68,92,106,141). Eine Reduktion der Dentindicke bedeutet aber auch eine Erhöhung der Dentinpermeabilität (105,134) und der hydraulischen Leitfähigkeit L_p (134,154). Unter Verwendung des Hagen- Poiseuille' schen Gesetzes fanden *SCHMALZ* et al. (141) eine Abhängigkeit der hydraulischen Leitfähigkeit L_p vom Zahnscheibendurchmesser. Dabei nahm L_p von $700\ \mu\text{m}$ auf $100\ \mu\text{m}$ dicken humanen Dentinscheiben um den Faktor 8 (ungeätzte Scheiben) bis zum Faktor 14 (geätzte Scheiben) zu. Bei gleicher Untersuchung mit bovinen Dentinscheiben nahm der Faktor von 2,5 (ungeätzte Scheiben) bis 4,5 (geätzte Scheiben) zu.

Bei der Auswahl der Methode zur Entfernung der Schmierschicht auf der pulpanahen Seite der Dentinscheibe entschied man sich nach verschiedenen Studien für 50%ige Zitronensäure mit einer Einwirkzeit von 30 Sekunden (39,59,93,142,152). Diese Art der

Ätzung wurde bereits in der Literatur beschrieben (39,93,141) und in vorherigen Studien von *DAUBNER* (31) und *VRANA* (165) angewandt. Die Methode erschien als gründlich und zugleich schonend zu sein (165).

In der vorliegenden Studie wurden analog zu den Dissertationen von *DAUBNER* (31) und *VRANA* (165) nach dem Ätzvorgang die pulpafernen Seiten der Dentinscheiben mit 600 grit Schleifpapier beschliffen um eine definierte Schmierschicht zu erhalten und damit möglichst gleichartige Dentinscheiben bereitzustellen. Oberflächenrauigkeit und Scheibendicke, welche als Parameter jeweils einen Einfluss auf die Permeabilität haben (22,89), sollten damit normiert werden. Durch Festlegung von Umdrehungszahl, Polierzeit und dadurch, dass immer der gleiche Benutzer die Arbeit verrichtete, ist eine identische Behandlung möglich (165). Im Vergleich dazu beschliffen *HASHIMOTO* et al. (68) und *PEREIRA* et al. (129) die Dentinscheiben auf beiden Seiten ebenfalls mit 600 grit Schleifpapier. Auch u.a. *ÖZOK* et al. (107), *SANTINI* et al. (135) und *MASATOSHI* et al. (104) verwendeten Schleifpapier mit 600 grit. *TAGAMI* et al. (155) verwendete 80 grit Schleifpapier um eine Schmierschicht zu produzieren.

DAUBNER (31) stellte fest, dass eine Lagerung der bovinen Dentinscheiben in physiologischer Kochsalzlösung bei 4°C ausreicht, um einen Bakterien- oder gar Pilzbefall innerhalb des Versuchszeitraumes von maximal einer Woche auszuschließen. Daher wurde in vorliegender Studie auf steriles Arbeiten verzichtet und die Dentinscheiben wurden nicht autoklaviert. Nach *PASHLEY* et al. (127) hat die Sterilisation keinen Einfluss auf die Permeabilität.

6.1.6 Materialauswahl

Das selbstätzende Dentinadhäsiv Adper Prompt L- Pop wurde in den Dissertationen von *DAUBNER* (31) und *VRANA* (165) als Kontrollsubstanz eingesetzt und daher in vorliegender Studie ebenfalls als Kontrollsubstanz verwendet. Gluma Desensitizer war eines der untersuchten Materialien in den Dissertationen von *DAUBNER* (31) und *VRANA* (165) und wurde deshalb als zweite Kontrollsubstanz eingesetzt um die Ergebnisse dieser Studie mit den anderen Ergebnissen vergleichen zu können. Außerdem sind beide Materialien auch von anderen Autoren getestet und u.a. mit anderen Materialien verglichen worden (23,38,60,73,75,81,107,145,172).

Zu untersuchen waren die beiden experimentellen Adhäsivsysteme EXL 683 und EXM678A & EXM671C, welche derzeit noch nicht auf dem Markt erhältlich sind. Bei beiden handelt es

sich um selbstätzende Adhäsivsysteme, wobei EXL 683 wie das Adper Prompt L- Pop als Ein- Flaschen- System und EXM678A & EXM671C als Zwei- Flaschen- System vorliegt.

6.2 Diskussion der Ergebnisse

In vorliegender in- vitro Studie wurde untersucht, inwieweit sich die Dentinpermeabilität der pulpanahen Dentinscheiben nach Applikation der verschiedenen Materialien verändert und inwiefern sich die Ergebnisse der experimentellen Adhäsivsysteme EXL 683 und EXM678A & EXM671C von den Ergebnissen der bereits in vorherigen Studien untersuchten Materialien Adper Prompt L- Pop und Gluma Desensitizer unterscheiden. Die Permeabilitätsmessungen ergaben Durchflusswerte in Millimeter pro Sekunde und wurden in L_p - Werte umgerechnet, um sie mit anderen Studien vergleichen zu können. Im Rahmen der statistischen Verarbeitung wurden diese mit der jeweiligen Referenz verglichen. Jede Dentinscheibe diente als ihre eigene Kontrolle. Zum Vergleich der Studie liegen die beiden Dissertationen von *DAUBNER* (31) und *VRANA* (165) vor.

6.2.1 Messungen ohne Material

Die pulpanahen Dentinscheiben, welche ohne Materialauftrag als Kontrollscheiben den ganzen Versuch mit durchliefen, wurden genauso behandelt wie die Scheiben mit Materialauftrag. Es wurde also sowohl eine Basismessung (Baseline t_0) als auch eine Messung entsprechend nach Materialauftrag (t_1) durchgeführt.

Definitionsgemäß liegt der Wert für die Messung der hydraulischen Leitfähigkeit zum Zeitpunkt t_0 (Baseline) bei $b_{rel} = 100,00\%$. Bei den Messungen zum Zeitpunkt t_1 sollten die Werte ebenfalls um 100% liegen, da diese Scheiben keiner weiteren Behandlung unterzogen worden sind und damit keine offensichtlich erkennbare Veränderung der Dentinscheibe vorliegt.

In vorliegender Studie lagen die Werte zum Zeitpunkt t_1 für die Kontrollscheiben zwischen 79% und 121%. Dies kann zum Teil durch die natürliche Varianz erklärt werden.

Eine Erklärung für zunehmende Permeabilitätswerte könnte sein, dass durch den angelegten Druck organische Reste der Dentintubuli, wie z.B. Kollagen und Odontoblastenfortsätze, heraus gespült werden und somit bei Folgemessungen erhöhte L_p - Werte gemessen werden. *GREGOIRE* et al. (60) und *KOLKER* et al. (78) gaben eine hohe Streuung an, ohne eine Erklärung dafür liefern zu können.

6.2.2 Gluma Desensitizer

Nach Materialauftrag sank die relative hydraulische Leitfähigkeit für Gluma Desensitizer auf nur 77,3%. Theoretisch soll Gluma Desensitizer die Tubuli durch Ausfällung von Plasmaproteinen und Denaturierung von freiliegenden Kollagenfibrillen in den Tubuli durch Glutaraldehyd und die unterstützende Wirkung von HEMA (vgl. Kap. 4.1.2.1) verschließen (20,145). Da es sich bei diesem Material also nicht um ein Dentinadhäsiv handelt, entsprechen die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen daher den Erwartungen. Nach Materialauftrag hat sich weder eine oberflächliche Schicht noch Tags in den Dentintubuli gebildet, was für Dentinadhäsive typisch wäre. Genau wie bei den Kontrollaufnahmen kann man offene Tubuli und keine Modifikation der Oberfläche erkennen, was auch *CAMPS* et al. (20) feststellten. Dies macht die geringe Wirksamkeit des Materials bezüglich der Durchflussverminderung deutlich.

Andere Studien mit Gluma Desensitizer kommen zu den unterschiedlichsten Ergebnissen. So reduzierte Gluma Desensitizer den L_p - Wert um $40 \pm 27\%$ (78), $52 \pm 15\%$ (37), oder sogar um $75 \pm 9\%$ (20). *JAIN* et al. (73) fanden dagegen, dass Gluma Desensitizer die hydraulische Leitfähigkeit nicht signifikant reduziere.

PAN und *HUANG* (108) konnten in einer in vitro Studie rasterelektronenmikroskopisch darstellen, dass Gluma Desensitizer die Dentintubulieingänge versiegelt.

6.2.3 Adper Prompt L- Pop

Unmittelbar nach Materialauftrag reduziert Adper Prompt L- Pop die hydraulische Leitfähigkeit L_p auf 35,7%. Damit hat es die stärkste Wirksamkeit bezüglich der Durchflussverminderung unter den untersuchten Materialien. Die rasterelektronenmikroskopischen Bilder bestätigen die gefundenen Ergebnisse, da das Material eine erhebliche Tag- und Schichtbildung aufweist und die Dentintubuli komplett verschließt. *GREGOIRE* et al. (60,61) untersuchten die permeabilitätsreduzierende Wirkung von Adper Prompt L- Pop und dem Vorgängerpräparat Prompt L- Pop mit der identischen Methode. Für Prompt L- Pop fanden sie eine Reduktion der Permeabilität um 16% und für Adper Prompt L- Pop eine Reduktion um 51%. In dieser Größenordnung lagen auch die Ergebnisse von *DAUBNER* (31) und *VRANA* (165) für Adper Prompt L- Pop (50%). In der vorliegenden Studie liegt die Reduktion der Permeabilität für selbiges Material bei 65%. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass in vorliegender Studie ausschließlich pulpanahe Dentinscheiben verwendet wurden, welche im Durchmesser größere Tubuli aufweisen (vgl.

Kap. 2.1.1.2) und daher leichter vom verwendeten Material penetriert werden können bzw. leichter zur Tag- Bildung führen. Die Anzahl der Dentintubuli sollte hierbei keine Rolle spielen, da jede Scheibe als ihre eigene Kontrolle dient.

Auffällig im REM- Bild ist, wie bei den Arbeiten von *DAUBNER* (31) und *VRANA* (165) zuvor auch festgestellt, die Bildung kleiner Bläschen und Kügelchen in der Größenordnung von 0,2 μm bis 1 μm auf der Materialoberfläche. Diese bestehen vermutlich aus dem aufgetragenen Material. Auch *TAY et al.* (158) stellten fest, dass der Auftrag von Adper Prompt L- Pop und anderen selbststützenden Adhäsivsystemen auf Schmelz- und Dentinoberflächen zu einer Bläschenbildung führt, wenn keine darauf befestigte Kompositschicht folgt. Dies könnte auch eine Erklärung für die im REM- Bild gefundenen Bläschen bei dem experimentellen selbststützenden Adhäsivsystem EXL 683 sein. Ursache für diese 10 μm großen bis makroskopisch sichtbaren Bläschen soll ein hoher Restwassergehalt der Einfaschenprodukte sein, der osmotisch durch die semipermeable Membran aus polymerisierten Adhäsiv weiteres Wasser nachfolgen lässt.

6.2.4 EXL 683

EXL 683 reduziert die hydraulische Leitfähigkeit L_p unmittelbar nach Materialauftrag auf 48,1%. Im Gegensatz zum Adper Prompt L- Pop kann das Material direkt, d.h. ohne vorherigen Anmischvorgang, appliziert werden. Obwohl es ähnlich dem Adper Prompt L- Pop ebenfalls ein Einfaschenprodukt ist, hat es die schwächste reduzierende Wirkung auf die Dentinpermeabilität von den untersuchten Dentinadhäsiven. Dies kann durch die REM- Bilder bestätigt werden, da das Material eine „untypische“ Tag- Bildung aufweist mit extrem kurzen und unstrukturierten Tags. Auch findet man diese wesentlich seltener als bei den anderen Materialien. Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen ebenso wie beim Adper Prompt L- Pop eine Bläschenbildung im Durchflussbereich. Allerdings kommen die gebildeten Bläschen viel seltener vor als beim Adper Prompt L- Pop und stehen eher einzeln oder paarweise zusammen. Außerdem sind die gebildeten Bläschen größer als beim Adper Prompt L- Pop (vgl. 6.2.3) und im Gegensatz dazu findet man hier die Bläschenbildung ausschließlich im Durchflussbereich. Es finden sich keine Anzeichen dafür, dass durch die Silikonmatte die Bläschen neben dem Durchflussbereich „platt“ gedrückt worden sind wie es beim Adper Prompt L- Pop der Fall ist. Somit scheint für die Bläschenbildung ausschließlich der Wasserdurchfluss verantwortlich zu sein. Sowohl EXL 683 als auch Adper Prompt L- Pop zeigen in der Bruchkanten- Aufnahme im Durchflussbereich eine Zweischichtigkeit des Materials.

Leider liegen keine weiteren Studien zu diesem Material vor.

6.2.5 EXM 678A & EXM671C

Unmittelbar nach Materialauftrag reduziert EXM678A & EXM671C die hydraulische Leitfähigkeit L_p auf 40,2%. Damit hat es die zweitstärkste reduzierende Wirkung auf die Dentinpermeabilität von den untersuchten Materialien. Dies bestätigen auch die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen. Das Material zeigt wie das Adper Prompt L-Pop eine häufige Tag-Bildung doch im Gegensatz dazu scheinen die Tags im Durchflussbereich sich mit dem Wasser verbunden zu haben, was eine Erklärung für die geringere Reduktion der Dentinpermeabilität sein könnte. Auch die Aufsicht-Aufnahme zeigt „sackartige Beulen“ im Durchflussbereich, die durch das Wasser gebildet worden sind und eine gewisse Instabilität vermuten lassen. Beim Adper Prompt L-Pop ist neben der oben genannten Bläschenbildung (vgl. 6.2.3) sonst keine weitere Auswirkung des Wassers erkennbar.

Leider liegen auch zu diesem experimentellen Material keine weiteren Studien vor.

6.3 Schlussfolgerung

Die gefundenen Ergebnisse dieser in-vitro Studie lassen sich nur bedingt mit anderen Studien vergleichen, da in jeder Studie unterschiedliche Parameter verwendet werden. Dazu gehören z.B. Lagerungsbedingungen (Medium, Temperatur, Dauer (27,31,125)), Oberflächenbehandlung (Schmierschichtentfernung, Politur (39,152,154) oder physikalisch-chemische Parameter wie der Druck (22,60,61). Obwohl die Dentinscheibe ein ideales Substrat für vorliegende Studie darstellt (99) können diese Parameter einen Einfluss auf die gefundenen L_p -Werte haben. Weitere Faktoren die die Messergebnisse beeinflussen sind die Spezies der Zähne und die Scheibendicke (141), Alter und Zustand des Zahnes (126,153) und die Lokalisation der Scheibe im Zahn (165) bzw. Tubulidurchmesser und Verlauf (53,99). Daher wurden in vorliegender Studie ausschließlich Scheiben oberhalb/unterhalb der Pulpa verwendet und vor Materialauftrag vermessen, da jede Scheibe selbst ihrer eigenen Kontrolle diene.

Die experimentellen Materialien EXL 683 und EXM678A & EXM671C unterscheiden sich in Bezug auf die Reduktion der hydraulischen Leitfähigkeit L_p nicht signifikant vom Adper Prompt L-Pop, wohl aber deutlich von Gluma Desensitizer. EXL 683 reduziert die hydraulische Leitfähigkeit L_p am geringsten von den untersuchten Dentinadhäsiven.

Aufgrund der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen kann man vermuten, dass EXL 683 weniger Langzeiterfolg haben wird als die anderen getesteten Dentinadhäsive, da es bei diesem Material kaum zur Tag- Bildung kommt und die gebildeten Tags „untypisch“ erscheinen. Auch scheint das Material stärker wasseranfällig zu sein als Adper Prompt L- Pop und EXM678A & EXM671C, da die REM- Bilder der Bruchkanten- Aufnahme im Durchflussbereich eine insgesamt milchige Struktur des Materials zeigen, die sich nicht mehr schuppig brechen lässt. Dies lässt vermuten, dass das Material an Härte verloren hat. Adper Prompt L- Pop und EXM678A & EXM671C zeigen zwar eine Zweischichtigkeit der Materialien Im Durchflussbereich, doch ist die schuppige Brechung bei beiden in der Bruchkanten- Aufnahme deutlich erkennbar.

7 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden In- vitro- Untersuchung war es, an pulpanahen Scheiben von Rinderzähnen quantitative Aussagen über die Fähigkeit zur Verminderung der hydraulischen Leitfähigkeit von vier verschiedenen zahnärztlichen Substanzen zu treffen.

Für die Untersuchung wurden 400 pulpanahe Rinderdentinscheiben mit 200 µm Dicke hergestellt, anschließend mit 50%iger Zitronensäure für 30 Sekunden auf der pulpanahen Seite angeätzt und auf der pulpafernen Seite mit 600 grit bei einem Anpressdruck von 1,47 Pa (150 g) für 10 Sekunden bei 100 Umdrehungen pro Minute poliert. Die Permeabilitätsmessung (hydraulische Leitfähigkeit, L_p , $m^3N^{-1}s^{-1}$) erfolgte mit Hilfe der kommerziell erhältlichen Flodec- Apparatur bei einem angelegten Druck von 13,7 kPa mit Aqua dest. Die vier verschiedenen Materialien (Gluma Desensitizer (Heraeus Kulzer), Adper Prompt L- Pop (3M Espe), EXL 683 (3M Espe), EXM678A & EXM671C (3M Espe)) wurden nach Herstellerangaben appliziert und anschließend die Permeabilität erneut vermessen. Auch die unbehandelten Kontrollscheiben wurden nochmals vermessen. Hierdurch diente jede Dentinscheibe als ihre eigene Kontrolle.

Mit der verwendeten Methode kann in kurzer Zeit mit relativ geringem Druck eine große Anzahl an Dentinscheiben auf ihre Permeabilität hin vermessen werden. Daher ist die Etablierung dieser Methode als Standardprüfungsinstrumentarium möglich (165). In der statistischen Auswertung reduzierten folgende Materialien die hydraulische Leitfähigkeit gegenüber der Kontrolle ohne Material signifikant: Adper Prompt L- Pop auf 35,7%, EXM678A & EXM671C auf 40,2% und EXL 683 auf 48,1%. Gluma Desensitizer senkte die hydraulische Leitfähigkeit nicht signifikant (77,3%).

Durch die Auswahl der pulpanahen Dentinscheiben konnten die Variationskoeffizienten für die Kontrolle und für Adper Prompt L- Pop deutlich verringert werden.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen deutlich die unterschiedliche Auswirkung von Gluma Desensitizer und den untersuchten Adhäsivsystemen EXM678A & EXM671C, EXL 683 und Adper Prompt L- Pop. Die gefundenen Ergebnisse lassen sich anhand der REM- Bilder nachvollziehen.

8 Anhang

8.1 Geräte und Materialliste

Vorbereitung der Dentinproben

- *Buehler Metaserv Motopol 8*, Firma Ltd., Illinois, USA
- *Leitz 1600, Sägemikrotom*, Firma Ernst Leitz Wetzlar GmbH, Wetzlar, Deutschland
- *Mitutoyo*, digitale Bügelmessschraube, Firma Mitutoyo, Illinois, USA
- *Junghans Industrie- Stoppuhr*, Firma Gebrüder Junghans GmbH, Nürnberg, Deutschland
- *Paladur Flüssigkeit*, Firma Heraus Kulzer GmbH & Co. KG., Hanau, Deutschland, LOT 013075
- *Paladur Pulver*, Firma Heraus Kulzer GmbH & Co. KG., Hanau, Deutschland, LOT 016008

Messapparatur

- *Connecta™ Plus 3*, Drei- Wege- Hähne, Firma Becton Dickinson, Helsingborg, Schweden
- *Flodec*, Firma DeMarco Engineering, Genf, Schweiz
- Permeabilitätsmesskammer, Eigenbau, modifiziert nach HILLER et al. (70), Regensburg, Deutschland
- *Tygon® 3350 Masterflex® 96420-16*, platinveredelter Silikonschlauch, autoklavierbar, Firma Norton, bezogen über Firma Novodirect GmbH, Kehl/Rhein, Deutschland
- *Ultrason® S*, Polysulfonblöcke, Firma BASF AG, Ludwigshafen, Deutschland

Materialapplikation

- *Demetron Optilux 400*, Polymerisationslampe (Lichtleistung 610mWcm^{-2} bestimmt mit Cure Rite, Fa. Caulk(Dentsply, USA), Firma Kerr Dentistry, Kalifornien, USA
- *Cure Rite Visible Curing Light Meter*, Firma Caulk/Dentsply, Delaware, USA

Rasterelektronenmikroskop

- *Quanta FEG 400*, Firma FEI Company, Eindhoven, Niederlande

Chemikalien

- Aqua bidest.
- Aqua dest.
- Chloramin- T- Lösung, 0,5% (5g Chloramin in 1000ml H₂O)
- Thymollösung, 0,1% (1g Thymol in 1000ml H₂O)
- Isotone Kochsalzlösung, NaCl 0,9% (9g NaCl in 1000ml Aqua bidest.)
- Zitronensäure, 50% (12,5g Zitronensäure in 25ml Aqua bidest.)

Untersuchte zahnärztliche Materialien

- *Gluma Desensitizer*, Firma Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, Hanau, Deutschland, LOT: 010076
- *AdperTM PromptTM L- PopTM*, selbstätzendes Adhäsiv, Firma 3M Espe AG, Seefeld, Deutschland, LOT: 271188
- *EXL 683*, Firma Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, Hanau, Deutschland, LOT: P-0275
- *EXM 678A & EXM 671C*, Firma Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, Hanau, Deutschland, LOT₁:MFG135L002-AB, LOT₂: MFG135L001-AC-2

Tiermaterial

- Rinderzähne vom 12.02.2007-26.03.2008, Schlachthof Fleischkontor Moksel, Furth im Wald, gelagert in 0,5%iger Chloramin- T- Lösung

EDV

Hardware

- *AcerPower PC*, Pentium 100MHz, 16MB RAM, RZ- Gerätenummer 4721 mit Flodec (vgl Kap. 4.2.1)

Software

- *Microsoft Office 2000*, Firma Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland
- *SigmaPlot 2002 for Windows Version 8.0*, Firma SPSS Inc., Illinois, USA
- *SPSS for Windows 11.0*, Firma SPSS Inc., Illinois, USA

8.2 Abkürzungsverzeichnis

Aqua bidest.	Aqua bidestillata Doppelt destilliertes Wasser
Aqua dest.	Aqua destillata Einfach destilliertes Wasser
Bis- GMA	Bisphenolglutaraldehydmethacrylat
cmH ₂ O	Zentimeter Wassersäule veraltete Druckeinheit, 1 cm H ₂ O entspricht in SI- Einheiten 98,0665 Pa
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EDX	Energy Dispersive X- ray Analysis Energiedispersive Röntgenspektroskopie
GLUMA	Glutardialdehydmethacrylat
HEMA	2- Hydroxyethylmethacrylat
PENTA	Dipentaerytritolpentaacrylat- Phosphorsäure- Monomer
psi	pounds- force per square inch Pfund pro Quadratzoll, 1psi entspricht in SI- Einheit 6894,757 Pa
REM	Rasterelektronenmikroskop, als Adjektiv für „rasterelektronenmikroskopisch“
SI	internationales Einheitssystem Abk. für frz.: <i>Le Systeme international d'unites`</i>
Torr	1 torr (=1 mmHg) ist der statische Druck, der von einer Quecksilbersäule von 1mm Höhe erzeugt wird. 1 torr entspricht in SI- Einheiten □ 133,322 Pa
UDMA	Urethandimethacrylat

9 Literaturverzeichnis

1. Abou Hashieh I, Camps J, Dejou J, Franquin JC. Eugenol diffusion through dentin related to dentin hydraulic conductance. *Dent Mater* 14: 229-36, 1998.
2. Ahlquist M, Franzen O, Coffey J, Pashley DH. Dental pain evoked by hydrostatic pressures applied to exposed dentin in man: a test of the hydrodynamic theory of dentin. *J Endod* 20: 130-4, 1994.
3. Ahmad I. Evaluating dentin bonding agents: an update. *Practical procedures & aesthetic dentistry : PPAD* 15: 529-36, 2003.
4. Al-Fawaz A, Gerzina TM, Hume WR. Movement of resin cement components through acid- treated dentin during crown cementation in vitro. *J Endod* 19: 219-23, 1993.
5. Arana-Chavez VE, Massa LF. Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *Int J Biochem Cell Biol* 36: 1367-73, 2004.
6. BASF AG. UltrasonR E und Ultrason R S. Anwendungen, Sortiment, Eigenschaften, Verarbeitung. BASF Aktiengesellschaft Ludwigshafen 1998.
7. Bergenholtz G, Jontell M, Tuttle A, Knutsson G. Inhibition of serum albumin flux across exposed dentine following conditioning with GLUMA primer, glutaraldehyde or potassium oxalates. *J Dent* 21: 220-7, 1993.
8. Bowen RL. Bonding of restorative materials to dentin: the present status in the United States. *Int Dent J* 35: 155-60, 1985.
9. Bowen RL, Eick JD, Henderson DA, Anderson DW. Smear layer: removal and bonding considerations. *Oper Dent Suppl*.3: 30-4, 1984.
10. Brajdic D, Krznaric OM, Azinovic Z, Macan D, Baranovic M. Influence of different etching times on dentin surface morphology. *Coll Antropol* 32: 893-900, 2008.
11. Brännström M, Linden LA, Aström A. The hydrodynamics of the dental tubule and of pulp fluid. A discussion of its significance in relation to dentinal sensitivity. *Caries Res* 1: 310-7, 1967.
12. Brännström M, Nordenvall KJ. The effect of acid etching on enamel, dentin and inner surface of the resin restoration: a scanning electron microscopic investigation. *J Dent Res* 56: 917-23, 1977.
13. Brauer DS, Saeki K, Hilton JF, Marshall GW, Marshall SJ. Effect of sterilization by gamma radiation on nano- mechanical properties of teeth. *Dent Mater* 24: 1137-40, 2008.
14. Buchalla W, Lennon AM, Becker K, Lucke T, Attin T. Smear layer and surface state affect dentin fluoride uptake. *Arch Oral Biol* 52: 932-7, 2007.
15. Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztliche Vereinigung (Hrsg.). *Das Dental Vademekum (DDV). Qualitätsmanagement beim Einsatz von Dentalprodukten.* Deutscher Zahnärzterverlag Köln, 2004.

16. Buonocore MG, Wileman W, Brudevold F. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. *J Dent Res* 34: 849-53, 1956.
17. Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod* 28: 17-9, 2002.
18. Camargo CHR, Siviero M, Carmago SEA, Oliveira SHG, Carvalho CAT, Valera MC. Topographical, diametral, and quantitative analysis of dentin tubules in the root canals of human and bovine teeth. *J Endod* 33: 422-6, 2007.
19. Camargo MA, Marques MM, de Cara AA. Morphological analysis of human and bovine dentine by scanning electron microscope investigation. *Arch Oral Biol* 53: 105-8, 2008.
20. Camps J, About I, Van MB, Franquin JC. Efficiency and cytotoxicity of resin- based desensitizing agents. *Am J Dent* 15: 300-4, 2002.
21. Camps J, Dejou J, Remusat M, About I. Factors influencing pulpal response to cavity restorations. *Dent Mater* 16: 432-40, 2000.
22. Camps J, Giustiniani S, Dejou J, Franquin JC. Low versus high pressure for in vitro determination of hydraulic conductance of human dentine. *Arch Oral Biol* 42: 293-8, 1997.
23. Camps J, Pizant S, Dejou J, Franquin JC. Effects of desensitizing agents on human dentin permeability. *Am J Dent* 11: 286-90, 1998.
24. Carrigan PJ, Morse DR, Furst ML, Sinai IH. A scanning electron microscopic evaluation of human dentinal tubules according to age and location. *J Endod* 10: 359-63, 1984.
25. Carvalho AS, Camargo CHR, Valera MC, Camargo SEA, Mancini MNG. Smear layer Removal by auxiliary chemical substances in biomechanical preparation: a scanning electron microscope study. *J Endod* 34: 1396-400, 2008.
26. Cetingüç A, Ölmez S, Vural N. HEMA diffusion from dentin bonding agents in young and old primary molars in vitro. *Dent Mater* 23: 302-7, 2007.
27. Chersoni S, Suppa P, Breschi L, Ferrari M, Tay FR, Pashley DH, Prati C. Water movement in the hybrid layer after different dentin treatments. *Dent Mater* 20: 796-803, 2004.
28. Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley DH. Dentinal fluid dynamics in human teeth, in vivo. *J Endod* 21: 191-4, 1995.
29. Cohen S, Stewart GG, Laster LL. The effects of acids, alkalies, and chelating agents on dentin permeability. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 29: 631-4, 1970.
30. Crumpton BJ, Goodell GG, McClanahan SB. Effects on smear layer and debris removal with varying volumes of 17% REDTA after rotary instrumentation. *J Endod* 31: 536-8, 2005.
31. Daubner M. Entwicklung einer in- vitro- Methode zur Messung des Einflusses von Dentindesensibilisierungsmitteln auf die Dentinpermeabilität. *Zahnmed Diss* . 2007. Universität Regensburg.

32. de la Macorra JC, Escribano NI. Comparison of two methods to measure permeability of dentin. *J Biomed Mater Res* 63: 531-4, 2002.
33. De Marco Engineering. Flodec Manual V04-1099. 2009. Genf o.J. Ref Type: Unpublished Work
34. Demirci M, Hiller KA, Bosl C, Galler K, Schmalz G, Schweikl H. The induction of oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity by dental adhesives. *Dent Mater: official publication of the Academy of Dental Materials* 24: 362-71, 2008.
35. Derkson GD, Pashley DH, Derkson ME. Microleakage measurement of selected restorative materials: a new in vitro method. *J Prosthet Dent* 56: 435-40, 1986.
36. Dippel HW, Borggreven JMPM, Hoppenbrouwers PMM. Morphology and permeability of the dentinal smear layer. *J Prosthet Dent* 52: 657-62, 1984.
37. Dourda AO, Moule AJ, Young WG. A morphometric analysis of the cross-sectional area of dentine occupied by dentinal tubules in human third molar teeth. *Int Endod J* 27: 184-9, 1994.
38. Duran I, Sengun A, Yildirim T, Ozturk B. In vitro dentin permeability evaluation of HEMA-based (desensitizing) products using split chamber model following in vivo application in the dog. *J Oral Rehabil* 32: 34-8, 2005.
39. Eibl M. Wachstumskinetik von Mausfibroblasten auf Rinderdentin. 1999. Zahnmed Diss Universität Regensburg.
40. Eick JD. Smear layer - materials surface. *Proc Finn Dent Soc* 88: 225-42, 1992.
41. Eick JD, Cobb CM, Chappell RP. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. Part I. *Quintessence Int* 22: 967-77, 1991.
42. Eick JD, Robinson SJ, Byerley TJ, Chappelow CC. Adhesives and nonshrinking dental resins of the future. *Quintessence Int* 24: 632-40, 1993.
43. Eick JD, Wilko RA, Anderson CH. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microscope. *J Dent Res* 49: 1359-68, 1970.
44. Elgalaid TO, Creanor SL, Creanor S, Hall AF. The repeat ability of human dentine permeability measurement in vitro. *J Dent* 36: 42-8, 2008.
45. Eliades G. Dentine bonding systems. In Vanherle,G., Degrange,M., Willems,G.(eds.):State of the art on direct posterior filling materials and dentine bonding (Proceedings of the International Symposium Euro Disney, Paris). Leuven, Van der Poorten 49-74, 1993.
46. Eliades G. Clinical relevance of the formulation and testing of dentine bonding systems. *J Dent* 22: 73-81, 1994.
47. Eliades G, Palaghias G, Vougiouklakis G. Effect of acidic conditioners on dentin morphology, molecular composition and collagen conformation in situ. *Dent Mater* 13: 24-33, 1997.
48. Eliades G, Palaghias G, Vougiouklakis G. Surface reactions of adhesives on dentin. *Dent Mater* 6: 208-16, 1990.

49. Ernst CP. Was Sie schon immer über Dentinadhäsive wissen wollten. ZMK 17: 254-69, 2001.
50. Fawcett dW, Bloom W. A Textbook of HISTOLOGY. eleventh edition ed. W.B. Saunders Company, 1986.
51. Fogel HM, Marshall FJ, Pashley DH. Effects of distance from the pulp and thickness on the hydraulic conductance of human radicular dentin. J Dent Res 67: 1381-5, 1988.
52. Fonseca RB, Haiter-Neto F, Carlo HL, Soares CJ, Sinhoreti MAC, Puppim-Rontani RM, Correr-Sobrinho L. Radiodensity and hardness of enamel and dentin of human and bovine teeth, varying bovine teeth age. Arch Oral Biol 53: 1023-9, 2008.
53. Forssel-Ahlberg K, Brännström M, Edwall L. The diameter and number of dentinal tubules in rat, cat, dog and monkey. A comparative scanning electron microscopic study. Acta Odontol Scand 33: 243-50, 1975.
54. Frank RM, Steuer P. Transmission electron microscopy of the human odontoblast process in peripheral root dentine. Arch Oral Biol 33: 91-8, 1988.
55. Galler K, Hiller KA, Ettl T, Schmalz G. Selective influence of dentin thickness upon cytotoxicity of dentin contacting materials. J Endod 31: 396-9, 2005.
56. Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. Arch Oral Biol 21: 355-62, 1976.
57. George R, Rutley E.B., Walsh LJ. Evaluation of smear layer: a comparison of automated image analysis versus expert observers. J Endod 34: 999-1002, 2008.
58. Gerzina TM, Hume WR. Effect of hydrostatic pressure of the diffusion of monomers through dentin in vitro. J Dent Res 74: 369-73, 1995.
59. Greenhill JD, Pashley DH. The effects of densitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin in vitro. J Dent Res 60: 686-98, 1981.
60. Gregoire G, Guignes P, Millas A. Effect of self-etching adhesives on dentin permeability in a fluid flow model. J Prosthet Dent 93: 56-63, 2005.
61. Gregoire G, Joniot S, Guignes P, Millas A. Dentin permeability: Self-etching and one-bottle dentin bonding systems. J Prosthet Dent 90: 42-9, 2003.
62. Gwinnett AJ. Smear layer: morphological considerations. Oper Dent Suppl.3: 2-12, 1984.
63. Hahn CL, Overton B. The effects of immunoglobulins on the convective permeability of human dentine in vitro. Arch Oral Biol 42: 835-43, 1997.
64. Haller B. Mechanismus und Wirksamkeit von Dentinhaftvermittlern. Dtsch Zahnärztl Z 49: 750-9, 1994.
65. Haller B. Recent developments in dentin bonding. Am J Dent 13: 44-50, 2000.
66. Hamid A, Hume WR. The effect of dentine thickness on diffusion of resin monomers in vitro. J Oral Rehabil 24: 20-5, 1997.

67. Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dent Res* 72: 931-8, 1993.
68. Hashimoto M, Ito S, Tay FR, Svizero NR, Sano H, Kaga M, Pashley DH. Fluid movement across the resin- dentin interface during and after bonding. *J Dent Res* 83: 843-8, 2004.
69. Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. 3. Auflage, München: Urban & Fischer Verlag, 2003.
70. Hiller KA, Schicker A, Schmalz G. Effects of dentin desensitizing agents on dentin permeability under different application conditions. AADR San Antonio 2003; Abstract Nr. 0632.
71. Hoppenbrouwers PM, Scholberg HP, Borggreven JM. Measurement of the permeability of dental enamel and its variation with depth using an electrochemical method. *J Dent Res* 65: 154-7, 1986.
72. Huang W, Bhullar RS, Fung YC. The surface-tension-driven flow of blood from a droplet into a capillary tube. *J Biomech Eng* 123: 446-54, 2001.
73. Jain P, Reinhardt JW, Krell KV. Effect of dentin desensitizers and dentin bonding agents on dentin permeability. *Am J Dent* 13: 21-7, 2000.
74. Jamin JC. Memoire sur l'equilibre et le mouvement des liquides dans les corps poreux. *CRH Acad Sci Paris* 50: 172-6, 1860.
75. Kakaboura A, Rahiotis C, Thomaidis S, Doukoudakis S. Clinical effectiveness of two agents on the treatment of tooth cervical hypersensitivity. *Am J Dent* 18: 291-5, 2005.
76. Kawabata M, Hector MP, Davis GR, Parkinson CR, Rees GD, Anderson P. Diffusive transport within dentinal tubules: an x-ray microtomographic study. *Arch Oral Biol* 53: 736-43, 2008.
77. Khedmat S, Shokouhinejad N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. *J Endod* 34: 599-602, 2008.
78. Kolker JL, Vargas MA, Armstrong SR, Dawson DV. Effect of desensitizing agents on dentin permeability and dentin tubule occlusion. *J Adhes Dent* 4: 211-21, 2002.
79. Koulourides T, PhantumvanitP., Munksgaard EC, Housch T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. *J Oral Pathology* 3: 185-96, 1974.
80. Krifka S, Börzsönyi A, Koch A, Hiller KA, Schmalz G, Friedl KH. Bond strength of adhesive systems to dentin and enamel-human vs. bovine primary teeth in vitro. *Dent Mater* 24: 888-94, 2008.
81. Lanza CRM, de Souza Costa CA, Furlan M, Alecio A, Hebling J. Transdental diffusion and cytotoxicity of self-etching adhesive systems. *Cell Biol Toxicol* 12: 2008.
82. Lee CH, Brauner GM. Oligomers with pendant isocyanate groups as adhesives for dentin and other tissues. *J Dent Res* 68: 484-8, 1989.

83. Lee JJ, Nettey-Marbell A, Cook Aj, Pimenta LAF, Leonard R, Ritter AV. Using extracted teeth for research- the effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *J Am Dent Assoc* 138: 1599-603, 2007.
84. Lee Y-L, Liu J, Clarkson BH, Lin C-P, Godovikova V, Ritchie HH. Dentin-Pulp complex responses to carious lesions. *Caries Res* 40: 256-64, 2006.
85. Lehmann F, Leyhausen G, Geurtsen W. Cytotoxic alteration in different fibroblast cultures caused by matrix monomers. *J Dent Res (IADR Abstracts 929)* 1993.
86. Levinkind M, Vandernoot TJ, Elliot JC. Evaluation of smear layers on serial sections of human dentin by means of electrochemical impedance measurements. *J Dent Res* 71: 426-33, 1992.
87. Magloire H, Couble ML, Thivichon-Prince B, Maurin.J.C., Bleicher F. Odontoblast: A Mechano-Sensory Cell. *J Exp Zool* 310B: 2008.
88. Mardles EW. The flow of liquids through fine capillaries and narrow channels: the meniscus resistance (Jamin effect). *Biorheology* 6: 1-10, 1969.
89. Maroli S, Khera SC, Krell KV. Regional variation in permeability of young dentin. *Oper Dent* 17: 93-100, 1992.
90. Marshall FJ, Massler M, Dute HL. Effects of endodontic treatment on permeability of root dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 13: 208-23, 1960.
91. Mello I, Robazza CRC, Antoniazzi JH, Coil J. Influence of different volumes of EDTA for final rinse on smear layer removal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 106: e40-e43, 2008.
92. Merchant VA, Levingston MJ, Pashley DH. Dentin permeation: comparison of diffusion with filtration. *J Dent Res* 56: 1161-4, 1977.
93. Meryon SD, Tobias RS, Jakeman KJ. Smear removal agent: a quantitative study in vivo and in vitro. *J Prosthet Dent* 57: 174-9, 1987.
94. Michelich V, Pashley DH, Whitford G. Dentin permeability: a comparison of functional versus anatomical tubular radii. *J Dent Res* 57: 1019-24, 1978.
95. Michelich V, Schuster GS, Pashley DH. Bacterial penetration of human dentin in vitro. *J Dent Res* 59: 1388-403, 1980.
96. Miller RG. Simultaneous statistical interference. Springer- Verlag New York, 1981.
97. Mjör IA, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biol* 41: 401-12, 1996.
98. Moharamzadeh K, Freeman C, Blackwood K. Processed bovine dentin as a bone substitute. *J Oral Maxillofac Surg* 46: 110-3, 2008.
99. Mordan NJ, Barber PM, Gillam DG. The dentine disc. A review of its applicability as a model for the in vitro testing of dentine hypersensitivity. *J Oral Rehabil* 24: 148-56, 1997.
100. Nakabayashi N. Bonding of restorative materials to dentin: the present status in Japan. *Int Dent J* 35: 145-53, 1985.

101. Nakabayashi N. Resin reinforced dentin due to infiltration of monomers into dentin at the adhesive interface. *J Jpn Dent Mater* 1: 78-81, 1982.
102. Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Quintessence 1998.
103. Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to intact dentin. *J Dent Res* 75: 1706-15, 1996.
104. Nakajima M, Hosaka K, Yamauti M, Foxton RM, Tagami J. Bonding durability of a self-etching primer system to normal and caries-affected dentin under hydrostatic pulpal pressure in vitro. *Am J Dent* 19: 147-50, 2006.
105. Outhwaite WC, Livingston MJ, Pashley DH. Effects of changes in surface area, thickness, temperature and post- extraction time on human dentin permeability. *Arch Oral Biol* 21: 599-603, 1976.
106. Outhwaite WC, McKenzie DM, Pashley DH. A versatile split- chamber device for studying dentin permeability. *J Dent Res* 53: 1503, 1974.
107. Özok AR, Wu MK, Wesselink PR. The effects of post-extraction time on the hydraulic conductance of human dentine in vitro. *Arch Oral Biol* 47: 41-6, 2002.
108. Pan MD, Huang YF. The sealing effects of three desensitizers on tubule: an SEM investigation. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 14: 48-50, 2005.
109. Pappenheimer JR. Passage of molecules through capillary walls. *Physiol Rev* 33: 387-423, 1953.
110. Pashley DH. Dentin: a dynamic substrate- a review. *Scanning Microsc* 3: 161-76, 1989.
111. Pashley DH. In vitro simulations of in vivo bonding conditions. *Am J Dent* 4: 237-40, 1991.
112. Pashley DH. Smear layer: physiological considerations. *Oper Dent Suppl*.3: 13-29, 1984.
113. Pashley DH. Dentin- predentin complex and its permeability: physiologic overview. *J Dent Res* 64: 613-20, 1985.
114. Pashley DH, Agee KA, Zhang Y, Smith A, Tavs EA, Gambogi RJ. The effects of outward forced convective flow on inward diffusion of potassium across human dentin. *Am J Dent* 15: 256-61, 2002.
115. Pashley DH, Andringa HJ, Derkson GD, Derkson ME, Kalathoor SR. Regional variability in the permeability of human dentine. *Arch Oral Biol* 32: 519-23, 1987.
116. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 25: 355-72, 1997.
117. Pashley DH, Horner JA, Brewer PD. Interactions of conditioners on the dentin surface. *Oper Dent Suppl*.5: 137-50, 1992.
118. Pashley DH, Kehl T, Pashley E, Palmer P. Comparison of in vitro and in vivo dog dentin permeability. *J Dent Res* 60: 763-8, 1981.

119. Pashley DH, Livingston MJ. Effect of molecular size on permeability coefficients in human dentine. *Arch Oral Biol* 23: 391-5, 1978.
120. Pashley DH, Livingston MJ, Outhwaite WC. Rate of permeation of isotopes through human dentin, in vitro. *J Dent Res* 56: 83-8, 1977.
121. Pashley DH, Livingston MJ, Reeder OW, Horner J. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. *Arch Oral Biol* 23: 1127-33, 1978.
122. Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent* 46: 531-7, 1981.
123. Pashley DH, Stewart FP, Galloway SE. Effects of air-drying in vitro on human dentine permeability. *Arch Oral Biol* 29: 379-83, 1984.
124. Pashley DH, Tao L, Boyd L, King GE, Horner JA. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. *Arch Oral Biol* 33: 265-70, 1988.
125. Pashley DH, Thompson SM, Stewart FP. Dentin permeability: effects of temperature on hydraulic conductance. *J Dent Res* 26: 707-10, 1983.
126. Pashley EL, Talman R, Horner J, Pashley DH. Permeability of normal versus carious dentin. *Endod Dent Traumatol* 7: 207-11, 1991.
127. Pashley EL, Tao L, Pashley DH. Sterilization of human teeth: its effect on permeability and bond strength. *Am J Dent* 6: 189-91, 1993.
128. Perdigao J. Dentin bonding as a function of dentin structure. *Dent Clin North Am* 46: 277-301, vi, 2002.
129. Pereira JC, Segala AD, Gillam DG. Effect of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin subjected to different surface pre-treatments - an in vitro study. *Dent Mater* 21: 129-38, 2005.
130. Perez- Heredia M, Ferrer- Luque CM, Gonzalez- Rodriguez MP, Martin- Peinado FJ, Gonzalez- Lopez S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid and 2,5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *Int Endod* 41: 418-23, 2008.
131. Prati C. What is the clinical relevance of in vitro dentine permeability tests? *J Dent* 22: 83-8, 1994.
132. Prati C, Erickson R, Tao L, Simpson M, Pashley DH. Measurement of dentin permeability and wetness by use of the Periotron device. *Dent Mater* : official publication of the Academy of Dental Materials 7: 268-73, 1991.
133. Rathke A, Alt A, Gambin N, Haller B. Dentin diffusion of HEMA released from etch-and-rinse and self-etch bonding systems. *Eur J Oral Sci* 115: 510-6, 2007.
134. Reeder OW Jr, Walton RE, Livingston MJ, Pashley DH. Dentin permeability: Determinants of Hydraulic Conductance. *J Dent Res* 57: 187-93, 1978.
135. Santini A, Miletic V. Quantitative micro-Raman assessment of dentine demineralization, adhesive penetration, and degree of conversion of three dentine bonding systems. *Eur J Oral Sci* 116: 177-83, 2008.

136. Sauro S, Pashley DH, Mannocci F, Tay FR, Pilecki P, Sherriff M, Watson TF. Micropermeability of current self-etching and etch-and-rinse adhesives bonded to deep dentine: a comparison study using a double-staining/confocal microscopy technique. *Eur J Oral Sci* 116: 184-93, 2008.
137. Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, Toledano M, Osorio R, Tay FR, Prati C. Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater : official publication of the Academy of Dent Mater* 23: 705-13, 2007.
138. Schellenberg U, Krey G, Bosshardt D, Nair PNR. Numerical density of dentinal tubules at the pulpal wall of human permanent premolars and third molars. *J Endod* 18: 104-9, 1992.
139. Schiebler TH, Korf H-W. Anatomie- Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie. Vol. 10., vollständig überarbeitete Auflage. Steinkopff Verlag, 2007.
140. 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* 45: 355-61, 2000.
141. Schmalz G, Hiller KA, Nunez L, Stoll J, Weis K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *J Endod* 27: 23-30, 2001.
142. Schmalz G, Schweikl H, Eibl M. Growth kinetics of fibroblasts on bovine dentin. *J Endod* 20: 453-6, 1994.
143. Schmidt RF. Physiologie des Menschen. 27.,korrigierte und aktualisierte Auflage ed. Springer- Verlag Berlin, 1997.
144. Schumacher GH. Anatomie für Zahnmediziner. 3. ed. Hüthig Verlag Heidelberg, 1997.
145. Schüpbach P, Lutz F, Finger WJ. Closing of dentinal tubules by Gluma Desensitizer. *Eur J Oral Sci* 105: 414-21, 1997.
146. Sekimoto T, Derkson GD, Richardson AS. Effect of cutting instruments on permeability and morphology of the dentin surface. *Oper Dent* 24: 130-6, 1999.
147. Sen BH, Wesselink PR, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J* 28: 141-8, 1995.
148. Slater RJ. Radioisotopes in biology. Oxford University Press New York 1990.
149. Spencer P, Byerley TJ, Eick JD, Witt JD. Chemical characterization of the dentin/adhesive interface by fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. *Dent Mater* 8: 10-5, 1992.
150. Staehle HJ. Experimentelle Studien zur Diffusion von Wasserstoff, Hydroxyl- und Kalziumionen durch das Dentin menschlicher Zähne. *Dtsch Zahnärztl Z* 43: 155, 1988.
151. Staehle HJ, Ziegler A. Experimentelle Studien zur Beeinflussung der Dentinpermeabilität durch Säuren, Lacke und Zemente. *Dtsch Zahnärztl Z* 43: 160, 1988.

152. Stoll J. Untersuchungen zur Permeabilität von koronalen Humandentin nach verschiedenen Vorbehandlungsmethoden. Zahnmed Diss Universität Regensburg . 1994.
153. Tagami J, Hosoda H, Burrow MF, Nakajima M. Effect of aging and caries on dentin permeability. Proc Finn Dent Soc 88 Suppl 1: 149-54, 1992.
154. Tagami J, Tao L, Pashley DH, Horner JA. The permeability of dentine from bovine incisors in vitro. Arch Oral Biol 34: 773-7, 1989.
155. Tagami J, Tao L, Pashley DH, Hosoda H, Sano H. Effects of high-speed cutting on dentin permeability and bonding. Dent Mater : official publication of the Academy of Dental Materials 7: 234-9, 1991.
156. Tanaka JLO, Filho EM, Salgado JAP, Salgado MAC, de Moraes LC, de Moraes MEL, de Melo Castilho JC. Comparative analysis of human and bovine teeth: radiographic density. Braz Oral Res 22: 346-51, 2008.
157. Tao L, Anderson RW, Pashley DH. Effect of endodontic procedures on root dentin permeability. J Endod 17: 583-8, 1991.
158. Tay FR, Lai CN, Chersoni S, Pashley DH, Mak YF, Suppa P, Prati C, King NM. Osmotic blistering in enamel bonded with one-step self-etch adhesives. J Dent Res 83: 290-5, 2004.
159. Thomas RZ, Ruben JL, ten Bosch JJ, Huysmans M-CDNJM. Effect of ethylene oxide sterilization on enamel and dentin demineralization in vitro. J Dent 35: 547-51, 2007.
160. Titley KC, Childers S, Kulkarni G. An in vitro comparison of short and long term bond strengths of polyacid modified composite resins to primary human and bovine enamel and dentine. Eur Arch Paediatr Dent 7: 246-52, 2006.
161. Toledano M, Osorio R, Moreira MA, Cabrerizo-Vilchez MA, Gea P, Tay FR, Pashley DH. Effect of the hydration status of the smear layer on the wettability and bond strength of a self-etching primer to dentin. Am J Dent 17: 310-4, 2004.
162. van der Graaf ER, ten Bosch JJ. A theoretical model for the hydraulic conductance of human dentine. Arch Oral Biol 33: 375-7, 1988.
163. Vongsavan N, Matthews B. The permeability of cat dentine in vivo and in vitro. Arch Oral Biol 36: 641-6, 1991.
164. Vongsavan N, Matthews B. Fluid flow through cat dentine in vivo. Arch Oral Biol 37: 175-85, 1992.
165. Vrana S. Wirkung von Agenzien zur Dentindesensibilisierung auf die Dentinpermeabilität unter dem Einfluss thermischer Wechselbelastung. 2007. Zahnmed Diss Universität Regensburg.
166. Wang X-J, Milner TE, de Boer JF, Zhang Y, Pashley DH, Nelson JS. Characterization of dentin and enamel by use of optical coherence tomography. APPLIED OPTICS 38: 2092-6, 1999.
167. Watanabe LG, Marshall GW, Jr., Marshall SJ. Dentin shear strength: effects of tubule orientation and intratooth location. Dent Mater 12: 109-15, 1996.

168. Weber DF, Zaki AE. Scanning and transmission electron microscopy of tubular structures presumed to be human odontoblast process. *J Dent Res* 65: 982-6, 1986.
169. Weber T. MEMORIX Zahnmedizin. Vol. 2. unveränderte Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2003.
170. Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A, Attin T. Is bovine dentine an appropriate substitute for human dentine in erosion/abrasion tests? *J Oral Rehabil* 35: 390-4, 2008.
171. White JM, Goodis HE, Marshall SJ, Marshall GW. Sterilization of teeth by gamma radiation. *J Dent Res* 73: 1560-7, 1994.
172. Wiegand A, Caspar C, Becker K, Werner C, Attin T. N-vitro-Untersuchung zur Zytotoxizität von Self-Etch-Adhaesivsystemen. *Schweizer Monatsschrift fuer Zahnmedizin = Revue mensuelle suisse d'odonto-stomatologie = Rivista mensile svizzera di odontologia e stomatologia / SSO* 116: 614-21, 2006.
173. Zhang Y, Agee KA, Pashley DH, Pashley EL. The effects of Pain-Free desensitizer on dentine permeability and tubule occlusion over time, in vitro. *J Clin Periodontol* 25: 884-91, 1998.

10 Danksagung

Herrn Professor Dr. G. Schmalz möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas, die Anleitung zu wissenschaftlichem Arbeiten und die großzügige Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchung sehr herzlich danken.

Herrn Dr. rer. nat. Karl- Anton Hiller gilt mein besonderer Dank für die gute Betreuung und Hilfe bei allen auftretenden Problemen, für seine große Geduld sowie für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Den Mitarbeiterinnen des Forschungsbereiches der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie danke ich für die Unterstützung bei der Versuchsdurchführung. Herzlicher Dank gilt Frau Claudia Waha für die Unterstützung während der praktischen Durchführung der Versuche und Frau Helga Ebersberger für die Anfertigung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen. Außerdem danke ich Frau Carola Bolay für die Hilfe am Computer wenn Herr Dr. Hiller mal nicht zur Stelle war.

Bei allen, die mir mit Rat und Tat bei Seite standen und mich unterstützten, insbesondere bei meinem Vater, meiner Oma, meinem Freund Martin und seinen tollen Eltern bedanke ich mich herzlichst.

11 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Judith Faradilla Henriette Kremzow
Geburtsort: Jember (RI)
Geburtsdatum: 05.10.1981

Schulbildung

9/1988 - 7/1992 Dompedro Grundschule München
9/1992 - 6/1998 Rupprecht Gymnasium München
9/1998 - 6/2000 Thomas- Mann Gymnasium München
9/2000 - 6/2002 Rupprecht Gymnasium München
6/2002 Abitur

Studium

10/2003 Beginn des Biologiestudiums an der TU- München in Weihenstephan
11/2003 Exmatrikulation in Weihenstephan
11/2003 Beginn des Studiums der Zahnmedizin an der Universität in Regensburg
10/2004 Naturwissenschaftliche Vorprüfung (Vorphysikum)
4/2006 Zahnärztliche Vorprüfung (Physikum)
7/2008 – 11/2008 Staatsexamen

Berufliche Tätigkeit

4/2009- 9/2009 Vorbereitungsassistentin in kassenzahnärztlicher Praxis, Steinberg am See
Seit 10/2009 Vorbereitungsassistentin in kassenzahnärztlicher Praxis, Amberg