

AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR  
ZAHNERHALTUNG UND PARODONTOLOGIE  
PROF. DR. MED. DENT. WOLFGANG BUCHALLA  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

*In vitro*-Untersuchungen zum Einfluss nicht-pulpaler Signalquellen und  
unterschiedlicher Blutflussbedingungen auf an Zähnen gemessene  
Photoplethysmographie-Signale bei physiologischer Durchblutungsrate

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Zahnmedizin

der Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Stephan Hartmut Knörzer

2015



AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR  
ZAHNERHALTUNG UND PARODONTOLOGIE  
PROF. DR. MED. DENT. WOLFGANG BUCHALLA  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

*In vitro*-Untersuchungen zum Einfluss nicht-pulpaler Signalquellen und  
unterschiedlicher Blutflussbedingungen auf an Zähnen gemessene  
Photoplethysmographie-Signale bei physiologischer Durchblutungsrate

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Zahnmedizin

der Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Stephan Hartmut Knörzer

2015

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Gottfried Schmalz

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Peter Proff

Tag der mündlichen Prüfung: 17.02.2016



|  |    |
|--|----|
| 1. Einleitung  | 1  |
| 2. Literaturübersicht  | 2  |
| 2.1 Anatomie der Zahn- und zahnumgebenden Gewebe                           | 2  |
| 2.1.1 Schmelz  | 2  |
| 2.1.2 Dentin und Wurzelzement  | 2  |
| 2.1.3 Pulpa  | 4  |
| 2.1.4 Gingiva und Parodont   | 6  |
| 2.1.5 Blut und Erythrozytenkonzentrate                                     | 7  |
| 2.2 Optische Charakterisierung der Zahn- und zahnumgebenden Gewebe         | 8  |
| 2.2.1 Grundbegriffe der Optik  | 8  |
| 2.2.2 Optische Eigenschaften der Zahnhartsubstanzen                        | 9  |
| 2.2.3 Optische Eigenschaften unbewegten Bluts                              | 12 |
| 2.2.4 Optische Eigenschaften fließenden Bluts                              | 13 |
| 2.2.5 Optische Eigenschaften der zahnumgebenden Gewebe                     | 16 |
| 2.3 Klinische Methoden zur Bestimmung der Zahnsensibilität                 | 17 |
| 2.4 Experimentelle Methoden zur Bestimmung der Zahnvitalität               | 19 |
| 2.4.1 Laser-Doppler-Flussmessung   | 19 |
| 2.4.2 Photoplethysmographie  | 22 |
| 2.4.3 Entstehung der Photoplethysmographiesignale                          | 25 |
| 2.4.4 Pulsoximetrie  | 26 |
| 2.4.5 Laser-Speckle  | 27 |
| 2.4.6 Ultraschall  | 29 |
| 2.4.7 Weitere experimentelle Methoden der nicht invasiven Blutflussmessung | 30 |
| 2.5 Bisherige Ergebnisse unserer Forschungsgruppe                          | 31 |
| 3. Fragestellung   | 33 |
| 4. Material und Methode  | 34 |

|   |    |
|---|----|
| 4.1. Versuchsaufbau für das Zahn-Gingiva-Modell   | 34 |
| 4.1.1 Zahn-Gingiva-Modell, Kreislaufsystem und Lichtquelle  | 35 |
| 4.1.2 Messkomponenten der ersten Generation   | 37 |
| 4.1.3 Messkomponenten der zweiten Generation  | 38 |
| 4.1.4 Vorbereitung der Erythrozytenkonzentrate  | 42 |
| 4.1.5 Versuchsbedingungen   | 43 |
| 4.2 Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell zum Vergleich der Messkomponenten<br>der ersten und zweiten Generation                | 44 |
| 4.3 Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit verschiedenen Blutflussmustern  | 46 |
| 4.3.1 Untersuchungen ohne Blutfluss   | 46 |
| 4.3.2 Untersuchungen mit Pumpenabschaltung  | 47 |
| 4.3.3 Untersuchungen mit konstantem, ungepulstem Blutfluss  | 47 |
| 4.4 Entwicklung des Versuchsaufbaus mit dem Glaspulpamodell   | 48 |
| 4.4.1 Entwicklung der Glaspulpa   | 49 |
| 4.4.2 Entwicklung des Modellsockels   | 52 |
| 4.4.3 Entwicklung der Modellkammer für das Glaspulpamodell  | 55 |
| 4.4.4 Modifikation der Schlauchpumpen und Anpassung des Schlauchsystems   | 58 |
| 4.4.5 Lichtquelle und Messsystem  | 60 |
| 4.5 Untersuchungen am Glaspulpamodell mit gepulstem Blutfluss   | 61 |
| 4.6 Untersuchungen am Glaspulpamodell mit Pumpenabschaltung   | 62 |
| 4.7 Quantitative Auswertung der Spannungssignale  | 62 |
| 5. Ergebnisse   | 64 |
| 5.1 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell zum Vergleich der<br>Messkomponenten der ersten und zweiten Generation | 64 |
| 5.2 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell ohne Blutfluss   | 68 |
| 5.3 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit Pumpenabschaltung  | 68 |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 5.4   | Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit konstantem, ungepulstem Blutfluss                               | 71 |
| 5.5   | Ergebnisse der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit gepulstem Blutfluss   | 73 |
| 5.6   | Ergebnisse der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit Pumpenabschaltung   | 76 |
| 6.    | Diskussion   | 79 |
| 6.1   | Diskussion des Materials und der Methode   | 79 |
| 6.1.1 | Diskussion der <i>in vitro</i> -Methode und der Photoplethysmographie als Methode zur Bestimmung der Zahnvitalität       | 79 |
| 6.1.2 | Methode der Untersuchung am Zahn-Gingiva-Modell zum Vergleich der Messkomponenten der ersten und zweiten Generation      | 80 |
| 6.1.3 | Methode der Untersuchungen ohne Blutfluss und der Untersuchungen mit Pumpenabschaltung am Zahn-Gingiva-Modell            | 82 |
| 6.1.4 | Methode der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit konstantem, ungepulstem Blutfluss                                  | 83 |
| 6.1.5 | Methode der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit gepulstem Blutfluss  | 85 |
| 6.1.6 | Methode der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit Pumpenabschaltung  | 88 |
| 6.1.7 | Methode der quantitativen Auswertung   | 88 |
| 6.2   | Diskussion der Ergebnisse  | 89 |
| 6.2.1 | Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell zum Vergleich der Messkomponenten der ersten und zweiten Generation | 89 |
| 6.2.2 | Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell ohne Blutfluss  | 91 |
| 6.2.3 | Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit Pumpenabschaltung   | 91 |
| 6.2.4 | Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit konstantem, ungepulstem Blutfluss                               | 92 |
| 6.2.5 | Ergebnisse der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit gepulstem Blutfluss   | 93 |
| 6.2.6 | Ergebnisse der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit Pumpenabschaltung   | 94 |
| 6.2.7 | Diskussion der Entstehungsweise der PPG-Signale  | 94 |

|   |     |
|---|-----|
| 7. Zusammenfassung  | 100 |
| 8. Anhang   | 101 |
| 8.1 Protokoll der technischen Überprüfung des PPG 2                           | 101 |
| 8.2 Protokoll für Versuchsdurchführungen mit dem Photoplethysmographie-Aufbau | 107 |
| 8.3 Danksagung  | 112 |
| 8.4 Lebenslauf  | 114 |
| 9. Literaturverzeichnis   | 116 |

## 1. Einleitung

Jeder zahnärztlichen Behandlung geht eine ausführliche Diagnostik voraus, deren fester Bestandteil auch eine Befundung des Zahnpulpagewebes und die Überprüfung der Pulpasensibilität im Sinne einer Vitalitätsprüfung ist. Das Ergebnis der Sensibilitätsprüfung ist maßgeblich für die Entscheidung über die Notwendigkeit endodontischer Maßnahmen und deren Invasivität, hängt jedoch von der Compliance des Patienten und der Innervation des Pulpagewebes ab, die nicht notwendigerweise mit dessen Vaskularisation korrelieren muss [1,29,67,116,136,225].

Neben der Indikation im Vorfeld von Therapiemaßnahmen, kommt der Vitalitätsprüfung im Rahmen des Tissue Engineering von Pulpagewebe eine entscheidende Rolle bei der Beurteilung des Therapieerfolges zu. Aktuell in der Entwicklung und im Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen befindliche, endodontische Behandlungsmethoden zielen auf eine Regeneration des Pulpagewebes nach erfolgreicher Therapie einer Pulpitis oder Pulpanekrose ab und sollen die bis dato übliche Devitalisierung des Zahnes zu Gunsten einer Vitalerhaltung oder Revitalisierung der Pulpa ersetzen, um das medizinische Idealziel einer *restitutio ad integrum* zu ermöglichen [43,82,83,124,145,183,184,226]. Neben der Revaskularisation scheint zwar, bei Verwendung pulpaler Stammzellen (DPSCs), die ontogenetisch der Neuralleiste entstammen [139,155], auch eine Reinnervation der Pulpa möglich [87,146,147]. Um den Erfolg der regenerativen Therapiemaßnahmen klinisch am Patienten validieren zu können, wird jedoch explizit auf die Notwendigkeit einer objektiven, zuverlässigen und nicht invasiven Methode zur Bestimmung der Zahnvitalität hingewiesen [226].

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen einer Arbeitsgruppe aus drei DFG-Projekten unter Kooperation der Fakultät für Zahnerhaltung und Parodontologie (SCHM 386/3) und der Fakultät für experimentelle und angewandte Physik (GA 501/10) der Universität Regensburg sowie der Fakultät für Elektro- und Informationstechnik der Ostbayerischen Technischen Hochschule Regensburg (MO 2196/1). Sie setzt die Arbeit bereits publizierter Untersuchungen unserer Projektgruppe fort [18,79,88,109,150,151,190,191], in denen ein *in vitro*-Versuchsaufbau zur Simulation eines Zahnes mit separater Zahn- und Gingivadurchblutung zur Untersuchung der Photoplethysmographie als mögliche Methode zur Vitalitätsprüfung an Zähnen etabliert werden konnte.

## **2. Literaturübersicht**

### **2.1 Anatomie der Zahn- und zahnumgebenden Gewebe**

Der Zahn besteht aus den Hartgeweben Dentin, Schmelz und Wurzelzement, die die weichgewebliche Pulpa umgeben, und ist über das Parodont im Alveolarknochen verankert. Die Gingiva bedeckt den Alveolarknochen und den Zahn bis knapp oberhalb des Zahnhalses. Die Beschreibung dieser anatomischen Strukturen in den Kapiteln 2.1.1 bis 2.1.4 stellt eine Zusammenfassung der Lehrbücher [75,113,115,138] dar.

#### **2.1.1 Schmelz**

Der Zahnschmelz bildet die äußerste Hartschicht der Zahnkrone. Er besteht praktisch vollständig aus Hydroxylapatitverbindungen, deren Kristalle die kleinsten Struktureinheiten im Schmelz darstellen. Die Kristalle besitzen eine hexagonale Querschnittsfläche mit einem Durchmesser von ca. 40 nm und sind 100 - 1000 nm lang [216]. Sie sind räumlich strukturiert zu Schmelzprismen mit 4 - 5 µm großem Durchmesser zusammengelagert, die geschwungen und ineinander verflochten von der Dentin-Schmelz-Grenze bis zur Schmelzoberfläche ziehen und durch die interprismatische Substanz voneinander abgegrenzt werden. Im Prismenzentrum sind die Apatitkristalle parallel zur Prismenlängsachse ausgerichtet, im äußersten Bereich annähernd rechtwinklig. An Schliffpräparaten werden die Prismen in unterschiedlichen Winkeln angeschnitten, so dass durch unterschiedliche Lichtbrechung und -reflexion im Schmelz die Hunter-Schregerschen-Streifen parallel zum Prismenverlauf beobachtet werden können. Retzius-Streifen verlaufen als hypomineralisierte Bereiche quer dazu. Lediglich eine 20 - 30 µm starke Schmelzschicht auf der Oberfläche des Zahnes ist prismenfrei. 1,5 – 4 Gew.% des Zahnschmelzes bestehen aus Wasser, das in den Kristallen als Hydratwasser gebunden ist oder frei im Porenraum zwischen den Kristallen vorhanden ist. Hier finden sich auch geringe Mengen organischer Substanz, vor allem Proteine und Lipide.

#### **2.1.2 Dentin und Wurzelzement**

Den größten Volumenanteil der Zahnhartsubstanzen stellt das Dentin dar. Es besteht aus einer organischen Kollagenmatrix (ca. 20 Gew.%) sowie anorganischem, amorphem Calci-

umphosphat und Apatitkristallen (ca. 70 Gew.%). Die Apatitkristalle des Dentins sind deutlich kleiner (Länge: 20 nm, Breite:  $\leq 20$  nm, Dicke: 3,5 nm) als die des Schmelzes und liegen in geringerer Dichte vor. Die verbleibenden ca. 10 Gew.% des Dentins sind Wasser. Die mikromorphologische Struktur des Dentins ist in der von Zolotarev und Grisimov [228] übernommenen Abb. 2.1 dargestellt.

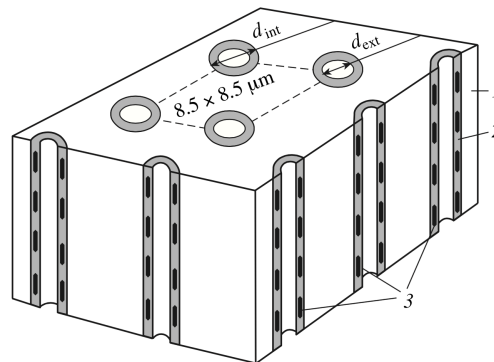


Abb. 2.1: Skizze der Dentinstruktur: intertubuläres Dentin (1), peritubuläres Dentin (2), längsgerichtete Apatitkristalle des peritubulären Dentins (3); unverändert übernommen aus [228]

Dentin besteht in erster Linie aus intertubulärem Dentin, das parallel zur Zahnoberfläche Schichten mit unterschiedlichem Mineralisationsgrad aufweist (Prädentin, Zwischendentin, zirkumpulpaes Dentin und Manteldentin). Von der Pulpa aus entsenden die Odontoblasten Zellfortsätze ins Dentin (Tomessche Fasern), die in den Dentintubuli verlaufen. Während die Odontoblastenfortsätze nach circa einem Drittel der Distanz enden [141], ziehen die Tubuli bis zur Schmelz-Zement-Grenze, wo sie sich verzweigen. Im Bereich der Zahnkrone verlaufen sie geschwungen, im Wurzelbereich geradlinig.

Die Dentintubuli sind mit peritubulärer Flüssigkeit gefüllt und einer 40 nm (pulpanah) bis 750 nm (pulpafern) starken Schicht peritubulären Dentins ausgekleidet, das 40 % mehr Mineralien enthält als intertubuläres Dentin. Die Apatitkristalle des peritubulären Dentins sind parallel zur Längsachse der Kanälchen ausgerichtet (Abb. 2.1). Der Innendurchmesser der Tubuli beträgt pulpanah 2 - 3  $\mu m$ , nahe der Schmelz-Zement-Grenze 0,5 - 1  $\mu m$ . Ihre Anzahl pro Querschnittsfläche nimmt nach peripher hin ab (durchschnittlich 35000 pro  $mm^2$ ) [228].

Die Odontoblasten bilden zeitlebens Sekundärdentin und als Abwehr- oder Reparaturreaktion tertiäres Dentin. Letzteres ist in seiner Struktur deutlich unregelmäßiger und weniger mineralisiert als Primär- und Sekundärdentin [141]. Auch im Dentin entstehen durch periodische Mineralisation Streifungen parallel zur Dentin-Schmelz-Grenze, die als Ebner-Linien und Owen-Lien bezeichnet werden.

Das Wurzelzement besitzt im Vergleich zum Dentin einen größeren organischen Anteil, der wiederum hauptsächlich aus Kollagen besteht, und ähnelt dem Knochengewebe. Der anorganische Teil besteht aus Calciumphosphatverbindungen, die Zusammensetzung ist jedoch unregelmäßiger als bei Schmelz oder Dentin.

### 2.1.3 Pulpa

Die Pulpa des Zahns ist insbesondere im Bereich der Kronenpulpa in Schichten organisiert, in denen sich jeweils spezifische Pulpazelltypen befinden [9]. Der Odontoblastensaum bildet die äußerste Schicht und grenzt das lockere Bindegewebe der Pulpa zum Dentin ab. Nach innen schließt sich die kernarme Weil-Zone an. Zentral findet sich eine kernreiche Schicht, die Fibrozyten und undifferenzierte mesenchymale Zellen mit reduzierter Zellaktivität enthält. Letztere können zu allen in der Pulpa vorkommenden Zelltypen ausdifferenzieren, insbesondere zu Odontoblasten oder odontoblastenähnlichen Zellen. Sie stellen also eine Art Zellreserve für regenerative Prozesse dar. In der gesamten Pulpa finden sich zusätzlich häufig Makrophagen, dendritische Zellen und weitere Immunzellen [141,225]. Die gallertartige Grundsubstanz der Pulpa enthält vor allem Glykosaminoglykane und Proteoglykane [141]. Mit zunehmendem Alter bildet die Pulpa vermehrt Fasergewebe aus und wird zellärmer. Zudem verkleinert sich das Pulpenkavum durch Sekundär- und Tertiärdentinapposition. Dies kann zur vollständigen Obliteration von Kronen- und Wurzelkavum führen [225].

Die Blutgefäße der Pulpa sind an die Arteriae und Venae alveolares superiores und inferior angeschlossen. Sie treten grundsätzlich über das Foramen apicale in die Pulpa ein. In bis zu 30 % der Fälle finden sich zusätzliche Gefäßzugänge aus akzessorischen Kanälen oder Pulpaperiodontalkanälen, vor allem bei Molaren [110,141]. Die Arteriolen (Gefäßdurchmesser ca. 100 - 150 µm [35,105]) ziehen zentral in maximal drei Gefäßästen bis zur Kronenpulpa. Dort verzweigen sie sich zur Peripherie hin zu Kapillaren, die den subodontoblastischen Gefäßplexus (Gefäßdurchmesser ca. 4 - 8 µm [35,105]) mit vergleichsweise dünnem,



fenestriertem Endothel [35,110,113] ausbilden. Einige wenige Gefäßschlaufen des Kapillarplexus reichen bis in den Odontoblastensaum hinein. Während der Gefäßplexus die gesamte Kronenpulpa dicht auskleidet, reicht er nur unregelmäßig bis in die Wurzelpulpa [110]. Zentral verlaufende Venolen ( $\leq 200 \mu\text{m}$  [35,105]) drainieren das Blut des Plexus aus der Pulpa. Sie sind großlumiger als die Arteriolen und verjüngen sich zum Foramen apicale hin [110]. Der Gefäßplexus und die zu- und ableitenden Gefäße sind gut anastomosiert. Als Werte für den pulpalen Blutfluss wurden in Studien an Hunden und Katzen Werte von ca. 20 - 60 ml/min pro 100 g Gewebe angegeben [105-107,137,165,208,225]. Der intravasale Druck liegt laut Tønder [208] im Tiermodell arteriell bei ca. 43 mmHg, im Kapillarplexus bei ca. 35 mmHg und venös bei ca. 19 mmHg. Der interstitielle Druck in der Pulpa ist im Vergleich zu anderen Geweben erhöht, konnte aber bislang nicht eindeutig bestimmt werden. Es wurden Werte zwischen 10 – 100 mmHg angegeben [76,200,208].

Die sensorische nervale Versorgung der Pulpa erfolgt durch den Nervus trigeminus, dessen terminale Äste mit dem Verlauf der Blutgefäße zentral vom Foramen apicale in die Kronenpulpa einziehen und nach peripher den subodontoblastischen Raschkowschen Nervenplexus bilden. Der Plexus enthält sowohl unmyelinisierte C-Nervenfasern als auch myelinisierte A $\beta$ - und A $\delta$ -Fasern [1,9,225]. Während die C-Fasern vor allem zentral verlaufen, treten die zunächst noch myelinisierten A-Fasern als freie Nervenendigungen ohne Myelinscheide in den Plexus ein [225] und entsenden Ausläufer bis in die Dentintubuli, wo sie eng an die Odontoblastenfortsätze angelagert verlaufen. Auch über die Ausbildung von Gap Junctions zwischen Odontoblastenfortsätzen und Nervenendigungen wurde berichtet [141]. Den freien Endigungen der A $\beta$ - (90 %) und A $\delta$ -Fasern (10 %) wird die Entstehung des hellen, stechenden Schmerzes bei akuten Entzündungsprozessen und direkter Reizung zugeschrieben [1,225]. Unter den verschiedenen Theorien zur Schmerzentstehung durch thermische Reize erhält die hydrodynamische Theorie am meisten Zuspruch. Ihr zufolge führen bei Kälteapplikation Flüssigkeitsausströme in den Dentintubuli bzw. -einströme bei Wärmeapplikation zu Erregungspotenzialen in den Nervenfasern [1,141,148]. C-Fasern können auch Hypoxien und Pulpanekrosen überstehen, ihnen wird die Entstehung eines drückenden, ausstrahlenden Schmerzes zugeschrieben [1,148,225].

Zentral verlaufende, vegetative Nervenäste aus den Nervi facialis und glossopharyngeus sowie den Zervikalganglien [1] dienen der nervalen Regulation von Blutdruck und -fluss in

der Pulpa [105], wobei auch den sensorischen A-Nervenfasern aus den Dentintubuli bei direkter Reizung eine vasodilatative Wirkung auf lokale Gefäßkapillaren zugeschrieben wurde [144]. Auch endothelständige, metabolische und humorale Mediatoren sind an der lokalen Durchblutungsregulation der Pulpa beteiligt [225]. CGRP (Calcitonin Gene-Related Peptide) und Substanz P wirken zu Beginn neurogener Entzündungsprozesse vasodilatativ und erhöhen die Gefäßpermeabilität [1,141,162,208], weitere Entzündungsmediatoren wie Prostaglandine, Bradikinin und Histamin zeigen ebenfalls, jedoch geringere, vasomotorische Wirkung [1,208].

#### **2.1.4 Gingiva und Parodont**

Die Gingiva propria kann in freie und befestigte Gingiva unterteilt werden. Vom Gingivasaum bis zur Schmelz-Zement-Grenze haftet die 0,8 - 2,5 mm breite freie Gingiva über eine Basallamina und Hemidesmosomen des Saumepithels dem Schmelz an. Bindegewebsfasern der 1 - 9 mm breiten befestigten Gingiva inserieren suprakrestal im Wurzelzement sowie weiter apikal im Alveolarknochen. Insgesamt überragt die Gingiva den Alveolarknochen nach koronar um ca. 2 mm [61]. Vestibulär reicht sie bis zur mukogingivalen Grenze und geht dort in die Alveolarmukosa über. Subkrestal ist der Zahn über die kollagenen Sharpey-Fasern des Desmodonts bindegewebig in der Alveole verankert. Das Desmodont bildet zusammen mit Wurzelzement, Alveolarknochen und Gingiva den Zahnhalteapparat. Es ist zellreich und enthält neben extrazellulärer Matrix vor allem Fibrozyten.

Die Blutversorgung der Gingiva erfolgt einerseits durch parodontale Arteriolen, die aus den Arteriae alveolares superiores und der Arteria alveolaris inferior gespeist werden, andererseits durch Arterien der Alveolarmukosa, die über die Arteriae buccalis, lingualis, mentalis und palatinae versorgt werden. Die Arteriolen verlaufen zunächst parallel zur marginalen Gingiva, verzweigen sich nach koronal in terminale Arteriolen (30 - 50 µm Gefäßdurchmesser) und bilden unterhalb der Epithelschicht einen netzartigen Gefäßplexus (4 - 8 µm). Über postkapilläre und kleine Venolen (30 - 50 µm) ist der Gefäßplexus parallel zur arteriellen Versorgung an venöse Gefäße im Parodont und der Alveolarmukosa angeschlossen [99,156]. Für den gingivalen Blutfluss wurden von Hock et al. [80] mittels Injektion radioaktiv markierter 15 µm-Mikrokugeln an Hunden ein Durchschnittswert von 30 ml/min pro 100 g Gewebe gemessen.

Gingivitiden beeinflussen die Gefäßversorgung der marginalen Gingiva. Während schwache und mittelstarke Gingivitiden reversible Gefäßveränderungen bewirken, führen starke Entzündungsprozesse zu irreversiblen Veränderungen der Gefäßorganisation und -größe, wie einer Zunahme der Länge der Kapillargefäße, so dass aus den zuvor netzartig organisierten Kapillaren Schleifen entstehen. Gleichzeitig nimmt der Gefäßdurchmesser der Arteriolen ab und die Venolen werden weiter. Die Durchblutung der Einzelgefäße scheint jedoch weniger beeinflusst zu werden [80,99,156].

### **2.1.5 Blut und Erythrozytenkonzentrate**

Menschliches Vollblut ist ein heterogenes Gemisch mit einem zellulärem und einem flüssigen Anteil. Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten stellen mit einem Volumenanteil (Hämatokrit) von durchschnittlich 45 % (37 – 47 % bei Frauen, 40 - 54 % bei Männern [164]) den zellulären Anteil dar. Sie übernehmen die Hauptaufgaben des Bluts im Organismus, zu denen der Gastransport zu und aus den Geweben, immunologische Aufgaben und die Blutgerinnung zählen. 1 µl Blut enthält bei Männern  $4,5 - 6,0 \times 10^6$ , bei Frauen  $4,1 - 5,2 \times 10^6$  Erythrozyten [205]. Die Erythrozyten enthalten Hämoglobin, das dem Sauerstofftransport dient und entsprechend in oxygenierter ( $\text{HbO}_2$ ) und desoxygenierter (Hb) Form vorliegen kann. Die flüssige Phase des Bluts wird als Blutplasma bezeichnet. Es besteht zu 90 % aus Wasser und zu 10 % aus darin gelösten Stoffen, vor allem Proteinen, niedermolekularen Verbindungen und Elektrolyten [77,164].

Als Blutkonserven für den medizinischen Gebrauch werden in Mitteleuropa standardmäßig leukozytendepletierte Erythrozytenkonzentrate verwendet, die aus Vollblut von Spendern hergestellt werden. Zur Herstellung der Blutkonserven wird Vollblut gesunder Spender in sterile Beutel mit CPD-Antikoagulans gefüllt und zentrifugiert. Die sedimentierten Erythrozyten verbleiben im Beutel und werden mit Additivlösung aufgeschwemmt. Die restlichen Blutbestandteile (Plasma, Leukozyten und Thrombozyten) werden abgetrennt. Um Immunreaktionen des Empfängers zu vermeiden, müssen in diesem ersten Erythrozytenkonzentrat eventuell noch enthaltene Leukozyten durch Filtration abgereichert werden (Leukozytendepletion) [101]. Das fertige Konzentrat besitzt eine Haltbarkeit von bis zu sieben Wochen [101,111]. Leukozytendepletierte Erythrozytenkonzentrate (EK) kamen auch in der vorliegenden Arbeit zur Simulation eines Blutflusses zum Einsatz. Ihnen wurde

das Blockcopolymer Synperonic beigemischt (Kapitel 4.1.4), das in Studien eine Reduktion der Aggregationseffekte (Kapitel 2.5) und der mechanischen Belastung der Erythrozyten bewirkte und die Überlebensdauer der Erythrozyten unter Laborbedingungen verlängerte [8,142,227], ohne weitere Eigenschaften zu beeinflussen [196].

## **2.2 Optische Eigenschaften der Zahn- und zahnumgebenden Gewebe**

### **2.2.1 Grundbegriffe der Optik**

Aus dem teilkristallinen und strukturierten Aufbau der Zahnhartsubstanzen ergeben sich für ihre optischen Eigenschaften einige Besonderheiten, die auch für den Einsatz von Licht zur Detektion der pulpalen Durchblutung relevant sind. Zum besseren Verständnis sollen die wichtigsten Termini zur Beschreibung der optischen Eigenschaften von Materialien kurz erläutert werden.

Die Transmission bezeichnet den prozentualen Teil der ursprünglichen Lichtintensität, der nach Durchstrahlung eines Mediums wieder austritt und beschreibt damit die Lichtdurchlässigkeit eines Materials. Ihr Kehrwert wird als Opazität und deren logarithmische Darstellung als Extinktion bezeichnet, die damit die Lichtundurchlässigkeit beschreibt. Die Transmission hängt von der Absorption und Streuung im Medium und der Reflexion an dessen Grenzflächen in der Weise ab, dass diese Effekte die Intensität eingestrahelter Lichtwellen reduzieren oder deren Ausbreitungsrichtung ändern. Reflexion tritt an Grenzflächen zweier Medien mit unterschiedlichen Brechungsindices auf. In der Regel wird nur ein Teil der eingestrahnten Wellen reflektiert. Die restlichen Wellen treten in das Medium ein. Werden unter bestimmten Bedingungen (kleiner Einfallswinkel, hohe Differenz der Brechungsindices) sämtliche Wellen reflektiert, spricht man von totaler Reflexion. Der prozentuale Anteil der Lichtintensität, der im Medium absorbiert, also in andere Energieformen umgewandelt wird, wird als Absorption bezeichnet. Die Streuung bezeichnet die Richtungsänderung von Lichtwellen im durchstrahlten Medium, bei der deren Intensität nicht notwendigerweise verändert wird. Alle Kenngrößen hängen vom durchstrahlten Material, dessen Schichtdicke und Konzentration und von der verwendeten Lichtwellenlänge ab [73]. Das sichtbare Lichtspektrum umfasst Wellenlängen von 380 - 780 nm, kürzere Wellenlängen von 100 - 380 nm werden dem

Ultraviolettbereich zugeordnet, längere Wellenlängen von 780 - 3000 nm dem Nahinfrarotbereich [230].

### **2.2.2 Optische Eigenschaften der Zahnhartsubstanzen**

Zahnschmelz absorbiert nur geringfügig im sichtbaren und nahinfraroten Wellenlängenbereich bis 1060 nm [57]. Im Bereich von 240 - 300 nm existiert ein Absorptionspeak. Die Streuung ist im kurzwelligen Bereich hoch ( $400\text{ cm}^{-1}$ ) und nimmt mit zunehmender Wellenlänge bis auf sehr geringe Werte ( $20\text{ cm}^{-1}$ ) ab [57,199]. Die Transmission des Schmelzes ist insgesamt hoch, besonders bei langwelligem Licht. Im Dentin ist die Streuung durchweg sehr hoch und zeigt keine Abhängigkeit von der Lichtwellenlänge. Somit bestimmen in erster Linie die Absorptionseigenschaften des Dentins die spektrale Verteilung der Transmissionswerte ganzer Zähne [57,79,202,211,212].

Eine umfassende spektroskopische Analyse vollständiger, humaner Zähne führten Hirmer et al. [79] im Spektralbereich von 600 – 2600 nm durch. Diese Studie entstand im Rahmen desselben DFG-Forschungsprojektes (SCHM 386/3, GA 501/10, MO 2196/1), dem auch die vorliegende Arbeit entstammt. Abb. 2.2 ist der Arbeit von Hirmer et al. [79] entnommen und stellt die Ergebnisse der Transmissionsmessungen dar. Die höchsten Transmissionswerte wurden im roten und nahinfraroten Spektralbereich von ca. 600 – 1400 nm gemessen, den Hirmer et al. als „Transmissionsfenster“ für weitere Untersuchungen auf Basis der Photoplethysmographie empfohlen. Im längerwelligen Nahinfrarotbereich ist die Transmission gering.

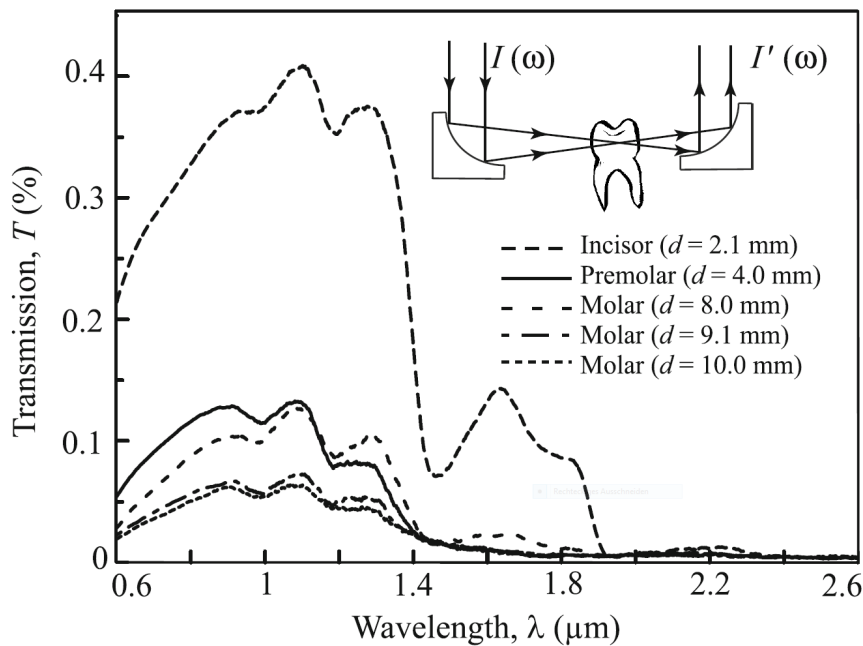


Abb. 2.2: Spektrale Analyse ganzer Zähne (Frontzahn, Prämolare und Molaren) im Fourier-Transformations-Infrarot-Spektrometer (FTIR): Abszisse und Ordinate zeigen die gemessene Transmission  $T$  in Abhängigkeit von der Wellenlänge  $\lambda$  des eingestrahnten Lichts; im Bereich von 600 – 1400 nm zeigt sich der Bereich des „Transmissionsfensters“, der für die optische Bestimmung von Durchblutungssignalen empfohlen wurde; unverändert übernommen aus [79]

Weitere Studien zur Transmission von Zähnen zeigten ähnliche Ergebnisse [4,76,84,150]. Für Wellenlängen unter 600 nm ermittelten Ikawa et al. [84] zusätzlich an nicht extrahierten, vitalen Zähnen eine geringe Transmission, diskutieren jedoch die Absorption des Blut-Hämoglobins (Kapitel 2.2.3) in der Pulpa als mögliche Ursache. Zusammenfassend beschreibt die Literatur eine hohe Transmission der Zahnhartsubstanzen im roten bis infraroten Wellenlängenbereich.

Für lichtgestützte Untersuchungen ist neben der Transmission auch der Strahlengang der Lichtwellen innerhalb der Zahnhartsubstanzen zu berücksichtigen. Bereits an der Zahnoberfläche wird ein Teil der Lichtwellen reflektiert [85]. Die in den Zahn eintretenden Strahlen folgen unabhängig vom Einstrahlwinkel, in dem sie auf die Zahnoberfläche treffen, dem Verlauf der Schmelzprismen bis zur Schmelz-Dentin-Grenze [6,157,159]. Die Prismen fungieren durch ihre parallel zur Prismenlängsachse ausgerichteten Apatitkristalle als Lichtleiter, an deren Grenzflächen die Wellen reflektiert werden (innere Reflexion) [6,159]. Im Dentin wurde

eine mögliche Lichtleiterfunktion des peritubulären Dentins und der peritubulären Flüssigkeit diskutiert [157,211,212,214]. Deren Brechungsindices erfüllen jedoch nicht die physikalischen Voraussetzungen zur inneren Reflexion [171]. Als wahrscheinlicher wird die Weiterleitung der Lichtwellen im intertubulären Dentin parallel zum Verlauf der Dentintubuli angesehen. Als Ursache wurde die starke Streuung und die geringe Absorption von Lichtwellen im sichtbaren bis nahinfraroten Wellenlängenbereich im Dentin diskutiert [157,170,228]. Abb. 2.3 ist einer Studie von Odor et al. [159] entnommen und zeigt den Strahlenverlauf eines Helium-Neon-Laserstrahls mit 632,8 nm Wellenlänge entlang der Schmelzprismen und Dentintubuli bei unterschiedlichem Einstrahlwinkel an einem humanen Frontzahn.

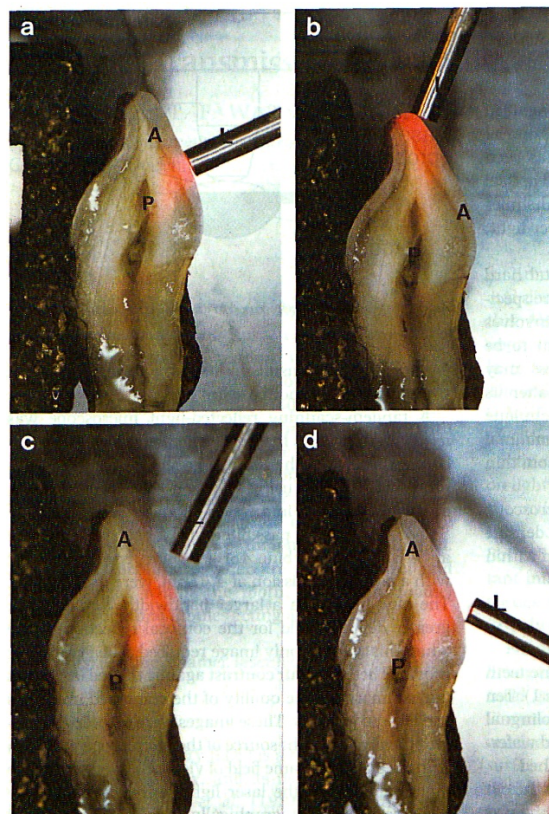


Abb. 2.3: Lichtleitung an einem humanen Frontzahn im Schmelz und Dentin; auch bei variierendem Einstrahlwinkel (a - d) werden die Lichtwellen durch die Lichtleiterfunktion der Schmelzprismen entlang deren Verlauf bis zur Schmelz-Dentin-Grenze (A) und entlang der Dentintubuli bis ins Pulpenkavum (P) weitergeleitet; unverändert übernommen aus [159]

### 2.2.3 Optische Eigenschaften unbewegten Bluts

Die Absorptionseigenschaften des Bluts werden hauptsächlich durch die Erythrozyten bestimmt, die Hb und HbO<sub>2</sub> in hoher Konzentration enthalten. Hämoglobin absorbiert sehr stark im blau-grünen Wellenlängenbereich unter 600 nm mit spezifischen Absorptionsbanden bei 420 nm (Soret-Bande) und 540 nm [180]. Die Oberfläche der Erythrozyten sowie Hb (Hb SatO<sub>2</sub> 0% in Abb. 2.4) und HbO<sub>2</sub> (Hb SatO<sub>2</sub> 100% in Abb. 2.4) streuen einfallendes Licht zusätzlich stark und tragen so zu einer geringen Transmission bei [135]. Absorptions- und Streuungseffekte durch Leukozyten und Blutplasma sind vernachlässigbar gering (unter 1 % der Gesamttextinktion) [135].

Das Absorptionsspektrum einer Vollblutverdünnung mit einem Hämatokritwert von 5 % [180] (Abb. 2.4) zeigt im sichtbaren Wellenlängenbereich die charakteristischen Absorptionsmaxima von Hb und HbO<sub>2</sub>. Ab 1100 nm dominiert die Absorptionscharakteristik des Wassers (gepunktete Linie in Abb. 2.4). Sie zeigt einen Anstieg der Absorption im Nahinfrarotbereich mit Absorptionsmaxima bei ca. 1450 nm und 1950 nm.

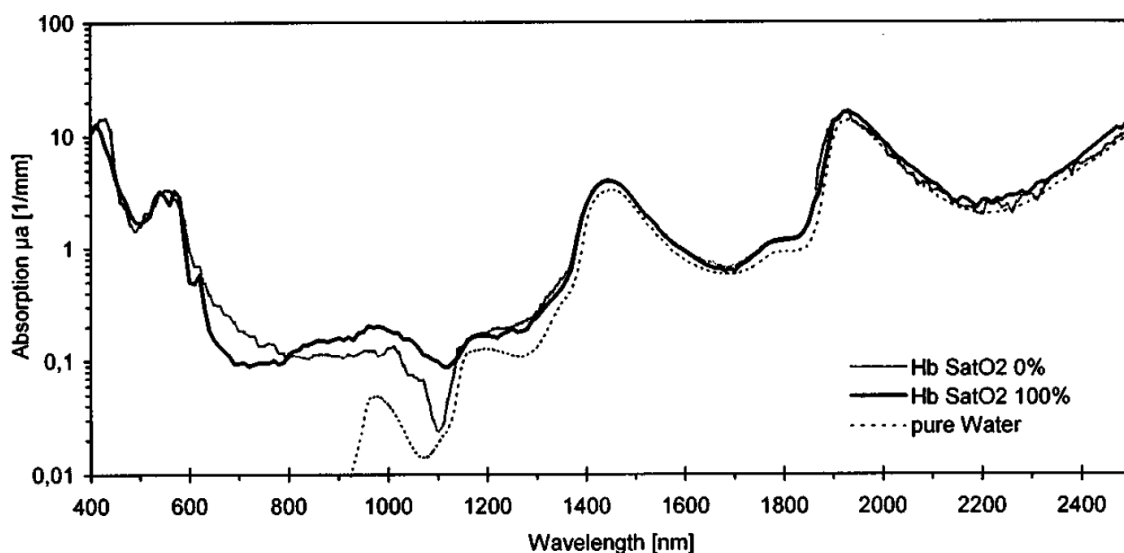


Abb. 2.4: Absorptionsspektrum einer Vollblutverdünnung mit einem Hämatokritwert von 5 % bei 0 % und 100 % Sauerstoffsättigung des Hämoglobins (Hb SatO<sub>2</sub>); das Absorptionsspektrum von Wasser ist als gepunktete Linie dargestellt; logarithmische Darstellung des Absorptionskoeffizienten  $\mu_a$  bei einer Scherrate von 500 s<sup>-1</sup> im Wellenlängenbereich von 400 – 2500 nm, berechnet mittels inverser Monte-Carlo-Simulation (IMCS); unverändert übernommen aus [180]



Die Transmission des Bluts hängt neben dem Hämatokrit von den Parametern Hämolyse, Scherrate, Osmolarität und Sauerstoffsättigung ab. Den größten Einfluss haben bei unbewegtem Blut der Hämatokritwert, dessen Erhöhung zu einer linearen Erhöhung der Absorption und Abnahme von Streuungseffekten durch das Blutplasma führt, und die Sauerstoffsättigung ( $\text{SaO}_2$ ), die zu einer Änderung des Absorptionsverhaltens von Hämoglobin im sichtbaren Wellenlängenbereich führt (Abb. 2.4) [56,125,133,135,180].

#### **2.2.4 Optische Eigenschaften fließenden Bluts**

Fließt Blut durch Gefäße, treten mehrere physikalische Phänomene auf, die unter anderem zu einer Änderung der Transmission im Vergleich zu unbewegtem Blut führen [33,47,54,79,125,204]. Im durchströmten Gefäß entsteht ein Fließgeschwindigkeitsgradient in radialer Richtung von der Gefäßwand (Geschwindigkeit null) zur Gefäßmitte (höchste Geschwindigkeit). Dieser Gradient wird durch die Scherrate ( $D$ ) als Differenz der Fließgeschwindigkeit zweier Schichten und deren Abstand zueinander beschrieben. Sie trägt die Einheit  $\text{s}^{-1}$ . Befinden sich Zellen im Flüssigkeitsstrom, so wirkt auf sie, durch die unterschiedlichen Fließgeschwindigkeiten, eine Scherkraft ( $F$ ) längs zur Flussrichtung. Da die Fließgeschwindigkeit von zentral nach peripher zudem exponentiell abnimmt, entsteht auch ein Gradient der Scherkräfte, die von der Gefäßmitte nach peripher zunehmen [73]. In durchströmten Blutgefäßen führt dieser Scherkraftgradient zur Verlagerung der Erythrozyten in die Gefäßmitte (Axialmigration), in Bereiche geringerer Scherkräfte, so dass peripher ein Gleitbereich mit reduziertem Hämatokrit entsteht und die effektive Blutviskosität in kleinen Gefäßen sinkt (Fahraeus-Lindqvist-Effekt) [47,54,65,125,185,186]. Die Scherkräfte führen darüber hinaus zu einer Ausrichtung der Erythrozyten parallel zur Fließrichtung und deren ellipsoider Verformung sowie zu einer Rotation der Zellmembran um das Zellinnere („tank-treading motion“) [65]. Schmid-Schönbein et al. [185,186] zeigten, dass Erythrozyten bei stehendem Blut und geringer Fließgeschwindigkeit reversibel aggregieren (Rouleau-Effekt) und dreidimensionale Netzwerke ausbilden, die bei höheren Scherraten wieder dispergieren (Abb. 2.5).

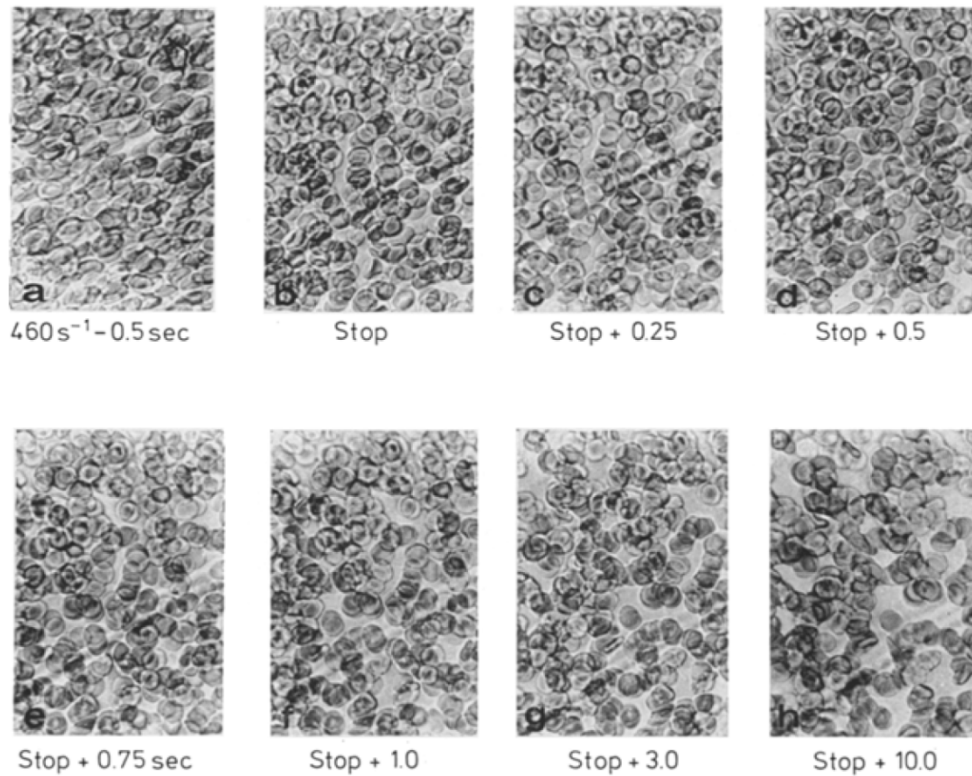


Abb. 2.5: Erythrozytenaggregation in einem Blutgefäß vor und bis zu 10 Sekunden nach Stopp des Blutflusses:  
 (a) ellipsoid verformte, ausgerichtete Erythrozyten im Rheoskop bei einer Scherrate von  $460 \text{ s}^{-1}$ ; (b) homogene Verteilung der unverformten Erythrozyten unmittelbar nach Stopp des Blutflusses; (c) – (h) Aggregation der Erythrozyten zu „Geldrollen“ und einem dreidimensionalen Netzwerk im zeitlichen Verlauf von 0,25 bis 10,0 Sekunden nach Stopp des Blutflusses; zwischen den Erythrozyten sind die Plasmalücken zu erkennen; unverändert übernommen aus [185]

Für die optischen Parameter des Bluts ergibt sich folgende Abhängigkeit von der Fließgeschwindigkeit und resultierenden Scherraten [47,54,125,180]:

- Bei stehendem Blut aggregieren Erythrozyten, die reflektierende freie Zelloberfläche nimmt ab und es entstehen lichtdurchlässige Plasmalücken. Die Transmission ist hoch, während die Reflexion gering ist.
- Beim Anstieg der Scherrate auf  $100 \text{ s}^{-1}$  dispergieren die Erythrozyten vollständig, sie sind homogen verteilt und zufällig ausgerichtet. Die Plasmalücken werden geschlossen

und durch die größere freie Oberfläche der Erythrozyten wird einfallendes Licht stärker gestreut. Die Reflexion steigt an und die Transmission sinkt.

- Bei Scherraten über  $100 \text{ s}^{-1}$  richten sich die Erythrozyten parallel zur Flussrichtung und quer zum Gefäßdurchmesser aus. Ab  $600 \text{ s}^{-1}$  werden sie zusätzlich ellipsoid deformiert. Die Transmission steigt und die Reflexion sinkt.
- Bei  $200 - 300 \text{ s}^{-1}$  ist die Zellausrichtung maximal, entsprechend werden in diesem Bereich Maximalwerte der Transmission und Minimalwerte der Reflexion gemessen.
- Angaben zu physiologisch *in vivo* auftretenden Scherraten konnten in der Literatur nicht gefunden werden.

Cimalla et al. [33] führten Untersuchungen mittels optischer Kohärenz-Tomographie (OCT) an Mäusen und im *in vitro*-Modell mit Glaskapillaren durch und belegten die genannten Aggregations-, Ausrichtungs- und Verformungseffekte *in vitro* und *in vivo*. Sie konnten darüber hinaus *in vitro* zeigen, dass entsprechende Phänomene an unbewegtem Blut und einer fließenden Intralipidemulsion nicht messbar waren.

Als Faktoren für die Auswahl einer für PPG-Messungen am besten geeigneten Messwellenlänge zur Detektion möglichst großer Signalamplituden kommen die Transmission der Zahnhartsubstanzen (Kapitel 2.2.2), die Transmission unbewegten Bluts (Kapitel 2.2.3) und die darauf aufgelagerte Transmissionsänderung des bewegten Bluts in Betracht. Enejder et al. [47] und Meinke et al. [133] zeigten, dass die Transmissionsänderung durch Variation der Fließgeschwindigkeit bei unterschiedlichen Wellenlängen von  $550 - 1100 \text{ nm}$  immer gleich groß ist. Hirmer et al. [79] führten Untersuchungen im Bereich von  $600 - 2500 \text{ nm}$  an leukozytendepletiertem, humanem Erythrozytenkonzentrat durch und zeigten zusätzlich, dass die Transmissionsänderung erst ab ca.  $1400 \text{ nm}$  geringer wird. Die Transmissionsänderung ist also bei allen Wellenlängen im Bereich von  $600 - 1400 \text{ nm}$  immer gleich groß und die Größe der Amplitude am Zahn messbarer, modulierender Photoplethysmographiesignale ( $\Delta U$ ) hängt nur von der Transmission des unbewegten Bluts und der Transmission der Zahnhartsubstanzen ab.

### 2.2.5 Optische Eigenschaften der zahnumgebenden Gewebe

Liu et al. [127] führten mit Hilfe einer selbst entwickelten Lichtleiteroptik und unter Messung in Reflexion die in Abb. 2.6 dargestellte spektrale Analyse der humanen Gingiva bei unterschiedlichen Entzündungsgraden der Gingiva und des Parodonts durch.

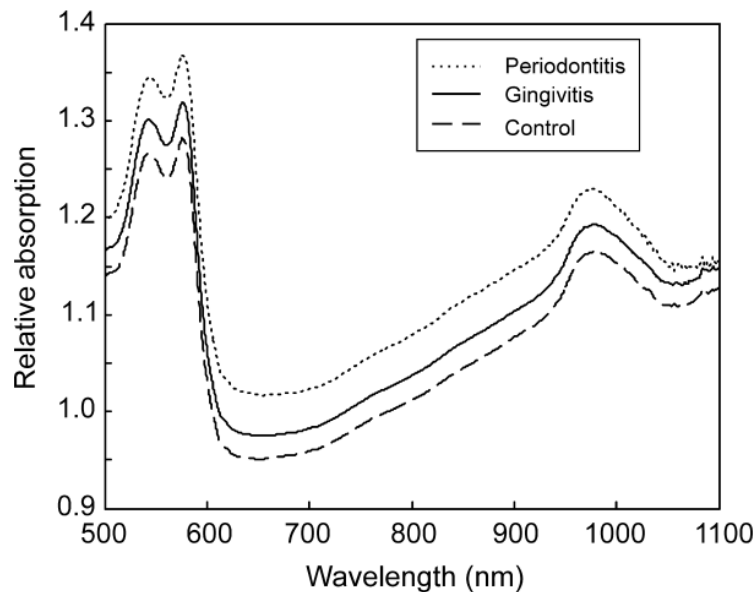


Abb. 2.6: Spektrale Analyse der Gingiva bei vorliegender Gingivitis, Parodontitis (Periodontitis) sowie bei Entzündungsfreiheit (Control); die Absorption ist im mittleren sichtbaren bis mittleren nahinfraroten Bereich dargestellt; unverändert übernommen aus [127]

Sie zeigten, dass das Absorptionsspektrum der Gingiva mit dem Absorptionsspektrum von Blut, das zum größten Teil aus Erythrozyten und Wasser besteht, korreliert (Kapitel 2.2.3 und Abb. 2.4). Der Absorptionskoeffizient von Wasser ist im sichtbaren Wellenlängenbereich gering. Im Bereich von 600 – 700 nm ist die Absorption minimal und steigt mit zunehmender Wellenlänge linear an. Ab 900 nm nimmt sie stark zu und zeigt bei 960 nm eine Bande erhöhter Absorption [70,79]. Entsprechendes gilt für die Absorption der Gingiva. Für Wellenlängen unter 600 nm dominiert die sehr hohe Absorption des Hämoglobins. Weitere Arbeiten stützen die Aussage, dass die optischen Eigenschaften von Weichgeweben in erster Linie durch die des Bluts beeinflusst werden [102,128], so dass auch die optischen Eigenschaften des Parodontalgewebes vornehmlich durch die des Bluts bestimmt werden dürften.

## 2.3 Klinische Methoden zur Bestimmung der Zahnsensibilität

Vitalitätsprüfungen dienen der nicht invasiven Evaluation des Entzündungsgrads des Pulpagewebes. Bei vorliegender Pulpitis sollen sie zudem eine Aussage über eine eventuelle Regenerationsfähigkeit der Pulpa ermöglichen und stellen die Entscheidungsgrundlage für die Wahl der geeigneten Therapie dar. Klinisch sind thermische, elektrische und mechanische Testverfahren verfügbar, die auf der Reizung freier Nervenendigungen und der Rückmeldung des Patienten über den ausgelösten Schmerzreiz basieren [1,2,12,29,67,116,136,141,144,167,225]. Sie bestimmen also primär die Sensibilität des getesteten Zahnes, über die auf die Vitalität geschlossen werden soll [27,29,136,210].

Die gängigste klinische Methode der Vitalitätsprüfung ist die Applikation von Kälte auf der Zahnoberfläche. Als Kältemedium dienen CO<sub>2</sub>-Schnee (- 56° C auf der Zahnoberfläche [36,166]), Kältesprays wie Dichlordifluormethan (DDM) (- 50° C), Tetrafluorethan (TFE) (- 26° C) und Propan-Butan-Isobutan-Gemische (Endo Frost, Roeko, Lagenau, Deutschland; - 50° C) sowie Eis (0° C) [2,29,66,116,168]. Sie alle bewirkten einen Flüssigkeitsausstrom in den Dentintubuli und erregen so vor allem die hier vorhandenen A $\delta$ -Fasern. Der Patient empfindet einen hellen, stechenden, gut lokalisierbaren Schmerz. Auf Grund der sehr niedrigen Temperaturen wurden potenzielle Gefahren wie Schmelzrisse oder dauerhafte Pulpaschädigungen diskutiert, konnten jedoch in eingehenderen Studien nicht belegt werden [29,177]. Die Applikation von Wärme über erweichte Guttapercha und Compound-Materialien oder spezielle Wärme abstrahlende Geräte führt zu einer Erregung der A $\delta$ -Fasern durch einen Flüssigkeitseinstrom und einen im Vergleich zur Kälteapplikation geringeren Schmerz [1]. Übermäßige Wärmeeinwirkung stellt zwar eine potenzielle Gefährdung für die Pulpa dar, gilt jedoch bei kontrollierter, kurzzeitiger Anwendung (unter 5 Sekunden) als sicher [29,177]. Bei beiden thermischen Verfahren werden die unmyelinisierten C-Fasern erst nach längerer Applikation (bei intakten A $\delta$ -Fasern, über die Schmerzrückmeldung des Patienten hinaus) erregt. Sie erzeugen dann einen drückenden, ausstrahlenden Schmerz [1,12,67,148,225].

Die elektrische Pulpatestung (EPT) geschieht unter Zuhilfenahme spezieller Geräte, die einen elektrischen Strom von der Testsonde durch Zahnhartsubstanzen, Pulpa, Kiefer und Mundschleimhaut zum Testgerät leiten. Da die C-Fasern ein höheres Schwellenpotenzial als die A $\delta$ -Fasern besitzen, werden selektiv nur Letztere erregt. Der Patient nimmt den Stromfluss als leichtes „Kribbeln“ („tingling' sensation“ [29]) wahr und signalisiert dies wiederum

dem Behandler. Um einen Stromfluss zu ermöglichen, müssen zwischen Zahn und Sonde leitende Pasten appliziert werden. Gleichzeitig bergen insbesondere metallische Restaurationen und elektrolythaltiger Speichel das Risiko einer Weiterleitung des Stroms auf Nachbarzähne oder Gingiva, die trotz Avitalität des Testzahnes zu verfälschten Testergebnissen führen können. Die EPT wird als techniksensitiv und vergleichsweise unzuverlässig eingestuft [2,29,116].

Bei unklarer klinischer Situation und fehlender Sensibilität der Pulpa kann als Ultima Ratio eine Probetrepanation des Zahnes ohne Anästhesie durchgeführt werden. Im Fall einer Schmerzempfindung des Patienten bei Erreichen des Dentins, schließt der Behandler auf die Vitalität des Zahnes und kann den Substanzdefekt restaurativ versorgen [27,66].

Folgende Faktoren können jedoch zu einer Abweichung der vaskulären von der nervalen Versorgung der Pulpa führen und so die Möglichkeit einer Bewertung der Zahnvitalität über die Zahnsensibilität limitieren:

- Die vollständige nervale Versorgung mit myelinisierten A-Fasern ist bei jugendlichen Zähnen erst mit Abschluss des Wurzelwachstums abgeschlossen [225].
- Dentinapposition führt zur Sklerosierung der Dentintubuli und Obliterierung der Kronenpulpa, die dann bei erhaltener Vitalität durch den Zahnhartsubstanzmantel erschwert einer nervalen Reizung zugänglich ist [2,167,168,225].
- Temporäre Par- und Anästhesien nach Traumata können trotz intakter Blutversorgung bis zu 9 Monate persistieren [116].
- A-Fasern sind sehr empfindlich gegen Hypoxieereignisse und verlieren ihre sensorische Funktion bereits vor der Nekrose des restlichen Pulpagewebes oder in Folge von Traumata, während C-Fasern auch nach dem Niedergang des Pulpagewebes noch überleben und zu Schmerzempfindungen führen können [1,29,225].
- Über refraktäre Schmerzempfindungen durch abnehmende Flüssigkeitsverschiebung bei wiederholten Testungen wurde berichtet [12].

Diese Faktoren können zu falsch negativen oder seltener falsch positiven Testresultaten führen, die eine korrekte Beurteilung des Pulpazustandes erschweren. Insgesamt zeigen die

Ergebnisse der Sensibilitätstestungen eine unzureichende Übereinstimmung mit der tatsächlichen histologischen Situation [67,116,136].

In einem systematischen Review von Mej re et al. [136], der die Aussagekraft der derzeit klinisch verfügbaren Methoden zur Testung der Zahnsensibilität untersuchte, stellten die Autoren fest, dass die bisherige Studienlage durchweg methodische Mängel aufweist und keine endgültige Aussage über die Qualität und Verlässlichkeit der Prüfmethoden zulässt. Lediglich eine Studie von Gopikrishna et al. [67] erreichte eine mittlere Qualität. Tabelle 2.1 fasst die Ergebnisse des Reviews zusammen. Der K ltetest erreichte im Mittel höhere Werte für Sensitivität und Spezifität als die EPT, während der W rmetest stark variierende Werte zeigte.

|              | K ltetest        | W rmetest         | EPT              |
|--------------|------------------|-------------------|------------------|
| Sensitivität | >75 % (81 %)     | hohe Variabilität | 21 - 87 % (71 %) |
| Spezifität   | 10 - 98 % (92 %) | hohe Variabilität | > 90 % (92 %)    |

Tab. 2.1: Ergebnisse des Reviews von Mej re et al. [136]; Werte der ausgewerteten Studien mit geringer Qualität sowie in Klammern die Werte der Studie mittlerer Qualität von Gopikrishna et al. [69]

## 2.4 Experimentelle Methoden zur Bestimmung der Zahnvitalität

In den vergangenen Jahrzehnten wurden verschiedene, nicht invasive Methoden entwickelt, um verlässlichere, objektive Aussagen über den Zustand des Pulpagewebes zu erhalten. Die bekanntesten optischen Verfahren sind die Laser-Doppler-Flussmessung (LDF), die Photoplethysmographie (PPG), die Pulsoximetrie (PO), Laser-Speckle-Messungen, die diffuse Wellenlängen Spektroskopie (DWS) und auf Ultraschall basierende Messsysteme.

### 2.4.1 Laser-Doppler-Flussmessung

Die Methode der Laser-Doppler-Flussmessung (LDF) gilt für verschiedene, oberflächliche Gewebe als etabliert und stellt mittlerweile den Goldstandard der experimentellen Blutfluss-

messung dar [89,108,123]. Gazelius et al. [62] wendeten sie erstmals auf Zähne an. Die Lichtwellen eines Ne-He-Lasers (632,8 nm Wellenlänge) passieren den Zahnhartsubstanzmantel (Kapitel 2.2.2) und werden von ruhendem Pulpagewebe und in den Gefäßen fließenden Erythrozyten reflektiert. Durch Reflexion an sich bewegenden Erythrozyten erfährt ein Teil der Wellen eine Frequenzverschiebung und ändert somit seine Wellenlänge (Doppler-Shift). Reflektiertes, frequenzverschobenes und unverschobenes Licht passiert anschließend wieder den Hartschubstanzmantel und kann von einem Fotosensor aufgenommen werden [89]. In der Regel leiten Lichtleiter mit mehreren Faserbündeln die Lichtwellen zum Zahn und reflektierte Wellen vom Zahn zum Sensor. Ein angeschlossenes Messgerät errechnet aus der Frequenzverschiebung semiquantitativ den Blutfluss als Produkt der Anzahl reflektierender Zellen und deren mittlerer Bewegungsgeschwindigkeit und gibt ihn in der beliebig gewählten Einheit „Perfusion Units“ (PU) an [15,108,123]. Eine Aussage über die Vitalität der Pulpa wird durch den Vergleich der Flusswerte mehrerer Zähne getroffen. Eine absolute Blutflussangabe als Volumen pro Zeiteinheit kann mit den bisher verfügbaren Geräten nicht ermittelt werden. Es wird davon ausgegangen, dass die Größe der LDF-Signale allein von der Erythrozytenfließgeschwindigkeit und nicht vom Gefäßvolumen abhängt [15,50]. Eine Änderung der Blutfließgeschwindigkeit während Systole und Diastole kann mit der LDF-Signalen detektiert werden [15,86,144], ist zur Blutflussdetektion im Sinne einer Ja-Nein-Entscheidung jedoch nicht notwendig.

Neben dem Ne-He-Laser mit 632,8 nm Wellenlänge wurden weitere Halbleiterlaser, vor allem mit Wellenlängen im nahinfraroten Spektralbereich von 780 - 820 nm, untersucht, die größere pulssynchrone Signale zeigten [158,179,212]. Die Autoren diskutierten als Grund die geringere Streuung des längerwelligen Lichts in den durchstrahlten Zahnhartgeweben (Kapitel 2.2.2). Somit könne ein größerer Lichtanteil in die Pulpa transmittiert werden und auch größere Gefäße in der Mitte der stark absorbierenden Pulpa erfasst werden.

Als weitere Einflussgröße auf das LDF-Signal wurde die Position der einstrahlenden Lichtleitersonde auf der Labialfläche der Zahnkrone humaner Frontzähne untersucht [74,175,179,211]. Eine Verschiebung der Sonde in mesio-distaler Richtung zeigte keine signifikante Änderung der Signalgröße [175]. Eine Verschiebung von inzisal zur Schmelz-Zementgrenze zeigte geringere Signalgrößen für inzisale Positionen [74,175,179]. Die Auto-



ren empfehlen übereinstimmend eine Sondenpositionierung 2 – 3 mm koronal der marginalen Gingiva.

Ikawa et al. [85] und Polat et al. [170] untersuchten die Lichtleitung von Laserstrahlen bei LDF-Messungen (780 - 800 nm) innerhalb des Zahnhartsubstanzmantels in koronal-apikaler Richtung. Bei Einstrahlung der Lichtwellen auf der Labialfläche der Zahnkrone konnten sie bis zu 4 mm unterhalb der Schmelz-Zement-Grenze hohe Intensitäten austretender Lichtwellen messen. Geringere Intensitäten wurden noch 13 mm unterhalb der Schmelz-Zement-Grenze gemessen und in einigen Fällen konnte das Licht sogar bis zum Apex vordringen [170]. Damit werden Zahnhartsubstanzen deutlich leichter durchstrahlt und leiten Licht stärker weiter als es in der Haut der Fall ist, in die Licht nur ca. 1 mm weit eindringt [89,159,212]. Auch den Zahn umgebende Weichgewebe dürften somit erreicht werden [85,170,171,212].

Obwohl die Tauglichkeit der LDF zur Messung von Erythrozytenbewegungen in der Pulpa durchweg als gegeben beurteilt wird [3,74,86,98,158,169,175,179,198,211,212], berichten zahlreiche Studien von messbaren Signalen bei avitalen Zähnen [3,74,86,169,179,198,211].

Mehrere Studien untersuchten gezielt den Einfluss der Durchblutung zahnumgebender Strukturen, wie der Gingiva, des Parodonts oder der Lippen und Wangen, auf LDF-Messungen [3,7,74,103,198,211,212]. Hartmann et al. [74] schirmten die Zahnkronen vitaler, humaner Zähne *in vivo* mittels eines schwarzen Kofferdams ab, der die Signalstärke der LDF um 70 % reduzierte. Eine Watterolle zwischen Zahnkrone und Lippe reduzierte die Signalstärke ebenfalls, wenngleich nicht signifikant. Weitere Studien bestätigten eine Signalreduktion durch Kofferdamapplikation um 63 – 82 % und deuten somit auf einen erheblichen Einfluss der umliegenden Strukturen der Mundhöhle auf LDF-Messungen hin [3,7,103,198]. Eine Abschirmung der Zahnkronen mit reflektierender Metallfolie verstärkte die Signale dagegen um 50 – 78 % bei 2 mm Abstand der Sonde zum Gingivarand [74,211,212], bei 8 mm Abstand sogar um 98 % [211]. Der Grund hierfür dürfte die durch die Folie verursachte Reflexion aus dem Zahn austretender Lichtwellen zurück in den Zahn und die Pulpa sein. Diese Lichtwellen können dann einen zusätzlichen Beitrag zur Signalentstehung leisten [211,212].

Ingolfsson et al. [86] zeigten an humanen Zähnen *in vivo*, dass zwischen vitalen und nekrotischen Zähnen ein Signalstärkenunterschied von 43 % messbar war, 57 % also nicht-pulpa- len Ursprungs waren. Soo-ampon et al. [198] konnten in ihrer *in vivo*-Studie an 22 humanen

Frontzähnen ohne Abschirmung der umliegenden Gewebe keinen signifikanten Unterschied der Signalstärken vor und nach Vitalexstirpation messen, nach Kofferdamapplikation lag die Differenz bei 43 %. Ähnliche Ergebnisse erzielten Kijssamanmith et al. [103]. Polat et al. [169] erreichten durch Vitalexstirpation und Wurzelkanalaufbereitung an 13 vitalen, humanen Frontzähnen eine Signalreduktion um 30 %. Nach Wurzelkanalfüllung und Restauration der Zahnkrone konnte kein Unterschied der Signalgröße zur Ausgangssituation festgestellt werden. Weitere Studien zeigten einen stark variierenden Einfluss der Durchblutung der zahn-umgebenden Gewebe auf die Signalgröße der LDF von ca. 8 – 100 % [74,158,179,211].

Übersichtsarbeiten ermittelten die für die Sensitivität der LDF Werte von 73 - 100 % und für die Spezifität Werte von 68 - 100 % [48,98,158]. Wegen des hohen Anteils nicht-pulpalearer Signale wird die klinische Anwendbarkeit der LDF zur Bestimmung der Pulpavitalität jedoch kontrovers diskutiert und in kritischen Übersichtsarbeiten als limitiert [123,210] bis derzeit unzureichend [89,136,144,182] beurteilt. Zusätzlich stellen hohe Techniksensitivität, fehlende Standardisierung, Kostenintensität und hoher Zeitaufwand der Messungen die klinische Umsetzbarkeit der LDF in Frage [98,136,179,182,210].

Laser-Doppler-Flussmessung und Photoplethysmographie sind sich im methodischen Verfahren sehr ähnlich und unterscheiden sich in erster Linie durch die Lichtquelle (Laser bzw. Photodiode) und die Verarbeitung der detektierten Lichtsignale (Messung der Frequenzverschiebung bzw. der Transmissionsänderung). Ergebnisse der LDF-Untersuchungen bezüglich der optischen Eigenschaften der Zahngewebe, der Eignung bestimmter Wellenlängen und der Sondenposition können daher, zumindest eingeschränkt, auf Untersuchungen mit der Methodik der Photoplethysmographie angewendet werden.

#### **2.4.2 Photoplethysmographie**

Die Methode der Photoplethysmographie (PPG) ist seit den 1930er Jahren in der Allgemeinmedizin bekannt und wurde 1966 durch Upthegrove et al. [209] erstmals an Zähnen angewendet. Anders als bei der LDF werden als Lichtquellen Leuchtdioden (LEDs) mit geringerer Lichtleistung als Laser genutzt. Der Fotosensor befindet sich in der Regel auf der gegenüberliegenden Seite des Zahnes, es wird also der transmittierte Teil des eingestrahnten Lichts erfasst und analysiert (Transmitted Light Photoplethysmography, TLP). Messungen in Reflexion sind jedoch ebenfalls möglich [161]. Beim Durchtritt durch den Zahn sind die Licht-

wellen der Absorption und Streuung durch Zahnhartsubstanzen und Pulpa unterworfen. Neben statischem, konstant absorbierendem Gewebe (konstanter DC-Anteil) treffen die Lichtwellen auch auf durchströmte Blutgefäße, die das Licht während Systole und Diastole unterschiedlich stark transmittieren (modulierender AC-Anteil) (Kapitel 2.2.4). Der pulsabhängig modulierende AC-Teil des am Fotosensor eintreffenden Lichtsignals wird bei der PPG zur Bestimmung des Blutflusses herausgefiltert und analysiert [5,51,97,178]. Er macht bei Messungen an Weichgeweben 0,05 – 2 % des Gesamtsignals aus. Bei *in vivo*-Messungen an Zähnen liegt der AC-Anteil bei ca. 0,02 – 0,5 % [51,188]. Da die PPG, anders als die LDF [158,179,212], keine Frequenzbänder zur Auswertung der optischen Signale berücksichtigt, die die Messung auf bestimmte, isolierte Fließgeschwindigkeiten beschränken, wurde diskutiert, dass bei der PPG neben den kapillären Gefäßen auch zentral gelegene Arteriolen und Venolen zur Signalentstehung beitragen können [84], während die LDF in der Regel nur kapilläre Gefäße mit einer maximalen Blutfließgeschwindigkeit von 0,9 mm/s erfassen kann [158].

*In vitro*-Studien an humanen, extrahierten Zähnen zeigten, dass mit der Methode der PPG bei verschiedenen, im Pulpenkavum befindlichen, statischen Medien unterschiedliche Transmissionswerte detektiert werden können [39,95,153,161]. Kakino et al. [95] ermittelten bei Füllung des Kavums mit Rinderblut für verschiedene Messwellenlängen (476 nm, 506 nm, 522 nm, 810 nm) eine Abhängigkeit vom Hämatokrit sowie von der Sauerstoffsättigung. An einem *in vitro*-Zahnmodell mit konstanter, ungepulster Durchblutung zeigten Diaz-Arnold et al. [39], dass die Intensität des transmittierten Lichts zusätzlich von der Erythrozytenkonzentration und dem Durchmesser des Pulpenkavums abhängt.

Mehrere Studien zeigen, dass mit der Methode der PPG *in vivo* pulssynchrone Signalmodulationen detektiert werden können [84,140,160,161,188], häufig jedoch als Einzelfallbeschreibungen [160,161,188]. Schmitt et al. [188] konnten mittels der PPG bei 595 nm Lichtwellenlänge am Hund an 7 von 8 Zähnen pulssynchrone Signalmodulationen messen. Nach selektiver, chirurgischer Unterbindung der Pulpadurchblutung am Apex konnten an keinem der Zähne entsprechende Signale detektiert werden. Einzelne, stichprobenartige Messungen am Menschen zeigten pulssynchrone Signalmodulationen nach Mittelung des Signals mit einem gleichzeitig aufgezeichneten EKG-Signal [188].

Miwa et al. [140] führten Messungen mit und ohne Abschirmung der Zahnkrone durch einen schwarzen Kofferdam an 7- bis 14-jährigen Probanden bei 525 nm Messwellenlänge durch. Sie konnten pulssynchrone Änderungen der Signalamplituden an allen 26 vitalen Zähnen messen und diese von 7 avitalen und einem wurzelfüllten Zahn unterscheiden, die geringere Amplituden aufwiesen. Die Kofferdamapplikation ergab keine signifikante Änderung der Signalstärken.

Fein et al. [51] untersuchten erstmals den Einfluss nicht pulpaler Signalquellen. Sie versuchten an vitalen und avitalen Zähnen dreier Probanden mittleren Alters (24 bis 55 Jahre) Signale der Pulpadurchblutung zu detektieren. Eventuelle Signale der Gingiva sollten durch Einbringung eines schwarzen Kofferdambands in den Sulkus zwischen Zahnkrone und Gingiva sowie zusätzlich durch die oberflächliche Injektion eines Lokalanästhetikums mit Epinephrinzusatz (1:50.000) eliminiert werden. Die Messungen wurden an mehreren Tagen wiederholt und ergaben für keine der Messungen Unterschiede der Signalamplituden zwischen vitalen und avitalen Zähnen. Die Abschirmung der marginalen Gingiva durch das 3 mm breite Kofferdamband führte nur zu einer geringen Änderung der Signalamplitude. Die Anästhesie führte hingegen im beschriebenen Fall zu einer Verringerung des AC-Anteils des Gesamtsignals von 0,128 % auf 0,006 %. Die Autoren vermuteten daher, dass der Hauptanteil des PPG-Signals durch zahnumgebendes Gewebe verursacht wurde und durch Kofferdamapplikation nur unvollständig abgeschirmt werden kann. Diese Beobachtung wurde zudem der kontinuierlichen Abnahme der Pulpagröße durch Sekundär- und Tertiärdentinapposition ab dem Zahndurchbruch zugerechnet, die bereits Miwa et al. [140] für eine Abnahme der PPG-Signalstärke bei älteren Probanden in ihrer Studie verantwortlich sahen. Weitere *in vivo*-Studien zur Unterscheidbarkeit vitaler von avitalen Zähnen mit der Methode der PPG sowie Studien zur Streuung von LED-Licht in zahnumgebende Gewebe und deren Einfluss auf PPG-Messungen konnten nicht gefunden werden.

Geeignete Lichtwellenlängen wurden im mittleren sichtbaren bis nahinfraroten Spektralbereich angegeben. Die Ergebnisse basieren überwiegend auf Vergleichen von zwei bis vier Wellenlängen und sind entsprechend uneinheitlich bis widersprüchlich [39,51,84,95,161]. Studien, die systematisch die Eignung bestimmter Wellenlängen untersuchen, konnten nicht gefunden werden.

Im Vergleich zu anderen Methoden der optischen Blutflussdetektion (LDF, Pulsoximetrie, DWS, Speckle) basiert die PPG auf der technisch einfachsten Methode. Sie bietet daher eine bessere Kosteneffizienz, geringere Techniksensitivität und eine einfachere Anwendung [5,161].

### 2.4.3 Entstehung der Photoplethysmographiesignale

Während die Anwendung der PPG systematisch und vielfach untersucht wurde [5], wurden zur Entstehung der Transmissionsänderung durchbluteter Gewebe während Systole und Diastole unterschiedliche Theorien genannt. Frühe Studien vermuteten als Ursache eine Ausdehnung der Blutgefäße während der Systole, die zu einer Erhöhung des Blutvolumens im untersuchten Gewebe und so zu einer geringeren Transmission des eingestrahlten Lichts führen sollte [39,97,194,209]. Auch eine pulsabhängige Änderung der Hb-Konzentration wurde diskutiert [95]. Da das gefäßumgebende Gewebe inkompressibel und der Zahnhartsubstanzmantel unelastisch ist, schrieben Shoher et al. [194] Gefäßanastomosen eine entsprechende Pufferfunktion zu.

Durch Messungen von PPG-Signalen *in vitro* an blutdurchflossenen Glasröhrchen [28,125,126,149] und *in vivo* an Knochengewebe [15,149], konnten Änderungen des Blutvolumens und der Hb-Konzentration sowie Gefäßwandbewegungen als Hauptfaktoren für die Transmissionsänderung ausgeschlossen werden. Modernere Interpretationsansätze stützen sich auf die fließgeschwindigkeits- und scherkraftabhängigen Effekte der Axialmigration, Orientierung und Deformation von Erythrozyten (Kapitel 2.2.4) in durchströmten Gefäßen, die zu Änderungen der Absorption, Reflexion und Streuung führen, ohne jedoch detaillierte Modelle zu beschreiben [5,51,126,178]. Ein sehr komplexer und umfassender Interpretationsansatz unter Einbeziehung von *in vivo*-LDF-Messungen an Knochen und komplexer Rechenmodelle findet sich bei Binzoni et al. [15]. Sie diskutieren zusätzlich eine kurzfrequente, fließgeschwindigkeitsabhängige Änderung des Sauerstoffsättigungsgrades, betonen jedoch letztlich, wie bereits Roberts [178], die ungleich höhere Komplexität der *in vivo*-Situation, auf Grund derer eine vollständige Erklärung der PPG-Signalentstehung bis dato nicht möglich sei. Ein ähnliches Fazit zieht auch Allen [5] in einer Übersichtsarbeit.

In jedem Fall ist mit der Methode der PPG eine direkte Messung des Blutvolumens nicht möglich. Der Terminus „Photoplethysmographie“ (von griechisch „plethore“, übersetzt „Fülle“)

ist deswegen Gegenstand stetiger Diskussion [97,178], wird aber unter Tolerierung der sprachlichen Unkorrektheit zu Gunsten einer einheitlichen Nomenklatur weiter verwendet.

#### 2.4.4 Pulsoximetrie

Die Pulsoximetrie (PO) stellt technisch gesehen eine Erweiterung der PPG-Messmethodik um eine zweite Messwellenlänge dar. Die Transmissionswerte werden mittels zweier LEDs im roten (660 nm) und infraroten (900 - 940 nm) Wellenlängenbereich parallel über einen Fotosensor gemessen und die Signale an einen Mikroprozessor weitergeleitet. Da Hb und HbO<sub>2</sub> bei 500 - 1150 nm unterschiedliche Absorptionsverhalten zeigen (Kapitel 2.2.3 und Abb. 2.4), kann neben der Pulsfrequenz über das Lambert-Beersche Gesetz der Sauerstoffsättigungsgrad des Bluts (SaO<sub>2</sub>) ermittelt werden. Pulsoximeter sind wegen ihrer einfachen Konstruktionsweise und günstigen Herstellung zum Standardinstrument des klinischen Patienten-Monitoring geworden, wo sie als Clips an Fingerkuppen oder Ohrläppchen eingesetzt werden [5,26,55,66,90,144,180,189]. Bereits seit den 1990er Jahren wird die Pulsoximetrie zur Evaluation der Pulpadurchblutung untersucht. Die Autoren berichten übereinstimmend von *in vivo* messbaren Sauerstoffsättigungen von 78 - 95 % an vitalen Zähnen, die jedoch geringer waren als die jeweiligen Kontrollwerte der Fingerpulsoximeter (90 - 98 %). Bei avitalen Zähnen betrug die Sauerstoffsättigung jeweils 0 % [25,34,64,66,174,195]. Gopikrishna et al. [69] ermittelten für ihre PO-Methode eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 95 %. Mehrere Studien berichten von ähnlich hohen Werten und attestieren der Pulsoximetrie eine potenziell bessere Tauglichkeit zur Bestimmung der Pulpavitalität als den konventionellen, klinischen Methoden der Vitalitätsprüfung [25,34,64,66,68,69,154,189].

Der Einfluss der zahnumgebenden Gewebe ist auch bei der PO zu beachten. Karayilmaz et al. [98] detektierten an 11 von 59 wurzelgefüllten Frontzähnen SaO<sub>2</sub>-Werte bis zu 79%. 56 der 59 kontralateralen, vitalen Zähne konnten korrekt als vital identifiziert werden. Sie diskutierten den Einfluss gingivaler Signale, insbesondere verstärkt durch Licht streuende Kompositrestaurationen, die in anderen Studien nicht in die Untersuchungsgruppen aufgenommen worden waren. Kahan et al. [93] führten Messungen in Reflexion durch und berichten von stark verrauschten Signalen, die keine Synchronität zu am Finger abgenommenen PO-Signalen zeigten. Sie wiesen auf das Risiko hin, durch hohe Verstärkungen Pseudosignale nicht pulpalen Ursprungs zu erzeugen. Auch Siddheswaran et al. [195] berichten von falsch positi-

ven PO-Messergebnissen an avitalen Zähnen, mögliche Ursachen wurden jedoch nicht untersucht.

Kakino et al. [94] wählten für ihre Studie ein *in vitro*-Modell, um die Durchblutung zahnumgebender Gewebe als Signalquelle ausschließen zu können. Die Pulpakammer eines extrahierten, humanen Frontzahnes wurde erweitert und mit einem Silikonschlauch versehen. Ihre Messungen zeigten pulssynchron modulierende Transmissionswerte, deren Amplitude linear von der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins abhängig war. Weitere Messungen zur Transmission und Wellenlängenabhängigkeit der Signale stützen die Anwendbarkeit der PO am Zahn.

Studien zur Quantifizierung des Einflusses nicht-pulpaler Signalquellen sowie Messungen an Molaren konnten nicht gefunden werden. Gegenstand der aktuellen Diskussion sind geeignete, standardisierte Sonden sowie die Ursachen der reduzierten Sauerstoffsättigungswerte am Zahn. Diesbezüglich wurden eine unterschiedliche Streuung der beiden Messwellenlängen [64,195], eine ungenügende Positionierbarkeit der PO-Sonden sowie ein höherer Anteil venöser Gefäße in der Pulpa [95] diskutiert und eine Rekalibrierung der Messgeräte zur dentalen Anwendung vorgeschlagen [195].

#### **2.4.5 Laser-Speckle**

Wird kohärentes Laserlicht gleicher Phase in diffus streuende Medien eingestrahlt, interferieren die transmittierten Wellen nach multipler Streuung an unterschiedlichen Streuzentren. Bei Abbildung dieser Strahlen entstehen durch Überlagerung unterschiedlicher Wellenphasen Interferenzmuster (sogenannte Speckles), die sich als hellere und dunklere Flecken darstellen (Abb. 2.7). Bewegen sich die Streuzentren, wie beispielsweise fließende Erythrozyten, entstehen im Speckle-Muster Fluktuationen, die zu einer Reduktion des Speckle-Kontrasts führen [20]. Durch Kontrastbestimmung eines einzelnen Speckles oder zeitliche Integration und Korrelation mehrerer Messungen kann auf die Fließgeschwindigkeit der sich bewegenden Partikel geschlossen werden (Laser Speckle Imaging, LSI) [11,19,20,52]. Verschiedene technisch weiterentwickelte Varianten der Speckle-Methode wurden zur Darstellung der Durchblutung der oberflächlichen Haut [22,52,58,197], der Retina [21,132,143,222], des Gehirns [44,203] und von Tumorgeweben [112] erfolgreich angewendet.

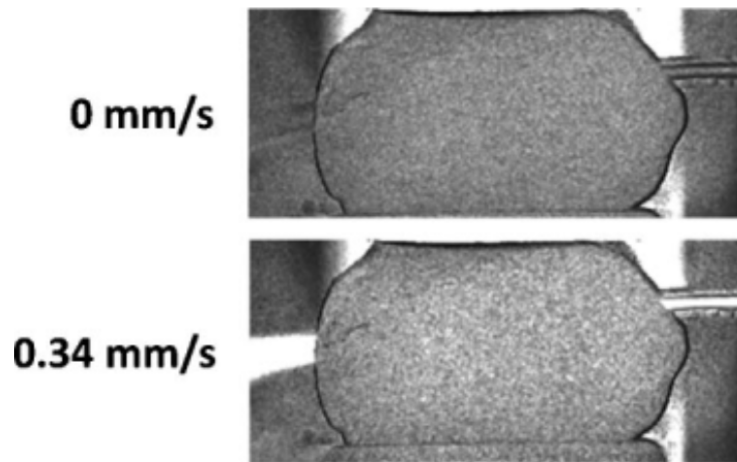


Abb. 2.7: Laser Speckle Imaging (LSI) eines *in vitro*- Zahnmodells, bei dem ein durch das Pulpenkavum geführter Tygon-Schlauch mit einer Intralipidlösung durchströmt wurde; Specklemuster dargestellt für die Fließgeschwindigkeiten 0 mm/s sowie für 0,34 mm/s; unverändert übernommen aus [201]

Stoianovici et al. [201] wendeten die LSI erstmals zur *in vitro*-Messung einer simulierten Pulpadurchblutung am Zahnmodell an. Die Messungen wurden an neun extrahierten und mit einer Intralipidlösung durchströmten Frontzähnen in Transmission (Abb. 2.7) und Rückstreuung, sowie unter verschiedenen Einstrahlwinkeln eines Ne-He-Lasers (632,8 nm) durchgeführt. In Transmission konnte stehende von fließender Flüssigkeit qualitativ, jedoch nicht quantitativ unterschieden werden. Messungen in Rückstreuung blieben erfolglos. Verschiedene Einstrahlwinkel von 90 ° bis 45 ° zur Zahnoberfläche zeigten keinen Einfluss auf die gemessenen Speckle-Flusswerte. Dick et al. [40] untersuchten anhand theoretischer Modellrechnungen und *in vivo*-Messungen die Tauglichkeit der LSI-Methode zur Detektion von Blutflusssignalen am Zahn über die Messung der Specklesignale eines Ne-He-Lasers in Rückstreuung. Trotz des theoretisch minimalen Anteils der blutflussabhängigen Fluktuationen am Gesamtsignal konnten sie *in vivo* Veränderungen diverser Speckleparameter vor, direkt nach und zwei Stunden nach Lokalanästhesie an Zähnen von 12 Patienten sowie parallel zur Füllungslegung an 10 Probanden messen.



#### 2.4.6 Ultraschall

Schallwellen sind im Gegensatz zu Lichtwellen mechanische Wellen, die sich als Teilchenschwingung in Medien ausbreiten. Als Ultraschall werden Wellen im nicht hörbaren Frequenzbereich über 20 kHz bezeichnet [37,187]. Klinisch wird Ultraschall in der Zahnmedizin bisher therapeutisch, beispielsweise in der Endodontie oder zur Plaque- und Kariesentfernung, genutzt [31,63,114,213].

Zur Bildgebung werden piezoelektrische Geräte genutzt. Sie enthalten Piezokeramikscheiben, die sich unter elektrischer Spannung verformen und Ultraschallwellen im MHz-Bereich erzeugen. Wird die Keramik durch eintreffende Wellen deformiert, entsteht umgekehrt eine elektrische Spannung. Der Schallkopf kann somit sowohl zur Wellenemission als auch zur Detektion genutzt werden. Als mögliche Anwendungen wurden Schmelzdickenmessungen und die Detektion von Schmelzfrakturen und Karies beschrieben [63,130,193].

Analog zur LDF können über den Dopplereffekt bei Ultraschallmessungen, durch die Frequenzverschiebung reflektierter Wellen, Teilchenbewegungen, wie z.B. Blutfluss, detektiert werden. Diese Methode wird als Ultrasonic Flowmetry (UFM) bezeichnet [130,163,193]. Yoon et al. [223] detektierten in einer *in vivo*-Untersuchung mittels UFM an 15 vitalen Frontzähnen gepulste Signale und jeweils an den kontralateralen, wurzelgefüllten Zähnen ungepulste, lineare Signale. In einer weiteren Studie [224] beobachteten sie zudem eine Reduktion der gemessenen Blutflusswerte um bis zu 83 % nach Applikation eines Lokalanästhetikums mit Epinephrinzusatz an 18 Patienten *in vivo*. Cho und Park [32] schilderten in einem Fallbericht drei Patientenfälle, in denen posttraumatisch durch EPT und Kälteapplikation am Frontzahn keine Vitalität nachgewiesen werden konnte, die UFM jedoch pulssynchrone Signale zeigte. In zwei Fällen bestätigte eine rückläufige Verfärbung der getesteten Zähne die Vitalität, eine Verifizierung der Vitalität des dritten Zahnes wurde nicht durchgeführt.

Da für die Ultraschallwellenausbreitung ähnliche Gesetzmäßigkeiten wie für die Ausbreitung von Lichtwellen gelten, muss auch hier die Beeinflussung des Signals durch zahnumgebende Strukturen diskutiert werden. Yoon et al. [223] vermuteten hier die Ursache für falsch positive Ergebnisse an avitalen Zähnen. Systematische Untersuchungen des Einflusses der Durchblutung zahnumgebender Gewebe auf Ultraschallmessungen konnten jedoch nicht gefunden werden.

#### 2.4.7 Weitere experimentelle Methoden der nicht invasiven Blutflussmessung

Um Partikelbewegungen in tieferen Gewebeschichten als mit der LDF zu messen, entwickelte die Arbeitsgruppe um Ginsler und Maret [41,42,92,119] auf Basis der dynamischen Vielfachstreuung von kohärentem Licht (Diffusing Wave Spectroscopy, DWS) ein Gerät zur nicht invasiven Echtzeit-Detektion der Gehirnperfusion durch die intakte Schädelkalotte hindurch, mittels Nahinfrarot-Laserlicht. Bei dieser Methode wird ein Speckle-Muster auf einer hoch empfindlichen Lawinen-Photodiode abgebildet und per Korrelation und zeitlicher Integration die durch Erythrozytenbewegungen verursachten Fluktuationen im Speckle-Muster in Blutflusswerte umgerechnet. Eine nach dem erfolgreichen *in vivo*-Nachweis pulssynchroner Signale [119] entwickelte Versuchsanordnung wurde an Probanden untersucht, die auf Fingerübungen [117,118] und visuelle Stimulation [91,118,120] mit gesteigerter Perfusion der spezifischen Hirnareale reagierten. In *in vitro*-Untersuchungen am Schweinenieren-Modell belegten die Autoren, dass ihre gemessenen Signale durch Erythrozytenbewegungen verursacht wurden und vermuteten, dass mit der beschriebenen Methode auch Blutflussmessungen in anderen mikrovaskularisierten Geweben möglich sind [152]. Untersuchungen an Zähnen wurden nicht beschrieben.

Weitere Methoden zur nicht invasiven Blutflussbestimmung basieren auf komplexen physikalischen Effekten mit Kombinationen von Ultraschall- und Lichtwellen. Über den akustooptischen Effekt ist eine gezielte Frequenzänderung und Markierung transmittierter Lichtwellen durch Ultraschallwellen im zu untersuchenden Medium möglich. Das entstehende Speckle-Interferenzmuster kann anschließend selektiv im markierten Frequenzbereich analysiert werden, wodurch im Vergleich zu den in den Kapiteln 2.4.1 bis 2.4.6 beschriebenen Methoden eine örtliche Auflösung möglich wird. Diese Methode (Ultrasound modulated diffused Light bzw. Ultrasonic Tagging of Light, UTL) wurde erfolgreich *in vitro* [11,129,173,181] und *in vivo* [192] zur Messung der zerebralen Durchblutung genutzt und im Rahmen unserer DFG-Projektgruppe (SCHM 386/3, GA 501/10, MO 2196/1) durch Hardt [72] am *in vitro*-Modell erstmals zur Blutflussmessung an Zähnen untersucht.

Über den photoakustischen Effekt können durch hochfrequent gepulstes Laserlicht Ultraschallwellen an Grenzflächen in Medien erzeugt werden. Mehrere Studien untersuchten mit dieser Methode die Möglichkeit der Darstellung der Zahnhartsubstanzschichten und der Pulpa [16,45,46,121,122,176,215]. Durch zusätzliche messtechnische Berücksichtigung der

Doppler-Frequenzverschiebung (Photoacoustic Doppler, PAD) können Erythrozytenbewegungen in Blutgefäßen orts aufgelöst detektiert werden, wie entsprechende *in vitro*-[23,217,221] und *in vivo*-Studien am Mäuseohr und Hühnerembryo [30,172,219,220] zeigten, bisher jedoch noch nicht in Pulpagefäßen.

## 2.5 Bisherige Ergebnisse unserer Forschungsgruppe

Innerhalb unserer DFG-Projektgruppe an der Universität Regensburg (SCHM 386/3, GA 501/10, MO 2196/1) führte Klingebiel [109] erste *in vitro*-Untersuchungen an einem Küvetten-Modell mit einem kommerziell erhältlichen LDF-Gerät durch. Die ermittelten Werte zeigten eine direkte Abhängigkeit von der Fließgeschwindigkeit und Verdünnung des verwendeten leukozytendepletierten Erythrozytenkonzentrates. Den Grundstein für die aktuellen Untersuchungen legte Niklas [150] mit PPG-Messungen an einem Modell mit extrahiertem, humanem Molaren, der über eine Schlauchpumpe mit unterschiedlichen Medien pulsierend „durchblutet“ wurde. Mit Erythrozytenkonzentraten unterschiedlicher Verdünnung und einer Algensuspension konnten über eine eigens entwickelte Messapparatur modulierende PPG-Signale aufgezeichnet werden, jedoch nicht mit den Medien Luft und destilliertes Wasser. Seine Transmissionsmessungen im Terahertz-Frequenzbereich an Zähnen und einem Erythrozytenkonzentrat deuteten auf die Eignung von Licht im sichtbaren und Nahinfrarotbereich hin. Die Umsetzung einer Messanordnung mit LEDs unterschiedlicher Wellenlänge, deren Licht über einen Lichtwellenleiter eingestrahlt wurde, realisierte anschließend Jaeger [76]. Er detektierte die größten Spannungsamplituden ( $\Delta U$ -Werte) bei einer Wellenlänge von 625 nm, empfahl jedoch übereinstimmend mit Niklas auch die Messwellenlänge 940 nm für weitere Untersuchungen zu berücksichtigen. Zudem zeigte er, dass sowohl mit einem elastischen als auch einem starren, pulsierend durchströmten Röhrchen pulssynchron modulierende PPG-Signale messbar waren. An einem weiterentwickelten Molarenmodell mit separater Zahn- und Gingivadurchblutung belegte Jaeger den Einfluss der Gingivadurchblutung auf die am Zahn gemessenen PPG-Signale *in vitro*, der auch über eine Abschirmung per Alufolie nicht ausreichend eliminiert werden konnte. Auch diverse weitere Abschirmmaterialien reduzierten den Einfluss der Gingiva nur unzureichend, wie Brandt [18] zeigte. In mehreren Versuchsreihen mit unterschiedlich vorbehandelten Erythrozytenpräparaten konnte er belegen, dass zur Messung von PPG-Signalen intakte Erythrozyten oder die Zellkörper lysierter Erythrozyten

im Testmedium notwendig sind. Erythrozytenpräparate ohne korpuskuläre Bestandteile zeigten keine pulssynchron modulierenden Signale. Für weiterführende Studien zur Vorbereitung eventueller *in vivo*-Messungen regte Brandt eine Anpassung der Durchblutungsrate des Zahn-Gingiva-Modells an physiologische Größenordnungen an. Parallel zur vorliegenden Arbeit führte Hardt [72] Ultraschalluntersuchungen sowie Untersuchungen unter Verwendung des photoakustischen Effekts zur Detektion von Erythrozytenbewegungen an einem *in vitro*-Zahnmodell durch.

Im Rahmen ihrer Masterarbeit [190], die ebenfalls innerhalb der genannten DFG-Projektgruppe entstand, entwickelte Schulz ein neues, speziell auf den vorhandenen Versuchsaufbau abgestimmtes Messsystem aus mehreren Messkomponenten, das zusammen mit dem Autoren der vorliegenden Arbeit erprobt und weiter verfeinert wurde. Teile der in den folgenden Kapiteln dargelegten Untersuchungen finden sich dementsprechend in der Arbeit von Schulz [190] wieder. Die in unserer Arbeitsgruppe gewonnenen Ergebnisse wurden zudem in weiteren Publikationen veröffentlicht [79,151,191].

### 3. Fragestellung

Die Literatur belegt die grundsätzliche Eignung auf Licht basierender Methoden, wie der Photoplethysmographie (PPG), zur Detektion blutflussabhängiger Signale am Zahn, jedoch nicht deren ausschließliche Entstehung in der Zahnpulpa. Auch die Entstehungsweise der PPG-Signale ist weder eindeutig noch endgültig geklärt. Im Rahmen bereits veröffentlichter Arbeiten unserer DFG-Projektgruppe (SCHM 386/3, GA 501/10, MO 2196/1) gelang es, das Konzept eines modularen Versuchsaufbaus zur Simulation eines Zahnes mit Gingiva und deren jeweils separater Durchblutung zu etablieren. Es konnte ein für PPG-Messungen geeigneter Messwellenlängenbereich ermittelt und gezeigt werden, dass für den Erhalt puls-synchron modulierender Signale eine Durchblutung mit intakten Zellen oder Zellfragmenten, jedoch kein flexibles Blutgefäß notwendig ist. Darüber hinaus konnte erstmals *in vitro* gezeigt werden, dass die simulierte Durchblutung zahnumgebender Gewebe am Zahn gemessene PPG-Signale beeinflussen kann. Durchblutungsmengen und Gefäßgrößen der verwendeten *in vitro*-Modelle lagen jedoch außerhalb physiologischer *in vivo*-Größenordnungen.

Basierend auf den bisherigen Ergebnissen unserer Projektgruppe, wurden in der vorliegenden *in vitro*-Studie in den folgenden Arbeitsteilen die für PPG-Messungen notwendigen Blutflussbedingungen untersucht sowie ein neuer Versuchsaufbau mit reduzierter Blutflussrate entwickelt und etabliert:

1. Integration und Evaluation technisch weiterentwickelter und individuell angefertigter Messkomponenten, um die Signalgröße und den Signal-Rausch-Abstand des Wech-selspannungsanteils der PPG-Signale zu vergrößern.
2. Messungen unter unterschiedlichen Blutflussbedingungen, um weitere Signalquellen neben der simulierten Durchblutung von Zahn und Gingiva auszuschließen und weitere Erkenntnisse über die Entstehung der PPG-Signale erhalten zu können.
3. Entwicklung eines *in vitro*-Modells mit Glaspulpa, das die Simulation physiologischer Blutflussraten der Zahnpulpa und der Gingiva ermöglicht.
4. Untersuchung des Einflusses der simulierten Gingivadurchblutung sowie unterschiedlicher Blutflussbedingungen auf am Zahn gemessene PPG-Signale am Glaspulpamodell.

## 4. Material und Methode

### 4.1. Versuchsaufbau für das Zahn-Gingiva-Modell

Die Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell wurden am von Brandt [18] zunächst unverändert übernommenen Versuchsaufbau durchgeführt. Die Messkomponenten der ersten Generation wurden sukzessive durch neue Komponenten, den Komponenten der zweiten Generation, von Schulz [190] ersetzt. Dies war durch den modularen Aufbau des Versuchs möglich, der in den Abb. 4.1 und 4.2 schematisch dargestellt ist und in den folgenden Kapiteln näher beschrieben wird.

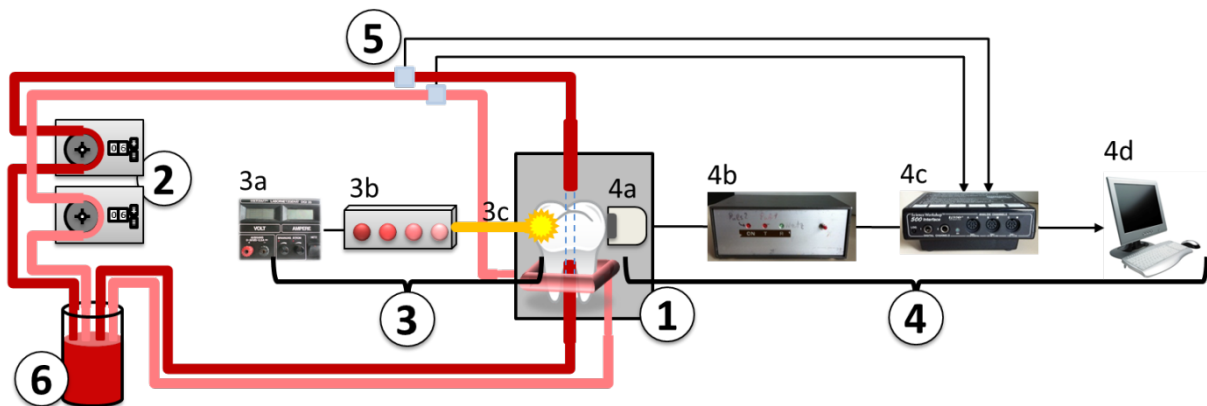


Abb. 4.1: Schematischer Versuchsaufbau (hier mit den Messkomponenten der ersten Generation dargestellt):

- (1) Zahn-Gingiva-Modell; (2) Schlauchpumpen für gepulsten Blutfluss; (3) Lichtquelle, bestehend aus Spannungsquelle (3a), LED-Modul (3b) und Lichtleiter (3c, gelb); (4) Messkomponenten, bestehend aus FOTOSensor (4a), Photoplethysmograph (4b), Interface (4c) und PC mit Laborsoftware (4d); (5) am Interface angeschlossene Drucksensoren, (6) Erythrozytenkonzentrat

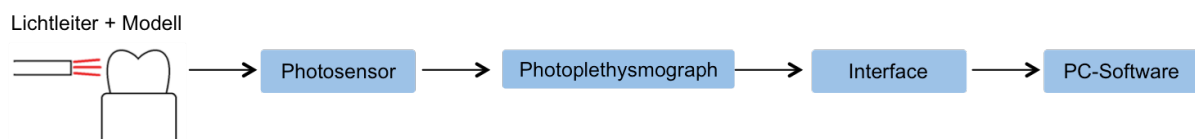


Abb. 4.2: Modularer Aufbau des Messsystems zur Detektion und Verarbeitung des durch das Modell transmittierten Lichts

#### 4.1.1 Zahn-Gingiva-Modell, Kreislaufsystem und Lichtquelle

Zur Simulation eines Zahns mit separater Zahn- und Gingiva-Durchblutung wurde das von Jaeger [88] entwickelte und auch von Brandt [18] genutzte Zahn-Gingiva-Modell weiterverwendet. Grundlage war ein humaner karies- und füllungsfreier Unterkiefermolar, der in vertikaler Richtung durchbohrt und in den eine Glaskapillare eingesetzt wurde. Der Kunststoffsockel zur Simulation der zahnumgebenden Gewebe konnte separat durchblutet werden, so dass sich die in Abb. 4.3 gezeigten Durchblutungsmodi „Zahn“ (Z), „Gingiva“ (G) und „Zahn und Gingiva“ (ZG) ergaben.

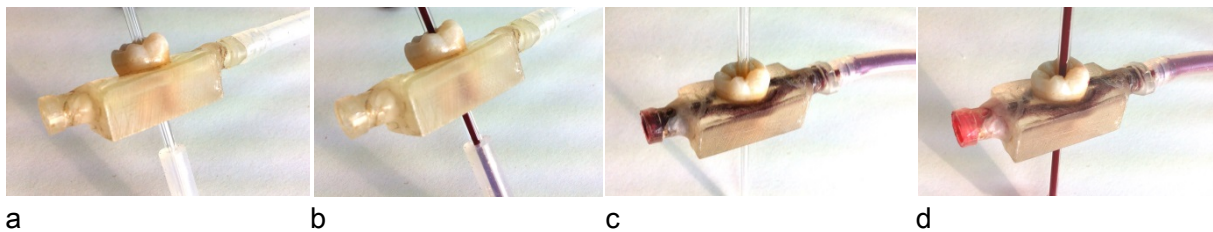
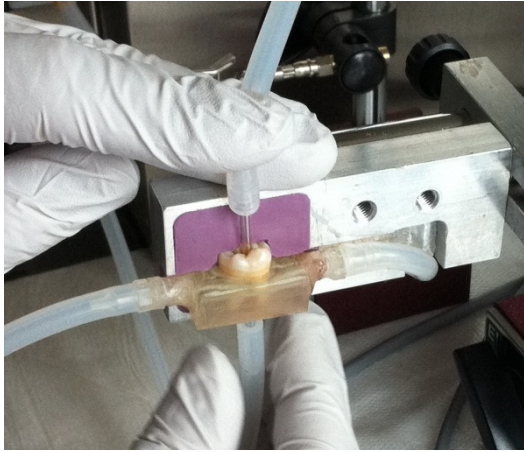
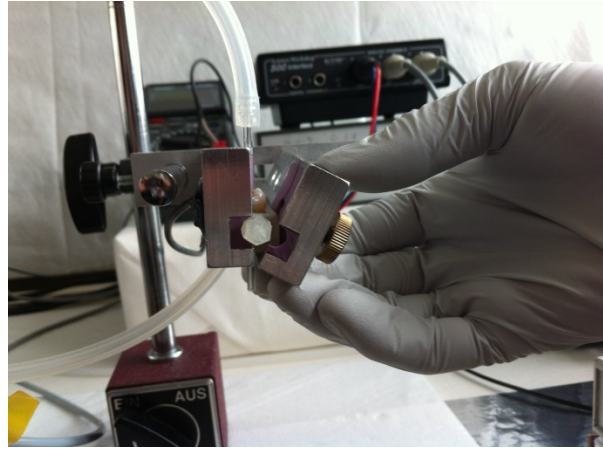


Abb. 4.3: Zahn-Gingiva-Modell mit eingesetzter Kapillare, dargestellt in den Durchblutungsmodi (a) undurchblutet, (b) nur Zahn, (c) nur Gingiva sowie (d) Zahn und Gingiva durchblutet.

Während der Versuche wurde das Modell in eine zweiteilige Modellklammer eingesetzt (Eigenbau Jaeger [88]), die eine reproduzierbare Positionierung des Modells und die Abschirmung gegen äußere Lichteinflüsse sicherstellte. Gleichzeitig schützte die auf diese Weise geschaffene feuchte Kammer den Versuchszahn gegen Austrocknung während der Versuchsdurchführung. Der in der Lichtleiterhälfte der Modellklammer fixierte Lichtwellenleiter strahlte das Licht auf Höhe des größten Umfangs der Zahnkrone ein. Sensorseitig wurden zwei baugleiche Klammerhälften mit jeweils unterschiedlichen Fotosensoren ausgestattet, die in den Kapiteln 4.1.3 und 4.1.4 näher beschrieben werden. Die Sensoren wurden so positioniert, dass sie das auf der Gegenseite des Versuchszahns austretende Licht ebenfalls auf Höhe des Zahnäquators erfassten. Abb. 4.4 zeigt das Zahn-Gingiva-Modell beim Einsetzen in die Modellklammer.



a



b

Abb. 4.4: Zahn-Gingiva-Modell mit angeschlossenen zu- und abführenden Schläuchen, beim Einsetzen in die sensorseitige Klammerhälfte (a) und nur mit zuführenden Schläuchen beim Verschluss der Modellklammer mit der lichtleiterseitigen Klammerhälfte (b)

Zur Erzeugung eines gepulsten Blutflusses wurden zwei Schlauchpumpen mit 2-Rollen-Rotoren (ISMATEC Ecoline VC-280, ISM1078B; Seriennr. 211837-7 und 211837-8; IDEX Health & Science, Deutschland) verwendet und jeweils dem Zahn- bzw. Gingivakreislauf durch Beschriftung fest zugeordnet. Für die Blutkreisläufe wurde ein Tygon-Silikon-Schlauch (Tygon T3303-23; LOT: 645214; Innendurchmesser: 2,4mm; Wandstärke: 1,6mm; Saint-Gobain Performance Plastics, Frankreich) verwendet. Zur Kontrolle der Drücke wurden per T-Schlauchverbinder (Nr. 70459; Kartell, Italien) im Zahn- und Gingivakreislauf je ein Drucksensor (Nr. 40PC015G1A; Seriennr. 2317800100 und 2317800174 Honeywell International Inc., USA) vor dem Zahn-Gingiva-Modell angeschlossen. Der Aufbau der Kreisläufe ist schematisch in Abb. 4.1 gezeigt.

Für die Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell liefen beide Schlauchpumpen mit der am Potenziometer der Pumpen eingestellten Geschwindigkeitsstufe 09 (Prozent der Maximalgeschwindigkeit). Mit den eingesetzten 2-Rollen-Rotoren erzeugten die Schlauchpumpen bei dieser Geschwindigkeitsstufe je Kreislauf einen Durchfluss von 23,4 ml/min mit einer Pulsfrequenz von 1Hz. Die Pumpen liefen um eine halbe Periodendauer versetzt, um Zahn- und Gingiva-Signale differenzieren zu können.

Als Lichtquelle diente das von Jaeger [88] angefertigte LED-Lichtmodul, dessen Hochleistungs-LEDs mit einer Lichtwellenlänge von 625 nm (Teilenummer LR W5SM; Golden Dragon



LED; OSRAM, Deutschland) und 940 nm (Teilenummer SFH 4231; Golden Dragon LED; OSRAM, Deutschland) verwendet wurden. Ein externes Gleichspannungsnetzgerät (Votcraft Labornetzgerät DIGI 35, Conrad Electronic SE, Deutschland) übernahm die Spannungsversorgung des Lichtmoduls.

Das emittierte Licht der LEDs wurde mit einem im Vergleich zu den vorangegangenen Arbeiten überarbeiteten Lichtleiter (Spezialanfertigung; Leoni Fiber Optics, Deutschland) zum Zahn-Gingiva-Modell übertragen. Er verfügte über eine verstärkte Ummantelung mit verbesserter Zugentlastung und Biegefestigkeit. Der lichtleitende Kern wurde nicht verändert. Für detailliertere Ausführungen zu den genannten Versuchskomponenten wird auf die Arbeiten von Jaeger [88] und Brandt [18] verwiesen.

#### **4.1.2 Messkomponenten der ersten Generation**

Die Messkomponenten der ersten Generation erfassten das durch das Modell transmittierte Licht mit einer Silizium-Pin-Fotodiode (SFH229; Siemens, Deutschland) für Lichtwellenlängen im sichtbaren bis angrenzenden Infrarot-Bereich (380-1100 nm) mit sphärischer Sensoroberfläche [232], die das auftreffende Licht abhängig von dessen Intensität in einen Diodenstrom umwandelte.

Der von Niklas [150] entwickelte Photoplethysmograph 1 (PPG 1) wandelte den Diodenstrom über einen Transimpedanzverstärker mit Wandlungsfaktor  $10^5$  V/A in ein Spannungssignal um und verstärkte und tiefpassfilterte dieses nochmals. Die Gesamtverstärkung im PPG 1 betrug  $10^9$ . Zur Kontrolle der Gleichspannungskomponente des Spannungssignals wurde am PPG 1 ein Multimeter-Messgerät (Standard) angeschlossen. Das von Schulz [190] übernommene Blockschaltbild des PPG 1 ist in Abb. 4.5 dargestellt.

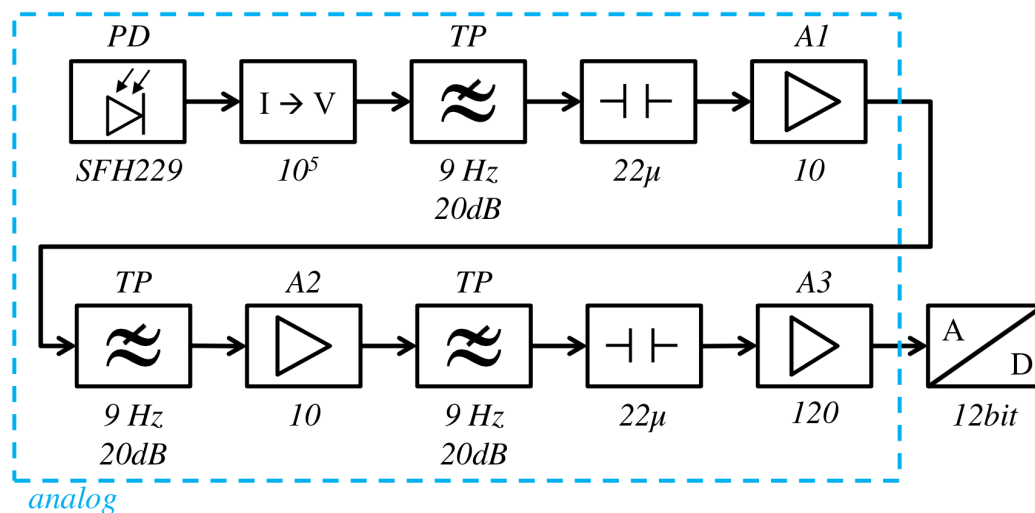


Abb. 4.5: Blockschaltbild des Photoplethysmographen von Niklas [150] (PPG 1) (blau umrandet) mit dem nachgeschaltetem 12 bit-Science Workshop-Interface; unverändert übernommen aus [190]

Das analoge Spannungssignal und die Signale der Drucksensoren wurde mit einem 12 bit-Analog/Digital-Wandler-Interface (Science Workshop 500 Interface, CI-6400; Pasco Scientific; USA) ohne weitere Verstärkung oder Filterung in ein digitales Signal umgewandelt. Alle Signale wurden mit der zugehörigen PC-Software (DataStudio, Version 1.9.8r10; Pasco Scientific; USA) ausgelesen. Diese zeichnete das Spannungssignal sowie die gemessenen Drücke im Zahn- und Gingiva-Kreislauf auf und ermöglichte die Auswertung der Spannungs- und Druckkurven.

#### 4.1.3 Messkomponenten der zweiten Generation

Die Messkomponenten der zweiten Generation erfassten das durch das Modell transmittierte Licht über eine monolithische Fotodiode mit planer Oberfläche (OPT101PG4, Nr. 665-8759; LOT: 22312995; Burr-Brown Products from Texas Instruments, USA). Der im Sensorchip integrierte Transimpedanzverstärker mit einem Wandlungsfaktor von  $10^6$  V/A erzeugte als Ausgangssignal des 8 Pin-Sensorchips direkt ein Spannungssignal.

Zur Verstärkung und Filterung des Signals wurde von Frau Irene Schulz (Master of Science, Fakultät Elektro- und Informationstechnik, OTH Regensburg) speziell für diesen Versuchsaufbau ein neuer Photoplethysmograph (PPG 2) entworfen und hergestellt und

individuelle Mess- und Leseprogramme über die Labor-Software LabView (LabView 2012, Version 12.0f3 (32bit); National Instruments, USA) programmiert. Für detailliertere Informationen wird auf die zugehörige Masterarbeit [190] verwiesen.

An den PPG 2 konnten sowohl der Sensor SFH229 als auch der Sensor OPT101 an separaten Eingängen angeschlossen werden. Bei Verwendung des OPT101 wurde dessen Transimpedanzverstärker über das Netzteil des PPG 2 mit einer Spannung von 15 V versorgt. Am Eingang des SFH229 am PPG 2 wurde ein Transimpedanzverstärker mit einem Wandlungsfaktor von  $10^6$  vorgeschaltet, der dem Verstärkungsfaktor des Transimpedanzverstärkers des OPT101 entsprach. Anschließend wurde das Signal beider Sensoren über mehrere Hochpass- und Tiefpassfilter sowie zwei Verstärker analog weiterverarbeitet. Die Verstärker konnten separat über zwei Wahlschalter am PPG 2 auf die Werte 1 – 5 – 10 – 20 – 50 – 100 eingestellt und so die Gesamtverstärkung des Spannungssignals variiert werden. Für alle Untersuchungen wurde am Verstärker 1 (A1 in Abb. 4.6) der Verstärkungsfaktor 50 gewählt, am Verstärker 2 (A2 in Abb. 4.6) der Faktor 20. Damit resultierte für beide Fotosensoren eine Gesamtverstärkung um den Faktor  $10^9$ , der dem festen Gesamtverstärkungsfaktor der Messkomponenten der ersten Generation entsprach und einen Vergleich der Ergebnisse ermöglichte. Das von Schulz [190] übernommene Blockschaltbild des PPG 2 ist in Abb. 4.6 dargestellt.

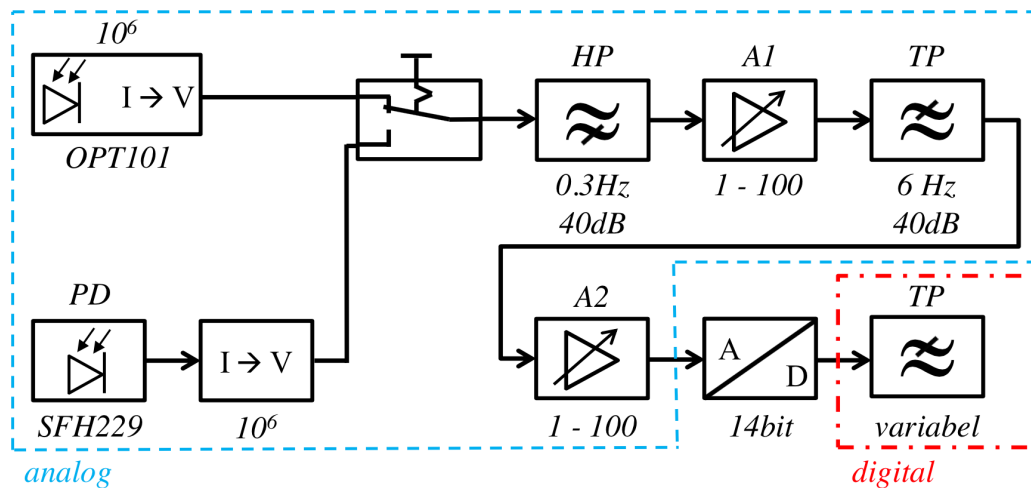


Abb. 4.6: Blockschaftbild des Photoplethysmographen 2 (PPG 2) (blau umrandet) mit Verstärker 1 (A1), Verstärker 2 (A2), baulich integriertem 14 bit-Interface und der LabView-PC-Software (rot umrandet); unverändert übernommen aus [190]

Zur Digitalisierung des Signals wurde in den PPG 2 ein 14 bit-Interface baulich integriert, das auch separat genutzt werden konnte und somit die Auslesung des Ausgangssignals des PPG 1 erlaubte. Auch die Drucksensoren wurden an das Interface des PPG 2 angeschlossen und alle digitalen Ausgangssignale, bestehend aus Spannungssignal und Drucksignalen von Zahn- und Gingivakreislauf, an die LabView PC-Software weitergeleitet. Über eine Lemo-Buchse konnte per Multimeter (Standard) der Gleichspannungsanteil des Spannungssignals ausgelesen und kontrolliert werden, standardmäßig wurde dieser jedoch ebenfalls digitalisiert und über die Software ausgelesen.

Das mit LabView erstellte Messprogramm war darauf programmiert, das eingespeiste Spannungssignal digital über einen virtuellen Tiefpassfilter mit einstellbarer Filterordnung und Filtergrenzfrequenz zu filtern (Abb.4.6). Für alle Untersuchungen wurden ein Filter 8. Ordnung und eine Grenzfrequenz von 8 Hz gewählt. Das Spannungssignal und die beiden Drucksignale wurden getrennt als Graphen dargestellt und nach Beendigung jeder Messung automatisch zusammen mit den in die Programmmaske eingegebenen Versuchsparametern als CSV-Datei abgespeichert. Abb. 4.7 zeigt die Bedienoberfläche des LabView-Messprogramms.

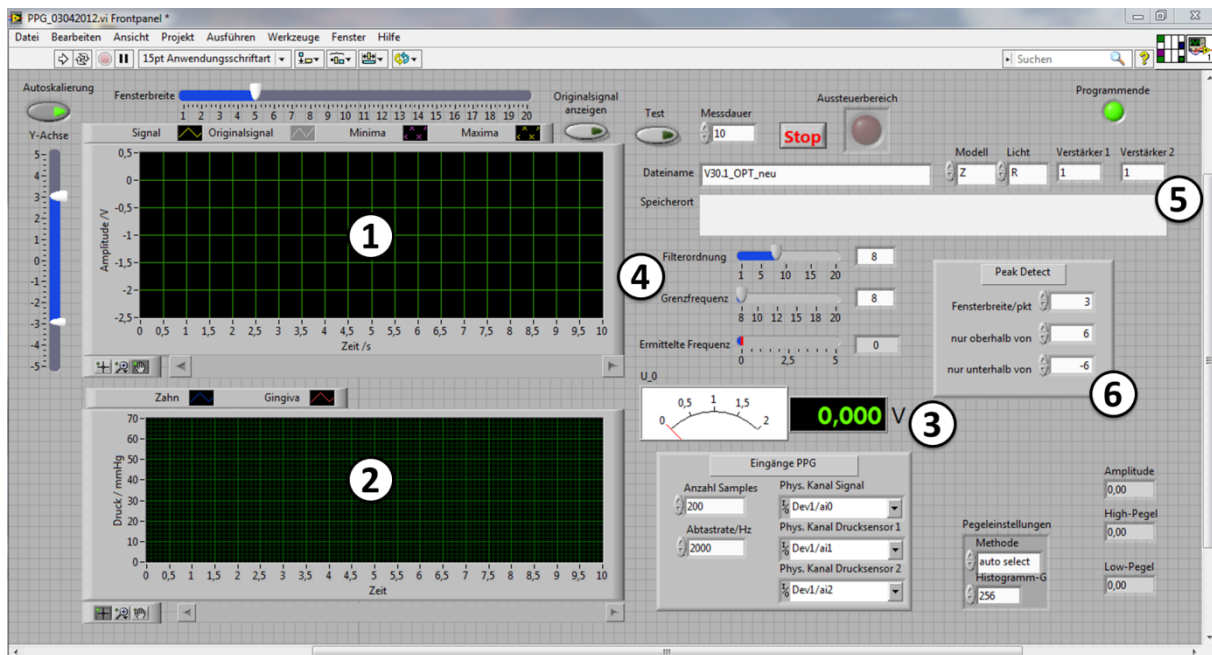


Abb. 4.7: Bedienoberfläche des LabView-Messprogramms:  
 (1) Fenster zur Darstellung des Spannungssignals; (2) Fenster zur Darstellung der Drucksignale; (3) Gleichspannungsanteil  $U_0$  des Spannungssignals; (4) wählbare Filterordnung (hier 8. Ordnung) und Filtergrenzfrequenz in Hz (hier 8 Hz) und ermittelte Frequenz des Spannungssignals; (5) Eingabefelder für Versuchsbezeichnung und -parameter; (6) Bedienfeld für die automatische Markierung lokaler Maxima und Minima

Für die vom Messprogramm abgespeicherten CSV-Dateien wurde ein eigenes Leseprogramm erstellt, das in Abb. 4.8 gezeigt ist. Es diente lediglich der Darstellung der Signale und der abgespeicherten Versuchsinformationen zur manuellen Auswertung des Spannungssignals ((1) in Abb. 4.8).

Zur technischen Überprüfung des PPG 2 und der LabView-Programmierungen waren zuvor sämtliche Einstellmöglichkeiten der Verstärker 1 und 2 am PPG 2 bei den Messwellenlängen 625 nm und 940 nm getestet worden. Die Signalgraphen wurden in einem Prüfprotokoll festgehalten (Anhang 8.1).



Abb. 4.8: Bedienoberfläche des LabView-Leseprogramms:  
 (1) Spannungssignal; (2) Drucksignale (Zahn blau, Gingiva rot);  
 (3) Gleichspannungsanteil  $U_0$  (hier 0,569 V), Filterordnung (hier 8. Ordnung)  
 und Filtergrenzfrequenz in Hz (hier 8 Hz); (4) Bedienfeld für den Graphen des  
 Spannungssignals; (5) Bedienfeld für die Graphen der Drucksignale

#### 4.1.4 Vorbereitung der Erythrozytenkonzentrate

In Kontinuität zu den vorangegangenen Arbeiten von Klingebiel [109], Niklas [150], Jaeger [88] und Brandt [18] wurde die Methode zur Vorbereitung der Erythrozytenkonzentrate (EK) beibehalten. Die Blutkonserven mit leukozytendepletiertem, humanem Erythrozytenkonzentrat stammten aus der Blutbank des Universitätsklinikums Regensburg. Das auf den Konserven angegebene, späteste Datum für die Patientenapplication wurde maximal um eine Woche überschritten. Die Blutgruppen richteten sich nach der aktuellen Verfügbarkeit. Um Aggregations- und Alterungsprozesse sowie mechanische Belastungen der Erythrozyten zu minimieren, wurden die verwendeten Konzentrate mit Synperonic F68 (CAS [9003-11-6], LOT 070431, Serva Electrophoresis, Deutschland) versetzt und als 0,1 %ige Synperonic-Erythrozytenkonzentrat-Lösung in 60 ml bzw. 80 ml-Portionen in 100 ml-Labor-Schraubgläsern (Standard) in den Messaufbau eingebracht. Die Erythrozytenzahl jedes Erythrozytenkonzentrats wurde am Durchlichtmikroskop mit einer Auszählkammer (Typ

Neubauer Improved, Tiefe 0,1 mm, Kleinstquadratfläche 0,0025 mm<sup>2</sup>, Optik Labor, Deutschland) bestimmt. Die Werte sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst.

| Versuch                           | Erythrozytenzahl<br>pro µl EK | vgl. Kapitel |
|-----------------------------------|-------------------------------|--------------|
| <b>Zahn-Gingiva-Modell</b>        |                               |              |
| Technische Überprüfung            | 4,47x10 <sup>6</sup>          | 4.1.3        |
| Vergleich der Messkomponenten     | 5,65x10 <sup>6</sup>          | 4.2          |
| Ohne Blutfluss                    | 5,65x10 <sup>6</sup>          | 4.3.1        |
| Abschaltversuche                  | 5,65x10 <sup>6</sup>          | 4.3.2        |
| Konstanter, ungepulster Blutfluss | 5,16x10 <sup>6</sup>          | 4.3.3        |
| <b>Glaspulpa-Modell</b>           |                               |              |
| Blutfluss gepulst mit EK 16       | 4,77x10 <sup>6</sup>          | 4.5          |
| Blutfluss gepulst mit EK 17       | 5,27x10 <sup>6</sup>          | 4.5          |
| Abschaltversuche                  | 5,27x10 <sup>6</sup>          | 4.6          |

Tab. 4.1: Erythrozytenzahlen der für die jeweiligen Versuchsreihen verwendeten Erythrozytenkonzentrate; nähere Versuchsbeschreibung in den angegebenen Kapiteln

#### 4.1.5 Versuchsbedingungen

Alle Versuche wurden unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

- Im Versuchsraum wurden die Beleuchtung abgeschaltet und die Vorhänge zugezogen, um Einflüsse durch Umgebungslicht zu reduzieren.
- Die Umgebungstemperatur im Versuchsraum wurde auf 22 - 24 °C reguliert. Zu diesem Zweck wurde eine Klimaanlage installiert.
- Alle Messungen einer Versuchsreihe mussten an einem Tag und mit dem Erythrozytenkonzentrat aus einer Blutkonserve durchgeführt werden. Jede der 60 ml bzw. 80 ml großen Portionen eines Erythrozytenkonzentrates durfte für maximal 30 Einzelmessungen verwendet werden, höchstens jedoch 2 Stunden lang.

- Zwischen jeder Messung einer Stichprobe wurden der Lichtleiter ab- und wieder eingesteckt, die Blutkreisläufe durchgespült und das Schraubglas mit Erythrozytenkonzentrat (zur Minimierung von Blutsenkungseffekten) aufgeschüttelt. Vor der nächsten Messung wurde bei Verwendung des Sensors OPT101 eine Vorlaufzeit von 1 min eingehalten, bei Messungen mit dem Sensor SFH229 2 min.
- Zur quantitativen Auswertung wurden bei jedem Versuch die Spannungs- und Drucksignale von fünf Stichproben aufgezeichnet. Zusätzlich wurden bei jeder Einzelmessung die Raumtemperatur und der Gleichspannungsanteil  $U_0$  des Spannungssignals ermittelt.
- Bei nicht-quantitativer Auswertung wurden PNG-Dateien der Spannungs- und Drucksignale erstellt, die den Verlauf der Signale grafisch darstellten.

Das vollständige Protokoll für Versuchsdurchführungen und Messungen ist im Anhang unter 8.2 beigelegt.

#### **4.2 Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell zum Vergleich der Messkomponenten der ersten und zweiten Generation**

Für den Vergleich der Messkomponenten der ersten Generation mit den Messkomponenten der zweiten Generation wurden Messungen mit beiden Messaufbauten sowie Zwischenkombinationen durchgeführt. Auf Grund des modularen Aufbaus der Versuchsanordnung war es möglich, Komponenten mit gleicher Funktion (Abb. 4.9) sukzessive auszutauschen und verschiedene Kombinationen (Tab. 4.2) bei sonst unverändertem Versuchsaufbau zur Messung des Spannungssignals am Zahn-Gingiva-Modell einzusetzen.



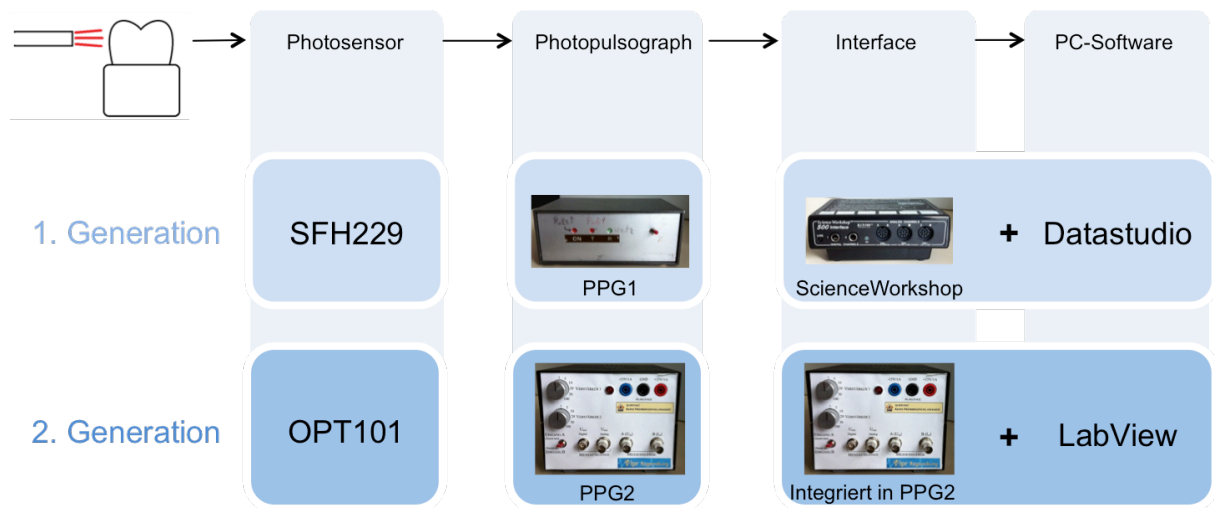


Abb. 4.9: Modularer Aufbau der Messapparatur: untereinander dargestellte Geräte erfüllen gleiche Funktionen und können gegeneinander ausgetauscht werden; beide Interfaces konnten jeweils nur mit der zugehörigen PC-Software ausgelesen werden (vgl. Abb. 4.1 und 4.2)

| Kombination | Messkomponenten |      |                 |            |
|-------------|-----------------|------|-----------------|------------|
| I           | SFH229          | PPG1 | ScienceWorkshop | DataStudio |
| II          | SFH229          | PPG1 | PPG2            | LabView    |
| III         | SFH229          | PPG2 | PPG2            | LabView    |
| IV          | OPT101          | PPG2 | PPG2            | LabView    |

Tab. 4.2: Technisch umsetzbare Kombinationen der Messkomponenten der ersten und zweiten Generation

Zusätzlich wurden wie in den vorangegangenen Arbeiten [18,88,151] die beiden Lichtwellenlängen 625nm (rot) und 940nm (infrarot) sowie die Durchblutungsmodi „Zahn und Gingiva“ (ZG), „nur Zahn“ (Z) und „nur Gingiva“ (G) als Parameter in die Versuche aufgenommen. So konnten zuerst mit der Kombination I die Ergebnisse von Brandt [18] reproduziert und anschließend mit den Kombinationen II bis IV schrittweise die neuen Messkomponenten eingesetzt werden.

Für die Kombinationen I bis III wurde das LED-Modul in Übereinstimmung mit der Arbeit von Brandt [18] mit einer an der Spannungsquelle des LED-Moduls (3a in Abb. 4.1) eingestellten Lampenstromstärke von  $I_L = 0,5 \text{ A}$  betrieben. Für die Kombination IV musste der Lampenstrom auf  $0,1 \text{ A}$  reduziert werden, um ein Übersteuern des Sensors zu vermeiden.

Die Messungen wurden unter den in Kapitel 4.1.5 beschriebenen Bedingungen durchgeführt. Für jede Kombination wurden 5 Messungen mit 10 sec Messdauer aufgezeichnet, abgespeichert und anschließend nach der in Kapitel 4.7 erläuterten Methode ausgewertet. Messparameter war die Amplitude des Wechselspannungsanteils des Spannungssignals  $\Delta U \text{ [V]}$ .

Nachdem gezeigt werden konnte, dass man mit den Messkomponenten der zweiten Generation (Kombination IV) bei gleichen Bedingungen und reduziertem Lampenstrom größere  $\Delta U$ -Werte erhielt, wurden diese als neues Standardmesssystem für alle nachfolgenden Untersuchungen übernommen und die Lampenstromstärke von  $I_L = 0,1 \text{ A}$  beibehalten.

### **4.3 Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit verschiedenen Blutflussmustern**

Zur Untersuchung der Abhängigkeit des Spannungssignals und  $\Delta U$  von verschiedenen Blutflussmustern wurden Versuche ohne Blutfluss, mit Pumpenabschaltung während der Messungen und mit konstantem, ungepulstem Blutfluss durchgeführt. Es wurde der im Kapitel 4.1 beschriebene Versuchsaufbau mit den Messkomponenten der zweiten Generation und den in den Kapiteln 4.1.3 und 4.2 genannten Einstellungen verwendet. Weiterhin galten die in Kapitel 4.1.5 genannten Bedingungen.

#### **4.3.1 Untersuchungen ohne Blutfluss**

Für Messungen ohne Blutfluss wurden die Zahn- und Gingivakreisläufe mit Erythrozytenkonzentrat gefüllt, die Pumpen blieben jedoch abgeschaltet. Die Fließgeschwindigkeit des Erythrozytenkonzentrates lag somit bei  $0 \text{ ml/min}$ . Einziger Parameter war die Lichtwellenlänge des eingestrahlten Lichts, die  $625 \text{ nm}$  (rot) bzw.  $940 \text{ nm}$  (infrarot) betrug. Für beide Wellenlängen wurden jeweils 3 Messungen zu je 10 sec vorgenommen und der Graph des Spannungssignals jeder Stichprobe zur grafischen Auswertung als PNG-Bilddatei abgespeichert.

#### 4.3.2 Untersuchungen mit Pumpenabschaltung

Bei den Versuchen mit Pumpenabschaltung betrug die Messdauer 20 sec. Nach 10 sec wurden beide Schlauchpumpen abgeschaltet, die ohne Nachlaufen stoppten. Versuchsparameter waren die Lichtwellenlänge (625 nm bzw. 940 nm) und der Durchblutungsmodus (Z, G und ZG). Zur grafischen Auswertung wurden PNG-Dateien der Signalgraphen abgespeichert.

#### 4.3.3 Untersuchungen mit konstantem, ungepulstem Blutfluss

Zur Erzeugung eines konstanten, ungepulsten Blutflusses wurden in den Versuchsaufbau aus Kapitel 4.1 und Abb. 4.1 zwei 50 ml-Büretten (Silberbrand, Klasse B, seitlicher Ventilhahn; VWR-Arttnr. 612-9966; Brand, Deutschland) integriert und der Zahn- und der Gingivakreislauf wie in Abb. 4.10 schematisch dargestellt modifiziert.

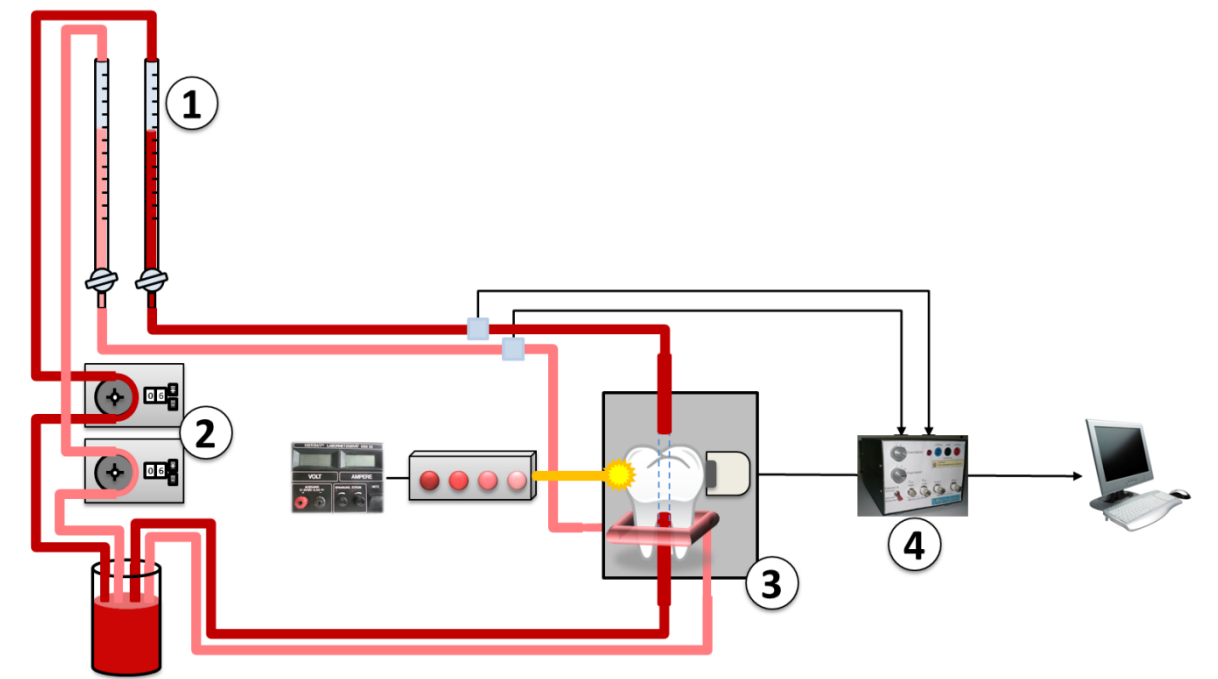


Abb. 4.10: Schematischer Versuchsaufbau für konstanten, ungepulsten Blutfluss: (1) 50 ml-Büretten (2) Schlauchpumpen; (3) Zahn-Gingiva-Modell; (4) PPG 2 mit integriertem Interface

Der hydrostatische Druck der 60 cm hohen Flüssigkeitssäule über dem Zahn-Gingiva-Modell erzeugte einen gleichmäßigen, ungepulsten Ausfluss des Erythrozytenkonzentrats aus den Büretten. Die Bürettenauslässe wurden über 15 cm lange Tygon-Schläuche (Tygon T3303-23; LOT: 645214; Innendurchmesser: 2,4 mm; Wandstärke: 1,6 mm Saint-Gobain; Performance Plastics, Frankreich) mit den Drucksensoranschlüssen und diese wiederum mit dem Zahn-Gingiva-Modell verbunden. Um ein Absinken des Flüssigkeitsspiegels in den Büretten und damit einen abfallenden Druck während der Messung zu verhindern, wurden die Büretten im laufenden Versuch über die (für diesen Fall umfunktionierten) Schlauchpumpen kontinuierlich wiederbefüllt. Die in Kapitel 4.1.1 beschriebenen Tygon-Pumpenschläuche wurden per Schlauchverbinder (Nr. 15674; Reichelt Chemietechnik, Deutschland) mit einem 110 cm langen Silikonschlauch (VWR Silicone, Peroxide Tubing; VWR-ArtNr. 228-0700; LOT: 738585; Innendurchmesser: 1,0 mm; Wandstärke: 1,0 mm; VWR International, Deutschland) verbunden. Dieser wurde bis zur 0 ml-Markierung in die Büretten eingeführt und so mit einem Klebeband (Standard) fixiert, dass die Schlauchenden an der Innenwand der Büretten anlagen. Der restliche Versuchsaufbau blieb unverändert.

Für den modifizierten Versuchsaufbau wurden 80 ml-Portionen des Erythrozytenkonzentrates verwendet. Das EK-Volumen in den Büretten betrug konstant 17 ml. Die Durchflussmenge betrug im Zahnkreislauf 15,5 ml/min, im Gingivakreislauf 15,0 ml/min. Beide Werte entsprachen der jeweiligen Geschwindigkeitsstufe 06 der beiden Pumpen. Der an den Drucksensoren gemessene hydrostatische Druck lag im Zahnkreislauf bei ca. 25 mmHg, im Gingivakreislauf bei ca. 10 - 15 mmHg. Versuchsparameter waren die Lichtwellenlänge (625 nm und 940 nm) und der Durchblutungsmodus (Z, G und ZG). Für jeden Versuch wurden Graphen der Spannungssignale von 5 Messungen zu je 10 sec Messdauer zur nicht-quantitativen Analyse als PNG-Dateien abgespeichert.

#### **4.4 Entwicklung des Versuchsaufbaus mit dem Glaspulpamodell**

Für Untersuchungen mit einer an *in vivo*-Werte angenäherten Flussrate des Erythrozytenkonzentrats wurde ein neues *in vitro*-Modell (Glasulpamodell) entwickelt, das auch die anatomischen *in vivo*-Größenverhältnisse möglichst exakt abbilden sollte. Anschließend wurde der restliche Versuchsaufbau an die Anforderungen des Glaspulpamodells angepasst

und neu angefertigt. Der grundsätzliche, schematische Aufbau der Versuchsanordnung, wie er in Abb. 4.1 dargestellt ist, wurde beibehalten.

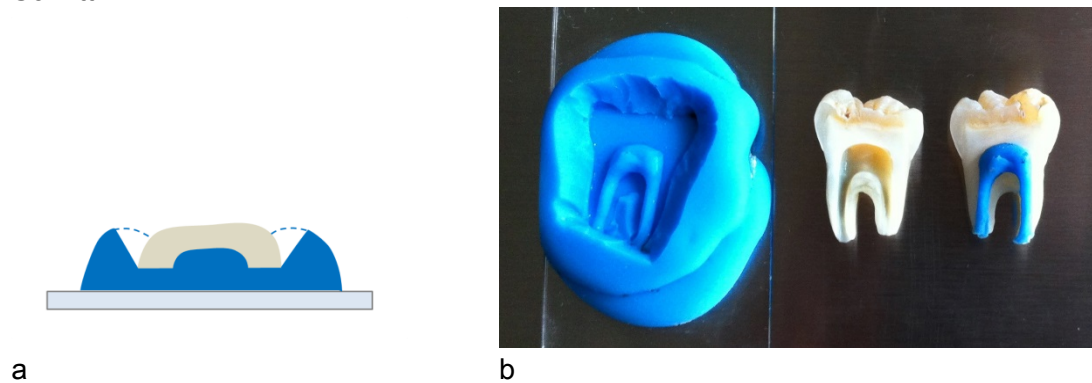
#### 4.4.1 Entwicklung der Glaspulpa

Zur Herstellung des Glaspulpamodells wurde ein neuer, humaner, füllungs- und kariesfreier Unterkiefermolar ausgewählt, der zuvor in einer 0,5 %igen Chloramin-T-Lösung gelagert worden war. Nach der Modellherstellung erfolgte die weitere Lagerung in 0,9 %iger NaCl-Lösung. Der Molar wurde von retrograd mit Endodontie-Handfeilen (K-Feilen; VDW, Deutschland) bis zur Instrumentengröße ISO 100 ( $\pm 1$  mm Durchmesser der Instrumentenspitze im Querschnitt) aufbereitet. Anschließend wurde der in Kunststoff (PALA Paladur; LOT 013162; Heraeus Kulzer, Deutschland) eingebettete Zahn in einer Innenlochsäge (Leica SP1600, Typ 025.097.052; Leica Mikrosysteme, Deutschland) mit einem 300  $\mu$ m dicken, diamantierten Sägeblatt (Winter 80000487811, JS 35D, 46D; Deutschland) in vertikaler Richtung so durchtrennt, dass das Pulpenkavum und die aufbereiteten Wurzelkanäle mittig eröffnet wurden und zwei in etwa gleich große Zahnhälften entstanden (Abb. 4.11). Das Pulpenkavum und die Wurzelkanäle wurden mit einem kugelförmigen, diamantierten Instrument (Standard) zur Aufnahme der Glaspulpa geringfügig erweitert. Abb. 4.12 zeigt eine Übersicht der weiteren Arbeitsschritte zur Herstellung einer feuerfesten Form des Pulpenkavums, in die eine Glaspulpa eingearbeitet werden konnte.

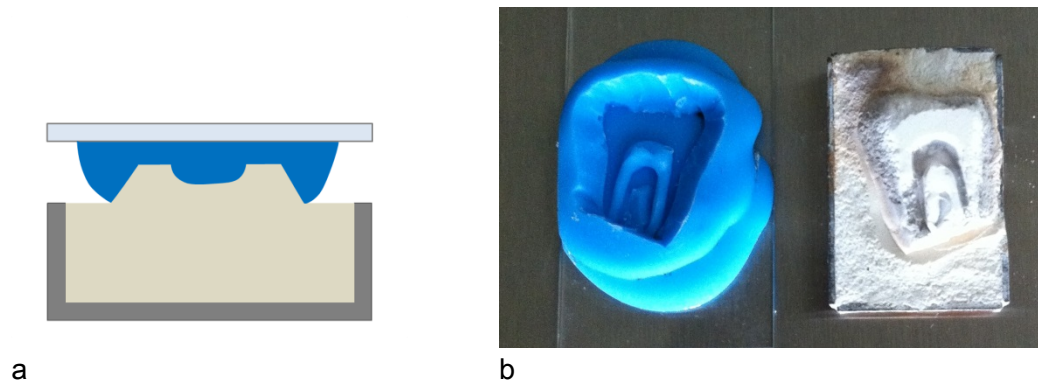


Abb. 4.11: geschnittene Zahnhälften des retrograd aufbereiteten Unterkiefer-Molaren mit erweitertem Pulpenkavum

Schritt 1:



Schritt 2:



Schritt 3:

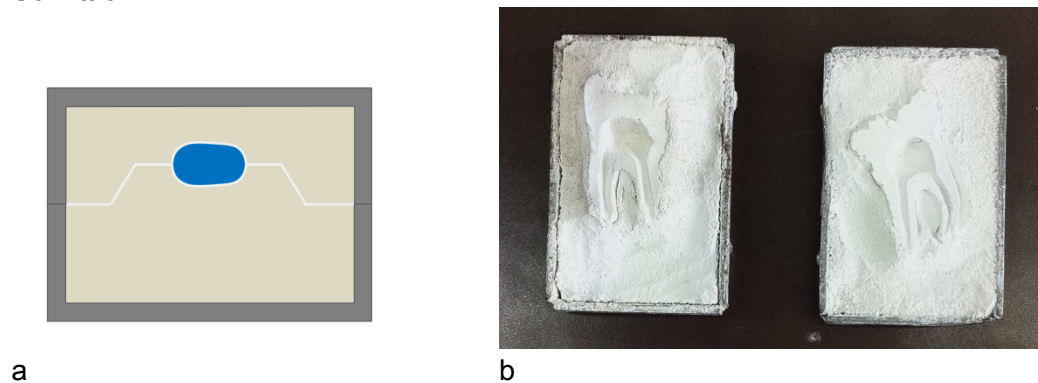


Abb. 4.12: Schritt 1: Abformung einer Zahnhälfte: (a) Schnitt durch die zugeschnittene Abformung mit Zahnhälfte; (b) Zahnhälftenabformung und Zahnhälften mit Pulpaabformung (hier in die rechts abgebildete Zahnhälfte eingesetzt); Schritt 2 (a) und (b): Zahnhälftenabformung und unteres Einbettmassemodell mit Magnetkammer; Schritt 3 (a) und (b): fertige feuerfeste Form, bestehend aus dem mit der Pulpaabformung gekonterten, unteren und dem oberen Einbettmassemodell;

Das Pulpenkavum und die Wurzelkanäle des zusammengesetzten Zahns wurden mit einem Polysiloxan-Abformmaterial (Xantopren Comfort light; REF: 66000785, LOT: 340001; type 3, light; Heraeus Kulzer, Deutschland) abgeformt, so dass eine Positivform des vollständigen Pulpenkavums entstand. Danach wurde diejenige Zahnhälfte abgeformt, in die sich die erhaltene Pulpaabformung leichter reponieren ließ. Die Ränder dieser Zahnhälftenabformung wurden bis zum abgeformten Zahnrand zurückgeschnitten, um Unterschnitte in den weiteren Arbeitsschritten zu vermeiden (Schritt 1 in Abb. 4.12).

Als Material für die feuerfeste Form wurde eine Löt-Einbettmasse (Deguvest L; Produkt-Nr. 25080001; Degussa-Hüls, Deutschland) verwendet, als Trägermaterial diente eine Splitcast-Magnetkammer (Erkosplit II-Magnetkammer, groß; Erkodent, Deutschland). Die Einbettmasse wurde mit destilliertem Wasser angerührt, die Zahnhälftenabformung ausgegossen und auf die befüllte Magnetkammer gesetzt (Abbindezeit: 20min) (Schritt 2 in Abb. 4.12). In die so erhaltene, untere Einbettmasseform wurde die Gesamtpulpaabformung eingesetzt und mit Gips-Gips-Isolierung (Ideal; Klasse 4 Dental, Deutschland) isoliert. Zur Herstellung der oberen Form wurde mit Einbettmasse und einer zweiten Magnetkammer, die bündig auf die untere Form gesetzt wurde, gekontert (Schritt 3 in Abb. 4.12). Beide Einbettmasseformen wurden nach Entnahme der Pulpaabformung 30 min lang bei 150° C in einem Vorwärmofen (Standard) erhitzt, um überschüssiges Wasser zu verdampfen. Zur Anfertigung der Glaspulpa wurde die obere Form mit einer Trennscheibe (Standard) bis zu den Wurzelkanaleingängen gekürzt.

Von Herrn Glasbläsermeister Markus Lindner, Leiter der Glasbläserei der Fakultät für Chemie und Pharmazie an der Universität Regensburg, wurde aus einer Glaskapillare (Duran Borsilikatglas; Außendurchmesser: 3 mm; Duran Group, Deutschland) eine passgenaue Glashohlform in die Einbettmasseform eingearbeitet. Die Enden der fertigen Glaspulpa (Abb. 4.13) hatten einen Außendurchmesser von ca. 0,7 mm, der Innendurchmesser betrug ca. 0,1 - 0,15 mm.

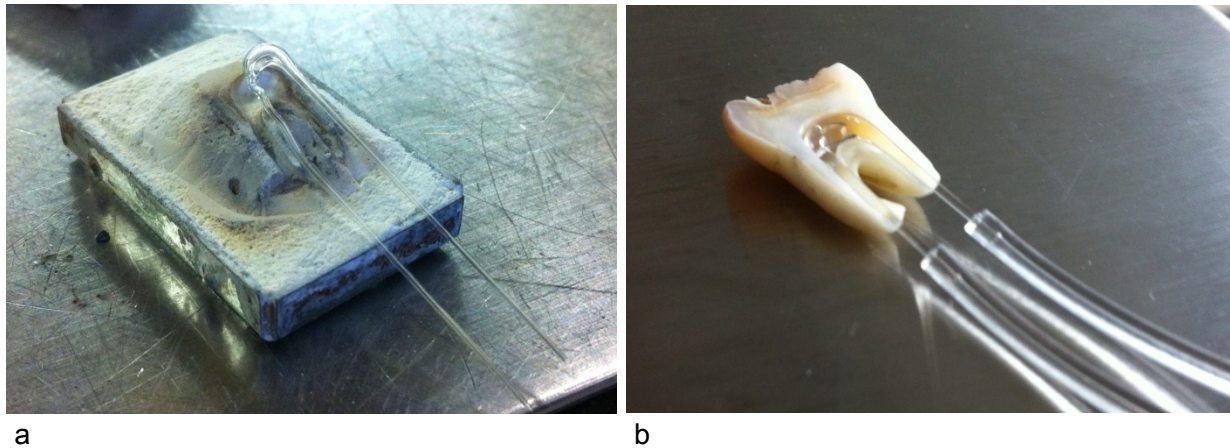


Abb. 4.13: (a) Glaspulpa mit der unteren Einbettmasseform; (b) fertige Glaspulpa mit aufgeschobenen Anschlusschläuchen, eingesetzt in eine der Zahnhälften

#### 4.4.2 Entwicklung des Modellsockels

Zur Simulation des zahnumgebenden Gewebes wurde ein Modellsockel mit festem Kunststoffkern als Kiefersegment und weichbleibender Kunststoffummantelung als Gingiva angefertigt, in die ein Schlauch für die Simulation der Gingivadurchblutung eingebettet wurde. Durch den passgenauen Sitz der Glaspulpa im Zahn und des Zahnes im Sockel war keinerlei Verklebung oder sonstige Manipulation an der Zahnhartsubstanz zum Einsetzen des Zahns in den Sockel notwendig. Die Skizze in Abb. 4.14 zeigt den schematischen Aufbau des Glaspulpamodells.

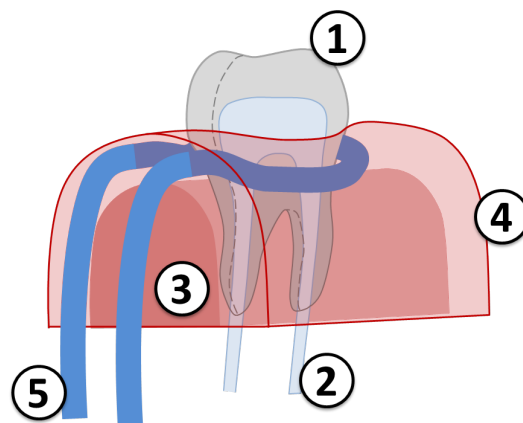
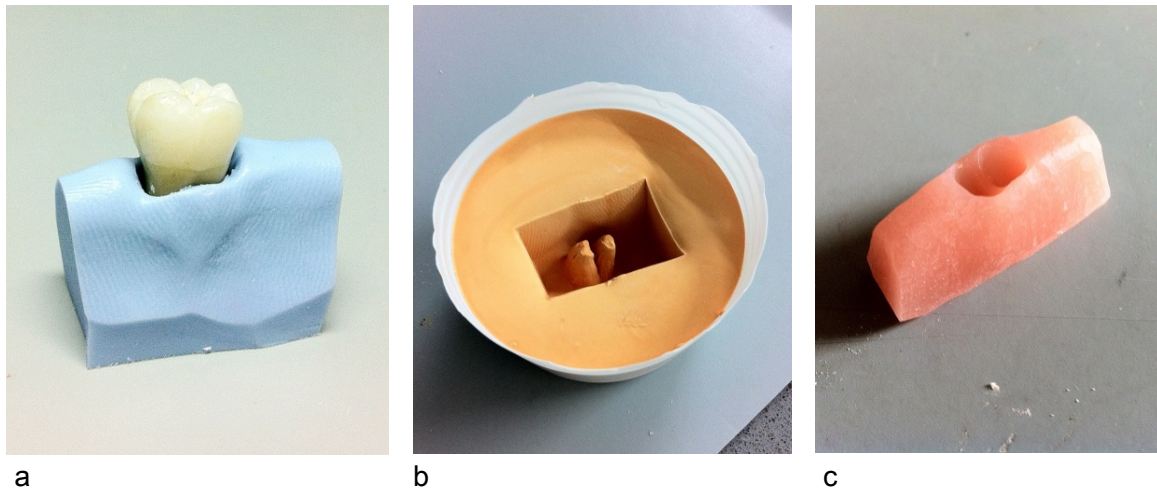


Abb. 4.14 Skizze des Glaspulpamodells mit Zahn (1) und Glaspulpa (2), Kunststoffkern (3), Gingiva (4) (transparent dargestellt) und Tygon-Schlauch (5) zur Simulation der Gingiva-Durchblutung



Der Kunststoffkern wurde aus Paladur-Kunststoff (PALA Paladur; LOT 013162; Heraeus Kulzer, Deutschland) gefertigt. Das Mischverhältnis entsprach der Mischung „A3“ (0,36g farbloses Pulver + 1,14g rosa Pulver + 1,1ml Flüssigkeit) aus der Arbeit von Hiller et al. [78], die in Bezug auf das Transmissionsverhalten zur Simulation eines Kiefers als optimal bewertet worden war. Abb. 15 zeigt eine Übersicht über die Herstellung des Modellssockels.

#### Kunststoffkieferherstellung



#### Gingivaherstellung

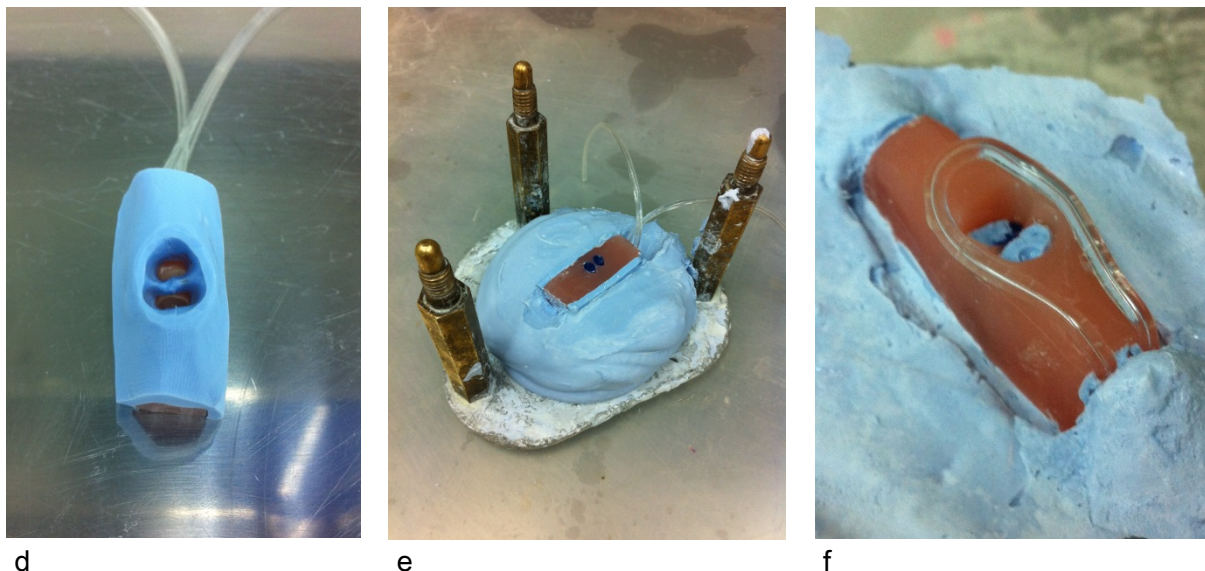


Abb. 4.15 Kunststoffkieferherstellung:

(a) gesägter Zahn mit Kiefersegment aus Knetsilikon; (b) Gips-Gussform; (c) fertiges Kunststoffkiefersegment

Gingivaherstellung:

(d) Kunststoffsockel mit fixiertem Schlauch und darüber liegender Gingivaform; (e) Einbettung im Unterfütterungsgerät; (f) Sockel im Kontergips nach Entfernung der Gingivaform mit Tygon-Schlauch

Zur korrekten Positionierung der Zahnhälften zueinander wurde die Pulpaabformung aus Kapitel 4.4.1 in den gesägten Zahn eingesetzt und aus Knetsilikon (Fifty-Fifty; Klasse 4 Dental, Deutschland) per Hand ein Kieferknochensegment um die Zahnwurzeln geformt, das 1 mm unterhalb der Schmelz-Zement-Grenze endete ((a) in Abb. 4.15). Nach der Aushärtung wurde der Zahn entnommen und durch Einbetten des Kiefersegmentes in nach Herstellerangaben verarbeiteten Superhartgips (Primus, Typ 4 Spezialstumpfgips; Klasse 4 Dental, Deutschland) eine Gussform hergestellt ((b) in Abb. 4.15). An den abgeformten Wurzelspitzen in der Gipsform wurden 3 mm starke Wachs-Gusskanäle (Standard) festgewachst, um im späteren Kunststoffsockel Kanäle für die Anschlussschläuche der Glaspulpa zu schaffen. Der angemischte Kunststoff wurde in die isolierte (Separating Liquid; Henry Schein, USA) Gipsform gegossen und 20 min bei 2 bar und 40° C im Drucktopf ausgehärtet. Zur Entformung wurden die Gipsform zerstört und die Wachsdrahte entfernt. Die Basis des Sockels wurde an einem Trimmer mit Diamantscheibe (Standard) plan geschliffen und die restliche Oberfläche mit einer Kunststofffräse (Standard) geglättet ((c) in Abb. 4.15). Die Alveolen des Kunststoffkiefers und die Zugänge zu den Wurzelspitzen wurden so weit ausgeschliffen, dass der Zahn mit eingesetzter Glaspulpa bei minimaler Spielpassung ohne Spannung oder Verkeilung eingesetzt werden konnte.

Der Tygon-Silikonschlauch (Tygon R3607; Reference: 070534-02L / ENFT 02-SC0026; Innendurchmesser: 0,25 mm, Wandstärke 0,91 mm; Saint-Gobain Performance Plastics, Frankreich) für die Gingivadurchblutung wurde punktweise mit Sekundenkleber (1733-0050 Sekundenkleber; Renfert, Deutschland) auf dem Kunststoffkiefer fixiert. Mit dem Knetsilikon wurde die Form der Gingiva modelliert und der zusammengesetzte Zahn vor der Erhärtung des Knetsilikons in den Sockel eingesetzt ((d) in Abb. 4.15). Nach Entfernung des Zahns und erneuter Ausblockung der Zugänge zu den Wurzelspitzen mit Wachs-Gussdraht, wurde der ummantelte Kunststoffkiefer in ein Unterfütterungsgerät für Zahnprothesen (Standard) eingebracht und mit Gips (Standard; Klasse 4 Dental, Deutschland) fixiert ((e) in Abb. 4.15). Anschließend wurde, entsprechend dem Vorgehen bei einer Prothesenunterfütterung, isoliert (Separating Liquid; Henry Schein, USA) und mit Gips gekontert.

Nach Entfernung des Knetsilikons ((f) in Abb. 4.15), wurde die geschaffene Hohlform mit einem auf additionsvernetzenden Silikon basierenden, weichbleibenden Unterfütterungsmaterial für Kunststoffprothesen (Mollosil plus, Standardpackung Automix 2, REF 02353;

LOT 150403; Detax, Deutschland) befüllt. Der Kunststoff des Kiefersegments war zuvor mit dem zum Unterfütterungsmaterial zugehörigen Primer vorbehandelt worden. Das geschlossene Unterfütterungsgerät wurde für 30 min bei 2 bar und 40° C in einen Drucktopf gegeben. Mit einem dem Unterfütterungsmaterial beiliegenden Sandpapier-Instrument wurden abschließend nach der Entformung des Sockels der weichbleibende Kunststoff geglättet, Überschüsse entfernt und der Sitz des Zahnes kontrolliert. Abb. 4.16 zeigt das fertige Glaspulpamodell mit Zahn, Glaspulpa und Modellsockel.

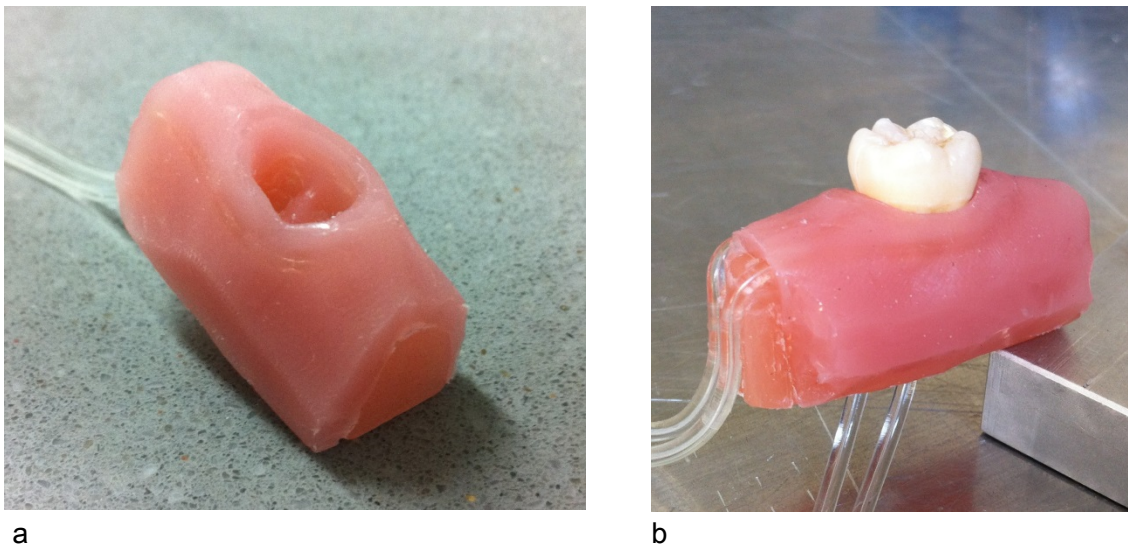


Abb. 4.16 (a) fertiger Modellsockel mit leerer Alveole, festem Kunststoffkiefer und weichbleibender Kunststoffummantelung  
(b) komplett zusammengesetztes Glaspulpamodell: Die Glaspulpa wurde in den Zahn eingelegt und dieser in den Modellsockel eingesetzt. An der Unterseite treten die an die Glaspulpa angeschlossenen Schläuche zur Zahndurchblutung aus, an der linken Seite befinden sich die Enden des Schlauches zur Simulation der Gingivadurchblutung

#### 4.4.3 Entwicklung der Modellkammer für das Glaspulpamodell

Die Modellkammer für das Glaspulpamodell wurde nach den Zeichnungen in Abb. 4.17 und 4.18 in Eigenarbeit in der Feinmechanik-Werkstatt der Fakultät für Physik an der Universität Regensburg aus Aluminium angefertigt. Zum besseren Schutz wurde die Sensorschaltung für den Fotosensor OPT101 in diese Weiterentwicklung der bisherigen Modellklammer für das Zahn-Gingiva-Modell integriert und mit einem abschraubbaren Deckel abdeckt.

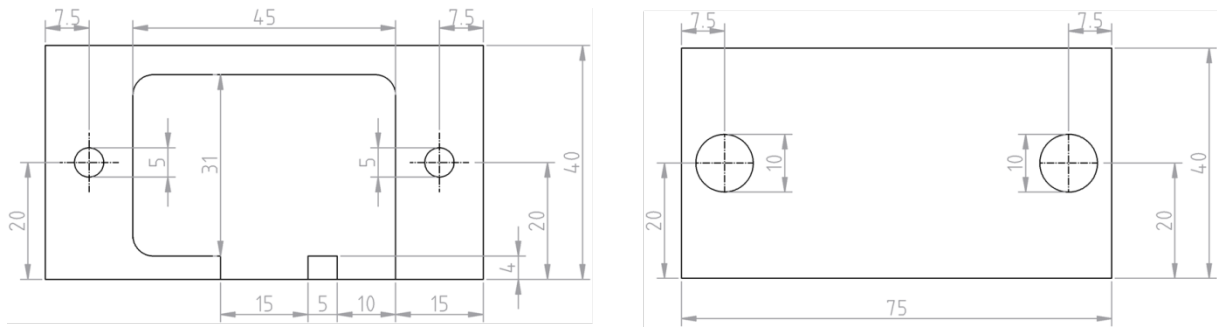


Abb. 4.17 Konstruktionszeichnung der Lichtleiterhälfte der Modellkammer; Gesamtdicke der Lichtleiterhälfte: 12mm

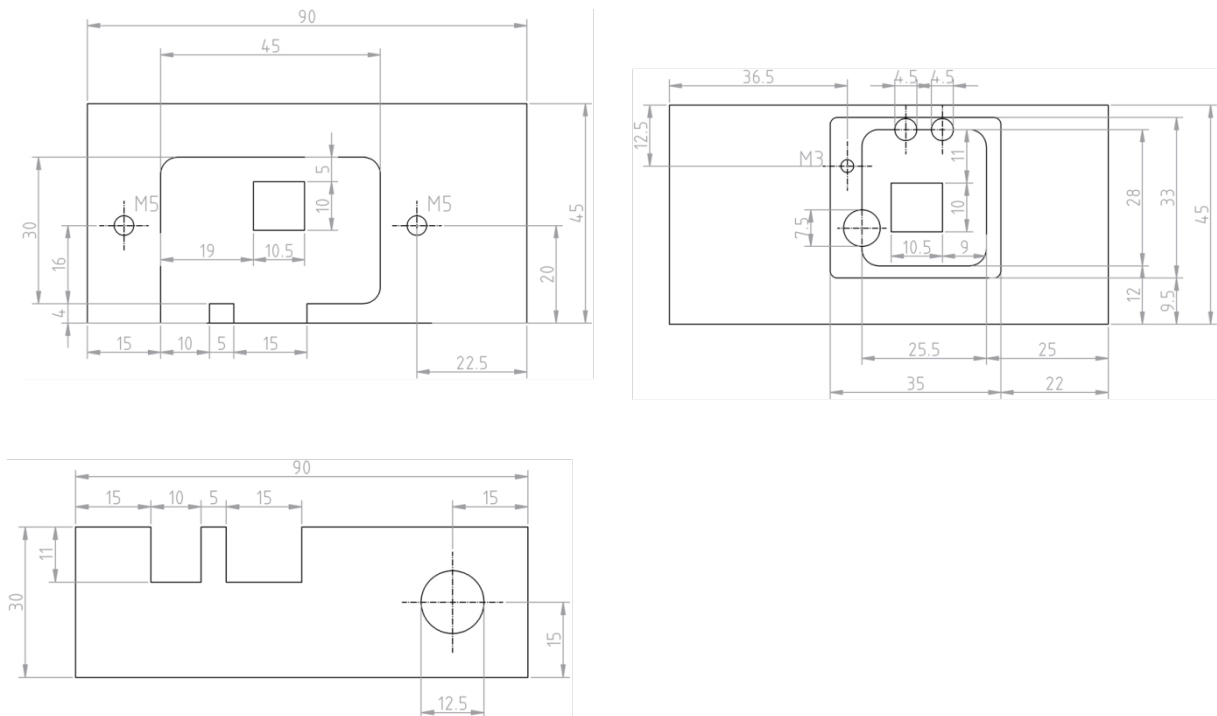


Abb. 4.18 Konstruktionszeichnung der Sensorhälfte der Modellkammer mit Unterbringung der Sensorplatine

Der Sockel zur Aufnahme des OPT101-Sensorchips wurde auf der Sensorplatine durch die 10 x 10,5 mm große Öffnung der Sensorhälfte gesteckt und mit Silikon (Silagum Mono; LOT: 667397; DMG, Deutschland) unterspritzt. Das Silikon isolierte die Platine elektrisch gegen das leitende Aluminiumgehäuse der Modellkammer und fixierte die Platine. Die Platinen-

schaltung selbst blieb unverändert. Der Sensor OPT101 wurde in den Sockel gesteckt und der passend gearbeitete Deckel der Sensorkammer verschraubt.

Das zusammengesetzte und mit Vaseline isolierte Glaspulpamodell wurde mit additionsvernetzenden Silikonabformmaterial (Silagum Mono; LOT: 667397; DMG, Deutschland) in die Modellkammer eingebettet. Bei der Einbettung in der zweiten Kammerhälfte wurde beim Verschrauben ein 0,5 mm starkes Platzhalterblech zwischen die Hälften geschoben, um beim späteren vollständigen Schluss der Kammern die Zahnhälften zusätzlich aneinander zu drücken und so einen Spalt zwischen den Zahnhälften zu vermeiden. Danach wurde die Sensorhälfte der Kammer so in einen Schraubstock eingespannt, dass der Bohrer auf den mit einem Skalpell freigeschnittenen Sensor zeigte. Dann wurde die Lichtleiterhälfte festgeschraubt und in letztere mit einem 2,5 mm-Bohrer (Standard) ein Loch für den Lichtleiter gebohrt, das direkt auf den Sensor ausgerichtet war. Das Silikon unter dem Loch wurde per Hand mit einem 2 mm-Bohrer entfernt und eine 2 mm-Messingspannzange zur Aufnahme des Lichtleiters angebracht. Die fertige Modellkammer ist in Abb. 4.19 dargestellt.

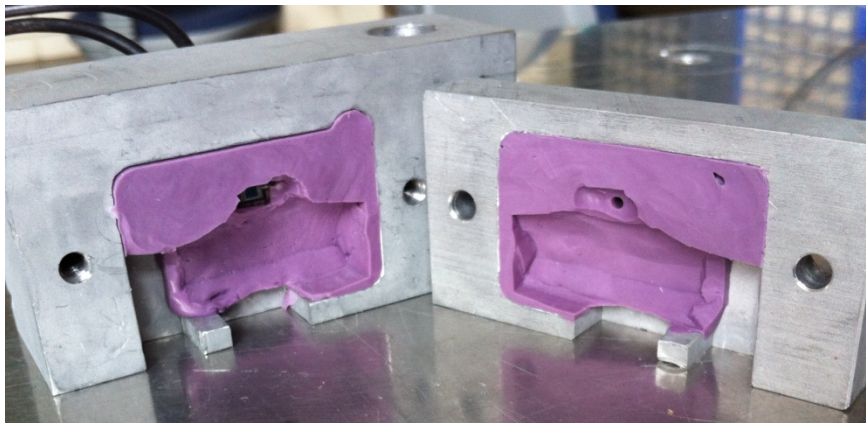


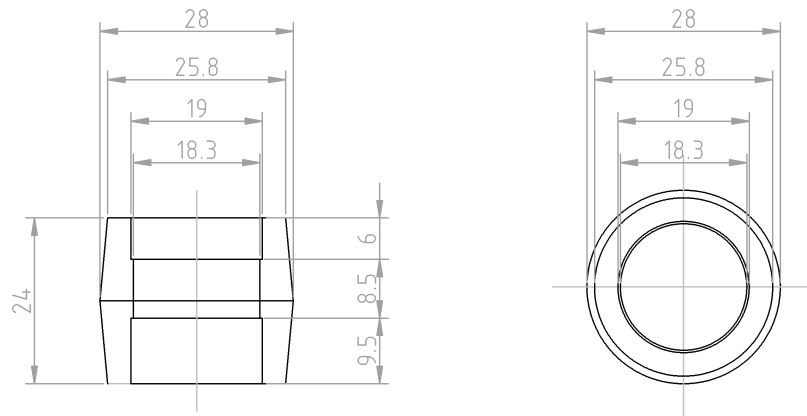
Abb. 4.19 geöffnete Modellkammer, bestehend aus der Sensorhälfte (links) und Lichtleiterhälfte (rechts); jeweils auf Höhe der Zahnkrone sind im Silikon die Ausschnitte für Sensor und Lichtleiter zu erkennen und an der Unterseite die Aussparungen für die Schläuche des Zahn- und Gingivakreislaufs



#### **4.4.4 Modifikation der Schlauchpumpen und Anpassung des Schlauchsystems**

Zur Reduktion des Pumpvolumens wurden die 2-Rollen-Rotoren der in Kapitel 4.1.1 beschriebenen Ismatec-Schlauchpumpen durch 3-Rollen-Rotoren (IS3763; Ismatec, IDEX Health & Science, Deutschland) ersetzt, die bei gleicher Pulsfrequenz eine geringere Umdrehungszahl erlaubten. Zusätzlich wurde ein Pumpenschlauch (Tygon R3607; Reference: 070534-02L / ENFT 02-SC0026; Innendurchmesser: 0,25 mm, Wandstärke 0,91 mm, Außendurchmesser: 2,07 mm; Saint-Gobain Performance Plastics, Frankreich) mit kleinerem Innendurchmesser verwendet (Pumpenschlauch Tygon 3303-23 für das Zahn-Gingiva-Modell: Innendurchmesser: 2,4 mm, Außendurchmesser: 5,6 mm). Da die Pumpen werksseitig nicht zur Aufnahme von Schläuchen mit so kleinem Außendurchmesser geeignet waren, wurden nach der Zeichnung in Abb. 4.20 in Eigenarbeit sechs neue Aluminium-Rotorrollen mit größerem Außendurchmesser (28,0mm; Außendurchmesser der Standard-Rotorrollen: 24,6mm) hergestellt, die restlichen Maße wurden übernommen. Die Rollen wurden mit je zwei abgedichteten Kugellagern (Explorer 626; Außendurchmesser: 19mm, Innendurchmesser: 6mm, Dicke: 6mm; SKF, Deutschland) versehen und in die 3-Rollen-Rotoren eingesetzt. Die Pumpengeschwindigkeit wurde auf die Stufe 07 am Potenziometer eingestellt, der eine Pulsfrequenz von 1,2 Hz entsprach.

Die Durchflussmenge konnte so von 23,4 ml/min auf 0,35 ml/min in jedem Kreislauf gesenkt werden. Der an den Drucksensoren vor dem Glaspulpamodell gemessene absolute Druck im Zahnkreislauf lag im Bereich von ca. 450 - 600 mmHg, die Druckamplitude des Pulses betrug ca. 100 mmHg. Im Gingivakreislauf lag der absolute Druck im Bereich von ca. 350 mmHg - 550 mmHg und die Druckamplitude des Pulses bei ca. 200 mmHg.



a



b

Abb. 4.20 (a) Konstruktionszeichnung der Rotorrollen mit 28 mm Außendurchmesser; (b) Standard-Rotorrolle aus Edelstahl mit 24,6 mm Durchmesser (links) und Rotorrolle aus Aluminium mit 28,0 mm Durchmesser und eingepressten Kugellagern (rechts)

Neben der Glaspulpa stellte Herr Lindner von der Glasbläserei der Fakultät für Chemie der Universität Regensburg T-Schlauchverbinder mit zwei ca. 0,6 mm starken und einem 3 mm starken Ende aus Glaskapillaren (Duran Borsilikatglas; Außendurchmesser: 3 mm; Duran Group, Deutschland) her. Die 3 mm-Enden wurden mit 18 mm langen Schlauch-Stücken (Tygon T3303-23; LOT: 959225; Innendurchmesser: 2,4 mm; Wandstärke: 1,6 mm; Saint-Gobain Performance Plastics, Frankreich) mit den in Kapitel 4.1.1 beschriebenen Drucksensoren verbunden. Abb. 4.21 zeigt die beiden fertigen Drucksensoranschlüsse.

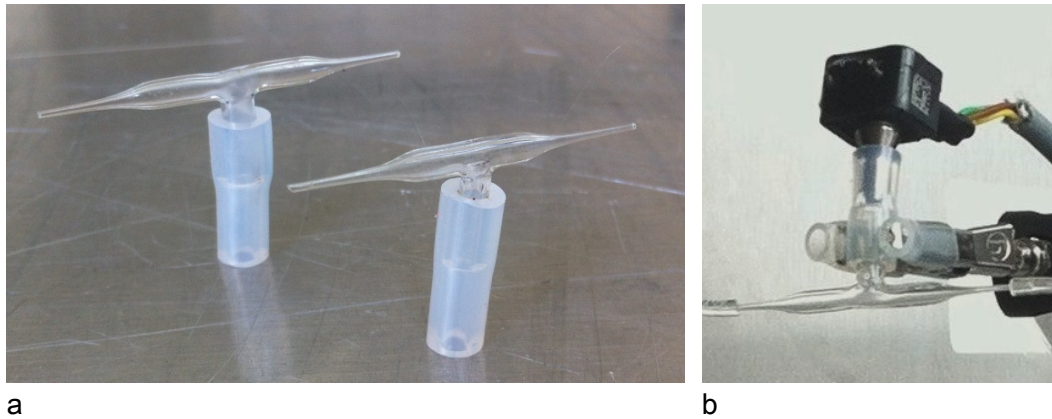


Abb. 4.21 T-Schlauchverbinder aus Glas mit Tygon-Schlauchstücken für den Anschluss der Drucksensoren, einzeln (a) und im Aufbau integriert (b)

Für das restliche Schlauchsystem (Abb.4.1) wurde ebenfalls der Tygon-Schlauch (Tygon R3607; Reference: 070534-02L / ENFT 02-SC0026; Wandstärke 0,91 mm; Saint-Gobain Performance Plastics, Frankreich) mit 0,25 mm Innendurchmesser verwendet. Wegen der hohen Drücke, die in den Kreisläufen entstanden, wurden die Kreisläufe geöffnet und das Erythrozytenkonzentrat nach Durchtritt durch das Modell in ein gesondertes Gefäß geleitet, damit nur frisches EK durch das Modell strömte. Wegen der deutlich geringeren Durchflussrate reichte eine Portionierung des EKs zu je 60 ml aus, um die in Kapitel 4.1.5 definierten Vorgaben einzuhalten.

#### 4.4.5 Lichtquelle und Messsystem

Lichtquelle, Lichtleiter und Messaufbau (zweite Generation) sowie deren sämtliche Einstellungen wurden wie in Kapitel 4.1.1 und 4.1.3 beschrieben übernommen. Die Lampenstromstärke betrug 0,1 A. Abb. 4.22 zeigt den fertigen Versuchsaufbau für das Glaspulpa-Modell mit den in Kapitel 4.4 beschriebenen, neuen Komponenten.



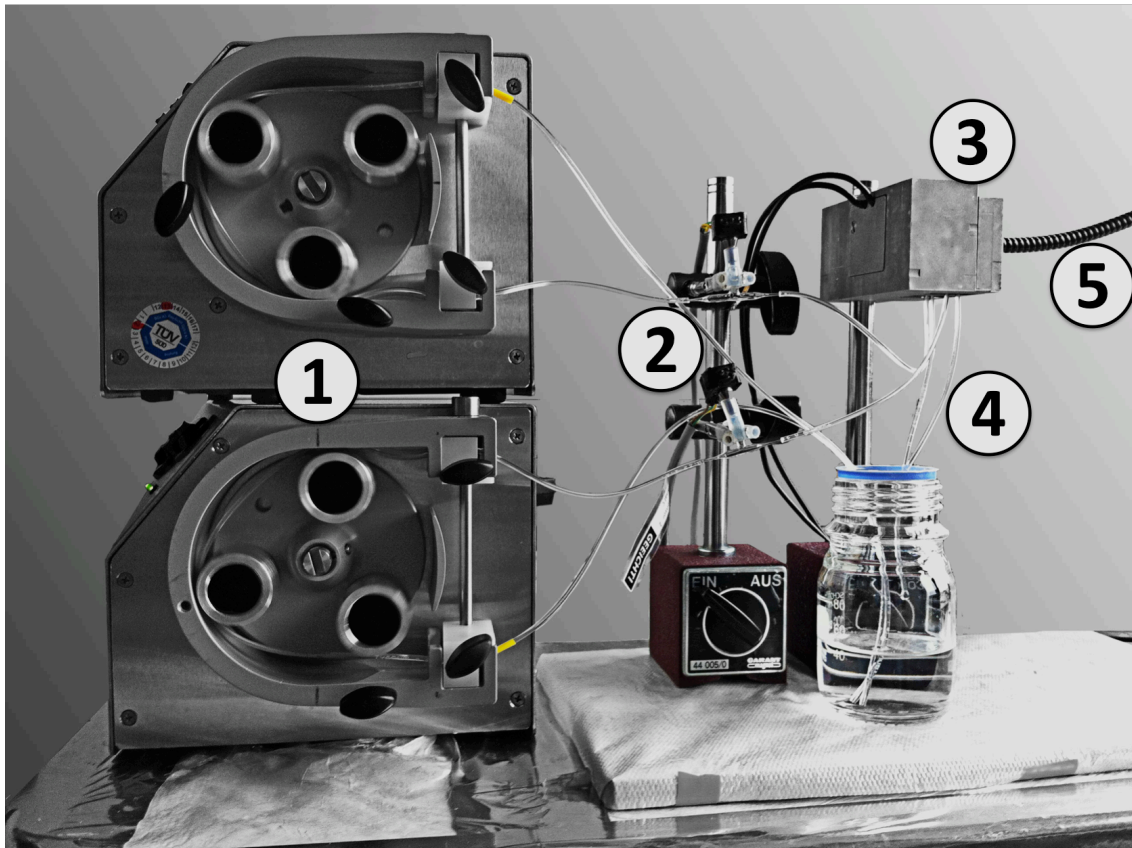


Abb. 4.22 Versuchsaufbau für die Untersuchungen am Glaspulpamodell mit den neu entwickelten Bestandteilen:

(1) Schlauchpumpen mit 3-Rollen-Rotoren und 28 mm-Rollen; (2) über die Glas-T-Verbinder angeschlossene Drucksensoren für Zahn- und Gingivakreislauf; (3) Modellkammer mit eingesetztem Glaspulpamodell (nicht sichtbar); (4) zu- und wegführende Schläuche des Zahn- und des Gingivakreislaufs am Glaspulpamodell; (5) eingesteckter Lichtleiter;

#### 4.5 Untersuchungen am Glaspulpamodell mit gepulstem Blutfluss

Analog zu den Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell wurden auch mit dem Versuchsaufbau für das Glaspulpamodell Untersuchungen zur Messbarkeit eines strukturierten, periodisch modulierenden Spannungssignals durchgeführt. Versuchsparameter waren die Lichtwellenlänge (625 nm und 940 nm) sowie der Durchblutungsmodus (nur Zahn (Z), nur Gingiva (G) und Zahn und Gingiva (ZG)). Es galten die in Kapitel 4.1.5 genannten Versuchsbedingungen. Für jede Untersuchungsgruppe wurden jeweils 5 Messungen durchgeführt, die jeweiligen Spannungs- und Drucksignale über eine Dauer von 10 sec aufgezeichnet und anschließend quantitativ ausgewertet. Die Messungen wurden zur Validierung der Ergebnisse mit einem zweiten Erythrozytenkonzentrat wiederholt.

#### 4.6 Untersuchungen am Glaspulpamodell mit Pumpenabschaltung

Auch mit dem Glaspulpamodell wurden Versuche mit Abschaltung der Pumpen durchgeführt. Die Versuchsparameter waren wiederum die Lichtwellenlänge (625 nm und 940 nm) und der Durchblutungsmodus (Z, G und ZG). Die Messdauer betrug 20 sec. Zum Zeitpunkt  $t = 10$  sec wurden beide Pumpen gleichzeitig abgeschaltet. Zur grafischen Auswertung wurde für jede Messung eine CSV-Datei und eine Bilddatei der Spannungs- und Drucksignale abgespeichert.

#### 4.7 Quantitative Auswertung der Spannungssignale

Aus den abgespeicherten Spannungssignalen der Einzelmessungen ((1) in Abb. 4.8) wurden mit der DataStudio- bzw. LabView-Software die Werte zur quantitativen Analyse der Amplitude des Wechselspannungsanteils  $\Delta U$  [V] nach der in Abb. 4.23 veranschaulichten Methode ermittelt. Die ersten drei Sekunden der 10 sec-Aufzeichnungen wurden verworfen. Die nächsten drei darauf folgenden, vollständigen Perioden, beginnend mit einem Minimum, wurden bestimmt und das absolute Spannungsminimum und Spannungsmaximum jeder Periode in Volt abgelesen. Der Median der drei Differenzwerte  $\Delta U_{1-3}$  [V] aus dem Maximalwert  $U_{\max}$  und Minimalwert  $U_{\min}$  jeder Periode wurde als Messwert  $\Delta U$  [V] der Messung verwendet. Aus den Messwerten der fünf Messungen pro Unterversuch wurden wiederum die Mediane mit 25 %- und 75 %-Perzentilen ermittelt und grafisch dargestellt. Die Ergebnisse wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test auf dem Signifikanzniveau  $\alpha = 0,05$  statistisch bewertet (SPSS 22.0; IBM, Deutschland).

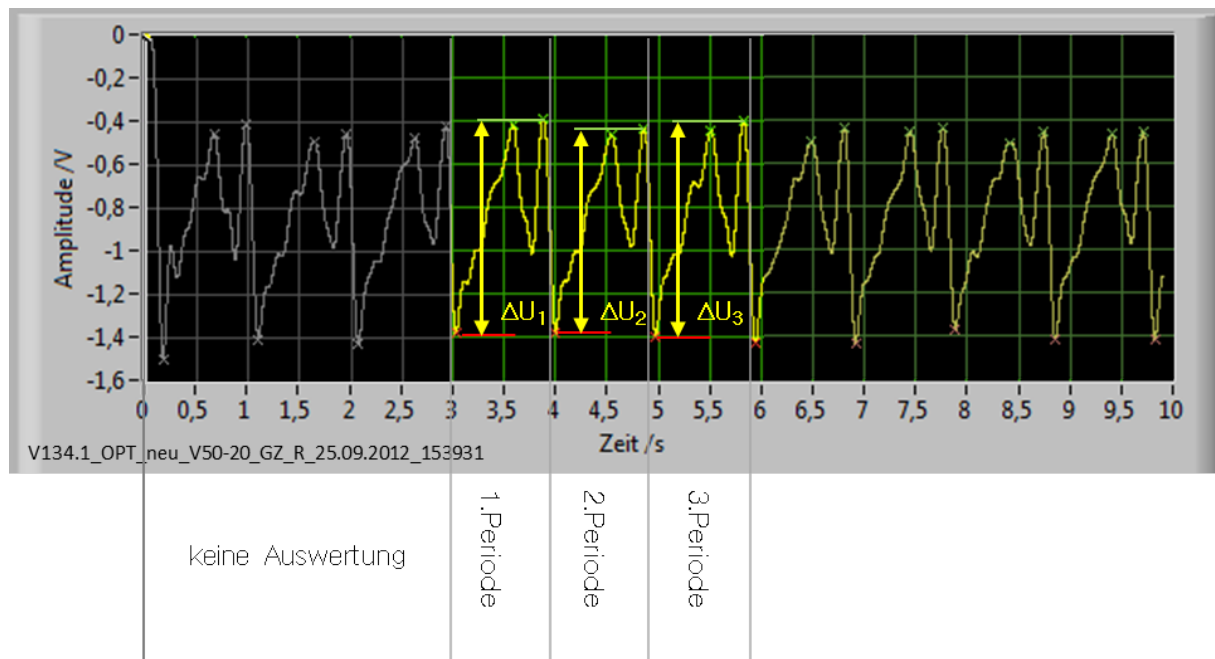


Abb. 4.23 Auswertemethode für das aufgezeichnete Spannungssignal einer Stichprobe; für die drei auszuwertenden Perioden sind jeweils das Periodenminimum  $U_{\min}$  (rot) und das Periodenmaximum  $U_{\max}$  (grün) sowie das resultierende  $\Delta U_{1-3}$  jeder Periode (gelber Pfeil) dargestellt

## 5. Ergebnisse

### 5.1 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell zum Vergleich der Messkomponenten der ersten und zweiten Generation

Die Ergebnisse der vergleichenden Untersuchung der Kombinationen I (SFH229-PPG1-Science Workshop-DataStudio), II (SFH229-PPG1-PPG2-LabView), III (SFH229-PPG2-PPG2-LabView) und IV (OPT101-PPG2-PPG2-LabView) der Messkomponenten erster und zweiter Generation (Tab. 4.2 und Kapitel 4.2) am Zahn-Gingiva-Modell bei unterschiedlichen Durchblutungsmodi (Z, G und ZG) sind für die Wellenlängen 625 nm in Abb. 5.1 und 940 nm in Abb. 5.2 zusammengefasst. Der Messparameter  $\Delta U$  [V] ist als Medianwert mit 25 %- und 75 %-Perzentilen dargestellt. Die p-Werte der Signifikanzanalyse sind in den Tabellen 5.1 und 5.2 dargestellt.

Mit allen vier Kombinationen konnten in allen Untersuchungsgruppen strukturierte Signale gemessen und  $\Delta U$  bestimmt werden. Für beide Wellenlängen und alle Durchblutungsmodi wurden mit den Messkomponenten der zweiten Generation (Kombination IV, blaue Balken) trotz reduzierten Lampenstroms die signifikant größten  $\Delta U$ -Werte gemessen. Mit Ausnahme von „Zahn und Gingiva“ bei 940 nm, waren die  $\Delta U$ -Werte mit den Komponenten der zweiten Generation (Kombination IV, rote Balken) am zweitgrößten. Die beiden Zwischenkombinationen (Kombination II und III, pinke und lila Balken) ergaben jeweils signifikant kleinere  $\Delta U$ -Werte als die Kombinationen I und IV, mit der Ausnahme von „Zahn und Gingiva“ bei 940 nm. In der 625 nm-Gruppe waren die  $\Delta U$ -Werte für die selektive Durchblutung der Gingiva jeweils signifikant kleiner als für „Zahn“ und „Zahn und Gingiva“. In der 940 nm-Gruppe waren die  $\Delta U$ -Werte der Modi „Zahn und Gingiva“, „Gingiva“ und „Zahn“, in dieser Reihenfolge abnehmend, unterschiedlich groß, mit der Ausnahme der Messung mit Kombination III.

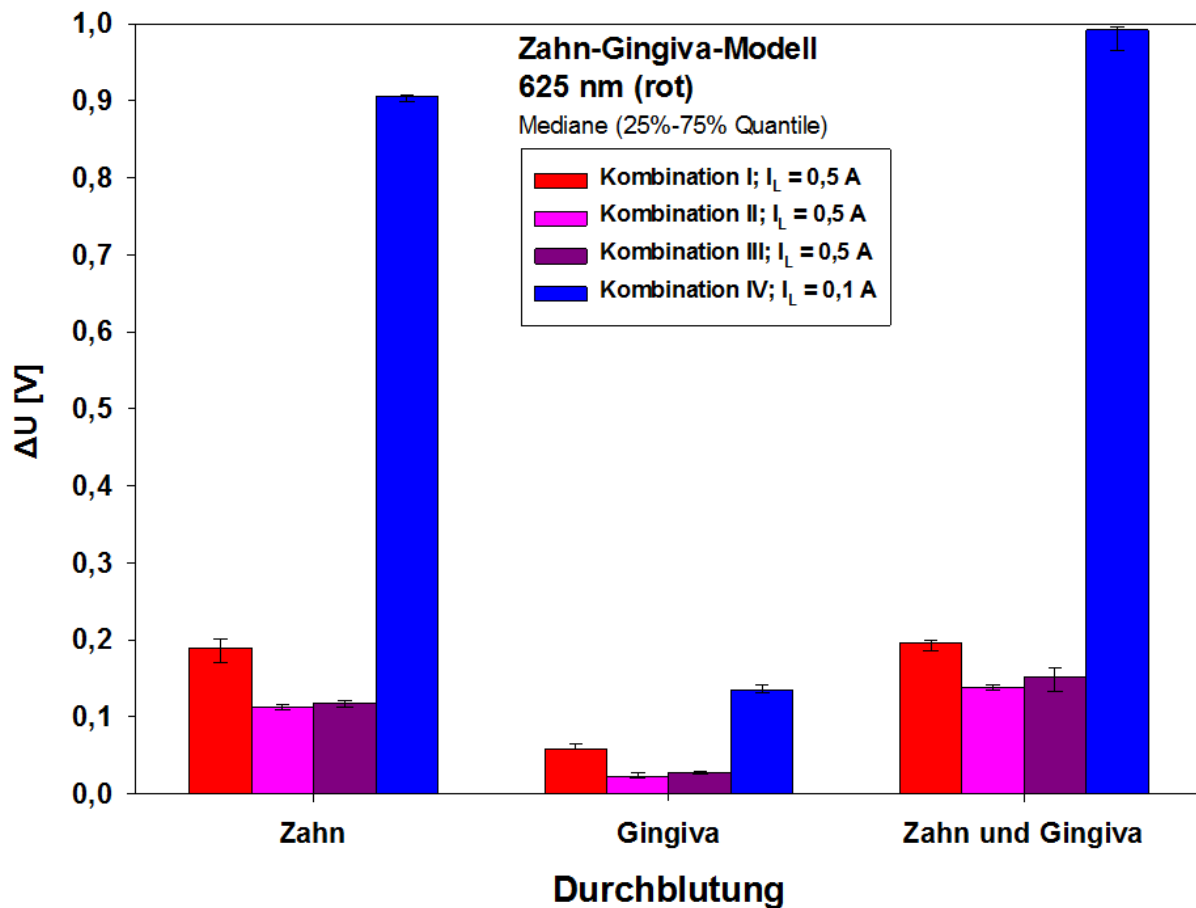


Abb. 5.1: Ergebnisse der 625 nm-Untersuchungsgruppe:  
 Medianwerte der Spannungsamplituden  $\Delta U$  (Ordinate) in Volt mit 25 %- und 75 %-Quantilen für die Kombinationen I (alles erste Generation), II, III (Zwischenkombinationen) und IV (alles zweite Generation), jeweils für die selektive Durchblutung von je Zahn und Gingiva sowie beide kombiniert (Zahn und Gingiva) (Ordinate); für die Kombination I - III betrug der Lampenstrom  $I_L$  0,5 A, für die Kombination IV 0,1 A

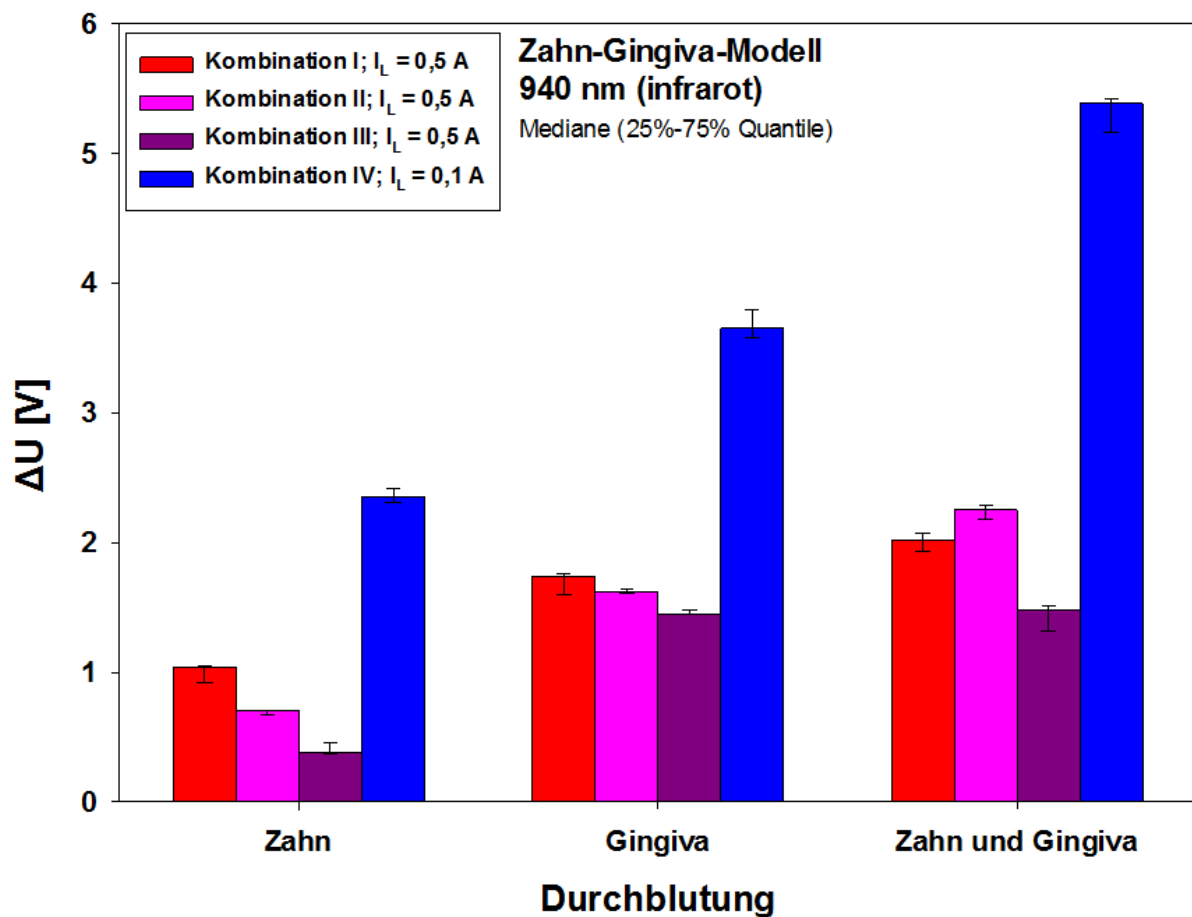


Abb. 5.2: Ergebnisse der 940 nm-Untersuchungsgruppe:  
Medianwerte der Spannungsamplituden  $\Delta U$  (Ordinate) in Volt mit 25 %- und 75 %-Quantilen für die Kombinationen I (alles erste Generation), II, III (Zwischenkombinationen) und IV (alles zweite Generation), jeweils für die selektive Durchblutung von je Zahn und Gingiva sowie beide kombiniert (Zahn und Gingiva) (Ordinate); für die Kombination I - III betrug der Lampenstrom  $I_L$  0,5 A, für die Kombination IV 0,1 A;  
gegenüber Abb. 5.1 wurde der Ordinatenabschnitt von 0 - 6 V gewählt

| Z      | I     | II    | III   | IV    | 625 nm |
|--------|-------|-------|-------|-------|--------|
| I      | -     | 0,008 | 0,008 | 0,008 |        |
| II     | 0,008 | -     | n.s.  | 0,008 |        |
| III    | 0,008 | 0,008 | -     | 0,008 |        |
| IV     | 0,008 | 0,008 | 0,008 | -     |        |
| 940 nm |       |       |       |       |        |

Zahn

| G      | I     | II    | III   | IV    | 625 nm |
|--------|-------|-------|-------|-------|--------|
| I      | -     | 0,008 | 0,008 | 0,008 |        |
| II     | n.s.  | -     | n.s.  | 0,008 |        |
| III    | 0,008 | 0,008 | -     | 0,008 |        |
| IV     | 0,008 | 0,008 | 0,008 | -     |        |
| 940 nm |       |       |       |       |        |

Gingiva

| ZG     | I     | II    | III   | IV    | 625 nm |
|--------|-------|-------|-------|-------|--------|
| I      | -     | 0,008 | 0,008 | 0,008 |        |
| II     | 0,008 | -     | n.s.  | 0,008 |        |
| III    | 0,008 | 0,008 | -     | 0,008 |        |
| IV     | 0,008 | 0,008 | 0,008 | -     |        |
| 940 nm |       |       |       |       |        |

Zahn und Gingiva

Tab. 5.1: p-Werte des paarweisen Vergleichs der  $\Delta U$ -Werte der Messkombinationen I-IV innerhalb der Untersuchungsgruppen „Zahn“ (oben links), „Gingiva“ (oben rechts) und „Zahn und Gingiva“ (unten links) für die Wellenlängen 625 nm (weiß hinterlegt) und 940 nm (grau hinterlegt); Mann-Whitney-U-Test, Signifikanzniveau:  $p < 0,05$ ; n.s. = nicht signifikant ( $p > 0,05$ )

| I      | Z : G | Z : ZG | G : ZG |
|--------|-------|--------|--------|
| 625 nm | 0,008 | n.s.   | 0,008  |
| 940 nm | 0,008 | 0,008  | 0,008  |

| II     | Z : G | Z : ZG | G : ZG |
|--------|-------|--------|--------|
| 625 nm | 0,008 | 0,008  | 0,008  |
| 940 nm | 0,008 | 0,008  | 0,008  |

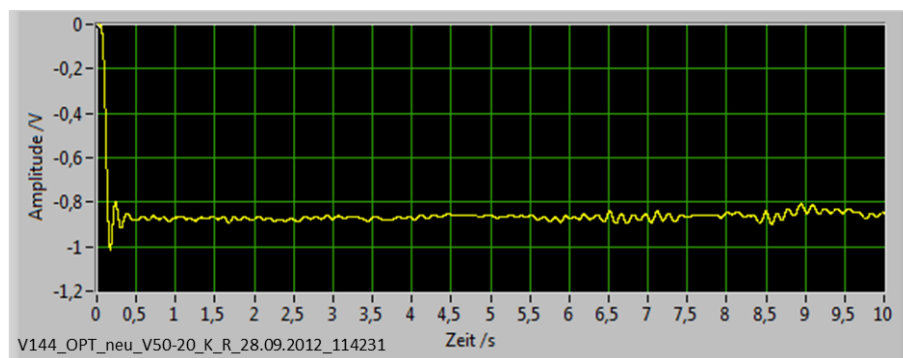
| III    | Z : G | Z : ZG | G : ZG |
|--------|-------|--------|--------|
| 625 nm | 0,008 | 0,008  | 0,008  |
| 940 nm | 0,008 | 0,008  | n.s.   |

| IV     | Z : G | Z : ZG | G : ZG |
|--------|-------|--------|--------|
| 625 nm | 0,008 | 0,008  | 0,008  |
| 940 nm | 0,008 | 0,008  | 0,008  |

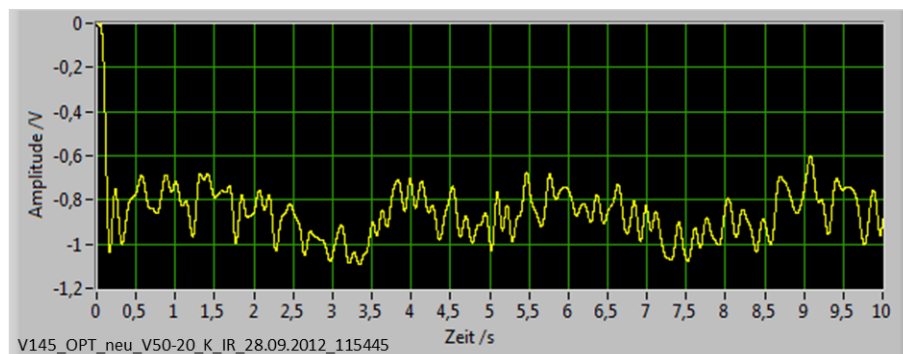
Tab. 5.2: p-Werte des paarweisen Vergleichs der  $\Delta U$ -Werte der Messkombinationen I - IV zwischen den Untersuchungsgruppen „Zahn“ (Z), „Gingiva“ (G) und „Zahn und Gingiva“ (ZG) für die Wellenlängen 625 nm (weiß hinterlegt) und 940 nm (grau hinterlegt); Mann-Whitney-U-Test; Signifikanzniveau:  $p < 0,05$ , n.s. = nicht signifikant ( $p > 0,05$ )

## 5.2 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell ohne Blutfluss

Bei den Messungen am Zahn-Gingiva-Modell ohne Blutfluss in beiden Kreisläufen wurden weder mit der Wellenlänge 625 nm noch mit 940 nm strukturierte Spannungssignale gemessen.  $\Delta U$  konnte nicht bestimmt werden. Jeweils eine Stichprobe des gemessenen Rauschsignals ist in Abb. 5.3 exemplarisch dargestellt.



625 nm



940 nm

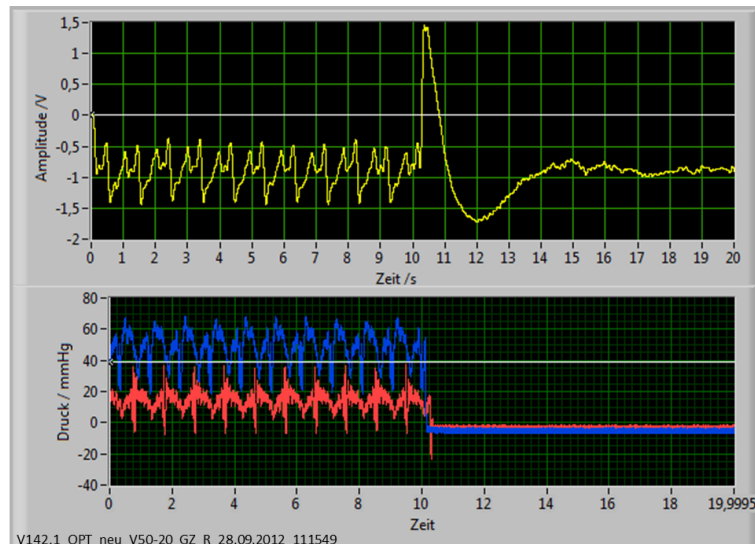
Abb. 5.3: exemplarische Graphen der Spannungssignale ohne Blutfluss bei 625 nm und 940 nm

## 5.3 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit Pumpenabschaltung

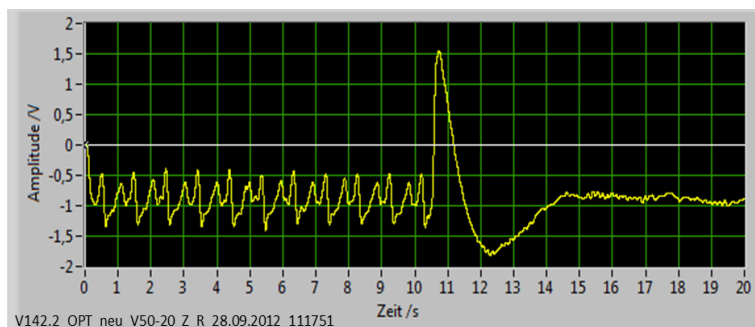
Die Spannungssignale der Abschaltversuche am Zahn-Gingiva-Modell bei 625 nm und 940 nm, jeweils für die drei Durchblutungsmodi Z, G und ZG, sind in Abb. 5.4 und 5.5 dargestellt. In allen Stichproben war während des gepulsten Blutflusses bis zur Pumpenabschaltung nach 10 sec Messzeit ein strukturiertes Spannungssignal erkennbar. Anschließend pendelte das Signal bei stehendem Blut auf ein unstrukturiertes Signal ein. Entsprechende Werte maßen auch die Drucksensoren, die nach Pumpenabschaltung einen Abfall des zuvor



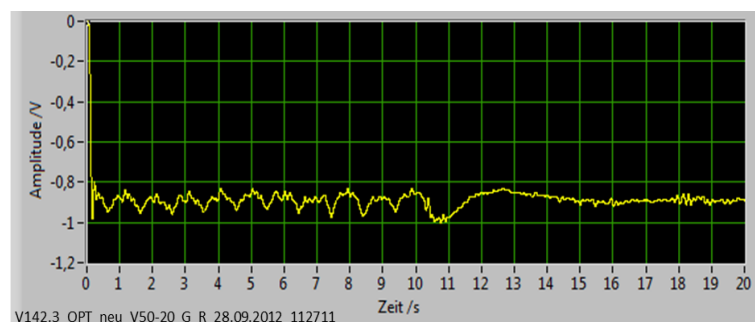
pulsierenden Druckes bei durchblutetem Kreislauf anzeigten bzw. eine Nulllinie bei abgeschalteten Pumpen. Exemplarisch ist in Abb. 5.4 für ZG bei 625 nm der Verlauf der Drucksignale (Zahn: blau, Gingiva: rot) in beiden Kreisläufen dargestellt.



Zahn und Gingiva

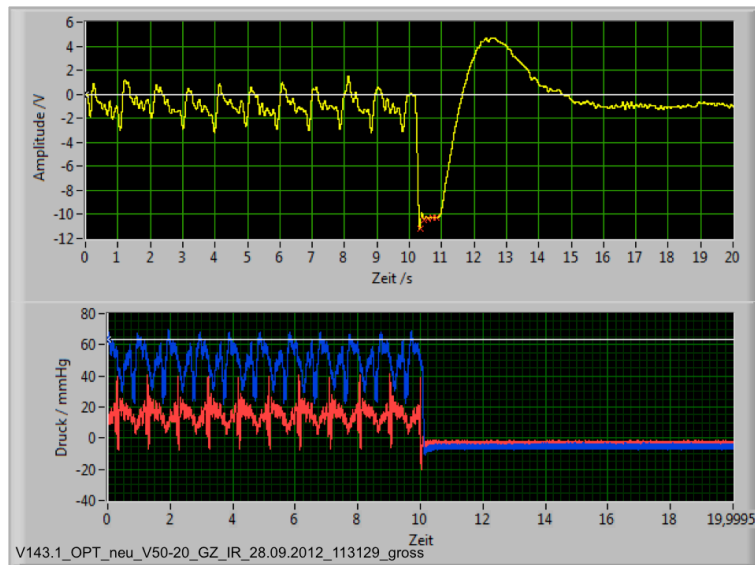


Zahn

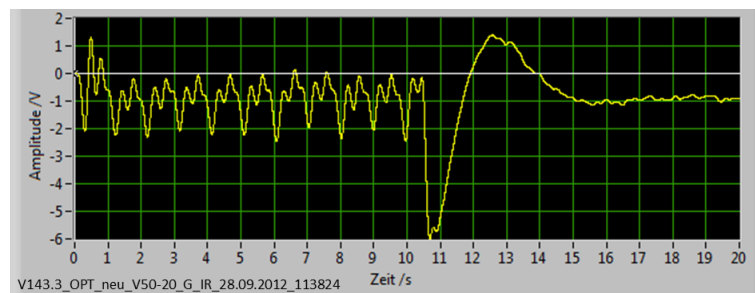


Gingiva

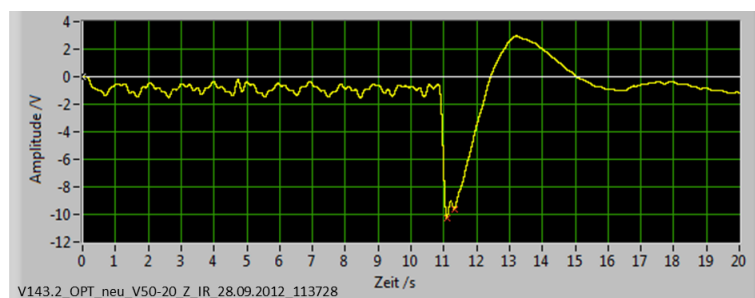
Abb. 5.4: exemplarische Graphen der Spannungssignale für die Abschaltversuche am Zahn-Gingiva-Modell bei 625 nm und der Durchblutung nur des Zahn, nur der Gingiva und kombiniert des Zahns und der Gingiva; unter „Zahn und Gingiva“ sind exemplarisch die Drucksignale von Zahn (blau) und Gingiva (rot) dargestellt



Zahn und Gingiva



Zahn

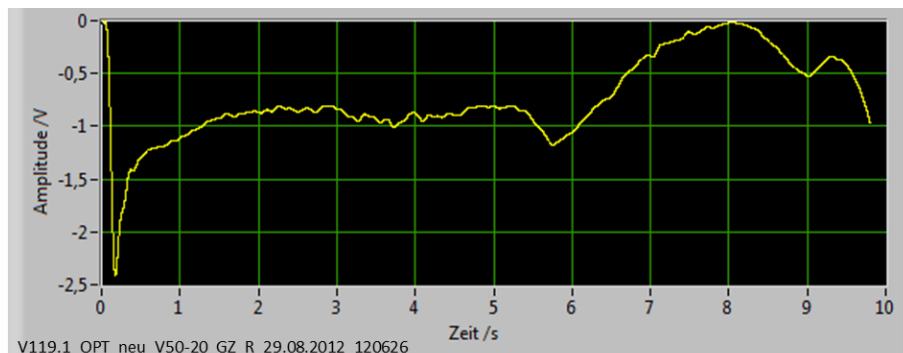


Gingiva

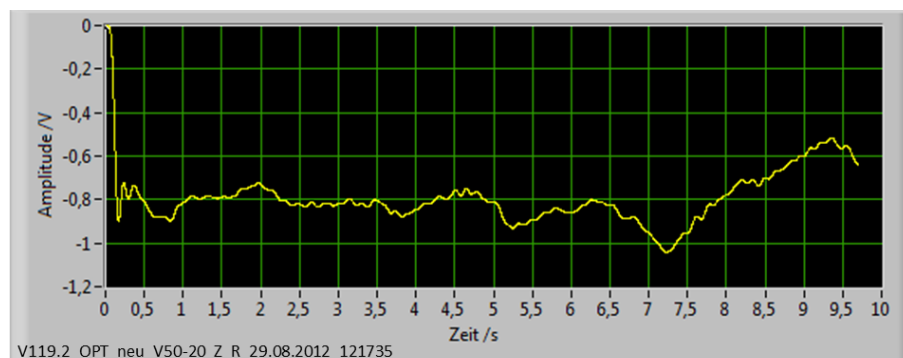
Abb. 5.5: exemplarische Graphen der Spannungssignale für die Abschaltversuche am Zahn-Gingiva-Modell bei 940 nm und der Durchblutung nur des Zahn, nur der Gingiva und kombiniert des Zahns und der Gingiva; unter „Zahn und Gingiva“ sind exemplarisch die Drucksignale von Zahn (blau) und Gingiva (rot) dargestellt

#### 5.4 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit konstantem, ungepulstem Blutfluss

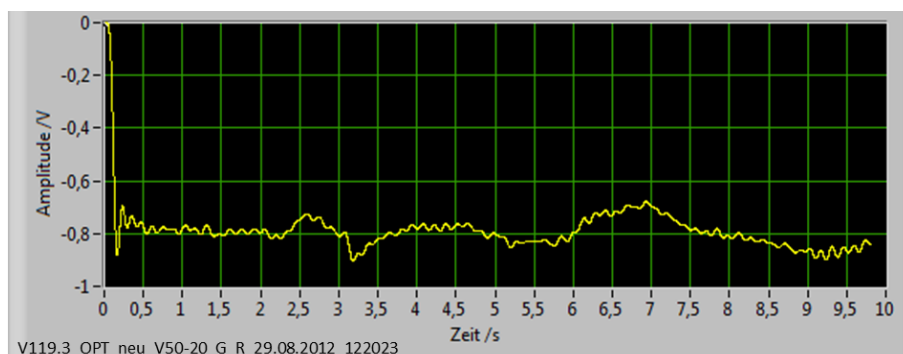
Die Messungen mit konstantem, ungepulstem Blutfluss und den Parametern Wellenlänge (625 nm und 940 nm) und Durchblutungsmodus (Z, G und ZG) zeigten in keiner der Untergruppen strukturierte Spannungssignale. Die in Abb. 5.6 und 5.7 dargestellten Stichproben zeigen exemplarisch die aufgezeichneten unstrukturierten Spannungssignale.



Zahn und Gingiva

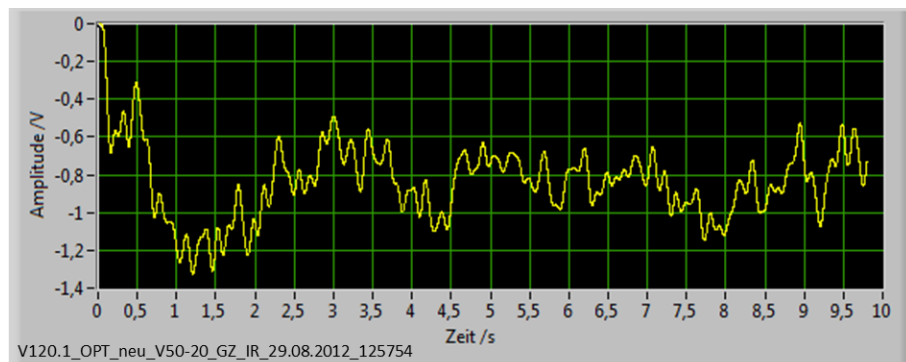


Zahn

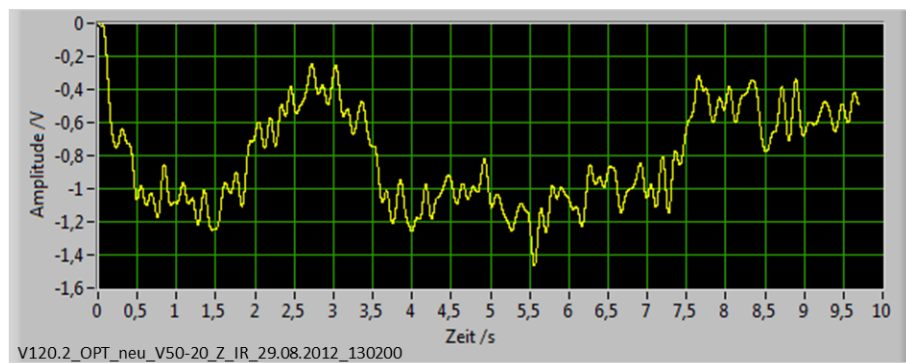


Gingiva

Abb. 5.6: exemplarische Graphen der Spannungssignale für die Messungen mit konstantem, ungepulstem Blutfluss bei 625 nm für die selektive Durchblutung von je Zahn und Gingiva sowie beide kombiniert (Zahn und Gingiva)



Zahn und Gingiva



Zahn



Gingiva

Abb. 5.7: exemplarische Graphen der Spannungssignale für die Messungen mit ungepulstem Blutfluss bei 940 nm für die selektive Durchblutung von je Zahn und Gingiva sowie beide kombiniert (Zahn und Gingiva)

## 5.5 Ergebnisse der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit gepulstem Blutfluss

Die Ergebnisse der Untersuchungen des gepulsten Blutflusses am Glaspulpamodell bei den Durchblutungsmodi Z, G und ZG und den Wellenlängen 625 nm und 940 nm sind für die beiden Erythrozytenkonzentrate EK 16 und EK 17 in Abb. 5.8 und 5.9 als Mediane der  $\Delta U$ -Werte mit 25 %- und 75 %-Perzentilen dargestellt. Die Ergebnisse der statistischen Analyse sind in den Tabellen 5.3 und 5.4 zusammengefasst. Messparameter war  $\Delta U$  [V].

In allen Untergruppen, außer der Messung mit selektiver Durchblutung der Gingiva bei 940 nm Wellenlänge konnten strukturierte Spannungssignale detektiert werden. Bei selektiver Gingivadurchblutung bei 625nm konnte  $\Delta U$  erst durch aufwändige Identifizierung periodisch auftretender Signalstrukturen im LabView-Programm bestimmt werden. Innerhalb der 625 nm-Gruppe zeigte die selektive Durchblutung der Gingiva jeweils kleinere  $\Delta U$ -Werte als die Durchblutungsmodi „Zahn“ und „Zahn und Gingiva“. Die  $\Delta U$ -Werte von „Zahn“ und „Zahn und Gingiva“ zeigten mit beiden Erythrozytenkonzentraten und beiden Wellenlängen keine signifikanten Größenunterschiede. Die  $\Delta U$ -Werte waren insgesamt kleiner als beim Zahn-Gingiva-Modell.

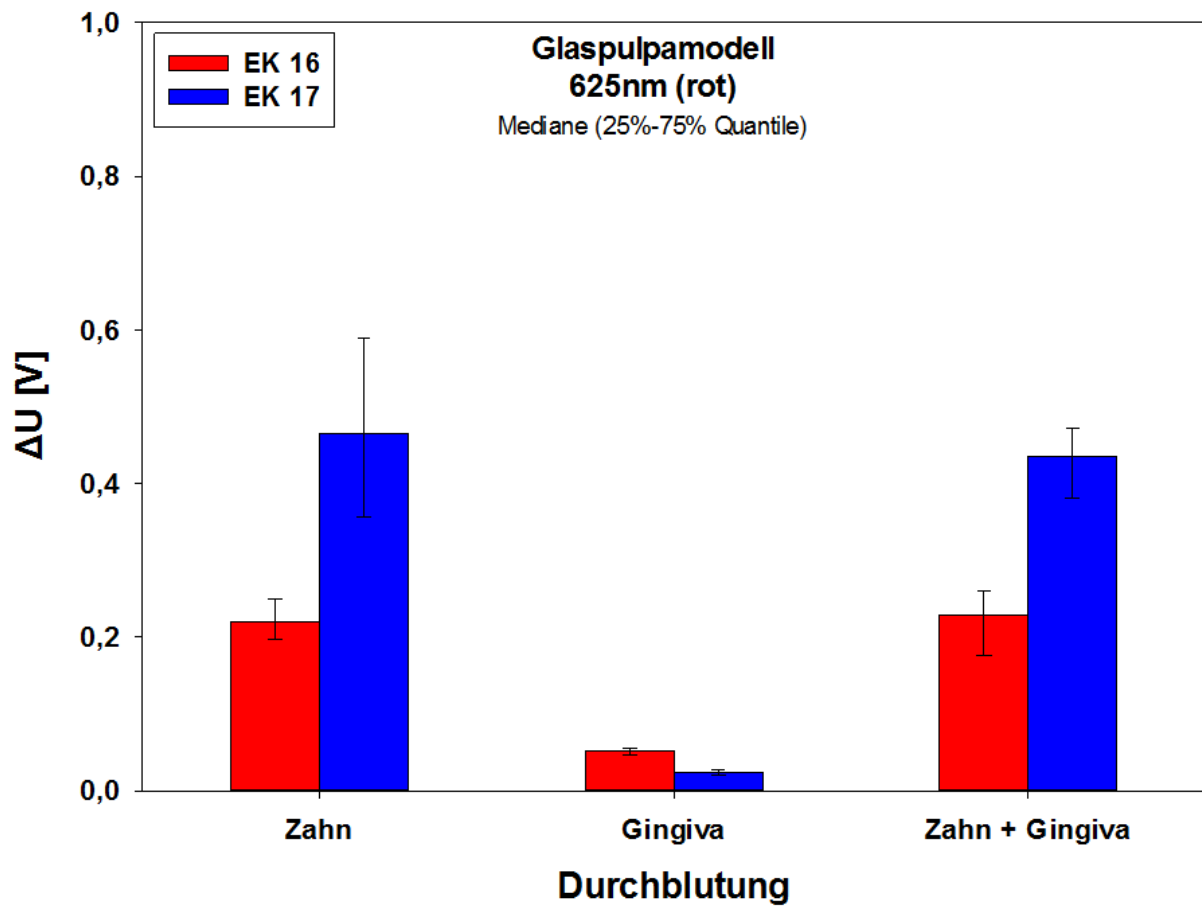


Abb. 5.8: Ergebnisse der 625 nm-Untersuchungsgruppe am Glaspulpamodell mit gepulstem Blutfluss:  
Medianwerte der Spannungsamplituden  $\Delta U$  in Volt mit 25 %- und 75 %-Quantilen (Ordinate) für die selektive Durchblutung von je Zahn und Gingiva sowie beider kombiniert (Zahn und Gingiva) (Ordinate) und für die zwei Erythrozytenkonzentrate (EK) mit der fortlaufenden Nummerierung EK 16 (rot) und EK 17 (blau); Lampenstrom  $I_L=0,1$  A

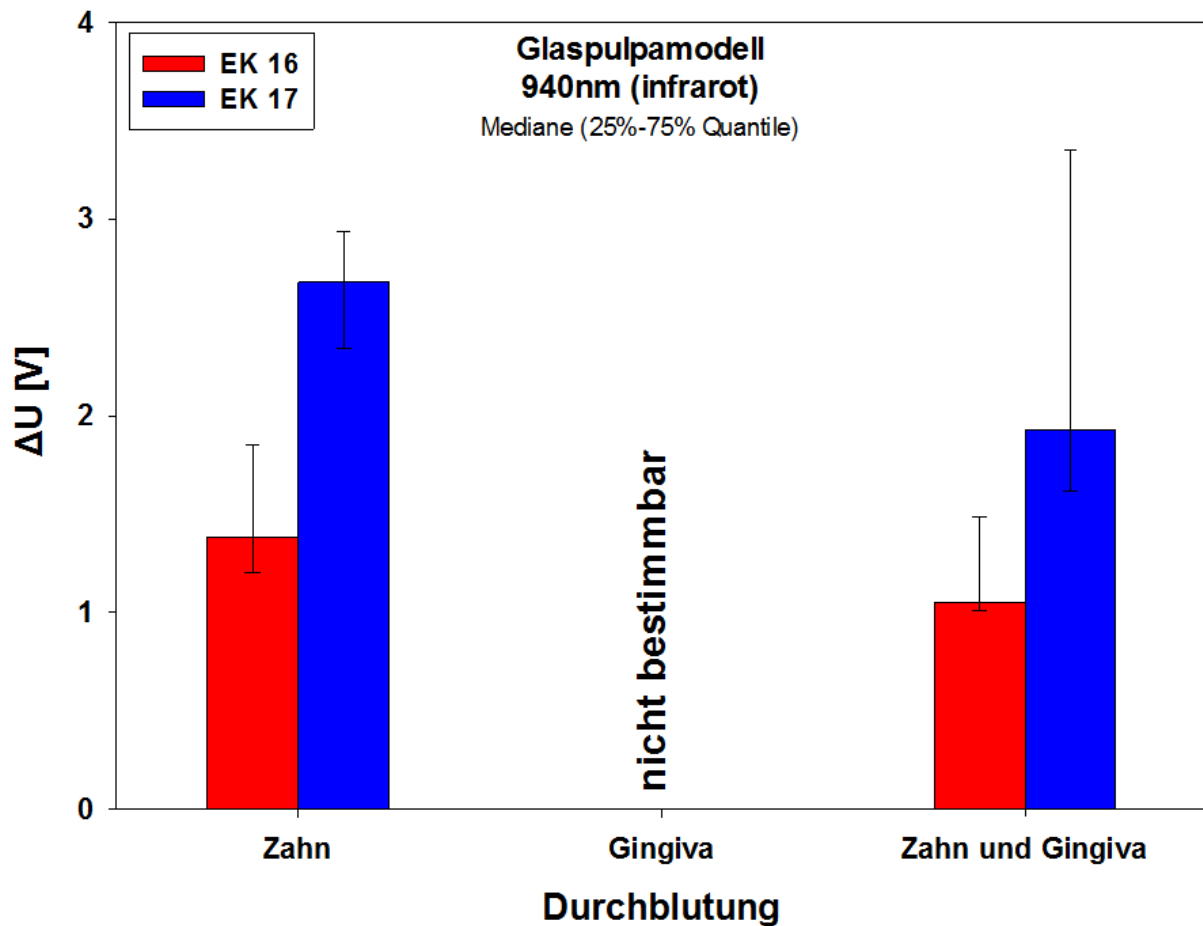


Abb. 5.9: Ergebnisse der 940 nm-Untersuchungsgruppe am Glaspulpa modell mit gepulstem Blutfluss:  
 Medianwerte der Spannungsamplituden  $\Delta U$  in Volt mit 25 %- und 75 %-Quantilen (Ordinate) für die selektive Durchblutung von je Zahn und Gingiva sowie beider kombiniert (Zahn und Gingiva) (Ordinate) und für die zwei Erythrozytenkonzentrate (EK) mit der fortlaufenden Nummerierung EK 16 (rot) und EK 17 (blau); Lampenstrom  $I_L=0,1$  A;  
 man beachte den gegenüber Abb. 5.8 anders gewählten Ordinatenabschnitt

|        |       | Z : G | Z : ZG | G : ZG |
|--------|-------|-------|--------|--------|
| 625 nm | EK 16 | 0,008 | n.s.   | 0,008  |
|        | EK 17 | 0,008 | n.s.   | 0,008  |
| 940 nm | EK 16 | -     | n.s.   | -      |
|        | EK 17 | -     | n.s.   | -      |

Tab. 5.3: p-Werte des paarweisen Vergleichs der  $\Delta U$ -Werte der selektiven Durchblutung von jeweils Zahn (Z) und Gingiva (G) und Zahn und Gingiva kombiniert (ZG) für die Erythrozytenkonzentrate 16 (EK 16) und 17 (EK 17) und die Wellenlängen 625 nm und 940 nm; Mann-Whitney-U-Test, Signifikanzniveau:  $p < 0,05$ ; n.s. = nicht signifikant ( $p > 0,05$ )

| EK 16 : EK 17 | Z     | G     | ZG    |
|---------------|-------|-------|-------|
| 625 nm        | 0,008 | 0,008 | 0,008 |
| 940 nm        | 0,008 | -     | 0,032 |

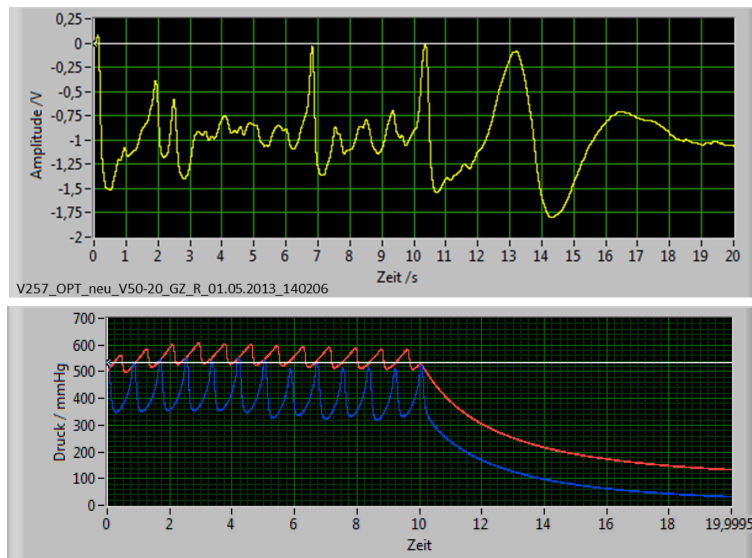
Tab. 5.4: p-Werte des paarweisen Vergleichs der  $\Delta U$ -Werte der Erythrozytenkonzentrate 16 und 17 für die selektive Durchblutung von jeweils Zahn (Z) und Gingiva (G) und Zahn und Gingiva kombiniert (ZG) und für die Wellenlängen 625 nm und 940 nm; Mann-Whitney-U-Test, Signifikanzniveau:  $p < 0,05$ ; n.s. = nicht signifikant ( $p > 0,05$ )

## 5.6 Ergebnisse der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit Pumpenabschaltung

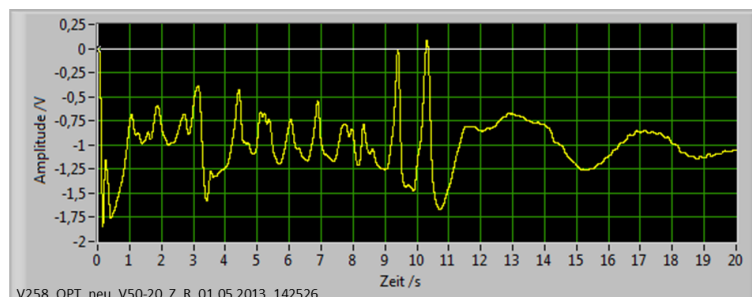
Die Ergebnisse der Abschaltversuche am Glaspulpamodell sind durch exemplarische Graphen in den Abb. 5.10 und 5.11 dargestellt. Bei beiden Lichtwellenlängen (625 nm und 940 nm) und den drei Durchblutungsmodi (Z, G und ZG) wurden mit Ausnahme der selektiven Gingivadurchblutung bei 940 nm (vgl. Ergebnisse mit gepulstem Blutfluss in Kapitel 5.5) während der ersten 10 sec bis zur Abschaltung des gepulsten Blutflusses strukturierte Spannungssignale gemessen, danach unstrukturierte Signale. Auch hier war die Signalstruktur bei selektiver Gingivadurchblutung und der Messwellenlänge 625 nm nur durch genauere Analyse im LabView-Programm erkennbar.



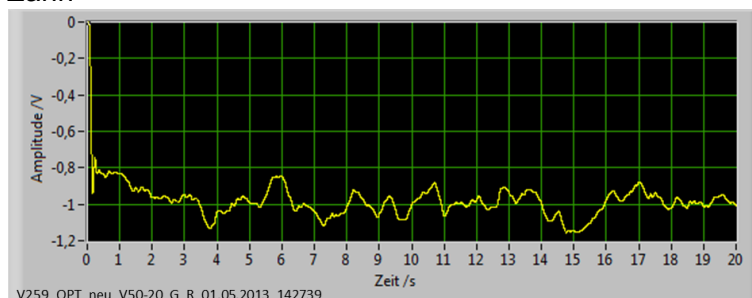
Die Drucksensoren erfassten in den Kreisläufen, in denen die Pumpen zunächst noch eingeschaltet waren, nach einem anfangs strukturierten, pulssynchronen Drucksignal einen Abfall der Drücke auf eine Nulllinie. In Abb. 5.11 ist für 940 nm bei Durchblutung von Zahn und Gingiva exemplarisch der Verlauf der Drucksignale (Zahn: blau, Gingiva: rot) dargestellt.



Zahn und Gingiva

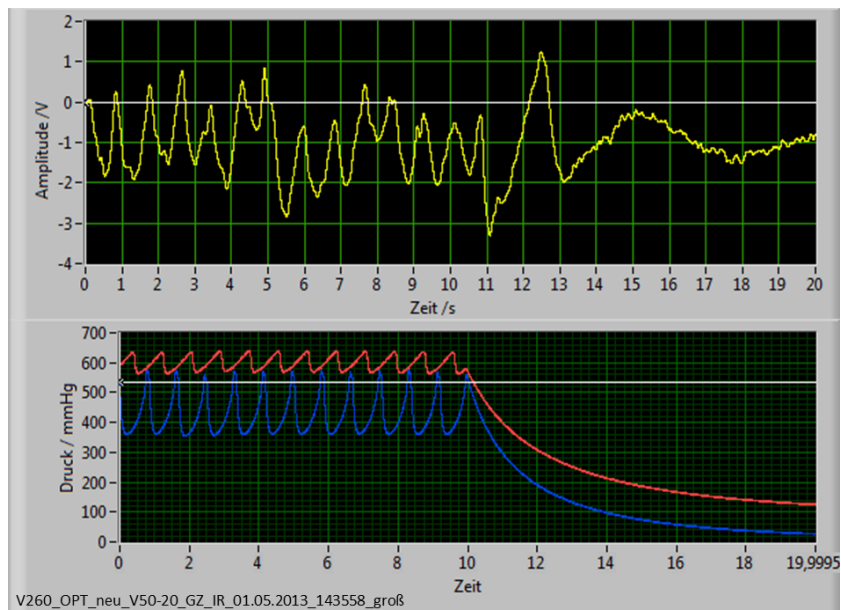


Zahn

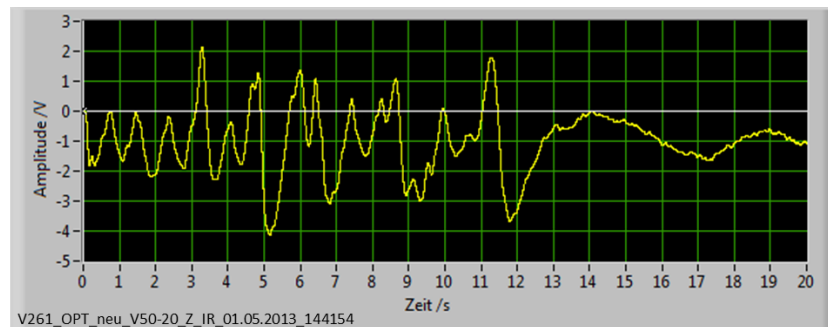


Gingiva

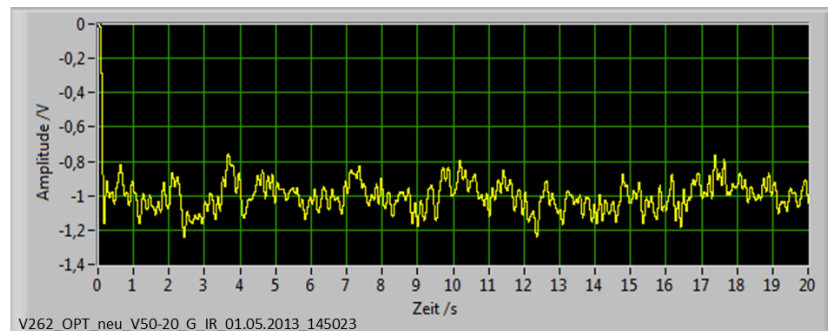
Abb. 5.10: exemplarische Spannungssignale der Untersuchungen am Glaspulpamodell bei 625 nm mit Pumpenabschaltung zum Zeitpunkt  $t = 10$  sec; für die Stichprobe „Zahn und Gingiva“ sind zusätzlich die Signale der Drucksensoren im Zahn- (blau) und Gingivakreislauf (rot) dargestellt



Zahn und Gingiva



Zahn



Gingiva

Abb. 5.11: exemplarische Spannungssignale der Untersuchungen am Glaspulpamodell bei 940 nm mit Pumpenabschaltung zum Zeitpunkt  $t = 10$  sec; für die Stichprobe „Zahn und Gingiva“ sind zusätzlich die Signale der Drucksensoren im Zahn- (blau) und Gingivakreislauf (rot) dargestellt

## 6. Diskussion

### 6.1 Diskussion des Materials und der Methode

#### 6.1.1 Diskussion der *in vitro*-Methode und der Photoplethysmographie als Methode zur Bestimmung der Zahnvitalität

Der Bedarf an der Entwicklung einer einfach anzuwendenden Technik zur objektiven Bestimmung der Zahnvitalität wurde in den letzten Jahrzehnten durch zahlreiche Studien ausführlich dargestellt [2,27,29,67,116,136]. Gleichzeitig wurde die Tauglichkeit photooptischer Methoden, speziell der Photoplethysmographie (PPG), der Pulsoximetrie (PO) und Laser-Doppler-Flussmessung (LDF), zur Detektion von Blutfluss in Weichgeweben dargestellt [89,108,123]. Erste Anwendungen dieser Techniken an Zähnen zeigten die Möglichkeit, auch hier blutpuls-synchrone Signale zu detektieren [2,27,29,67,89,116,136,168,207]. Untersuchungen *in vitro* [18,76] und *in vivo* [3,7,51,74,86,103,140,158,169,179,198,211,212] konnten mit keiner der Techniken den Entstehungsort der gemessenen Signale eindeutig bestimmen. Durch den möglichen Einfluss der Durchblutung zahnumgebender Gewebe wird vor allem die Aussagekraft der mittels LDF an Zähnen detektierten Signale entsprechend in Frage gestellt [3,7,74,89,103,123,136,144,182,198,210,211]. Unklarheit herrscht zudem über die optischen Phänomene, die zur Transmissionsänderung des Blutes zwischen Systole und Diastole führen [5,39,84,95,125,126,178].

Für unsere Untersuchungen im Sinne der Grundlagenforschung wurde mit der Methode der PPG das technisch einfachste der optischen Messverfahren gewählt [5,161]. Die PO stellt eine Erweiterung der PPG hinsichtlich der Signalauswertung dar. Es kann davon ausgegangen werden, dass Erkenntnisse bezüglich der PPG, die nicht die Auswertemethode betreffen, somit auch auf die PO übertragen werden können, zumal die von uns verwendeten Messwellenlängen (625 nm und 940 nm) den Messwellenlängen moderner Pulsoximeter entsprechen [5,89,144].

Da eine ausreichende Abschirmung nicht-pulpaler Signale, wie PPG- und PO-Studien sowohl *in vivo*- [51,140,188] als auch *in vitro* [18,76] belegen, nicht möglich ist, entschied man sich für ein Modell, das die selektive, unabhängige Untersuchung der simulierten Durchblutung von Zahn und Gingiva ermöglichte. Eine gegenseitige Beeinflussung der Signale der

pulpalen und gingivalen Durchblutung konnte auf diese Weise ausgeschlossen werden. Zusätzlich ermöglichte die *in vitro*-Methodik die Simulation und Untersuchung verschiedener Blutflussbedingungen (gepulst oder konstant-ungepulst).

*In vivo* wäre zur Validierung der, lediglich auf Grund der klinischen Situation vermuteten, Vitalität oder Avitalität untersuchter Zähne, also zur Klärung der Frage, ob die Pulpa tatsächlich durchblutet ist oder nicht, deren anschließende Extraktion und eine histologische Begutachtung des Pulpagewebes notwendig [93]. Eine zweifelsfreie, nicht invasive Vitalitätsbestimmung ist mit den klinisch verfügbaren Testverfahren als Kontrollmethode nicht möglich [67,116,136]. Da eine Extraktion und histologische Nachuntersuchung vitaler Zähne am Menschen kaum möglich ist, bleibt ein definitiver Nachweis der Vitalität als vital angenommener Zähne und der Ausschluss falsch positiver Ergebnisse in Folge unbeabsichtigter Messung nicht-pulpaler Signale aus. Auch Fein et al. [51] wiesen auf diesen methodischen Mangel der *in vivo*-Studien hin und forderten deren kritische Neubewertung. Ein mögliches *in vivo*-Vorgehen wären Untersuchungen an Zähnen, die aus kieferorthopädischen Gründen zur Extraktion anstehen und entsprechend nachuntersucht werden könnten.

Kakino et al. [94,95] wählten auf Grund der komplexen *in vivo*-Situation ebenfalls *in vitro*-Modelle, um hier zunächst die Grundlagen der PPG-Methode nachvollziehen zu können und auch Lindberg und Öberg [125] betonten die Wichtigkeit von *in vitro*-Modellen, insbesondere um weitere Erkenntnisse über die Bluteigenschaften zu erhalten, die zur Entstehung von PPG-Signalen beitragen.

#### **6.1.2 Methode der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell zum Vergleich der Messkomponenten der ersten und zweiten Generation**

Zur weiteren Verbesserung der Signalqualität und Erhöhung der Messempfindlichkeit des Messsystems wurden zunächst neue Signaldetektions- und Verarbeitungsgeräte in den Versuchsaufbau integriert und evaluiert. Auch im Hinblick auf die spätere Reduzierung der Durchblutungsmenge, die mit einer Verringerung der Amplitude des AC-Anteils des Spannungssignals einhergehen würde, erschien dies notwendig.

Die Messkomponenten der zweiten Generation, bestehend aus einem neuen Sensor (OPT101), einer neuen Apparatur zur Filterung und Verstärkung der Spannungssignale mit baulich integriertem Interface (PPG2) und einer individuell für unseren Versuchsaufbau programmierten Laborsoftware, wurden von Frau Schulz von der Fakultät für Elektro- und Informationstechnik der Ostbayerischen Technischen Hochschule Regensburg individuell für den vorhandenen Versuchsaufbau konzipiert und hergestellt. Eine eingehende Diskussion der jeweiligen technischen Details findet sich in ihrer Masterarbeit [190] und war nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit. Die weitere Feinabstimmung auf den Versuchsaufbau, Testung und spätere Bewertung der einzelnen Komponenten erfolgten zusammen mit dem Autoren der vorliegenden Arbeit. Die von Schulz bereits publizierten Messungen [190,191] waren Teil erster, orientierender Versuche zur vorliegenden Arbeit. Sie entsprechen daher nicht den in Kapitel 5.1 gezeigten Ergebnissen.

Der PPG2 bot eine Einstellmöglichkeit für die Vor- und Nachverstärkung des Spannungssignals nach dem Transimpedanzverstärker (Wandlungsfaktor  $10^6$ ). Um einen Vergleich der Messergebnisse zu ermöglichen, wurde die Einstellung 50 - 20 gewählt. Die resultierende Gesamtverstärkung der Kombinationen II bis IV (Kapitel 4.2) um den Faktor  $10^9$  entsprach damit der fest eingestellten Gesamtverstärkung des PPG1 der Kombination I. Da das Ziel dieses Versuchsteils der Vergleich der Messkomponenten war, wurde der restliche Versuchsaufbau unverändert von Brandt [18] übernommen. Auch die Messwellenlängen und die Vorbereitungsmethode der Erythrozytenkonzentrate blieben unverändert.

Während der orientierenden Vorversuche mit der Kombination IV zeigte sich, dass mit den bisherigen Einstellungen der am Sensor OPT101 erzeugte Strom so groß war, dass der Transimpedanzverstärker (I/U-Wandler) übersteuerte, also eine Modulation der Sensorstromstärke nicht mehr in eine Modulation des ausgegebenen Spannungssignals umwandeln konnte. Eine mögliche Lösung war die Herabsetzung des Wandlungsfaktors am Transimpedanzverstärker, wodurch allerdings auch  $\Delta U$  und der Signal-Rausch-Abstand verringert worden wären. Da zudem eine einheitliche Gesamtverstärkung in diesem Fall technisch nicht mehr umsetzbar gewesen wäre, entschied man sich für eine Reduzierung des Lampenstroms  $I_L$  am LED-Modul auf zunächst 0,2 A (vgl. [190,191]) und nach weiterer Übersteuerung auf 0,1 A für Messungen mit der Kombination IV. Um die Vergleichbarkeit zur Arbeit von Brandt [18] zu gewährleisten, blieb  $I_L$  für Messungen mit den Kombinationen I-III

unverändert. Auch mit Blick auf *in vivo*-Untersuchungen empfahl sich zur Schonung der Pulpa eine Reduktion der Lichtintensität.

Zur Filterung und Verstärkung des sehr kleinen, modulierenden Anteils des Spannungssignals verwendeten Schmitt et al. [188] eine vom Aufbau her zu unseren Komponenten der ersten Generation gleiche Schaltung, bestehend aus einer Silizium-Fotodiode mit separatem I/U-Wandler, Hoch- und Tiefpassfiltern und Verstärkern. Auch weitere Arbeitsgruppen zur Untersuchung der PPG verwendeten ähnliche, selbst entworfene Schaltungen [95,96]. Optional wurden eine zusätzliche Lock-In-Verstärkung [94] oder Fourier-Analyse [51,160,161] gewählt. Die Gruppe um Ikawa und Miwa [84,140] wählte hingegen eine einfache Kombination aus CdS-Fotowiderstand und Widerstandsmesser, mit der ebenfalls Signale *in vivo* detektiert werden konnten. In Studien mit der Methode der PO wurden durchweg modifizierte, kommerziell verfügbare Geräte verwendet [34,64,66,69,98,154,189,195], in denen ebenfalls eine ähnliche Technik wie in PPG-Messsystemen verbaut ist [5]. Zur Verwendung digitaler Filtermethoden, wie sie unsere LabView-Programmierung (Kapitel 4.1.3) ermöglichte, finden sich in der Literatur keine Angaben.

### **6.1.3 Methode der Untersuchungen ohne Blutfluss und der Untersuchungen mit Pumpenabschaltung am Zahn-Gingiva-Modell**

Neben einem periodisch modulierenden Signal am vitalen Zahn, sollte eine zuverlässige Methode zur Vitalitätsbestimmung keine pulssynchronen Signale an avitalen Zähnen detektieren. Dazu dürfen neben der Gingiva auch andere Signalquellen keinen Einfluss auf Messungen haben. Um in den späteren Versuchsreihen andere Signalquellen als die Durchblutung des Zahnkreislaufs und des Gingivakreislaufs ausschließen zu können, wurden Kontrollmessungen mit der Blutfließgeschwindigkeit 0 ml/min, also mit erythrozytenkonzentratbefülltem Zahn- und Gingivakreislauf ohne Blutfluss durchgeführt. Messungen mit Abschaltung der Pumpen während der Signalaufzeichnung ermöglichten eine Zusammensicht der Spannungssignale bei pulsierendem Blutfluss und ohne Blutfluss in einer Messung.

Als mögliche Störquellen kommen vor allem Umgebungslicht [5,90,93,95], elektromagnetische Wechselwirkungen [90] oder Bewegungsartefakte [5,93,104] in Frage. Durch die Hoch- (künstliches Licht) und Tiefpassfilterung (Sonnenlicht) des Spannungssignals sowie die Abschaltung der Raumbelichtung sollten eventuelle Einflüsse durch Umgebungslicht während

der Versuchsdurchführung vermieden werden. Elektromagnetisch wirksame Geräte wurden, soweit möglich, abgeschaltet oder räumlich getrennt [88]. Bewegungsartefakte, wie sie durch Patientenbewegungen verursacht werden, konnten durch Verwendung eines *in vitro*-Modells ausgeschlossen werden. Neben externen Störquellen birgt eine hohe Verstärkung des Spannungssignals und die Herausfilterung bestimmter Frequenzbereiche das Risiko, aus einem unspezifischen Grundrauschen Pseudosignale zu erzeugen. Kommerziell verfügbare Pulsoximeter geben daher beim Unterschreiten eines bestimmten Signal-Rausch-Abstandes ein Warnsignal aus [93]. Ziel dieses Versuchsteils war es also auch, die Generierung solcher Pseudosignale durch die Einstellung zu hoher Filtergrenzfrequenzen und Filterordnungen im LabView-Programm auszuschließen.

Eventuellen Blutsenkungseffekten durch das Stehen des Erythrozytenkonzentrates wurde durch ein kurzes Einschalten der Schlauchpumpen zwischen jeder Messung einer Stichprobe entgegengewirkt. Da bei grafischer Auswertung der aufgezeichneten Spannungssignale keine periodische Modulation erkennbar war, konnte keine quantitative Auswertung vorgenommen werden. Die Signalgraphen wurden als Bilddateien dokumentiert.

#### **6.1.4 Methode der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit konstantem, ungepulstem Blutfluss**

Um den Einfluss einer konstanten, ungepulsten Durchblutung auf das gemessene Spannungssignal zu ermitteln, wurden in den Versuchsaufbau mit dem Zahn-Gingiva-Modell an Stelle der Schlauchpumpen zwei Büretten integriert. Diese schienen zur Erzeugung eines gleichmäßigen Flusses am geeignetsten, weil der hydrostatische Druck der Flüssigkeitssäule über dem Modell, also letztlich Gravitation, unabhängig von mechanischen Komponenten, die Triebkraft für den Fluss des Erythrozytenkonzentrates war.

Um ein Absinken des Flüssigkeitsspiegels in den Büretten und damit einen Abfall des Drucks und der Fließgeschwindigkeit während der Messung zu verhindern, wurden die Schlauchpumpen zur laufenden Wiederbefüllung der Büretten genutzt. Das Abfließen des Erythrozytenkonzentrates an der Bürettenwand und eine ausreichende Befüllung der Büretten wirkten Druckschwankungen als Folge des gepulsten Blutstroms (Frequenz ca. 0,6 Hz) durch die Pumpen entgegen. Der Füllstand der Büretten wurde in orientierenden Versuchen so bestimmt, dass Artefakte in Druck- und Spannungssignalen ausgeschlossen werden konnten.

Während der Entwicklung des Versuchsaufbaus zeigte sich, dass die beiden Schlauchpumpen bei Geschwindigkeitsstufen unter 07 leicht asynchron liefen. Bei der Geschwindigkeitsstufe 06, die der maximalen Durchflussrate des Zahnkreislaufs mit integrierter Bürette entsprach, resultierte pro fünf vollen Umdrehungen der Pumpenrotoren eine Verschiebung um eine viertel Umdrehung (5 % Diskrepanz). Da ein quantitativer Vergleich der Messsignale von Zahn- und Gingivadurchblutung nicht vorgesehen und kein  $\Delta U$  bestimmbar war, konnte die leichte Diskrepanz der Durchflussraten beider Kreisläufe zum Ausschluss anderer Signalquellen als Erythrozytenbewegungen toleriert werden.

Alternativ wäre die Verwendung einer Perfusionspumpe möglich gewesen, wie sie innerhalb unserer DFG-Projektgruppe (SCHM 386/3, GA 501/10, MO 2196/1) Hirmer et al. [79] unter anderem für Transmissionsmessungen an blutdurchflossenen Gefäßen nutzten. Sie berichteten jedoch von Unregelmäßigkeiten der Flussraten und rieten von einer Verwendung in unserem Versuchsaufbau ab, da bei Verwendung der neuen, leistungsstarken Messkomponenten mit Artefakten im Spannungssignal zu rechnen war [mündliche Kommunikation].

Auch Noblett et al. [154], Vongsavan und Matthews [212] sowie Diaz-Arnold et al. [38,39] nutzten Perfusionspumpen in ihren Studien. Diaz-Arnold et al. [38,39] führten Messungen des Gleichspannungsanteils  $U_0$  des Spannungssignals mit deutlich längeren Messzeiten von mehreren Minuten durch. Kurzfrequente, geringe Änderungen der Transmission spielten wahrscheinlich eine untergeordnete Rolle und waren tolerierbar. Vongsavan und Matthews [212] machten keine Angaben zu Messzeiten oder Signalmittelungen, führten jedoch Messungen mittels LDF durch. Kurzfristige Änderungen der Blutflussrate sind bei dieser Messmethode ebenfalls von nachrangiger Bedeutung, da keine Änderung der Blutfließgeschwindigkeit zur Detektion des Blutflusses notwendig ist und daher kurzfristige Variationen der Fließgeschwindigkeit nicht im Fokus der Betrachtung liegen. Ähnliches gilt für die PO-Messungen von Noblett et al. [154], in denen Messungen der Sauerstoffsättigung im Vordergrund standen (vgl. Kapitel 2.4.1 und 2.4.4).



### 6.1.5 Methode der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit gepulstem Blutfluss

Um die Situation *in vivo* möglichst exakt auf ein *in vitro*-Modell mit physiologischen Durchblutungsraten zu übertragen, wurde zunächst ein neues Molarenmodell mit Kiefersegment entwickelt und in einem zweiten Schritt der restliche Versuchsaufbau für eine reduzierte Blutflussrate angepasst.

Die Eigenschaft des Zahns, an der Zahnkrone eingestrahktes Licht über die Zahnwurzel in umliegende Gewebe zu leiten, kann als Grundlage der Entstehung nicht-pulpaler Signale angesehen werden [85,157,169-171,211,212]. Großlumige Bohrungen durch die Zahnhartsubstanzen beeinflussen die Lichtleitung in Zahngeweben zwangsläufig und konnten im neu entwickelten Glaspulpamodell durch Mikrotomie in vertikaler Richtung, unter Erhalt der Lichtleitung von der Krone zur Wurzel, umgangen werden. Zusätzlich gelang es, mit einer Glashohlform eine Anbindung über die Wurzelkanäle und die Foramina apicales umzusetzen. Die zu- und abführenden Kapillaren der Glaspulpa im Wurzelbereich entsprechen mit einem Innendurchmesser von ca. 100 - 150 µm in Form und Größe den zentral und unverzweigt verlaufenden, arteriellen und venösen Gefäßen der Pulpa [35,105]. Eine Simulation des verzweigten Kapillarnetzwerks der Kronenpulpa [35,105,113] wurde durch Erzeugung einer turbulenten Strömung mit multidirektionalem Blutfluss in der Glaspulpa versucht, muss aber als Kompromisslösung angesehen werden [94]. Bei der Einbringung poröser Strukturen wurde eine Verunreinigung durch Blutkoagel befürchtet, die reproduzierbare Messungen erschwert hätten. Der Innendurchmesser der Glaspulpa beträgt im Kronenbereich ca. 0,5 mm. Ein korrektes Größenverhältnis der Pulpa [49,100] wurde somit gewahrt. Kakino et al. [95] und Diaz-Arnold et al. [39] durchbluteten das unbehandelte Pulpenkavum direkt. Wie Jaeger [76] und Niklas [150] bereits diskutierten, ist in diesem Fall eine Verunreinigung der Dentintubuli und eine Veränderung der optischen Eigenschaften des Modellzahns während der Messungen zu befürchten. Da eine Versiegelung mit zahnmedizinischen Bondingmaterialien ebenfalls zu einer Penetration der Tubuli [138,206,218] und einer möglichen Veränderung der Dentineigenschaften geführt hätte, entschied man sich in der vorliegenden Arbeit für eine passgenaue Hohlform aus Spezialglas mit hoher Transmission für chemische und physikalische Anwendungen [231]. Vongsavan und Matthews [212] füllten an ihrem Zahnmodell den Spalt zwischen Pulpenwand und Glaskapillare zusätzlich mit Ringerlösung

auf, um Reflexionseffekte an den Grenzflächen durch Anpassung der Brechungsindices zu reduzieren. Eine reproduzierbare Umsetzung ist jedoch nur im Wasserbad möglich und wegen der direkten Platzierung des Sensorchips am Zahn mit anliegender Spannung in unserem Aufbau (Kapitel 4.1.3) nicht umsetzbar. Mit dem Schneiden des Modellzahns im Sägemikrotom wurde ein bestmöglicher Erhalt der optischen Eigenschaften der Zahnhartsubstanzen angestrebt. Der entstandene Spalt zwischen den Zahnhälften stellt durch zwei zusätzliche Grenzflächen (Zahn-Luft und Luft-Zahn) eine Veränderung der optischen Eigenschaften dar, wurde jedoch nach sorgfältiger Abwägung als die Option mit dem geringsten Einfluss auf die im Fokus der Betrachtung liegenden Lichtleitereigenschaften in koronal-apikaler Richtung angesehen.

Auch bei der Entwicklung des Modellsockels wurde eine Annäherung an die optischen und anatomischen *in vivo*-Verhältnisse angestrebt. Das Kunststoffkiefersegment wurde aus einer Kunststoffmischung angefertigt, die zur Simulation der Transmissionseigenschaften eines Schweinekiefers [78] entwickelt worden war. Der Schlauch für die Gingivadurchblutung wurde auf Höhe der Schmelz-Zement-Grenze und des oberen Wurzelbereichs positioniert. An der Krone eingestrahltes Licht wird am stärksten in diesen Bereich gestreut, in weiter apikal gelegenen Wurzelbereichen nimmt die Intensität der Streustrahlung ab, ist aber noch nachweisbar [85,170]. Auch Fein et al. [51] vermuteten den stärksten Einfluss auf PPG-Signale durch die Durchblutung der marginalen Gingiva. *In vivo*-Werte für die Durchblutung von Gingivagewebe wurden in Untersuchungen an Hunden mit ca. 30 ml/min pro 100 g Gewebe angegeben [80]. Die im Modell erreichte Durchblutungsrate von 0,35 ml/min würde demnach bei einer angenommenen Dichte des Gingivagewebes von 1 g/cm<sup>3</sup> für die Durchblutung eines Gewebevolumens von ca. 1,2 cm<sup>3</sup> ausreichen. Dies dürfte in etwa der geschätzten Größenordnung der marginalen Gingiva des Glaspulpamodells entsprechen.

Die Modellkammer wurde bis auf die bauliche Integration der Sensorschaltung nur an die Größe des Glaspulpamodells angepasst. Die neuen Schlauchverbinder wurden ebenfalls individuell aus Spezialglas [231] angefertigt. Durch die glatteren Oberflächen sollte eine Schädigung und Koagulation der Erythrozyten verringert werden [125].

Die Durchblutungsmenge der Kreisläufe konnte durch die Verwendung von Pumpenschläuchen mit geringerem Innendurchmesser, eine niedrigere Pumpengeschwindigkeit nach Wechsel auf 3-Rollen-Rotoren und eine entsprechende Anpassung des restlichen

Schlauchsystems je Kreislauf von 23,5 ml/min auf 0,35 ml/min gesenkt werden. Dies entspricht einer Reduktion um 98,5 %. Bei einer *in vivo*-Durchblutungsrate von 20 - 60 ml/min pro 100 g Pulpagewebe [105-107,137,165,225], einem durchschnittlichen Kronenpulpavolumen eines humanen, unteren, ersten Molaren von 53 - 76 mm<sup>3</sup> [49,100] und einer Gewebedichte von 1 g/ml [40] ergibt sich ein *in vivo*-Referenzwert von 0,01 - 0,045 ml/min. Dieser wurde zwar nicht erreicht, eine deutliche Annäherung gelang jedoch.

Die an den Drucksensoren anliegenden Drücke lagen bei orientierenden Messungen während der Anpassung der Kreislaufsysteme bei bis zu 900 mmHg. Eine Senkung des Strömungswiderstandes des Kreislaufsystems durch größtmögliche Kürzung sämtlicher Schlauchlängen und Schlauchverbinder bewirkte einen Rückgang der Drücke auf 450 - 600 mmHg im Zahnkreislauf und auf 350 - 550 mmHg im Gingivakreislauf. Diese lagen dennoch weit über dem physiologischen, arteriellen Druck von 43 mmHg [208].

Anders als bei den Messungen mit konstantem, ungepulstem Blutfluss (Kapitel 6.1.4), bei denen keine quantitative Auswertung der Signale erfolgte, war bei den Messungen mit gepulstem Blutfluss eine weitere Senkung der Pumpengeschwindigkeit unter die Stufe 07, zur weiteren Druckreduktion, nicht möglich. Eine Asynchronität der Pulsationen in beiden Kreisläufen hätte zu variierenden Überlagerungen der PPG-Signale von Zahn- und Gingivadurchblutung geführt, sodass keine quantitative Auswertung möglich gewesen wäre.

Der Druck in den Kreisläufen fällt von den Schlauchpumpen stetig bis zum Auffanggefäß (0 mmHg am Schlauchende) [73]. Die tatsächlichen Drücke im Glaspulpamodell liegen also vermutlich deutlich unter den an den Drucksensoren gemessenen Werten, die vor dem Modell installiert wurden. Untersuchungen zur Rolle des absoluten Blutdrucks bei der Entstehung photooptischer Signale finden sich in der Literatur zwar nicht, Einigkeit besteht jedoch, dass Scherkräfte die Grundlage für die Entstehung der Transmissionsänderung bei Änderung der Blutfließgeschwindigkeit bilden [33,47,51,97,125,149,178]. Da Scherkräfte ( $\gamma = 4Q/\pi R^3$ ) von der Fließgeschwindigkeit  $Q$  und dem Gefäßinnenradius  $R$ , aber nicht von Druckverhältnissen abhängen [125], könnte dies auf eine untergeordnete Rolle des absoluten Drucks hinweisen.

Um die erhaltenen Ergebnisse mit gepulstem Blutfluss am Versuchsaufbau mit dem Glaspulpa-Modell zu validieren, wurden die Messungen mit einem zweiten Erythrozytenkonzentrat, das aus einer anderen Blutkonserve hergestellt wurde, durchgeführt.

#### **6.1.6 Methode der Untersuchungen am Glaspulpa-Modell mit Pumpenabschaltung**

Analog zu den Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell wurden auch mit dem Glaspulpa-Modell Versuche mit Abschaltung der Pumpen während der Messung durchgeführt, um Störsignale anderer Quellen als die Erythrozytenbewegungen auszuschließen und die Abhängigkeit des PPG-Signals von einer pulsierenden Durchblutung nachzuweisen. Das Messverfahren und alle Einstellungen des Messsystems waren zu den Messungen am Zahn-Gingiva-Modell identisch (Kapitel 6.1.3). Messungen mit konstantem, ungepulstem Blutfluss waren ursprünglich auch am Glaspulpa-Modell vorgesehen, konnten jedoch durch den hohen Strömungswiderstand nicht umgesetzt werden. Auch eine vollständige Befüllung der Büretten führte zu keinem für eine aussagekräftige oder reproduzierbare Messung ausreichenden Blutfluss.

#### **6.1.7 Methode der quantitativen Auswertung**

Mit Einführung der neuen Messkomponenten wurde die quantitative Auswertemethode (Kapitel 4.7), bei der bislang je Einzelmessung der Mittelwert der einzelnen Spannungsamplituden ( $U_{\max} - U_{\min}$ ) von fünf Systolen und Diastolen gebildet wurde [18,76], einer kritischen Überprüfung unterzogen und die alternative Bestimmung des Extremwerts von  $\Delta U$  jeder Stichprobe überlegt. Die Ermittlung der jeweils kleinsten Amplitude  $\Delta U_{\min}$  pro Stichprobe erlaubt die Bewertung der minimalen Empfindlichkeit des Messsystems, also der mindestens zu messenden Amplitude einer Modulation des Spannungssignals. Schon eine einzelne, stark abweichende Amplitude (sehr großes  $U_{\min}$  oder kleines  $U_{\max}$ ) würde dann jedoch über die Bewertung der gesamten Stichprobe bestimmen, auch, wenn alle anderen Amplituden ohne nennenswerte Variation wesentlich größer wären. Entsprechendes gilt für eine Bestimmung von  $\Delta U_{\max}$  und der maximalen Messempfindlichkeit des Messsystems. Die höchste Aussagekraft wurde für die Bestimmung des Medianwerts von  $\Delta U_{1-3}$  erwartet, der eine ausgewogene Bewertung aller Amplituden und zusätzlich, bei Einbeziehung der oberen

und unteren Abweichungen, eine Abschätzung der minimalen und maximalen Messempfindlichkeit ermöglicht. Laut Dr. Hiller, der die statistische Relevanz der Untersuchungen überwachte, konnte bei fünf Stichproben (Einzelmessungen) pro Versuchsreihe die Anzahl der auszuwertenden Perioden  $\Delta U_n$  pro Stichprobe, unter Wahrung der statistischen Aussagekraft, auf jeweils drei Maxima und Minima reduziert werden.

Zur Bewertung der Untersuchungsergebnisse muss betont werden, dass die quantitative Auswertung der Größe von  $\Delta U$  nachrangig ist gegenüber der qualitativen Aussage, ob ein  $\Delta U$  bestimmbar war oder nicht, da für die sichere Bestimmung der Vitalität eines Zahnes die Durchblutung der Pulpa detektiert können werden sollte, während die Durchblutung zahn-umgebender Gewebe keinen Einfluss auf das gemessene PPG-Signal haben darf [27,69,98,167].

## **6.2 Diskussion der Ergebnisse**

Anders als bei den vorhergehenden Arbeiten unserer DFG-Projektgruppe [18,76,109,150], wurde für die vorliegende Arbeit entschieden, dass ein Vergleich der Ergebnisse der Messungen bei 625 nm und 940 nm nicht sinnvoll ist, da eine unterschiedliche Absorption, Streuung und Reflexion der eingestrahlten Lichtwellen durch die Glaskapillare im Zahn-Gingiva-Modell bzw. die Glaspulpa im Glaspulpamodell bei unterschiedlichen Wellenlängen nicht sicher ausgeschlossen werden konnten. Auch die eindeutige Festlegung einer geeigneteren Messwellenlänge ist daher auf Basis der hier präsentierten Ergebnisse nicht möglich.

### **6.2.1 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell zum Vergleich der Messkomponenten der ersten und zweiten Generation**

Für alle Kombinationen I - IV der Messkomponenten waren zur Pumpfrequenz synchron modulierende Signalamplituden messbar, so dass von einer technischen Tauglichkeit aller Messgeräte ausgegangen werden kann, wie sie bereits mit der Testung aller Verstärkungsmöglichkeiten vorab überprüft wurde (Anhang 8.1). Die gemessenen  $\Delta U$ -Werte korrelieren zudem mit den Ergebnissen von Brandt [18], der gleiche Messungen mit der Kombination I, jedoch mit einem anderen Erythrozytenkonzentrat, durchführte.

Im paarweisen Vergleich der Kombinationen zeigt sich eine jeweils geringere Signalstärke mit den Kombinationen II und III als mit der Kombination I bei beiden Wellenlängen. Der Wechsel auf den PPG2 und die LabView-Software führte also zunächst zu geringeren  $\Delta U$ -Werten als der PPG1 mit separatem Interface und der Datastudio-Software zeigte. Eine mögliche Ursache könnte die aufwändigere analoge und die zusätzliche digitale Filterung des Signals sein, bei der zwar ein tendenziell größeres Signal-Rausch-Verhältnis erzielt wird, jedoch die Signalamplitude verringert werden könnte. Dies könnte auch der Grund für eine Reduktion des Signals beim Wechsel von Kombination II zu III bei 940 nm sein, da das 940 nm-Signal tendenziell mehr vom Grundrauschen überlagert wurde als die Signale der Messungen mit 625 nm, wo sich von Kombination II zu III eine nicht signifikante Vergrößerung des Signals zeigte. Da die qualitative Detektierbarkeit pulssynchron modulierender Signale im Sinne einer Ja-Nein-Entscheidung entscheidender als eine größere Signalamplitude ist, ist dies dennoch positiv zu werten. Durch Wechsel des Sensors zwischen Kombination III und IV wurde trotz Reduktion des Lampenstroms  $I_L$  von 0,5 A auf 0,1 A eine deutliche Steigerung der  $\Delta U$ -Werte, auch gegenüber Kombination I und II, erzielt. Ursächlich dürfte eine höhere Effizienz des OPT101 [229] durch eine größere Sensoroberfläche und einen deutlich größeren Detektionswinkel als beim SFH229 [232] sowie eine geringere Signaldämpfung durch die direkte Transimpedanzverstärkung am Sensor sein. Dies bestätigt die Empfehlung von Schmitt et al. [188], einen Sensor mit hoher numerischer Apertur zu verwenden, da die transmittierten Lichtwellen nach sehr kurzer Strecke in den Zahnhartsubstanzen von ihrer ursprünglichen Ausbreitungsrichtung durch Streuung abweichen [17,199] und in unterschiedlichem Winkel auf die Sensoroberfläche treffen [51,188]. Die Vergrößerung des Signals beim Wechsel des Interface und der Software (Kombination I gegen II) bei der Durchblutung von Zahn und Gingiva bei 940 nm konnte nicht geklärt werden und war für die aktuelle Betrachtung von nachrangiger Bedeutung.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass mit dem Messsystem der zweiten Generation deutlich größere Werte für  $\Delta U$  gemessen wurden als mit den Komponenten der ersten Generation. Gleichzeitig konnte die Lampenstromstärke  $I_L$  reduziert werden. Auch Schmitt et al. [188] belegten die hohe Empfindlichkeit einer derartigen Messanordnung durch die Detektion von PPG-Signalen *in vivo*. Eine zusätzliche Lock-In-Verstärkung [51,94] wurde auf Grund der, für Messungen am gegebenen Versuchsaufbau ausreichenden, Mess-

empfindlichkeit nicht weiter verfolgt, könnte für weitere Untersuchungen aber nachgerüstet werden.

### **6.2.2 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell ohne Blutfluss**

Die Messungen ohne Blutfluss zeigten bei 625 nm und 940 nm in allen Stichproben Nullgraphen der Spannungssignale, überlagert von Grundrauschen. Da sich in keinem Fall sich periodisch wiederholende Strukturen zeigten, konnten andere Signalquellen als die Durchblutung des Zahn- und des Gingivakreislaufs grundsätzlich ausgeschlossen werden. Kritisch zu bewerten ist der Ausschluss von möglichen, durch die Schlauchpumpen verursachten Bewegungsartefakten, da diese während der Messungen abgeschaltet waren. Um eventuelle Übertragungen von Pumpenbewegungen über den Versuchstisch auf das Modell zu reduzieren, wurden die Schlauchpumpen auf Gumminoppen gelagert. Um eine Übertragung durch die Schläuche zu vermeiden, wurden diese zwischen Pumpen und Modell durch Krokodilklemmen an massiven Stativen und durch nochmalige, starre Führung in der Modellklammer fixiert.

### **6.2.3 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit Pumpenabschaltung**

Die aufgezeichneten Graphen der Versuche mit Abschaltung der Pumpen während der Messung zeigten zunächst eine pulssynchrone Modulation des Spannungssignals sowie der Drucksignale im jeweils eingeschalteten Kreislauf. Das Abschalten der Pumpen führte zu einem sofortigen Abfall des Drucks in den zuvor durchbluteten Kreisläufen. Die Spannungssignale pendelten nach einem initialen Peak auf ein Nullsignal mit Grundrauschen ein. Der initiale Peak zeigte keine einheitliche Ausschlagrichtung und dürfte auf technische Phänomene in der Messapparatur zurückzuführen sein, wie beispielsweise Kondensatorentladungen [mündliche Kommunikation mit Irene Schulz]. Auch diese Messungen bestätigten, dass keine weiteren Signalquellen Einfluss auf das Spannungssignal hatten und stellten die Abhängigkeit des PPG-Signals von einer gepulsten Durchblutung anschaulich dar. Cimalla et al. [33] erzielten ähnliche Ergebnisse. Sie hatten nach Abschaltung eines gleichmäßigen Blutflusses keine LDF- und OCT-Signale mehr detektieren können.

#### 6.2.4 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahn-Gingiva-Modell mit konstantem, ungepulstem Blutfluss

Auch die aufgezeichneten Graphen der Untersuchungen mit konstantem, ungepulstem Fluss zeigten in keiner der Stichproben periodisch modulierende Spannungssignale. Anders als bei den Untersuchungen ohne Blutfluss, zeigten die Graphen aber keine Nullgraphen, sondern unregelmäßige Verläufe mit variierenden Spannungen, die auf Zellbewegungen zwischen Lichtwellenleiter und Sensor hindeuten. Sie könnten durch lokale Verteilungsinhomogenitäten der Zellen im Blutstrom [56,125] entstehen, wie sie auch Vongsavan und Matthews [212] beobachteten. Die Drucksensoren zeigten konstante 25 mmHg im Zahnkreislauf und 10 - 15 mmHg im Gingivakreislauf an. Der unterschiedliche Druck resultierte aus den unterschiedlichen Gefäßdurchmessern von 1 mm im Zahn- und zweimal 3 mm im Gingivakreislauf, aus denen unterschiedliche Fließwiderstände resultierten. Eine theoretisch zu erwartende Veränderung des Gleichspannungsanteils  $U_0$  des PPG-Signals als Folge einer Transmissionsänderung der EKs durch den Blutfluss (Kapitel 2.2.4), konnte im Vergleich zu den Messungen ohne Fluss des Erythrozytenkonzentrats mit dem vorgestellten System nicht festgestellt oder beurteilt werden.  $U_0$  wurde bereits frühzeitig in der Filter- und Verstärkungskaskade abgegriffen und herausgefiltert. Eine eventuelle Veränderung von  $U_0$  war daher zu gering, um an dieser Stelle detektiert werden zu können.

Studien mit ähnlichen Versuchsaufbauten [39,125] untersuchten lediglich längerfristige Veränderungen der Transmission durch Variation von Hämatokrit, Oxygenierung und Blutflussgeschwindigkeit. Ein Vergleich zu unseren Messungen fällt somit schwer. Lindberg und Ödberg [125] ermittelten in ihrer Studie mit unterschiedlichen Wellenlängen die höchste Sensibilität für Änderungen der Blutfließgeschwindigkeit bei 940 nm. Dies unterstützt zusätzlich unsere Wahl der Messwellenlänge von 940 nm sowie die Aussagekraft unserer Ergebnisse.

Auf Grund unserer Messergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass mit dem vorgestellten Messverfahren nur periodische, strukturierte Blutflussänderungen im Sinne einer Systole und Diastole, also ein gepulster Blutfluss wie er auch in der Pulpa zu erwarten ist [90], zu einem periodisch modulierenden PPG-Signal führen, dessen Amplitude in einen  $\Delta U$ -Wert übertragen werden kann. Messungen ohne Blutfluss oder konstant, ungepulst fließendes Blut zeigten hingegen keine entsprechenden Modulationen.



### 6.2.5 Ergebnisse der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit gepulstem Blutfluss

Mit gepulster Durchblutung konnten am Glaspulpamodell für alle Durchblutungsmodi bei 625 nm sowie für die kombinierte Durchblutung von Zahn und Gingiva und der selektiven Durchblutung des Zahns bei 940 nm strukturierte Signale detektiert werden und  $\Delta U$ -Werte bestimmt werden. Bei 940 nm konnte bei selektiver Gingivadurchblutung kein strukturiertes Signal ermittelt werden.

Dieses Ergebnis belegt die vorrangig angestrebte Eignung des Glaspulpa-Versuchsaufbaus, bei größter im Rahmen dieser Arbeit möglicher Annäherung an physiologische Größenwerte und Durchblutungsraten, einen gepulsten Blutfluss zu simulieren und zu detektieren. Weiterhin belegt es die Streuung eingestrahlt LED-Lichts in zahnumgebende Gewebe und die Möglichkeit der Durchblutung der marginalen Gingiva, am Zahn gemessene PPG-Signale der Pulpadurchblutung zu beeinflussen oder bei fehlender Pulpadurchblutung PPG-Signale zu generieren, die als Pulpasignale fehlinterpretiert werden können. Dies wird durch erste *in vivo*-Studien mit PPG- und PO-Messungen unterstützt, die ebenfalls einen Einfluss nicht-pulpaler Signalquellen auf Messungen nachweisen konnten [51,98,140,195].

Bei einer Messwellenlänge von 940 nm konnten in dieser Untersuchung keine Signale der Gingivadurchblutung detektiert werden. Dies schließt den Einfluss der Gingivadurchblutung auf *in vivo*-Messungen jedoch nicht aus, wie *in vivo*-Untersuchungen zum Einfluss der Gingiva und zahnumgebender Strukturen mit ähnlichen Messwellenlängen [51,98,195] belegen. Um Signale der Gingivadurchblutung auch am Glaspulpamodell nachweisen zu können, wären weitere Untersuchungen mit zusätzlicher Verwendung eines Lock-In-Verstärkers [94,150] sinnvoll.

Die Signalamplituden der Messungen mit dem Erythrozytenkonzentrat 16 waren jeweils signifikant größer als mit den Konzentrat 17, das aus einer Blutkonserve eines anderen Spenders hergestellt worden war. Die paarweisen Verhältnisse der  $\Delta U$ -Werte bei selektiver und kombinierter Durchblutung von Zahn und Gingiva zueinander stimmen aber überein. Auch Ramsay et al. [175] berichten von ähnlichen, interindividuellen Variationen von Blutpräparaten, die sich durch Abweichungen der individuellen optischen Eigenschaften von Blut unterschiedlicher Spender erklären lassen [71,134]. Die Ergebnisse der ersten

Versuchsdurchführung konnten somit durch die Ergebnisse der zweiten Versuchsdurchführung validiert werden.

Die  $\Delta U$ -Werte der selektiven Gingivadurchblutung waren bei 625 nm signifikant kleiner als die  $\Delta U$ -Werte der selektiven Durchblutung des Zahns und der kombinierten Durchblutung von Zahn und Gingiva. Dieses Ergebnis darf jedoch nicht als Beleg für eine untergeordnete Rolle der Gingivadurchblutung bei der Detektion von PPG-Signalen am Zahn verstanden werden. Zudem wurde im vorgestellten Modell nur die Durchblutung der marginalen Gingiva simuliert. *In vivo* stellen die Durchblutung des Parodontalgewebes [93,94,140,154,161] und benachbarter Strukturen wie der Lippe und Zunge [51,160] weitere mögliche Einflussgrößen auf PPG-Messungen dar. Ihr Einfluss speziell auf LDF-Messungen wurde bereits mehrfach diskutiert und nachgewiesen [81,169,171,198,212].

#### **6.2.6 Ergebnisse der Untersuchungen am Glaspulpamodell mit Pumpenabschaltung**

Die Ergebnisse der Messungen mit Pumpenabschaltung am Glaspulpamodell entsprechen denen der Messungen am Zahn-Gingiva-Modell. Nach Pumpenabschaltung fielen die zuvor mit dem Drucksignal synchron modulierenden Spannungssignale auf einen Nullgraph mit Grundrauschen ab. Im Vergleich der Ergebnisse beider Modelle fällt beim Glaspulpamodell ein verzögerter, kontinuierlicherer Druckabfall nach dem Abschalten der Pumpen auf. Wie in Kapitel 6.1.5 beschrieben, waren Strömungswiderstand und Druck im neueren Versuchsaufbau deutlich höher, so dass ein kontinuierlicherer Druckabfall und ein Nachfließen des vor dem Modell gestauten Erythrozytenkonzentrates als Erklärung wahrscheinlich erscheint. Auch für das Glaspulpamodell konnte somit eine Abhängigkeit der PPG-Signale von einem pulsierenden Blutfluss nachgewiesen und dargestellt sowie andere Signalquellen als der simulierte Blutfluss ausgeschlossen werden.

#### **6.2.7 Diskussion der Entstehungsweise der PPG-Signale**

In frühen Untersuchungen zur Methodik der PPG [39,97,194,209] wurden als Ursache für die Transmissionsänderung von durchbluteten Geweben während Systole und Diastole Gefäßwandbewegungen und Änderungen der Gefäßvolumina vermutet (Kapitel 2.4.3). Durch die Messung pulssynchron modulierender PPG-Signale *in vitro* an starren, durchbluteten

Gefäßen [18,28,88,125,126,149,150] und *in vivo* an durchblutetem Knochengewebe mittels PPG [149] und der zur PPG sehr ähnlichen Methode der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) [13,50,131], konnten diese als Hauptursache jedoch ausgeschlossen werden, da hier weder Gefäßwandbewegungen noch Volumenänderungen möglich waren. Gleichzeitig konnte in Studien, die die optischen Eigenschaften von Blut unter unterschiedlichen Bedingungen untersuchten, nachgewiesen werden, dass die Transmission von Blut unter anderem von dessen Fließgeschwindigkeit und daraus resultierenden Scherkräften abhängt [33,47,53,79,125,204] (Kapitel 2.2.4). Letztere wurden daher zunehmend als Hauptursache für die pulssynchrone Transmissionsänderung durchbluteter Gewebe und die Entstehung von PPG-Signalen diskutiert [5,15,51,126,178] (Kapitel 2.4.3). Erklärungen, welche Effekte hierfür im Detail verantwortlich sind oder Interpretationsversuche unter Zusammenführung der Ergebnisse aus PPG-Studien und Studien zu den optischen Eigenschaften von statischem und bewegtem Blut konnten in der Literatur nicht gefunden werden.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen ohne Blutfluss (Kapitel 5.2 und 6.2.2), mit Pumpenabschaltung während der Messung (Kapitel 5.3, 5.6, 6.2.3 und 6.2.6) und mit ungepulstem, konstantem Blutfluss (Kapitel 5.4 und 6.2.4) zeigen, dass für die Messung eines Blutflusses mit Hilfe der PPG eine Änderung der Fließgeschwindigkeit des Erythrozytenkonzentrates notwendig ist, wie sie während Systole und Diastole auftritt. Dies entspricht der These, dass PPG-Signale durch fließgeschwindigkeitsabhängige Änderungen der Transmission von Blut entstehen.

Abhängig von der Fließgeschwindigkeit und somit von Scherkräften treten im Blut die Phänomene der Erythrozytenaggregation, -axialmigration, -orientierung und -deformation auf (Kapitel 2.2.4). Unbewegte Erythrozyten bilden dreidimensional vernetzte Zellaggregate aus (Abb. 2.5), so dass die Transmission des Bluts durch die Entstehung von Plasmalücken zwischen den Aggregaten steigt [125,185,186]. Schmid-Schönbein et al. [185] zeichneten die Transmissionsänderung von Blut nach Stopp eines Blutflusses bzw. nach Verringerung der Scherkräfte und anschließendem Blutflussstopp im zeitlichen Verlauf auf (Abb. 6.1). Ihre Ergebnisse zeigen, dass ein Transmissionsanstieg durch Zellaggregation nach Stopp des Blutflusses (A, C, E, G in Abb. 6.1) erst um mehrere Sekunden verzögert und nach einem initialen Transmissionsabfall eintritt. Ähnliche Ergebnisse erhielten Enejder et al. [47]. Die

physiologische *in vivo*-Pulsdauer liegt unter einer Sekunde [77], so dass Zellaggregationen als Ursache für PPG-Signale unwahrscheinlich erscheinen.

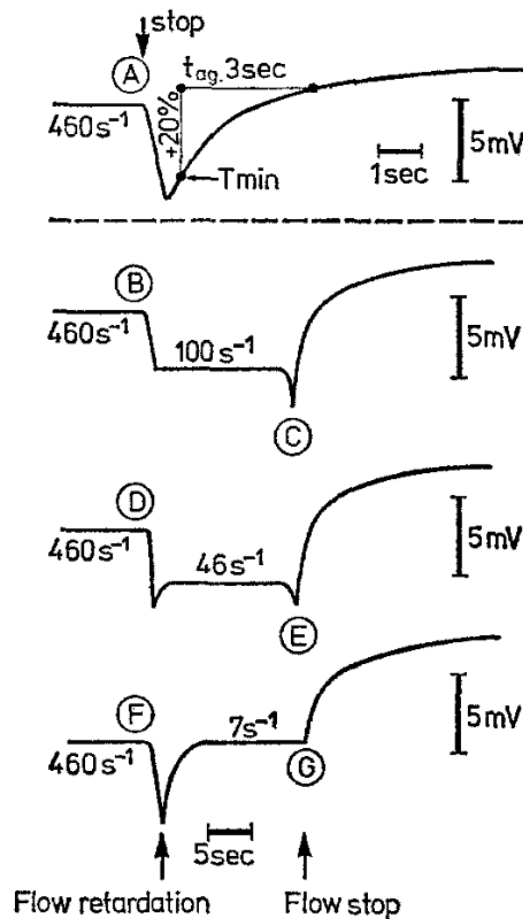


Abb. 6.1: Grafische Darstellung der Transmissionsänderung von Blut in einem Rheoskop; gemessen wurde die am Sensor entstehende Spannung nach Verringerung der Scherrate (B, D, F) und Stopp des Blutflusses (A, C, E, G); nach Stopp des Flusses sinkt die Transmission initial kurz ab und steigt dann in Folge der Zellaggregation kontinuierlich über einen Zeitraum von mehreren Sekunden an, unverändert übernommen aus [185]

Der Scherkraftgradient in durchflossenen Gefäßen von der Gefäßmitte (geringe Scherkräfte) zur Gefäßwand (hohe Scherkräfte) führt zur Axialmigration der Erythrozyten in die Gefäßmitte [47,54,65,125,185,186]. An der Gefäßwand entsteht ein Bereich mit reduziertem Hämatokrit, der sogenannte Gleitbereich, während der Hämatokrit zentral erhöht ist [59]. Untersuchungen zur Abhängigkeit der Transmission von Blut vom Hämatokrit [24,125,178] und bei zusätzlicher Variation der Scherrate [125] zeigten eine indirekt proportionale

Abhängigkeit der Transmission von Hämatokritwerten von 0 bis ca. 40 %. Für höhere Hämatokritwerte zeigte sich keine Änderung bzw. ein Absinken der Transmission. Die Transmission von Blut ist somit bei physiologischem Hämatokrit gering. Eine Hämatokriterniedrigung führt zu einer erhöhten Transmission, eine Erhöhung des Hämatokrits jedoch zu keiner Erniedrigung der Transmission. Ein Hämatokritgradient im durchströmten Gefäß könnte zu einer Erhöhung der Transmission am Gefäßrand führen, während die Transmissionsänderung zentral geringer wäre. Diese Vermutung stimmt mit der mehrfach beschriebenen Beobachtung des Anstiegs der Transmission proportional zur Scherrate überein [47,125,178,180,185,186]. Roberts et al. [178] vermuteten zudem Erythrozytenaggregationen in Folge des hohen Hämatokrits in der Gefäßmitte, die zu einer zusätzlichen Transmissionserhöhung beitragen könnten.

Neben der Axialmigration tritt eine Orientierung der plättchenförmigen Erythrozyten parallel zur Gefäßwand und bei sehr hohen Scherraten (über  $600 \text{ s}^{-1}$ ) eine zusätzliche Deformation auf [47,54,65,125,185,186] (Kapitel 2.2.4). Roggan et al. [180] stellten in einer aufwändigen Untersuchung der optischen Eigenschaften von Blut dar, dass für die Änderung des Streuungs-, des Absorptions- und des reduzierten Streukoeffizienten sowie des Anisotropiefaktors hauptsächlich die Axialmigration der Erythrozyten verantwortlich sei. Die Zelldeformation zeigte keinen signifikanten Einfluss. Cimalla et al. [33] untersuchten fließendes Blut bei unterschiedlichen Scherraten mittels optischer Kohärenztomographie (OCT). Sie konnten die in diesem Kapitel genannten, scherratenabhängigen Effekte bestätigen und beobachteten zusätzlich einen verzögerten Rückgang des durch die Zellorientierung verursachten Kohärenzmusters über mehrere Sekunden. Dies unterstützt die These von Roggan et al. [180] bezüglich der untergeordneten Rolle der Zellorientierung für die kurzfrequente Entstehung der PPG-Signale.

Neben scherkraftabhängigen Effekten wurden kurzfristige, pulsabhängige Änderungen der Konzentration [95] und Sauerstoffsättigung [15] des Hämoglobins als Ursache von Transmissionsänderungen diskutiert. Brandt [18] konnte bei *in vitro*-PPG-Messungen nur für Lösungen mit intakten oder teilweise lysierten Erythrozyten pulssynchron modulierende Signale detektieren. Nicht jedoch an hämoglobinhaltigen, zellfreien Lösungen. Diese Ergebnisse deuten auf eine Beteiligung zellulärer oder korpuskulärer Teilchen bei der PPG-Signalentstehung hin [18]. Ein von Hämoglobin, das in den Messungen von Brandt [18] keinen Ein-

fluss auf die PPG-Signalentstehung zeigte, abhängiger Effekt scheint unwahrscheinlich. Eine Änderung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins würde zudem zu einer spektralen Änderung der Absorption führen [56,125,133,135,180] (Kapitel 2.4.2). Eine solche fließgeschwindigkeitsabhängige Änderung des Absorptionsspektrums wurde in Studien zu den optischen Eigenschaften fließenden Bluts jedoch nicht beobachtet [47,79,128,133]. Darüber hinaus konnten auch bei PPG-Messungen mit isobestischen Wellenlängen, bei denen die Absorption des Hämoglobins nicht von dessen Sauerstoffsättigung abhängt, die Absorption des oxygenierten und des desoxygenierten Hämoglobins also gleich groß ist, PPG-Signale detektiert werden [149].

Die Entstehung der scherratenabhängigen Transmissionsänderung von Blut kann also an Hand der optischen Eigenschaften von bewegtem Blut und speziell dem Phänomen der Erythrozyten-Axialmigration in durchbluteten Gefäßen auf der Basis von *in vitro*-Studien nachvollzogen werden. Ein *in vivo*-Nachweis der in diesem Kapitel geschilderten und diskutierten *in vitro*-Ergebnisse wurde bislang nicht durchgeführt.

Mit der Methode der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS), einer PPG-Methodik im Nahinfrarot-Wellenlängenbereich, bei der Einstrahl- und Detektionspunkt mehrere Zentimeter voneinander entfernt sind, konnten in *in vivo*-Studien pulssynchrone Signale in oberflächlich gelegenen Knochen, wie beispielsweise der Patella, detektiert werden [13,50,131]. Binzoni et al. [14] berichteten in Untersuchungen unter Verwendung der NIRS von Änderungen des Blutvolumens im Knochengewebe durch Verdrängung interstitieller Flüssigkeit, jedoch nur als langfristige Veränderung ohne Bedeutung für die Entstehung pulssynchroner Signale [14,15,50]. Farzam et al. [50] beobachteten jedoch auch eine kurzfristige, pulssynchrone Änderung der Absorption und Streuung sowie der Hämoglobingesamtmenge und -sauerstoffsättigung, ohne jedoch eindeutige Erklärungen hierfür zu nennen. Aziz et al. [10] zeigten, dass mittels der NIRS Knochengewebe in bis zu 4 cm Tiefe und somit auch weichgewebliches Knochenmark untersucht werden kann, in dem keine direkte Hartgewebsummantelung der Blutgefäße vorliegt. Dies wäre eine mögliche Erklärung für die Beobachtungen von Farzam et al. [50]. Die Ergebnisse der NIRS-Untersuchungen zeigen, dass zur endgültigen Klärung der *in vivo*-Entstehung von PPG-Signalen weitere Studien notwendig sind. Auch Binzoni et al. [15] weisen auf eine deutlich höhere Komplexität der *in vivo*-Situa-

tion als bei *in vitro*-Modellen hin, die eine abschließende Klärung der Ursachen der PPG-Signalentstehung erschwert.

Im Rahmen der vorgestellten Untersuchungen konnte, durch die Integration neuer Messkomponenten in den Versuchsaufbau, die Messempfindlichkeit und somit die Größe der detektieren  $\Delta U$ -Werte im Vergleich zum bisherigen Messsystem signifikant vergrößert werden. Gleichzeitig gelang die Verringerung der in den Zahn eingestrahlten Lichtintensität durch die Reduktion des Lampenstroms  $I_L$ . Es konnte gezeigt werden, dass das Messsystem unempfindlich gegen andere Signalquellen als die simulierte Durchblutung des Zahns und der Gingiva ist. Ausschließlich Letztere zeigte einen Einfluss auf die gemessenen PPG-Signale sowie auf  $\Delta U$ . Weiterhin wurde dargestellt, dass strukturierte, periodische Modulationen der PPG-Signale, aus denen  $\Delta U$ -Werte bestimmt werden können, nur bei einem pulsierenden Blutfluss im Sinne einer Systole und Diastole entstehen. Ein ungepulster Blutfluss, der bei anderen Messmethoden, wie u.a. der Laser-Doppler-Flussmessung, zur Blutflussdetektion ausreicht (Kapitel 2.4.1), konnte keine solchen Modulationen erzeugen.

Ein neuer *in vitro*-Versuchsaufbau mit, im Rahmen dieser Arbeit, weitest möglicher Annäherung an physiologische Größenverhältnisse sowie Durchblutungsraten des Zahns und der Gingiva konnte etabliert und der Einfluss der simulierten Durchblutung der Gingiva auf am Zahn gemessene PPG-Signale bei einer Messwellenlänge von 625 nm erstmals bei physiologischer Durchblutungsrate *in vitro* nachgewiesen werden. Auch wenn im vorgestellten *in vitro*-Modell bei 940 nm Messwellenlänge keine Signale der simulierten Gingivadurchblutung detektiert werden konnten, kann ein Einfluss der Gingiva auf *in vivo*-Messungen nicht ausgeschlossen werden. Zusätzlich belegen die Messungen *in vitro*, dass an der Zahnkrone eingestrahltes LED-Licht in zahnumgebende Gewebe gestreut wird.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass mit den neuen Messkomponenten und dem Versuchsaufbau mit der Glaspulpa die Durchblutung der Zahnpulpa *in vitro* simuliert und detektiert werden kann. Gleichzeitig können bei einer Messwellenlänge von 625 nm die Signale der simulierten Gingivadurchblutung detektiert werden. Ein konstanter, ungepulster Blutfluss konnte dagegen in einem weiteren *in vitro*-Versuchsaufbau nicht detektiert werden.

## 7. Zusammenfassung

Basierend auf den vorangehenden Arbeiten der DFG-Projektgruppe (SCHM 386/3, GA 501/10, MO 2196/1), führte die vorliegende Arbeit die kontinuierliche Weiterentwicklung und Verfeinerung der PPG-Messtechnik am *in vitro*-Modell fort, um die Entwicklung einer objektiven und zuverlässig *in vivo* einsetzbaren PPG-Methode zur Vitalitätsprüfung an Zähnen zu ermöglichen. Im ersten Versuchsteil wurden in einen bestehenden Versuchsaufbau, der eine unabhängige Simulation der Zahn- und Gingivadurchblutung ermöglichte, neue Messkomponenten zur Verbesserung der Signalqualität und Steigerung der Signalstärke integriert, angepasst und evaluiert. Sie konnten im Vergleich zum bisherigen Messsystem bei reduzierter Intensität des eingestrahlt Lichts mit 625 nm und 940 nm Wellenlänge für alle Versuchsanordnungen signifikant höhere Amplituden  $\Delta U$  des pulssynchron modulierenden Spannungssignals detektieren. Um bei Verwendung der empfindlicheren Messkomponenten andere Signalquellen als den gepulsten Fluss des Erythrozytenkonzentrates ausschließen zu können, wurden Kontrollmessungen ohne Blutfluss, mit Abschaltung der Schlauchpumpen während der Messung und Messungen mit konstantem, ungepulstem Fluss durchgeführt. In keiner der Stichproben konnten periodische Modulationen der aufgezeichneten Spannungs- und Drucksignale festgestellt werden. Es konnte somit gezeigt werden, dass zur Detektion eines auswertbaren PPG-Signals ein gepulster Blutfluss notwendig ist. Mit der Entwicklung eines neuen *in vitro*-Modells mit einer Glaspulpa und der Anpassung des restlichen Versuchsaufbaus wurde im zweiten Studienteil die weiteste im Rahmen dieser Studie mögliche Annäherung an *in vivo*-Größenverhältnisse und -Blutflussraten umgesetzt. Messungen mit jeweils selektivem und kombinierten, gepulstem Blutfluss in Zahn- und Gingivakreislauf bei 625 nm und 940 nm zeigten, mit Ausnahme der selektiven Gingivadurchblutung bei 940 nm, pulssynchron modulierende Spannungssignale, aus denen eine Spannungsamplitude  $\Delta U$  bestimmt werden konnte. Auch am neuen Modell zeigten sich in Kontrollmessungen nach Pumpenabschaltung keine strukturierten Modulationen. Es gelang, im Rahmen dieser *in vitro*-Studie einen neu entwickelten Versuchsaufbau zu etablieren und den Einfluss der Durchblutung zahn-umgebender Gewebe auf Messungen der Pulpadurchblutung mittels PPG *in vitro* zu belegen. Die präsentierten Ergebnisse belegen die Notwendigkeit der kritischen Bewertung *in vivo* detektierter PPG-Signale, auf deren Basis die Vitalität von Zähnen bestimmt werden soll.



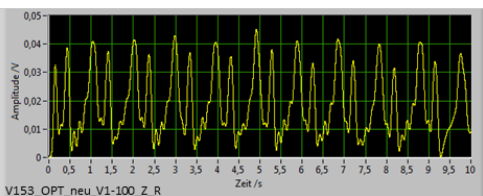
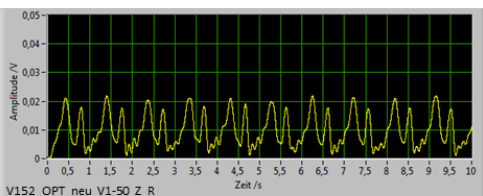
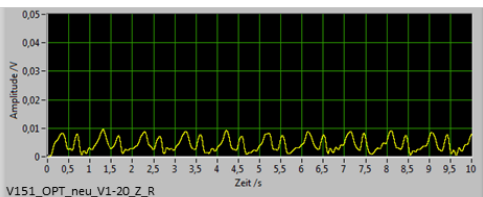
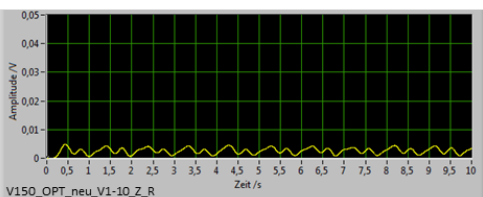
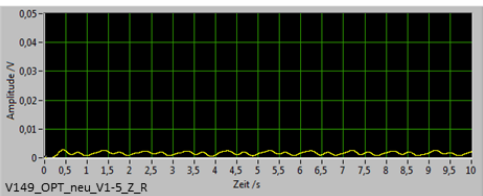
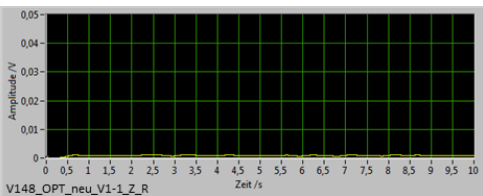
## 8. Anhang

### 8.1 Protokoll der technischen Überprüfung des PPG 2

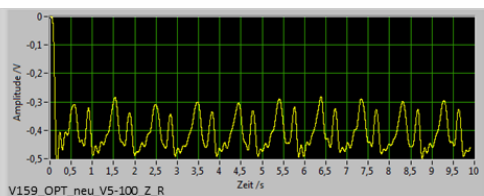
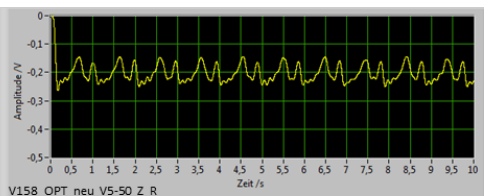
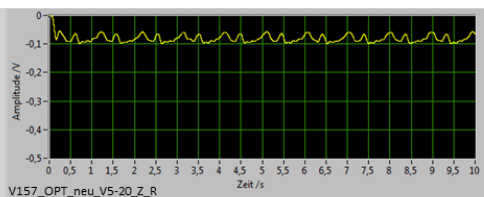
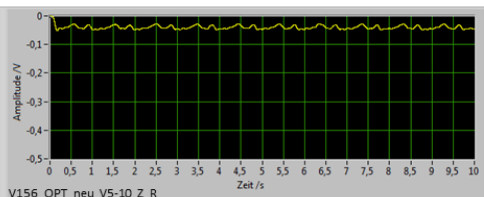
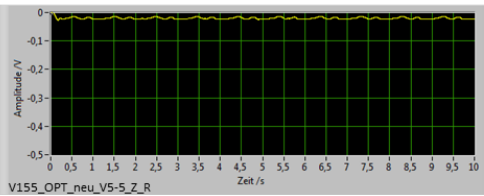
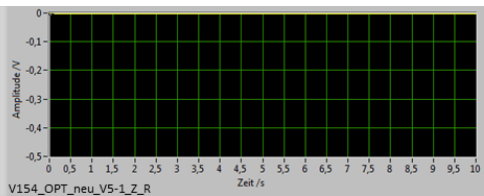
Prüfprotokoll Photopulsograph 2 – Durchtestung sämtlicher Verstärkungseinstellungen

Versuchs-ID: Versuchsnummer\_Sensor\_PPG\_Verstärkung 1–Verstärkung 2\_Durchblutung\_Lichtwellenlänge

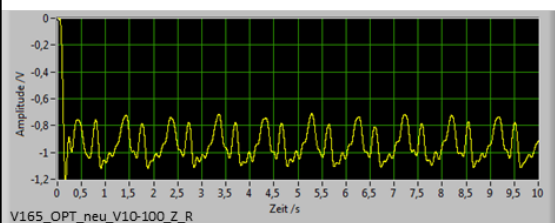
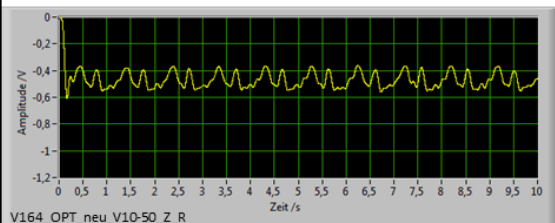
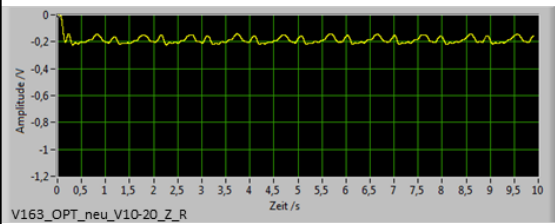
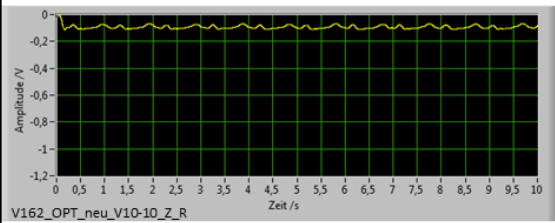
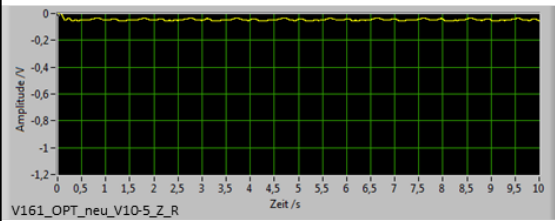
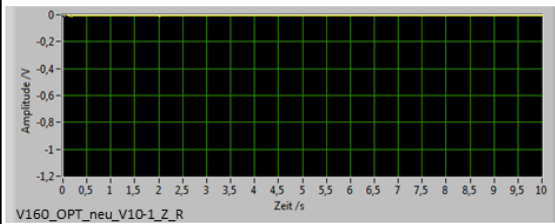
V148–153: Verstärkung 1: 1fach, Licht: rot (625nm)



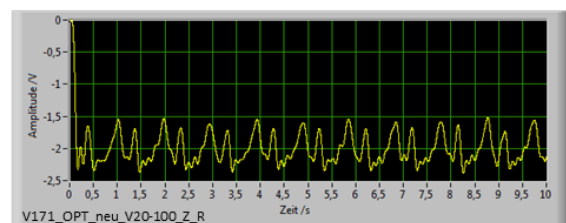
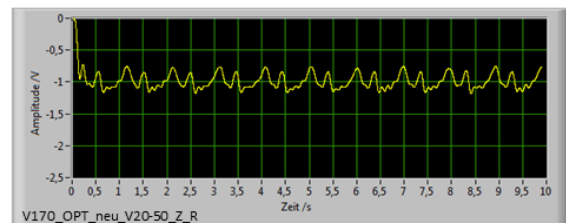
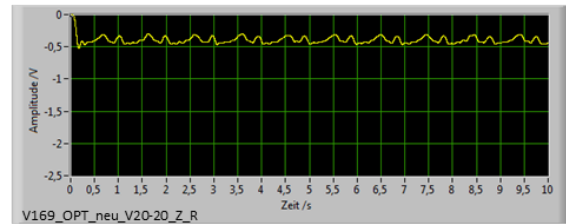
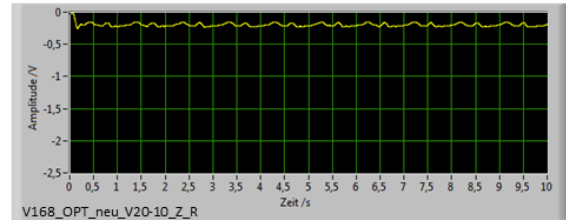
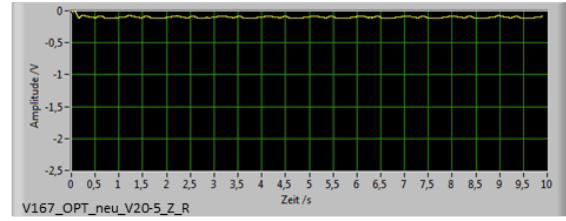
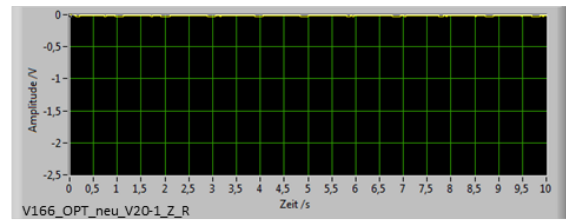
V154–159: Verstärkung 1: 5fach, Licht: rot (625nm)



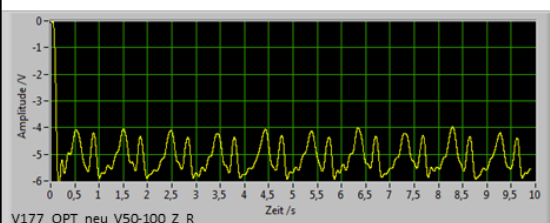
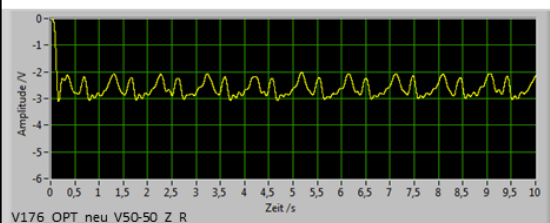
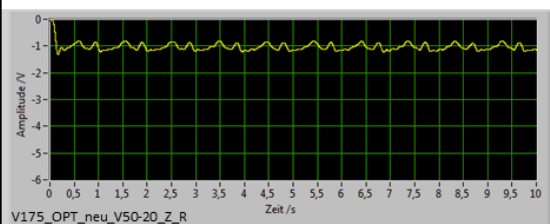
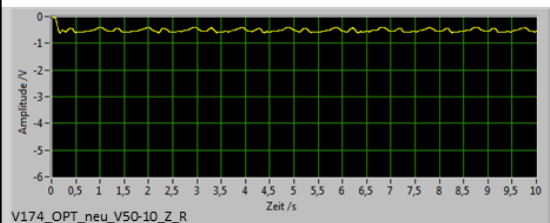
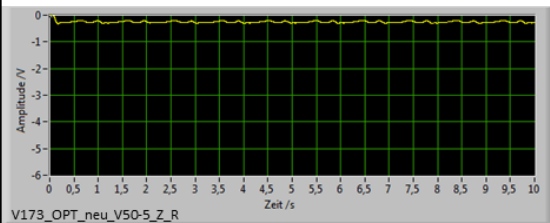
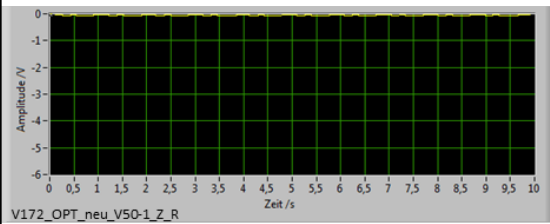
V160-165: Verstärkung 1: 10fach, Licht: rot ( 625nm)



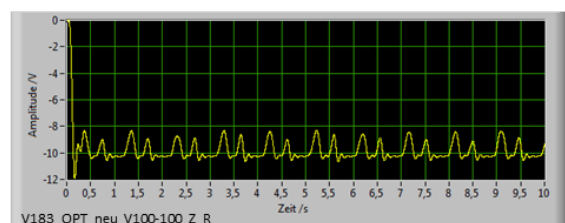
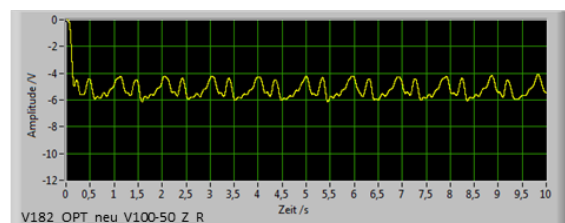
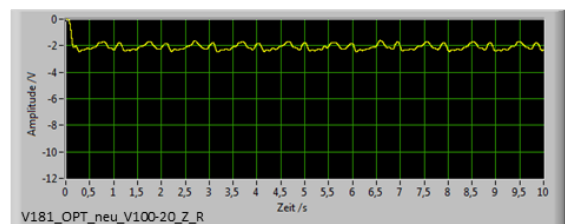
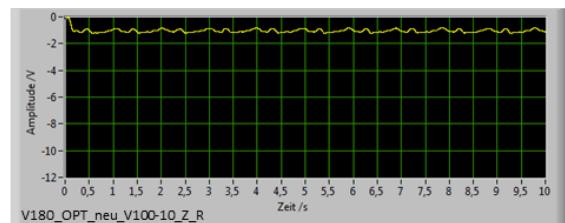
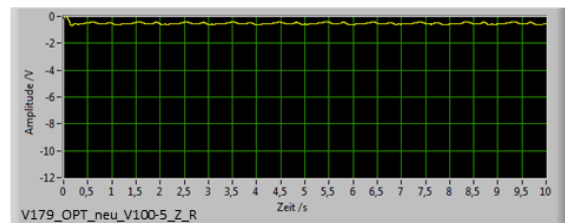
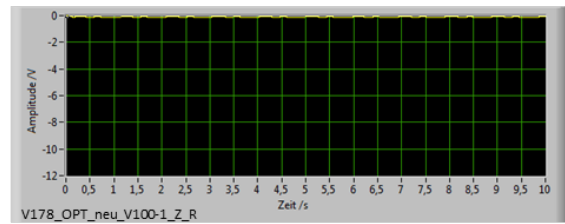
V166-171: Verstärkung 1: 20fach, Licht: rot ( 625nm)



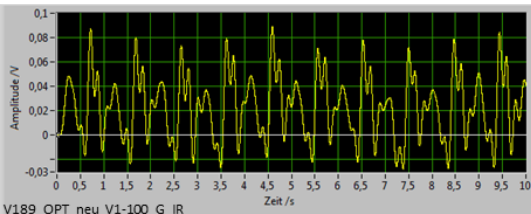
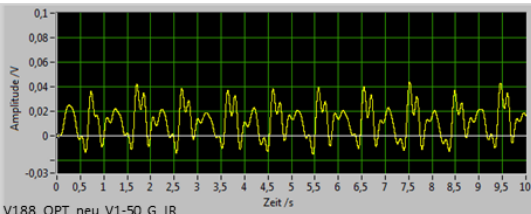
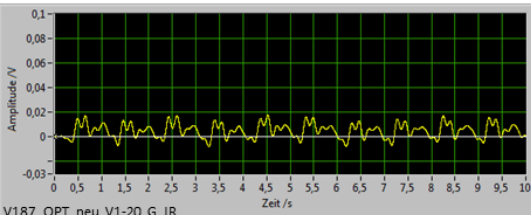
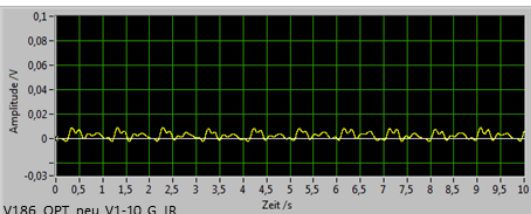
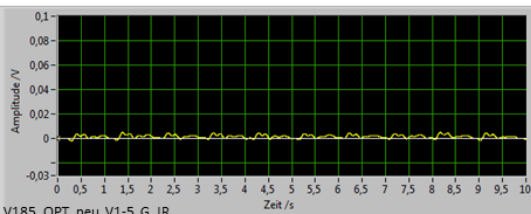
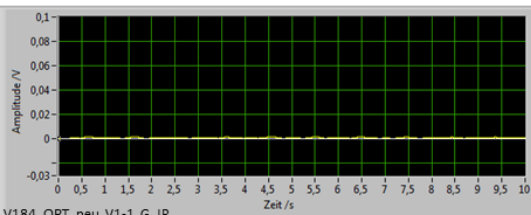
V172-177: Verstärkung 1: 50fach, Licht: rot ( 625nm)



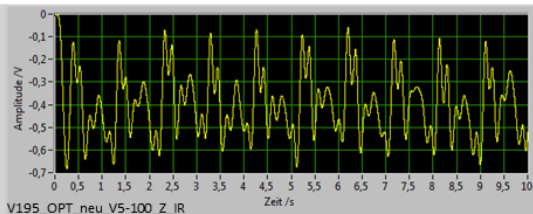
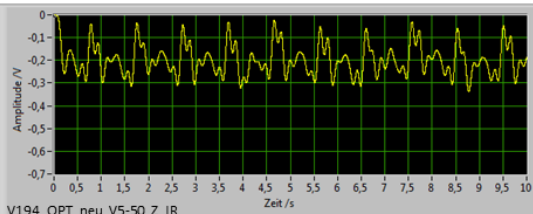
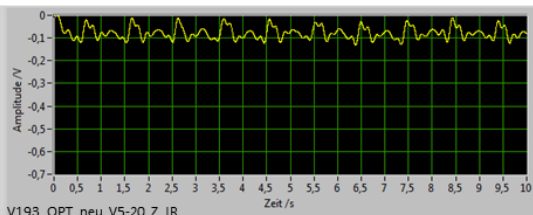
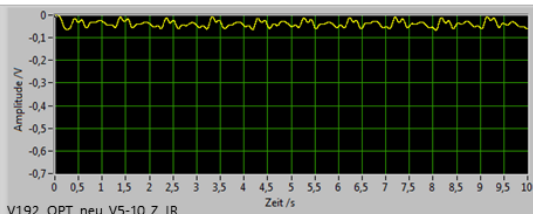
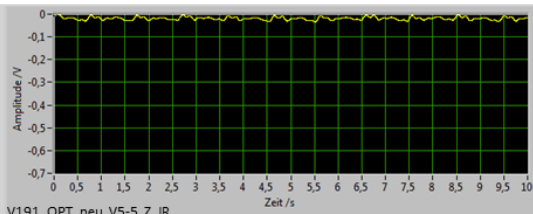
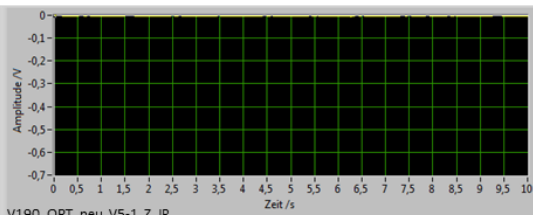
V178-183: Verstärkung 1: 100fach, Licht: rot ( 625nm)



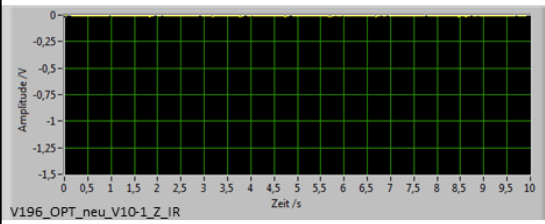
V184-189: Verstärkung 1: 1fach, Licht: infrarot ( 940nm)



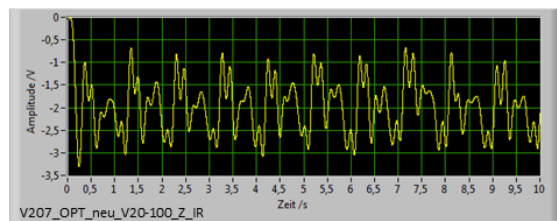
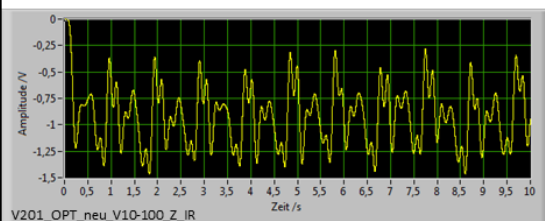
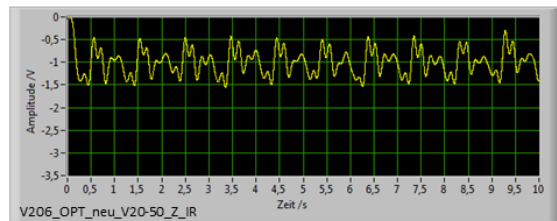
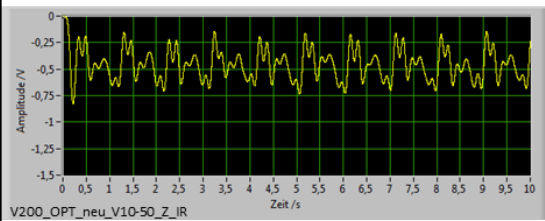
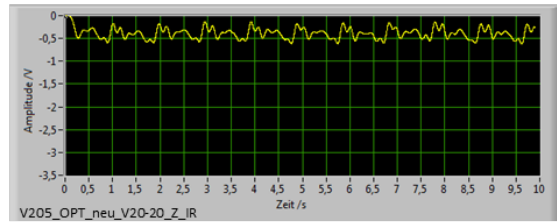
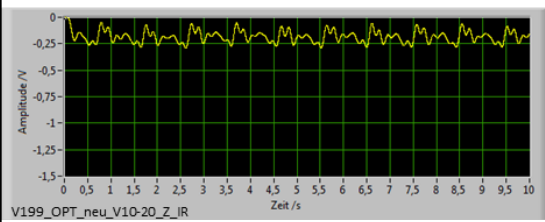
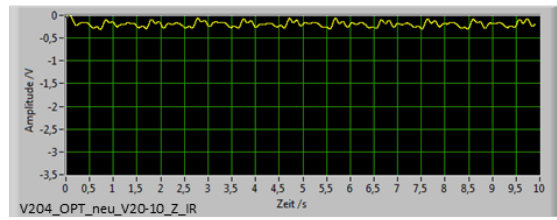
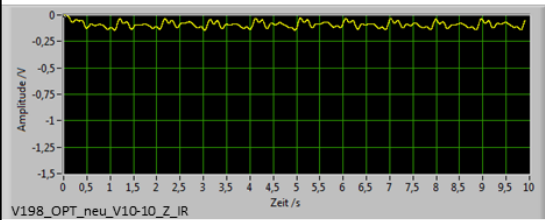
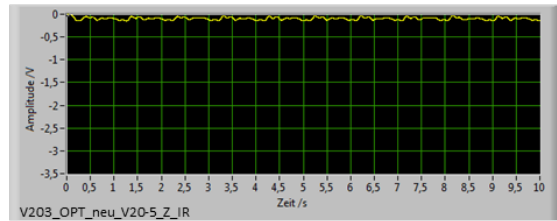
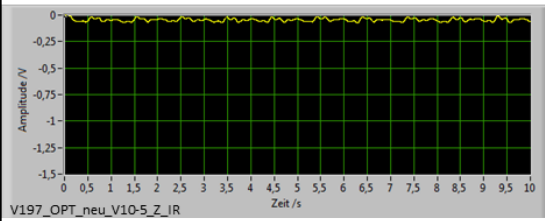
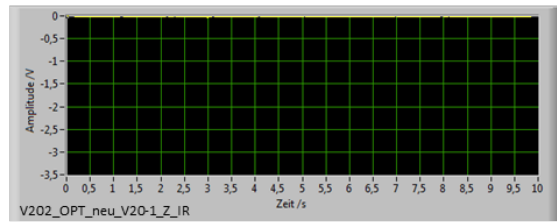
V190-195: Verstärkung 1: 5fach, Licht: infrarot ( 940nm)



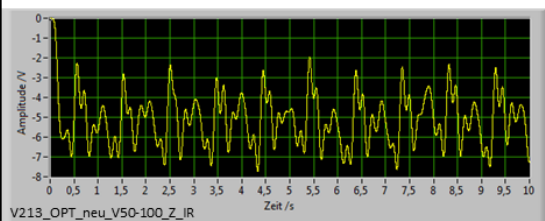
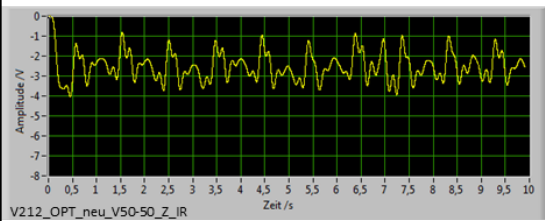
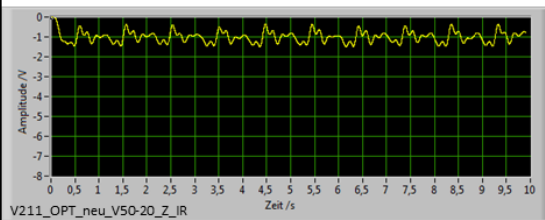
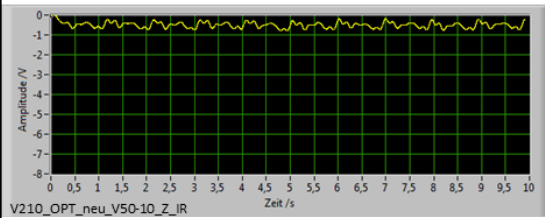
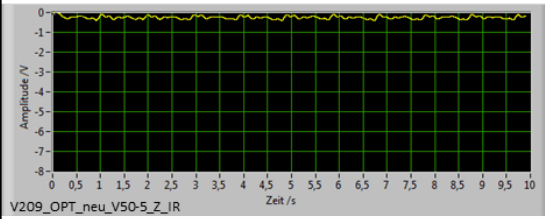
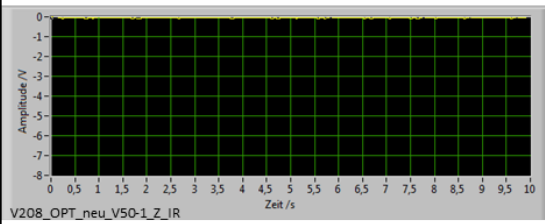
V196-201: Verstärkung 1: 10fach, Licht: infrarot ( 940nm)



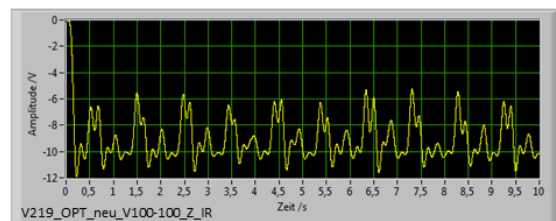
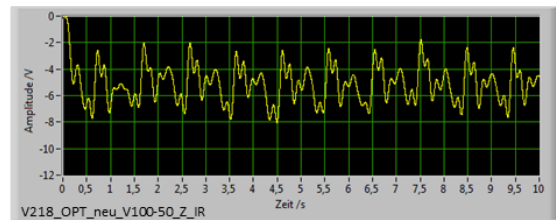
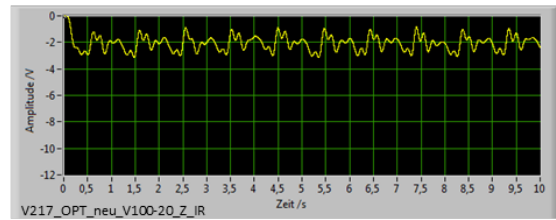
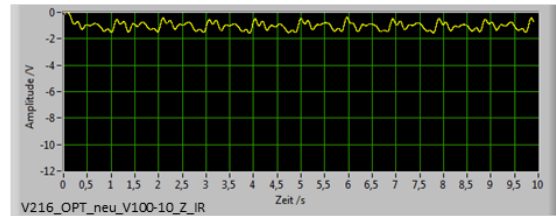
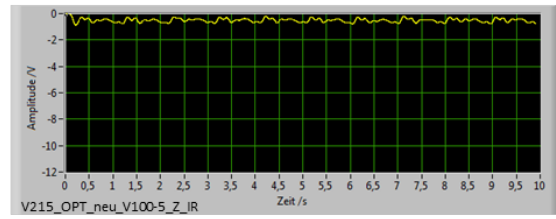
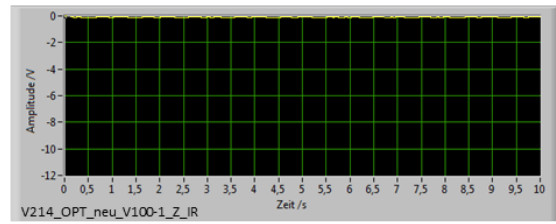
V202-207: Verstärkung 1: 20fach, Licht: infrarot ( 940nm)



V208-213: Verstärkung 1: 50ach, Licht: infrarot ( 940nm)



V214-219: Verstärkung 1: 100fach, Licht: infrarot ( 940nm)



## 8.2 Protokoll für Versuchsdurchführungen mit dem Photoplethysmographie-Aufbau

### Versuchsaufbau

Kreislauf- und Lichtquellenaufbau:

- 84 cm Schläuche in die Pumpen einlegen, die kurzen Enden (10 cm) werden beim Zahnkreislauf nach unten ausgeführt, beim Gingivakreislauf nach oben.
- Schlauch so einlegen, dass die gelben Schlauchmarkierungen von außen bündig mit dem Umlaufgehäuse abschließen, dann mit den Schlauchklemmen und Kalibrierstäbchen (Distanzhalter zum Umlaufgehäuse für definierte Klemmkraft) fixieren.
- Die kurzen Schlauchenden mit Kunststoffringen versehen, in Krokodilklemmen klemmen und über die waagerechten Enden des T-Stücks mit den 14 cm langen Schläuchen verbinden.
- Die freien Enden des 14 cm langen Schlauches werden im Zahnkreislauf mit der geriffelten Seite der Kapillare, im Gingivakreislauf mit dem mesialen Ende des Zahnmodells verbunden. Kapillare durch den Zahn führen und je einen 16 cm langen Schlauch an Kapillare und Gingivaausfluss anstecken (noch nicht bis auf Anschlag aufschieben).
- Zahnmodell unter Kontrolle der Spannungsfreiheit der Kapillare und korrekter Schlauchführung in die sensorseitige Halterklemme drücken, zweite Klemmenhälfte entsprechend anbringen und die beiden Klemmenschrauben anziehen, nachdem die Kapillare bis auf Anschlag des oberen Schlauches in das Modell geschoben und der untere Schlauch ebenfalls auf Anschlag am Modell hochgeschoben wurde.
- Drucksensoren per Kanülenspritze mit Silikonöl blasenfrei und randvoll beschicken. Drucksensor 1 am T-Stück im Zahnkreislauf anschließen, Drucksensor 2 entsprechend im Gingivakreislauf anschließen.
- Die noch freien Enden der Pumpenschläuche werden mit den Ansaugstutzen verbunden, dieser wie auch die 16 cm-Schläuche in das Blutglas getaucht und dieses mit Parafilm abgedeckt.

- Pumpen auf Geschwindigkeit „04“ stellen und Drucksensoren durch kurzes Abstecken entlüften.
- Pumpen auf Geschwindigkeit „09“ stellen und vorlaufen lassen, Luftbläschen werden durch Zusammendrücken des Schlauches aus dem System entfernt.
- Lichtwellenleiter bis auf Kontakt in die Halterungen an der Modellklemme und mit besonderer Vorsicht in die LED-Leiste einführen, Fixierung festziehen. Der Lichtleiter darf zu keiner Zeit geknickt oder auf Torsion belastet werden.
- Diodenkästchen per Kabel an Lichtstromquelle anschließen: Masse (schwarz) konstant angeschlossen, pos. Kontakt (rot) von entsprechender LED. 3,5mm Klinkenstecker zur Lüfterversorgung anstecken.

Außer den beiden Pumpen müssen zum Auf- und Abbau immer alle Geräte abgeschaltet sein!

#### SFH229 – PPG1 – Science Workshop:

- Sensor SFH229 mit Bananenstecker am Photoplethysmographen (PPG) 1 bei „Zahn“ anschließen, PPG1-Ausgang über Audio-Audio-Kabel am Kanal A des Science-Workshop anschließen.
- Drucksensor 1 (Zahn) mit Kanal B und Drucksensor 2 (Gingiva) mit Kanal C am Science Workshop verbinden.
- Voltmeter am PPG1 einstecken, Voltmeter einschalten und korrekte Skalierung kontrollieren.
- USB-Anschluss des Science Workshop am Notebook anschließen, Datastudio starten.

#### SFH229 – PPG1- Interface PPG2:

- Sensor SFH229 mit Bananenstecker am Photoplethysmographen (PPG) 1 bei „Zahn“ anschließen.



- PPG1-Ausgang über Audio-BNC-Kabel und BNC-Bananenbuchsen-Adapter an einen der externen Eingängen des PPG2 anschließen.
- Drucksensor 1 (Zahn) mit der Buchse „Druck Zahn“ des PPG2 und Drucksensor 2 mit der Buchse „Druck Gingiva“ des PPG2 verbinden.
- PPG2 per USB-Kabel mit dem Notebook verbinden, LabView starten und korrekten Eingang für das Lichtsignal am PPG2 auswählen.
- Voltmeter am PPG2 einstecken, Voltmeter einschalten und korrekte Skalierung kontrollieren.

#### SFH229 – PPG2 – Interface PPG2:

- Sensor SFH229 mit Bananenstecker am „Eingang B“ des PPG2 anschließen, roten Kippschalter auf „Eingang B“ stellen.
- Drucksensor 1 (Zahn) mit der Buchse „Druck Zahn“ des PPG2 und Drucksensor 2 mit der Buchse „Druck Gingiva“ des PPG2 verbinden.
- PPG2 per USB-Kabel mit dem Notebook verbinden, LabView starten.
- Voltmeter am PPG2 einstecken, Voltmeter einschalten und korrekte Skalierung kontrollieren.

#### OPT101 – PPG2 – Interface PPG2:

- Sensor OPT101 per BNC an die Stromversorgung des PPG2, per Bananenstecker an den „Eingang A“ des PPG2 anschließen, roter Kippschalter auf „Eingang A“ stellen.
- Drucksensor 1 (Zahn) mit der Buchse „Druck Zahn“ des PPG2 und Drucksensor 2 mit der Buchse „Druck Gingiva“ des PPG2 verbinden.
- PPG2 per USB-Kabel mit dem Notebook verbinden, LabView starten.
- Voltmeter am PPG2 einstecken, Voltmeter einschalten und korrekte Skalierung kontrollieren.

Für alle Aufbauten:

- Steckdosenleiste und Geräte einschalten.
- Lichtnetzgerät erst über die Spannung hochdrehen, dann die Stromstärke einstellen (Lichtleiter muss eingesteckt sein!).
- Alle Versuche werden mit zugezogenem Vorhang, abgeschalteter Raumbeleuchtung und eingeschalteter Klimaanlage durchgeführt.

### **Richtlinien für die Versuchsdurchführung**

- Eine Versuch entspricht maximal 6 Unterversuchen, während derer die Messapparatur unverändert bleibt. Variiert werden nur Lichtquelle oder Durchblutung.
- Zusammengehörige Versuchsreihen müssen
  - a) an einem einzigen Tag
  - b) von nur einem Probanden
  - c) mit Blut aus einer Konserve (4-5 Schraubgläser) durchgeführt werden.
- Pro Unterversuch (entspricht einem Versuchsaufbau) können 5 Stichproben genommen werden. Pro Glasfläschchen können somit maximal 30 Stichproben genommen werden.
- Spätestens nach 2 Stunden muss das Glasfläschchen verworfen und ein Neues verwendet werden.
- Bei Messungen mit dem SFH229 muss vor jeder Stichprobe 2 min gewartet werden, bis sich der Graph eingependelt hat, mit dem OPT101 1 min. Grundsätzlich ist zwischen jeder Stichprobe durchzuführen:
  - a) Lichtleiter vom Zahnmodell abstecken und wieder neu anschließen.
  - b) Blutkreislauf leerpumpen, Spülen mit Wasser, Schraubglas mit EK aufschütteln.
  - c) nach Wiederbefüllen des Kreislaufs 1 bzw. 2 Minuten Vorlauf unter Beachtung der korrekten Phasenverschiebung der Pumpen und Luftblasenkontrolle.
- Zu jeder Stichprobe werden  $U_0$ ,  $U_L$ , Raumtemperatur notiert.

## **Versuchsabbau**

- Strom abschalten, entsprechend des Versuchsaufbaus alle Bauteile in umgekehrter Reihenfolge zurückbauen.
- Alle Schläuche ausbauen, mit Wasser durchspülen
- Verwahrung der Lichtleiter in Schutzhüllen
- Wischdesinfektion des Arbeitsplatzes und der Arbeitsmaterialien

### 8.3 Danksagung

Der erste und wichtigste Dank gilt Herrn Professor Dr. Gottfried Schmalz für die großzügige Überlassung dieses deutlich über die reine Zahnmedizin hinausgehenden Themas und das in mich gesetzte Vertrauen. Seine Freude am kompromisslosen, wissenschaftlichen Arbeiten auf höchstem Niveau war Grundlage für die Entstehung dieses einmaligen Forschungsprojektes unter Kooperation dreier DFG-Projekte und ergibt für mich das Musterbild eines Wissenschaftlers. Vielen Dank, dass ich unter Ihrer Federführung das wissenschaftliche Handwerk kennen und schätzen lernen durfte.

Der zweite große Dank gilt Herrn Dr. Karl-Anton Hiller, der die Entstehung dieser Arbeit mit unendlicher Geduld und gutem Rat zum richtigen Zeitpunkt eng begleitet hat. Seine mathematisch-klare Denkweise, sein erfrischender Humor und sein großer Erfahrungsschatz haben, wie schon zahlreiche Doktoranden zuvor betont haben, auch die Entstehung dieser Dissertation erst ermöglicht.

Meinen Mitstreitern und Wegbereitern Herrn Dr. Andreas Niklas, Herrn Dr. Andreas Jaeger, Herrn Maximilian Brandt, Herrn Andreas Hardt und Frau Irene Schulz gebührt großer Dank für die jederzeitige Unterstützung und zahlreiche gemeinsame Labortage. Der rege und freundschaftliche Gedanken-, Ideen- und Erfahrungsaustausch hat maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen und bleibt uns hoffentlich auch darüber hinaus erhalten.

Herrn Professor Dr. Gareth Monkman von der Fakultät für Elektro- und Informationstechnik der Ostbayerischen Technischen Hochschule Regensburg und Herrn Professor Dr. Sergey Ganichev von der Fakultät für Physik an der Universität Regensburg sowie ihren Mitarbeitern sei für die Unterstützung unserer Arbeitsgruppe durch ihre beiden DFG-Projekte und ihren fachlichen Rat gedankt. Die spannenden Diskussionen aus den unterschiedlichen Blickrichtungen der jeweiligen Fachrichtungen auf das gemeinsame Projekt haben das Herz und den besonderen Reiz dieser fruchtbaren Zusammenarbeit ausgemacht.

Besonderer Dank gilt Herrn Glasbläsermeister Markus Lindner, Leiter der Glasbläserei der Fakultät für Chemie der Universität Regensburg, der durch seine Experimentierfreudigkeit und sein großes Geschick die Verwirklichung mehrerer Glaskunstwerke, allen voran der Glaspulpa, ermöglicht hat. Ebenso sei Herrn Sommer und seinen Mitarbeitern der Mechani-

schen Werkstatt der Fakultät für Physik der Universität Regensburg gedankt, die geduldig der Entstehung aller metallischen Bauteile der Versuchsaufbauten mit Rat und Tat beiseite gestanden haben.

Bei den Mitarbeitern des Forschungslabors der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie an der Universitätsklinik Regensburg, insbesondere Herrn Andreas Eidt, Frau Christine Petzel, Frau Claudia Waha und Frau Carola Bolay, bedanke ich mich für die immer freundliche, geduldige und kompetente Unterstützung bei der Laborarbeit und allen möglichen Problemstellungen.

Meiner Freundin Constanze danke ich für ihre liebevolle und motivierende Unterstützung und die Zeit, in der meine Aufmerksamkeit mehr der Erstellung dieser Arbeit denn ihr gegolten hat.

Abschließend möchte ich meinen Eltern danken. Sie haben mir eine gute schulische Ausbildung und das Studiums der Zahnmedizin ermöglicht und mich dabei mit allen Kräften und vorausschauend unterstützt. Der hohe Wert, den sie auf Fleiß und eine exakte Arbeitsweise legten, kam auch dieser Arbeit zugute und hat ihr Gelingen ermöglicht.

## 8.4 Lebenslauf

Stephan Knörzer

Geburtsdatum 20.01.1988

Geburtsort Aalen

Schulausbildung 08/94 - 07/95 Katholische Grundschule, Lüttringhausen

09/95 - 07/98 Volksschule, Bogen

09/98 - 07/07 Veit-Höser-Gymnasium, Bogen

07/07 Abitur

Zivildienst 01/07 - 06/08 Poliklinik für zahnärztliche Prothetik am  
Universitätsklinikum Regensburg

Studium 10/08 - 12/13 Studium der Zahnmedizin an der Universität  
Regensburg

09/09 Naturwissenschaftliche Vorprüfung

04/11 Zahnärztliche Vorprüfung

12/13 Zahnärztliche Prüfung

03/14 Approbation als Zahnarzt

04/10 – 03/2014 Stipendiat der Hanns-Seidel-Stiftung e.V.

Berufliche Tätigkeit seit 07/14 Assistenz Zahnarzt in der Praxis Dr. Gerhard und  
Hans-Georg Herrmann, Regensburg

#### Publikationen:

Optische Detektion gepulster und konstanter Pulpadurchblutung unter Berücksichtigung zahnumgebender Gewebedurchblutung in vitro. Niklas A, Hiller K-A, Knörzer S, Putzger J, Ermer C, Schulz I, Monkman G, Giglberger S, Danilov S, Hirmer M, Ganichev S, Schmalz G: AfG (DGZMK) 45th Annual Meeting, Mainz, 10th – 11th January 2013

Schulz I, Putzger J, Niklas A, Brandt M, Jaeger A, Hardt A, Knörzer S et al. PPG signal acquisition and analysis on in vitro tooth model for dental pulp vitality assessment. ARC 2012. Submission 16. [191]

## 9. Literaturverzeichnis

- [1] Abd-Elmeguid A, Yu D. Dental pulp neurophysiology: Part 1. Clinical and diagnostic implications. *J Can Dent Assoc* 2009;75(1):55–59.
- [2] Abd-Elmeguid A, Yu D. Dental pulp neurophysiology: Part 2. Current diagnostic tests to assess pulp vitality. *J Can Dent Assoc* 2009;75(2):139–143.
- [3] Akpınar KE, Er K, Polat S, Polat NT. Effect of gingiva on laser Doppler pulpal blood flow measurements. *J Endod* 2004;30(3):138–140.
- [4] Alfano R, Lam W, Zarrabi H, Alfano M, Cordero J. Human teeth with and without caries studied by laser scattering, fluorescence, and absorption spectroscopy. *IEEE Quantum Electron* 1984;20(12):1512–1516.
- [5] Allen J. Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement. *Physiol Meas* 2007;28(3):R1–R39.
- [6] Altshuler GB, Grisimov VN. New optical effects in the human hard tooth tissues. *SPIE Proceedings* 1990;1353:97–102.
- [7] Amess TR, Andrew D, Don H, Matthews B. The Contribution Of Periodontal And Gingival Tissues To The Laser Doppler Blood-Flow Signal Recorded From Human Teeth. *J Physiol* 1993;473:142.
- [8] Armstrong J, Meiselman H, Wenby R, Fisher T. Modulation of red blood cell aggregation and blood viscosity by the covalent attachment of Pluronic copolymers. *Biorheology* 2001;38(2-3):239–247.
- [9] Avery JK. Structural elements of the young normal human pulp. *Oral Surg, Oral Med, Oral Path* 1971;32(1):113–125.
- [10] Aziz SM, Khambatta F, Vaithianathan T, Thomas JC, Clark JM, Marshall R. A near infrared instrument to monitor relative hemoglobin concentrations of human bone tissue in vitro and in vivo. *Rev Sci Instrum* 2010;81(4):043111.
- [11] Basak K, Manjunatha M, Dutta PK. Review of laser speckle-based analysis in medical imaging. *Med Biol Eng Comput* 2012;50(6):547–558.
- [12] Bender IB. Pulpal pain diagnosis - a review. *J Endod* 2000;26(3):175–179.
- [13] Binzoni T, Blanchi S, Fasel JH, Bounameaux H, Hiltbrand E, Delpy D. Human tibia bone marrow blood perfusion by non-invasive near infrared spectroscopy: a new tool for studies on microgravity. *J Gravit Physiol* 2002;9(1):P183–4.
- [14] Binzoni T, Leung TS, Courvoisier C, Giust R, Tribillon G, Gharbi T, Delpy DT. Blood volume and haemoglobin oxygen content changes in human bone marrow during orthostatic stress. *J Physiol Anthropol* 2006;25(1):1–6.



- [15] Binzoni T, Tchernin D, Hyacinthe J-N, van de Ville D, Richiardi J. Pulsatile blood flow in human bone assessed by laser-Doppler flowmetry and the interpretation of photoplethysmographic signals. *Physiol Meas* 2013;34(3):N25–N40.
- [16] Blodgett DW. Applications of laser-based ultrasonics to the characterization of the internal structure of teeth. *J Acoust Soc Am* 2003;114(1):542.
- [17] Bosch ten JJ, Coops JC. Tooth color and reflectance as related to light scattering and enamel hardness. *J Dent Res* 1995;74(1):374–380.
- [18] Brandt M. Med. Diss. in Vorbereitung: Universität Regensburg.
- [19] Briers JD. Laser speckle contrast imaging for measuring blood flow. *Opt Appl* 2007;37(1-2):139–152.
- [20] Briers JD. Wavelength dependence of intensity fluctuations in laser speckle patterns from biological specimens. *Opt Commun* 1975;13(3):324–326.
- [21] Briers JD, Fercher AF. Laser speckle technique for the visualization of retinal blood flow. *The Max Born Centenary Conference* 1983;0369:22–28.
- [22] Briers JD, Richards G, He XW. Capillary blood flow monitoring using laser speckle contrast analysis (LASCA). *J Biomed Opt* 1999;4(1):164–175.
- [23] Brunner J, Beard P. Pulsed photoacoustic Doppler flowmetry using time-domain cross-correlation: accuracy, resolution and scalability. *J Acoust Soc Am* 2012;132(3):1780–1791.
- [24] Burfeindt J, Gondokusumo B, Ließ HD. Angewandte optische Untersuchungen im nahen Infrarot- und Rotbereich an Humanvollblut; Anwendungsbeispiele. *Biomed Tech* 1985;30(1-2):18–23.
- [25] Calil E, Caldeira CL, Gavini G, Lemos EM. Determination of pulp vitality in vivo with pulse oximetry. *Int Endod J* 2008;41(9):741–746.
- [26] Carlson KA, Jahr JS. A historical overview and update on pulse oximetry. *Anesthesiol Rev* 1993;20(5):173–181.
- [27] Chachapan D, A A, H M. Sensitivity vs vitality: a comprehensive review on pulp vitality tests. *RRJDS* 2013;1(3):27–33.
- [28] Challoner A. Photoelectric plethysmograph, non-invasive physiological measurements. Rolfe P, editor 1979. London.
- [29] Chen E, Abbott PV. Dental pulp testing: a review. *Int J Dent* 2009;2009(2):365785.
- [30] Chen S-L, Xie Z, Carson PL, Wang X, Guo LJ. In vivo flow speed measurement of capillaries by photoacoustic correlation spectroscopy. *Opt Lett* 2011;36(20):4017–4019.

- [31] Chen Y-L, Chang H-H, Chiang Y-C, Lin C-P. Application and development of ultrasonics in dentistry. *J Formos Med Assoc* 2013;112(11):659–665.
- [32] Cho Y-W, Park S-H. Use of ultrasound Doppler to determine tooth vitality in a discolored tooth after traumatic injury: its prospects and limitations. *Restor Dent Endod* 2014;39(1):68–73.
- [33] Cimalla P, Walther J, Mittasch M, Koch E. Shear flow-induced optical inhomogeneity of blood assessed in vivo and in vitro by spectral domain optical coherence tomography in the 1.3  $\mu\text{m}$  wavelength range. *J Biomed Opt* 2011;16(11):116020.
- [34] Ciobanu G, Ion I, Ungureanu L. Testing of pulp vitality by pulsoximetry. *Odontology* 2012;2(2):94–98.
- [35] Dahl E, Majör IA. The fine structure of the vessels in the human dental pulp. *Acta Odont Scand* 1973;31(4):223–230.
- [36] de Moraes CAH, Bernardineli N, Lima WM, Cupertino RR, Guerisoli DMZ. Evaluation of the temperature of different refrigerant sprays used as a pulpal test. *Aust Endod J* 2008;34(3):86–88.
- [37] Delorme S, Debus J, Jenderka K-V. *Sonographie*. 2012. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. ISBN: 9783131369536.
- [38] Diaz-Arnold AM, Arnold MA, Wilcox LR. Optical detection of hemoglobin in pulpal blood. *J Endod* 1996;22(1):19–22.
- [39] Diaz-Arnold AM, Wilcox LR, Arnold MA. Optical detection of pulpal blood. *J Endod* 1994;20(4):164–168.
- [40] Dick SK, Chistyakova GG, Terekh AS, Smirnov AV, Zadeh MMS, Barun VV. Characterization of blood flow rate in dental pulp by speckle patterns of backscattered light from an in vivo tooth. *J Biomed Opt* 2014;19(10):106012.
- [41] Dietsche G. *Optische Abbildung von Gehirnfunktionen mit vielfach gestreutem Licht*. Diss.: Universität Konstanz; 2007.
- [42] Dietsche G, Ninck M, Ortolf C, Li J, Jaillon F, Gisler T. Fiber-based multispeckle detection for time-resolved diffusing-wave spectroscopy: characterization and application to blood flow detection in deep tissue. *Appl Opt* 2007;46(35):8506–8514.
- [43] Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Endod Topics* 2013;28(1):2–23.
- [44] Dunn AK, Bolay H, Moskowitz MA, Boas DA. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21(3):195–201.

- [45] El-Sharkawy YH, Badr Y, Gadallah M, El-Sherif AF. Diagnostic of human teeth using photoacoustic response. *Proc SPIE, Lasers in Dentistry XII* 2006;6137:613701.
- [46] El-Sherif AF, El-Sharkawy YH. Laser-induced photothermal technique used for detection of caries in human tooth. *Proc SPIE* 2008;6843:68430B.
- [47] Enejder AMK, Swartling J, Aruna P, Andersson-Engels S. Influence of cell shape and aggregate formation on the optical properties of flowing whole blood. *Appl Opt* 2003;42(7):1384–1394.
- [48] Evans D, Reid J, Strang R, Stirrup D. A comparison of laser Doppler flowmetry with other methods of assessing the vitality of traumatised anterior teeth. *Dent Traumatol* 1999;15(6):284–290.
- [49] Fanibunda KB. A method of measuring the volume of human dental pulp cavities. *Int Endod J* 1986;19(4):194–197.
- [50] Farzam P, Zirak P, Binzoni T, Durduran T. Pulsatile and steady-state hemodynamics of the human patella bone by diffuse optical spectroscopy. *Physiol Meas* 2013;34(8):839–57.
- [51] Fein ME, Gluskin AH, Goon WW, Chew BB, Crone WA, Jones HW. Evaluation of optical methods of detecting dental pulp vitality. *J Biomed Opt* 1997;2(1):58–73.
- [52] Forrester DKR, Stewart C, Tulip J, Leonard C, Bray RC. Comparison of laser speckle and laser Doppler perfusion imaging: Measurement in human skin and rabbit articular tissue. *Med Biol Eng Comput* 2002;40(6):687–697.
- [53] Friebe M. Bestimmung optischer Eigenschaften von humanem Vollblut in Abhängigkeit von verschiedenen physiologischen und biochemischen Zustandsparametern. 2008. Berlin, dissertation.de. ISBN: 9783866243231.
- [54] Friebe M, Helfmann J, Müller G, Meinke M. Influence of shear rate on the optical properties of human blood in the spectral range 250 to 1100nm. *J Biomed Opt* 2007;12(5):054005–054005–8.
- [55] Friebe M, Helfmann J, Netz U, Meinke M. Influence of oxygen saturation on the optical scattering properties of human red blood cells in the spectral range 250 to 2000 nm. *J Biomed Opt* 2009;14(3):034001.
- [56] Friebe M, Roggan A, Müller G, Meinke M. Determination of optical properties of human blood in the spectral range 250 to 1100 nm using Monte Carlo simulations with hematocrit-dependent effective scattering phase functions. *J Biomed Opt* 2006;11(3):034021.
- [57] Fried D, Glens R, Featherstone J, Seka W. Nature of light scattering in dental enamel and dentin at visible and near-infrared wavelengths. *Appl Opt* 1995;34(7):1–10.

- [58] Fujii H, Nohira K, Yamamoto Y, Ikawa H, Ohura T. Evaluation of blood flow by laser speckle image sensing. Part 1. *Appl Opt* 1987;26(24):5321–5325.
- [59] Fujii M, Nakajima K, Sakamoto K, Kanai H. Orientation and deformation of erythrocytes in flowing blood. *Ann N Y Acad Sci* 1999;873:245–261.
- [60] Galler KM, Buchalla W, Hiller K-A, Federlin M, Eidt A, Schiefersteiner M, Schmalz G. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *J Endod* 2015;41(3):363–368.
- [61] Gargiulo AW, Wentz FM, Orban B. Dimensions and relations of the dentogingival junction in humans. *J Periodontol* 1961;32(3):261–267.
- [62] Gazelius B, Olgart L, Edwall B, Edwall L. Non-invasive recording of blood flow in human dental pulp. *Dent Traumatol* 1986;2(5):219–221.
- [63] Ghorayeb SR, Bertoncini CA, Hinders MK. Ultrasonography in dentistry. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2008;55(6):1256–1266.
- [64] Goho C. Pulse oximetry evaluation of vitality in primary and immature permanent teeth. *Pediatr Dent* 1999;21(2):125–127.
- [65] Goldsmith HL. The Microrheology of Red Blood Cell Suspensions. *J Gen Physiol* 1968;52(1):5–28.
- [66] Gopikrishna V. Assessment of the efficacy of an indigenously developed pulse oximeter dental sensor holder for pulp vitality testing. *Ind J Dent Res* 2006;17(3):111–113.
- [67] Gopikrishna V, Pradeep G, Venkatheshbabu N. Assessment of pulp vitality: a review. *Int J Pediatr Dent* 2009;19(1):3–15.
- [68] Gopikrishna V, Tinagupta K, Kandaswamy D. Comparison of electrical, thermal, and pulse oximetry methods for assessing pulp vitality in recently traumatized teeth. *J Endod* 2007;33(5):531–535.
- [69] Gopikrishna V, Tinagupta K, Kandaswamy D. Evaluation of Efficacy of a New Custom-Made Pulse Oximeter Dental Probe in Comparison With the Electrical and Thermal Tests for Assessing Pulp Vitality. *J Endod* 2007;33(4):411–414.
- [70] Hale GM, Querry MR. Optical constants of water in the 200-nm to 200- $\mu$ m wavelength region. *Appl Opt* 1973;12(3):555–563.
- [71] Hammer M, Schweitzer D, Michel B, Thamm E, Kolb A. Single scattering by red blood cells. *Appl Opt* 1998;37(31):7410–7418.
- [72] Hardt A. Med. Diss. in Vorbereitung: Universität Regensburg.
- [73] Harms V. Physik für Mediziner und Pharmazeuten. 2010. Lindhöff, Harms. ISBN: 9783860261712.

- [74] Hartmann A, Azérad J, Boucher Y. Environmental effects on laser Doppler pulpal blood-flow measurements in man. *Arch Oral Biol* 1996;41(4):333–339.
- [75] Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. 6. Auflage, 2013. Köln, Deutscher Zahnärzte Verlag. ISBN: 9783769134483.
- [76] Heyeraas KJ, Berggreen E. Interstitial Fluid Pressure in Normal and Inflamed Pulp. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;10(3):328–336.
- [77] Hick C, Hick A. Intensivkurs Physiologie. 6. Auflage, 2012. München, Elsevier, Fischer & Urban Verlag. ISBN: 9783437418945.
- [78] Hiller K-A, Christa T, Niklas A, Danilov SN, Ganichev SD, Schmalz G. An in-vitro-model of a human jaw for testing optical properties. *J Dent Res* 92 (Spec Iss A): 3716, 2013 ([www.iadr.org](http://www.iadr.org))
- [79] Hirmer M, Danilov SN, Giglberger S, Putzger J, Niklas A, Jäger A, Hiller K-A, Löffler S, Schmalz G, Redlich B, Schulz I, Monkman G, Ganichev SD. Spectroscopic study of human teeth and blood from visible to terahertz frequencies for clinical diagnosis of dental pulp vitality. *J Infrared Milli Terahz Waves* 2012;33(3):366–375.
- [80] Hock J, Nuki K, Schlenker R, Hawks A. Clearance rates of Xenon-133 in non-inflamed and inflamed gingiva of dogs. *Arch Oral Biol* 1980;25(7):445–449.
- [81] Hoke JA, Burkes EJ, White JT, Duffy MB, Klitzman B. Blood-flow mapping of oral tissues by laser Doppler flowmetry. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1994;23(5):312–315.
- [82] Huang GTJ. Dental pulp and dentin tissue engineering and regeneration: advancement and challenge. *Front Biosci (Elite Ed)* 2011;3:788–800.
- [83] Huang GTJ, Garcia-Godoy F. Missing concepts in de novo pulp regeneration. *J Dent Res* 2014;93(8):717–724.
- [84] Ikawa M, Horiuchi H, Ikawa K. Optical characteristics of human extracted teeth and the possible application of photoplethysmography to the human pulp. *Arch Oral Biol* 1994;39(10):821–827.
- [85] Ikawa M, Vongsavan N, Horiuchi H. Scattering of laser light directed onto the labial surface of extracted human upper central incisors. *J Endod* 1999;25(7):483–485.
- [86] Ingólfsson AR, Tronstad L, Hersh EV, Riva CE. Efficacy of laser Doppler flowmetry in determining pulp vitality of human teeth. *Endod Dent Traumatol* 1994;10(2):83–87.
- [87] Iohara K, Zheng L, Ito M, Tomokiyo A, Matsushita K, Nakashima M. Side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis, and neurogenesis. *Stem Cells* 2006;24(11):2493–2503.

- [88] Jaeger A. In Vitro Untersuchungen an humanen Zähnen zur Ermittlung der Anwendbarkeit der Photoplethysmographie zur Detektion des Blutflusses in der Zahnpulpa unter Berücksichtigung des Blutflusses der Gingiva. Med. Diss. Universität Regensburg; 2014.
- [89] Jafarzadeh H. Laser Doppler flowmetry in endodontics: a review. *Int Endod J* 2009;42(6):476–490.
- [90] Jafarzadeh H, Rosenberg PA. Pulse Oximetry: Review of a Potential Aid in Endodontic Diagnosis. *J Endod* 2009;35(3):329–333.
- [91] Jaillon F, Li J, Dietsche G, Elbert T, Gisler T. Activity of the human visual cortex measured non-invasively by diffusing-wave spectroscopy. *Opt Express* 2007;15(11):6643–6650.
- [92] Jaillon F, Skipetrov SE, Li J, Dietsche G, Maret G, Gisler T. Diffusing-wave spectroscopy from head-like tissue phantoms: influence of a non-scattering layer. *Opt Express* 2006;14(22):10181–10194.
- [93] Kahan RS, Gulabivala K, Snook M, Setchell DJ. Evaluation of a pulse oximeter and customized probe for pulp vitality testing. *J Endod* 1996;22(3):105–109.
- [94] Kakino S, Kushibiki S, Yamada A, Miwa Z. Optical Measurement of Blood Oxygen Saturation of Dental Pulp. *ISRN Biomedical Engineering* 2013;2013(5):1–6.
- [95] Kakino S, Miwa Z, Kirimoto A, Ohuchi K, Takatani S, Takagi Y. A new multi-wavelength optical-plethysmograph for quantitative determination of pulpal hemoglobin content and oxygen level using green and near-infrared LEDs. *Proc SPIE* 2007;6425:642508–642508–9.
- [96] Kakino S, Takagi Y, Takatani S. Absolute transmitted light plethysmography for assessment of dental pulp vitality through quantification of pulp chamber hematocrit by a three-layer model. *J Biomed Opt* 2008;13(5):054023.
- [97] Kamal AAR, Harness JB, Irving G, Mearns AJ. Skin photoplethysmography - a review. *Comput Methods Programs Biomed* 1989;28(4):257–269.
- [98] Karayilmaz H, Kirzioğlu Z. Comparison of the reliability of laser Doppler flowmetry, pulse oximetry and electric pulp tester in assessing the pulp vitality of human teeth. *J Oral Rehabil* 2011;38(5):340–347.
- [99] Kerdvongbundit V, Sirirat M, Sirikulsathean A, Kasetsuwan J, Hasegawa A. Blood flow and human periodontal status. *Odontology* 2002;90(1):52–56.
- [100] Ketterl W. Age-induced changes in the teeth and their attachment apparatus. *Int Dent J* 1983;33(3):262–271.
- [101] Kiefel V. Transfusionsmedizin und Immunhämatologie. 4. Auflage, 2010. Berlin, Heidelberg, New York, Springer Verlag. ISBN: 9783643127649.

- [102] Kienle A, Lilge L, Vitkin IA, Patterson MS, Wilson BC, Hibst R, Steiner R. Why do veins appear blue? A new look at an old question. *Appl Opt* 1996;35(7):1151–1160.
- [103] Kijssamanmith K, Timpawat S, Vongsavan N, Matthews B. A comparison between red and infrared light for recording pulpal blood flow from human anterior teeth with a laser Doppler flow meter. *Arch Oral Biol* 2011;56(6):614–618.
- [104] Kim BS, Yoo SK. Motion artifact reduction in photoplethysmography using independent component analysis. *IEEE Trans Biomed Eng* 2006;53(3):566–568.
- [105] Kim S. Microcirculation of the dental pulp in health and disease. *J Endod* 1985;11(11):465–471.
- [106] Kim S, Edwall L, Trowbridge H, Chien S. Effects of local anesthetics on pulpal blood flow in dogs. *J Dent Res* 1984;63(5):650–652.
- [107] Kim S, Schuessler G, Chien S. Measurement of blood flow in the dental pulp of dogs with the 133 Xenon washout method. *Arch Oral Biol* 1983;28(6):501–505.
- [108] Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K. Lasers in endodontics: a review. *Int Endod J* 2000;33(3):173–185.
- [109] Klingebiel R. Entwicklung eines Modells zur Untersuchung des Einflusses verschiedener Parameter auf Blutflussmessungen in vitro. *Med. Diss.: Universität Regensburg*; 2008.
- [110] Kramer IRH. The vascular architecture of the human dental pulp. *Arch Oral Biol* 1960;2(3):177–189.
- [111] Kretschmer V, Gombotz H, Wittenberg-Rump G. *Transfusionsmedizin - klinische Hämotherapie*. 2008. Stuttgart, New York, Thieme Verlag. ISBN: 9783131457516.
- [112] Kruijt B, de Bruijn HS, van der Ploeg-van den Heuvel A, Sterenborg HJCM, Robinson DJ. Laser speckle imaging of dynamic changes in flow during photodynamic therapy. *Lasers Med Sci* 2006;21(4):208–212.
- [113] Kumar GS. *Orban's Oral Histology & Embryology*. 13. Auflage, 2011. New Dehli, Elsevier Verlag. ISBN: 9788131228197.
- [114] Laird WRE, Walmsley AD. *Ultrasound in dentistry*. Part 1 - biophysical interactions. *J Dent* 1991;19(1):14–17.
- [115] Lehmann KM, Hellwig E, Wenz H-J. *Zahnärztliche Propädeutik*. 12. Auflage, 2012. Köln, Deutscher Zahnärzte Verlag. ISBN: 978-3-7691-3434-6.
- [116] Levin LG. Pulp and Periradicular Testing. *J Endod* 2013;39(3):S13–S19.
- [117] Li J, Dietsche G, Iftime D, Skipetrov SE, Maret G, Elbert T, Rockstroh B, Gisler T. Noninvasive detection of functional brain activity with near-infrared diffusing-wave spectroscopy. *J Biomed Opt* 2005;10(4):044002.

- [118] Li J, Dietsche G, Skipetrov SE, Maret G, Rockstroh B, Elbert T, Gisler T. Measurements of human motor and visual activities with diffusing-wave spectroscopy. 2005:WC1.
- [119] Li J, Jaillon F, Dietsche G, Maret G, Gisler T. Pulsation-resolved deep tissue dynamics measured with diffusing-wave spectroscopy. *Opt Express* 2006;14(17):7841–7851.
- [120] Li J, Ninck M, Koban L, Elbert T, Kissler J, Gisler T. Transient functional blood flow change in the human brain measured noninvasively by diffusing-wave spectroscopy. *Opt Lett* 2008;33(19):2233–2235.
- [121] Li T, Dewhurst RJ. Photoacoustic imaging in both soft and hard biological tissue. *J Phys: Conf Ser* 2010;214(1):012028.
- [122] Li T, Dewhurst RJ, Thompson DO, Chimenti DE. Photoacoustic non-destructive evaluation and imaging of caries in dental samples. *AIP Conf Proc* 2010;(11211):1574–1581.
- [123] Limjeerajarus C. Laser Doppler flowmetry: basic principle, current clinical and research applications in dentistry. *CU Dent J* 2014;(37):123–136.
- [124] Lin LM, Ricucci D, Huang GTJ. Regeneration of the dentine-pulp complex with revitalization/revascularization therapy: challenges and hopes. *Int Endod J* 2013;47(8):713–724.
- [125] Lindberg L-G, Öberg PA. Optical properties of blood in motion. *Opt Eng* 1993;32(2):253–257.
- [126] Lindberg LG, Tamura T, Oberg PA. Photoplethysmography. *Med Biol Eng Comput* 1991;29(1):40–47.
- [127] Liu KZ, Xiang XM, Man A, Sowa MG, Cholakis A, Ghiabi E, Singer DL, Scott DA. In vivo determination of multiple indices of periodontal inflammation by optical spectroscopy. *J Periodontal Res* 2009;44(1):117–124.
- [128] M.Meinke. Spektroskopische Bestimmung biophysikalischer Parameter humanen Blutes. Habilitationsschrift: Charité, Berlin; 2007.
- [129] Mahan GD, Engler WE, Tiemann JJ, Uzgiris E. Ultrasonic tagging of light: Theory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(24):14015–14019.
- [130] Marotti J, Heger S, Tinschert J, Tortamano P, Chuembou F, Radermacher K, Wolfart S. Recent advances of ultrasound imaging in dentistry - a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013;115(6):819–832.
- [131] Mateus J, Hargens AR. Photoplethysmography for non-invasive in vivo measurement of bone hemodynamics. *Physiol Meas* 2012;33(6):1027–1042.



- [132] Matsumoto M, Suzuma K, Fukazawa Y, Yamada Y, Tsuiki E, Fujikawa A, Kitaoka T. Retinal blood flow levels measured by laser speckle flowgraphy in patients who received intravitreal bevacizumab injection for macular edema secondary to central retinal vein occlusion. *Retin Cases Brief Rep* 2014;8(1):60–66.
- [133] Meinke M, Müller G, Gersonde I, Friebe M. Determination of oxygen saturation and hematocrit of flowing human blood using two different spectrally resolving sensors. *Biomed Tech* 2006;51(5-6):347–354.
- [134] Meinke M, Müller G, Helfmann J, Friebe M. Empirical model functions to calculate hematocrit-dependent optical properties of human blood. *Appl Opt* 2007;46(10):1742–1753.
- [135] Meinke M, Müller G, Helfmann J, Friebe M. Optical properties of platelets and blood plasma and their influence on the optical behavior of whole blood in the visible to near infrared wavelength range. *J Biomed Opt* 2007;12(1):014024.
- [136] Mejäre IA, Axelsson S, Davidson T, Frisk F, Hakeberg M, Kvist T, Norlund A, Petersson A, Portenier I, S H, Sandberg H, berg, Tranaeus S, Bergenholtz G. Diagnosis of the condition of the dental pulp: a systematic review. *Int Endod J* 2012;45(7):597–613.
- [137] Meyer MW, Path MG. Blood flow in the dental pulp of dogs determined by hydrogen polarography and radioactive microsphere methods. *Arch Oral Biol* 1979;24(8):601–605.
- [138] Meyer-Lückel H, Paris S, Ekstrand KR. *Karies*. 2012. Stuttgart, New York, Thieme Verlag. ISBN: 978312154511.
- [139] Miletich I, Sharpe PT. Neural crest contribution to mammalian tooth formation. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2004;72(2):200–212.
- [140] Miwa Z, Ikawa M, Iijima H, Saito M, Takagi Y. Pulpal blood flow in vital and nonvital young permanent teeth measured by transmitted-light photoplethysmography: a pilot study. *Pediatr Dent* 2002;24(6):594–598.
- [141] Mjör IA, Sveen OB, Heyeraas KJ. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 1: normal structure and physiology. *Quintessence Int* 2001;32(6):427–446.
- [142] Murhammer DW, Goochee CF. Scaleup of Insect Cell Cultures: Protective Effects of Pluronic F-68. *Nat Biotechnol* 1988;6(12):1411–1418.
- [143] Nagahara M, Tamaki Y, Araie M, Fujii H. Real-time blood velocity measurements in human retinal vein using the laser speckle phenomenon. *Jpn J Ophthalmol* 1999;43(3):186–195.
- [144] Nair B. A review of laser doppler flowmetry and pulse oximetry in dental pulp vitality. *J Clin Diagn Res* 2011;5(4):903–905.

- [145] Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J Endod* 2005;31(10):711–718.
- [146] Nakashima M, Iohara K. Regeneration of dental pulp by stem cells. *Adv Dent Res* 2011;23(3):313–319.
- [147] Nakashima M, Iohara K, Sugiyama M. Human dental pulp stem cells with highly angiogenic and neurogenic potential for possible use in pulp regeneration. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009;20(5-6):435–440.
- [148] Närhi M, Yamamoto H, Ngassapa D, Hirvonen T. The neurophysiological basis and the role of inflammatory reactions in dentine hypersensitivity. *Arch Oral Biol* 1994;39(Suppl B):23S–30S.
- [149] Näslund J, Pettersson J, Lundberg T, Linnarsson D, Lindberg L-G. Non-invasive continuous estimation of blood flow changes in human patellar bone. *Med Biol Eng Comput* 2006;44(6):501–509.
- [150] Niklas A. In vitro Untersuchungen zur Photoplethysmographie an Zähnen und der Eignung von Terahertzstrahlung für die Entwicklung eines Gerätes zur Detektion des Blutflusses in der Zahnpulpa. *Med. Diss.: Universität Regensburg*; 2010.
- [151] Niklas A, Hiller KA, Jaeger A, Brandt M, Putzger J, Ermer C, Schulz I, Monkman G, Giglberger S, Hirmer M, Danilov S, Ganichev S, Schmalz G. In vitro optical detection of simulated blood pulse in a human tooth pulp model. *Clin Oral Investig* 2014;18(5):1401–1409.
- [152] Ninck M, Untenberger M, Gisler T. Diffusing-wave spectroscopy with dynamic contrast variation: disentangling the effects of blood flow and extravascular tissue shearing on signals from deep tissue. *Biomed Opt Express* 2010;1(5):1502–1513.
- [153] Nissan R, Trope M, Zhang C-D, Chance B. Dual wavelength spectrophotometry as a diagnostic test of the pulp chamber contents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;74(4):508–514.
- [154] Noblett WC, Wilcox LR, Scamman F, Johnson WT, Diaz-Arnold A. Detection of Pulpal Circulation In Vitro by Pulse Oximetry. *J Endod* 1996;22(1):1–5.
- [155] Nosrat IV, Widenfalk J, Olson L, Nosrat CA. Dental pulp cells produce neurotrophic factors, interact with trigeminal neurons in vitro, and rescue motoneurons after spinal cord injury. *Dev Biol* 2001;238(1):120–132.
- [156] Nuki K, Hock J. The organisation of the gingival vasculature. *J Periodontal Res* 1974;9(5):305–313.
- [157] Odor TM, Chandler NP, Watson TF, Pitt Ford TR, McDonald F. Laser light transmission in teeth: a study of the patterns in different species. *Int Endod J* 1999;32(4):296–302.

- [158] Odor TM, Pitt Ford TR, McDonald F. Effect of wavelength and bandwidth on the clinical reliability of laser Doppler recordings. *Dent Traumatol* 1996;12(1):9–15.
- [159] Odor TM, Watson TF, Pitt Ford TR, McDonald F. Pattern of transmission of laser light in teeth. *Int Endod J* 1996;29(4):228–234.
- [160] Oikarinen K, Kopola H, Mäkinen M, Herrala E. Detection of pulse in oral mucosa and dental pulp by means of optical reflection method. *Endod Dent Traumatol* 1996;12(2):54–9.
- [161] Oikarinen KS, Kainulainen V, Särkelä V, Alaniska K, Kopola H. Information of circulation from soft tissue and dental pulp by means of pulsatile reflected light: further development of optical pulp vitalometry. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997;84(3):315–320.
- [162] Olgart L. Neural Control of Pulpal Blood Flow. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996;7(2):159–171.
- [163] Orekhova LY, Barmasheva AA. Doppler flowmetry as a tool of predictive, preventive and personalised dentistry. *EPMA J* 2013;4(1):21.
- [164] Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S. *Physiologie*. 7. Auflage, 2014. Stuttgart, New York, Thieme Verlag. ISBN: 9783137960072.
- [165] Path MG, Meyer MW. Heterogeneity of blood flow in the canine tooth in the dog. *Arch Oral Biol* 1980;25(2):83–86.
- [166] Peters DD, Mader CL, Donnelly JC. Evaluation of the effects of carbon dioxide used as a pulpal test. 3. In vivo effect on human enamel. *J Endod* 1986;12(1):13–20.
- [167] Peterson K, Söderström C, Kiani-Anaraki M, Lévy G, Anaraki GL. Evaluation of the ability of thermal and electrical tests to register pulp vitality. *Dent Traumatol* 1999;15(3):127–131.
- [168] Pitt Ford TR, Patel S. Technical equipment for assessment of dental pulp status. *Endod Topics* 2004;7(1):2–13.
- [169] Polat S, Er K, Akpınar KE, Polat NT. The sources of laser Doppler blood-flow signals recorded from vital and root canal treated teeth. *Arch Oral Biol* 2004;49(1):53–57.
- [170] Polat S, Er K, Polat NT. Penetration depth of laser Doppler flowmetry beam in teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;100(1):125–129.
- [171] Polat S, Er K, Polat NT. The lamp effect of laser Doppler flowmetry on teeth. *J Oral Rehabil* 2005;32(11):844–848.

- [172] Proskurnin MA, Zhidkova TV, Volkov DS, Sarimollaoglu M, Galanzha EI, Mock D, Nedosekin DA, Zharov VP. In vivo multispectral photoacoustic and photothermal flow cytometry with multicolor dyes: a potential for real-time assessment of circulation, dye-cell interaction, and blood volume. *Cytometry A* 2011;79(10):834–847.
- [173] Racheli N, Ron A, Metzger Y, Breskin I, Enden G, Balberg M, Shechter R. Non-invasive blood flow measurements using ultrasound modulated diffused light. *Neurocrit Care* 2012;8223:82232A–82232A–8.
- [174] Radhakrishnan S, Munshi AK, Hegde AM. Pulse oximetry: a diagnostic instrument in pulpal vitality testing. *J Clin Pediatr Dent* 2002;26(2):141–145.
- [175] Ramsay DS, Artun J, Martinen SS. Reliability of pulpal blood-flow measurements utilizing laser doppler flowmetry. *J Dent Res* 1991;70(11):1427.
- [176] Rao B, Cai X, Favazza C, Yao J, Li L, Duong S, Liaw L-H, Holtzman J, Wilder-Smith P, Wang LV. Photoacoustic microscopy of human teeth. *Proc SPIE* 2011;7884:78840U–78840U–7.
- [177] Rickoff B, Trowbridge H, Baker J, Fuss Z, Bender IB. Effects of thermal vitality tests on human dental pulp. *J Endod* 1988;14(10):482–485.
- [178] Roberts VC. Photoplethysmography - fundamental aspects of the optical properties of blood in motion. *Trans Inst M C* 1982;4(2):101–106.
- [179] Roebuck EM, Evans DJP, Stirrups D, Strang R. The effect of wavelength, bandwidth, and probe design and position on assessing the vitality of anterior teeth with laser Doppler flowmetry. *Int J Pediatr Dent* 2001;10(3):213–220.
- [180] Roggan A, Friebel M, Dörschel K, Hahn A, Müller G. Optical Properties of Circulating Human Blood in the Wavelength Range 400–2500 nm. *J Biomed Opt* 1999;4(1):36–46.
- [181] Ron A, Racheli N, Breskin I, Metzger Y, Silman Z, Kamar M, Nini A, Shechter R, Balberg M. Measuring tissue blood flow using ultrasound modulated diffused light. *Proc SPIE* 2012;8223:82232J–82232J–7.
- [182] Roy E, Alliot-Licht B, Dajeau-Trutaud S, Fraysse C, Jean A, Armengol V. Evaluation of the ability of laser Doppler flowmetry for the assessment of pulp vitality in general dental practice. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106(4):615–620.
- [183] Schmalz G, Galler KM. Tissue Injury and Pulp Regeneration. *J Dent Res* 2011;90(7):828–829.
- [184] Schmalz G, Smith AJ. Pulp development, repair, and regeneration: challenges of the transition from traditional dentistry to biologically based therapies. *J Endod* 2014;40(4S):S2–S5.

- [185] Schmid-Schönbein H, Kline KA, Heinich L, Volger E, Fischer T. Microrheology and light transmission of blood III. *Pflugers Arch* 1975;354(4):299–317.
- [186] Schmid-Schönbein H, Volger E, Klose HJ. Microrheology and light transmission of blood II. *Pflugers Arch* 1972;333(2):140–155.
- [187] Schmidt G, Görg C. *Kursbuch Ultraschall*. 5. Auflage, 2008. Stuttgart, New York, Thieme Verlag. ISBN: 9783131191052.
- [188] Schmitt JM, Webber RL, Walker EC. Optical determination of dental pulp vitality. *IEEE Trans Biomed Eng* 1991;38(4):346–52.
- [189] Schnettler JM, Wallace JA. Pulse oximetry as a diagnostic tool of pulpal vitality. *J Endod* 1991;17(10):488–490.
- [190] Schulz I. Entwicklung einer Methode zur Beurteilung der Vitalität von Zähnen mittels optischer Detektion der Pulpadurchblutung. Masterarbeit: Ostbayerische Technische Hochschule, Regensburg; 2012.
- [191] Schulz I, Putzger J, Niklas A, Brandt M, Jäger A, Hardt A, Knörzer S, Hiller KA, Löffler S, Schmalz G. PPG signal acquisition and analysis on in vitro tooth model for dental pulp vitality assessment. *ARC 2012 Submission* 16.
- [192] Schytz HW, Guo S, Jensen LT, Kamar M, Nini A, Gress DR, Ashina M. A new technology for detecting cerebral blood flow: a comparative study of ultrasound tagged NIRS and 133 Xe-SPECT. *Neurocrit Care* 2012;17(1):139–145.
- [193] Senthil Kumar B, Nazargi Mahabob M. Ultrasound in dentistry – a review. *J Ind Aca Dent Spec* 2010;1(4):44–45.
- [194] Shoher I, Mahler Y, Samueloff S. Dental pulp photoplethysmography in human beings. *Oral Surg* 1973;36(6):915–921.
- [195] Siddheswaran V, Adyanthaya R, Shivanna V. Pulse oximetry: a diagnostic instrument in pulpal vitality testing - an in vivo study. *World Journal of Dentistry* 2011;2(3):225–230.
- [196] Smith C, Hebbel R, Tukey D, Clawson C, White J, Vercellotti G. Pluronic F-68 reduces the endothelial adherence and improves the rheology of liganded sickle erythrocytes. *Blood* 1987;69(6):1631–1636.
- [197] Smith TK, Choi B, Ramirez-San-Juan JC, Nelson JS, Osann K, Kelly KM. Microvascular blood flow dynamics associated with photodynamic therapy, pulsed dye laser irradiation and combined regimens. *Lasers Surg Med* 2006;38(5):532–539.
- [198] Soo-ampon S, Vongsavan N, Soo-ampon M, Chuckpaiwong S, Matthews B. The sources of laser Doppler blood-flow signals recorded from human teeth. *Arch Oral Biol* 2003;48(5):353–360.

- [199] Spitzer D, Bosch ten JJ. The absorption and scattering of light in bovine and human dental enamel. *Calcif Tissue Res* 1975;17(2):129–137.
- [200] Stenvik A, Iversen J, Mjör IA. Tissue pressure and histology of normal and inflamed tooth pulps in macaque monkeys. *Arch Oral Biol* 1972;17(11):1501–1511.
- [201] Stoianovici C, Wilder-Smith P, Choi B. Assessment of pulpal vitality using laser speckle imaging. *Lasers Surg Med* 2011;43(8):833–837.
- [202] Strawn SE, White JM, Marshall GW, Gee L, Goodis HE, Marshall SJ. Spectroscopic changes in human dentine exposed to various storage solutions - short term. *J Dent* 1996;24(6):417–423.
- [203] Tan YK, Liu WZ, Yew YS, Ong SH, Paul JS. Speckle image analysis of cortical blood flow and perfusion using temporally derived contrasts. *Image Processing, 2004. ICIP '04. 2004 International Conference on* 2004;5:3323–3326.
- [204] Tarassenko L, Lee VS. Absorption and multiple scattering by suspensions of aligned red blood cells. *J Opt Soc Am A* 1991;8(7):1135–1141.
- [205] Thews G, Vaupel P. *Vegetative Physiologie*. 5. Auflage, 2005. Berlin, Heidelberg, Springer Verlag. ISBN: 9783540240709.
- [206] Titley K, Chernecky R, Maric B, Smith D. Penetration of a dentin bonding agent into dentin. *Am J Dent* 1994;7(4):190–194.
- [207] Tyagi. New vistas in endodontic diagnosis. *Saudi Endod J* 2012;2(2):85–90.
- [208] Tønder KJH. Blood flow and vascular pressure in the dental pulp. Summary. *Acta Odont Scand* 1980;38(3):135–144.
- [209] Upthegrove DD, Bishop JG, Dorman HL. A method for detection of blood flow in the dental pulp. *J Dent Res* 1966;45(4):1115–1119.
- [210] Vaghela D, Sinha AA. Pulse oximetry and laser doppler flowmetry for diagnosis of pulpal vitality. *Journal of Interdisciplinary Dentistry* 2011;1(1):14–21.
- [211] Vongsavan N, Matthews B. Experiments in pigs on the sources of laser doppler blood-flow signals recorded from teeth. *Arch Oral Biol* 1996;41(1):97–103.
- [212] Vongsavan N, Matthews B. Experiments on extracted teeth into the validity of using laser Doppler techniques for recording pulpal blood flow. *Arch Oral Biol* 1993;38(5):431–439.
- [213] Walmsley AD, Laird WRE, Lumley PJ. Ultrasound in dentistry. Part 2 - periodontology and endodontics. *J Dent* 1992;20(1):11–17.
- [214] Walton RE, Outhwaite WC, Pashley DF. Magnification - an interesting optical property of dentin. *J Dent Res* 1976;55(4):639–642.

- [215] Wang H-C, Fleming S, Lee Y-C, Law S, Swain M, Xue J. Laser ultrasonic surface wave dispersion technique for non-destructive evaluation of human dental enamel. *Opt Express* 2009;17(18):15592–15607.
- [216] Wang L, Guan X, Yin H, Moradian-Oldak J, Nancollas GH. Mimicking the Self-Organized Microstructure of Tooth Enamel. *J Phys Chem C Nanomater Interfaces* 2008;112(15):5892–5899.
- [217] Wang L, Xia J, Yao J, Maslov KI, Wang LV. Ultrasonically encoded photoacoustic flowgraphy in biological tissue. *Phys Rev Lett* 2013;111(20):204301.
- [218] Wang Y, Spencer P. Quantifying adhesive penetration in adhesive/dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res* 2002;59(1):46–55.
- [219] Yao J, Gilson RC, Maslov KI, Wang L, Wang LV. Calibration-free structured-illumination photoacoustic flowgraphy of transverse flow in scattering media. *J Biomed Opt* 2014;19(4):046007.
- [220] Yao J, Maslov KI, Shi Y, Taber LA, Wang LV. In vivo photoacoustic imaging of transverse blood flow by using Doppler broadening of bandwidth. *Opt Lett* 2010;35(9):1419–1421.
- [221] Yao J, Wang LV. Transverse flow imaging based on photoacoustic Doppler bandwidth broadening. *J Biomed Opt* 2010;15(2):021304.
- [222] Yaoeda K, Shirakashi M, Funaki S, Funaki H, Nakatsue T, Fukushima A, Abe H. Measurement of microcirculation in optic nerve head by laser speckle flowgraphy in normal volunteers. *Am J Ophthalmol* 2000;130(5):606–610.
- [223] Yoon M-J, Kim E, Lee S-J, Bae Y-M, Kim S, Park S-H. Pulpal Blood Flow Measurement with Ultrasound Doppler Imaging. *J Endod* 2010;36(3):419–422.
- [224] Yoon MJ, Lee SJ, Kim E, Park SH. Doppler ultrasound to detect pulpal blood flow changes during local anaesthesia. *Int Endod J* 2012;45(1):83–87.
- [225] Yu C, Abbott PV. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. *Aust Dent J* 2007;52(Suppl 1):S4–S6.
- [226] Zhang W, Yelick PC. Vital pulp therapy - current progress of dental pulp regeneration and revascularization. *Int J Dent* 2010;2010(2):856087.
- [227] Zhang Z, Chisti Y, Moo-young M. Effects of the hydrodynamic environment and shear protectants on survival of erythrocytes in suspension. *J Biotechnol* 1995;43(1):33–40.
- [228] Zolotarev VM, Grisimov VN. Architectonics and optical properties of dentin and dental enamel. *Opt Spectrosc* 2001;90(5):753–759.
- [229] Burr-Brown Products from Texas Instruments - OPT 101. Monolithic Photodiode and single-supply transimpedance amplifier. 2015 Jan. 7. [www.ti.com/lit/ds/symlink/opt101.pdf](http://www.ti.com/lit/ds/symlink/opt101.pdf).

- [230] DIN 5031-7:1984-01, Strahlungsphysik im optischen Bereich und Lichttechnik; Benennung der Wellenlängenbereiche. 1984.
- [231] Duran Group - Duran Präzisionsglas. 2014 Mar. 13. [www.duran-group.com/uploads/tx\\_fedownloads/DURAN\\_Praezisionsglas\\_D.pdf](http://www.duran-group.com/uploads/tx_fedownloads/DURAN_Praezisionsglas_D.pdf).
- [232] Osram - Silizium-PIN-Fotodiode mit sehr kurzer Schaltzeit SFH 229. 2015 Jan. 7. [www.osram-os.com/Graphics/XPic4/00029265\\_0.pdf/SFH%20229%20FA.pdf](http://www.osram-os.com/Graphics/XPic4/00029265_0.pdf/SFH%20229%20FA.pdf).