

Aus der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde,

Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof. Dr. M. Hannig

# **Tierexperimentelle Studie zum Einfluss kalten atmosphärischen Plasmas auf die Rattenpulpa**

*Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde*

**der Medizinischen Fakultät**

**der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES**

2014

vorgelegt von:

Markus Georg

geb. am: 26.12.1983 in Managua, Nicaragua

Tag der Promotion:

Dekan: Prof. Dr. M. D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. S. Rupf

2. Berichterstatter:

*Diese Arbeit ist meinen Eltern, Ricardina und Rolf, im Dank gewidmet.*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1	Deutsche Zusammenfassung .....	1
1.2	Abstract.....	3
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>4</b>
2.1	Literaturübersicht.....	4
2.1.1	Grundlagen physikalischer Plasmen .....	4
2.1.2	Anwendung physikalischer Plasmen in der Medizin und Zahnmedizin.....	6
2.1.3	Geräte zur Erzeugung kalter Plasmen.....	11
2.1.4	Komposite .....	14
2.1.5	Adhäsivtechnik .....	15
2.1.6	Auswirkungen von Karies, Präparation und Komposit- Füllungsmaterialien auf die Zahnpulpa .....	16
2.1.7	Die Ratte als Tiermodell in der Zahnmedizin.....	18
2.1.8	Das Kauorgan der Ratte .....	20
2.2	Begründung, Ziel der Arbeit und Fragestellung .....	21
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODE .....</b>	<b>22</b>
3.1	Plasmajet.....	22
3.1.1	Aufbau.....	22
3.1.2	Bestrahlungsparameter.....	23
3.2	Probengewinnung .....	24
3.3	Auswertungsmethoden .....	28
3.3.1	Einteilung der Versuchstiere.....	28

3.3.2	Beurteilung der Zahnpulpa .....	29
3.3.3	Beurteilung der Mundschleimhaut.....	33
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>35</b>
4.1	Ergebnisse nach 24 Stunden .....	35
4.2	Ergebnisse nach 28 Tagen .....	40
4.3	Ergebnisse der bestrahlten Schleimhautareale nach 24 Stunden.....	44
4.4	Ergebnisse der bestrahlten Schleimhautareale nach 28 Tagen .....	47
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>48</b>
5.1	Studienmodell .....	48
5.2	Ergebnisse.....	52
5.3	Perspektiven physikalischer Plasmen in der Karies- und Füllungstherapie .....	53
5.4	Einfluss physikalischer Plasmen auf die Mundschleimhaut.....	56
5.5	Schlussfolgerungen.....	57
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>60</b>
<b>7</b>	<b>PUBLIKATIONEN.....</b>	<b>69</b>
<b>8</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>71</b>
<b>9</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>72</b>
<b>10</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>75</b>
10.1	Bestrahlungsprotokolle der einzelnen Ratten .....	75
<b>11</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>81</b>

**12 ABBILDUNGSVERZEICHNIS ..... 83**

# 1 Zusammenfassung

## 1.1 Deutsche Zusammenfassung

Die Bearbeitung von Zahnhartsubstanzen mit kaltem atmosphärischem Plasma ermöglicht neben der Desinfektion auch die Modifikation von Benetzungseigenschaften und beeinflusst somit die Zahn-Komposit-Interaktion. Die Zielstellung der hier vorgestellten Untersuchung war die Prüfung des Einflusses der Plasmabestrahlung von Zahnhartsubstanzen auf die Pulpa im Tierexperiment adjunktiv zu adhäsiver Füllungstherapie.

An 20 Sprague-Dawley Ratten wurde jeweils der erste Molar beider Oberkieferquadranten für die Aufnahme einer Kompositfüllung präpariert. Die zentrale Kavität hatte einen Durchmesser von ca. 1 x 1,5 mm, eine Tiefe von 0,5 mm und die Restdentinstärke betrug 0 – 0,3 mm. Für die Präparation wurde ein kugelförmiger Präparationsdiamant ISO 008 bei 6.000 U/min unter Luft/Wasser Kühlung verwendet. Der präparierte erste Molar und der unversehrte zweite Molar jeweils eines Oberkieferquadranten wurden mit kaltem, mikrowelleangeregtem (2,45 GHz), gepulstem Plasmajet bestrahlt. Der Strahl war gaussförmig, hatte eine Halbwertsbreite (HWB) von 0,5 mm und eine Länge von ca. 8 mm. Bei einem Gasfluss von 2,0 l/min Helium wurde jeder Zahn 5 Sekunden lang bestrahlt. Die mittlere Mikrowellenleistung war 3 W und die Temperatur der Zahnoberfläche am Strahlauftreffpunkt 40 °C. Die präparierten Kavitäten wurden mit einem selbstätzenden Adhäsiv und einem Flow-Komposit gefüllt. Nach 24 Stunden und nach 28 Tagen wurden jeweils 10 Ratten geopfert und beide Oberkiefermolarenssegmente entnommen. Die Zähne wurden in 10 % Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) für 4 Wochen demineralisiert und in Paraffin eingebettet. Es wurden histologische Schnitte (6 µm) angefertigt und diese mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) und Chloracetatesterase-Färbung (CAE) gefärbt. In den histologischen Präparaten wurden die Odontoblastenschicht, vorhandene Entzündungszellen, Nekrosezonen, Prä- und Reizdentinbildung bewertet.

Nach 24 Stunden konnten sowohl in den mit kaltem Plasma behandelten Pulpen, als auch in den unbehandelten mit Komposit gefüllten Zähnen deutliche Entzündungsreaktionen festge-

stellt werden. Nach 28 Tagen waren in Test- und Kontrollgruppe Sekundärdentinbildung und abnehmende Entzündung zu beobachten. Die Pulpen nicht mit Komposit gefüllter, jedoch mit Plasma behandelter Molaren, zeigten weder nach 24 Stunden noch nach 28 Tagen erhöhte Entzündung im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Im Tierexperiment führt die Behandlung vitaler Molaren mit kaltem atmosphärischem Plasma nicht zu einer erhöhten Entzündungsreaktion der Pulpa.

## 1.2 Abstract

The conditioning of tooth substances with cold atmospheric pressure plasma allows not only disinfection, but also alters wettability and influences the tooth-composite interaction zone. The aim of this study was to examine the influence of the exposure of tooth substance to atmospheric plasma on the pulp tissue as an adjunctive to adhesive restorative therapy.

The first molars of the upper jaw on both quadrants of 20 sprague-dawley-rats were prepared to receive a composite filling. The central cavity had a diameter of 1 x 1,5 mm and a depth of 0,5 mm. The remaining dentinlayer was 0 – 0,3 mm thick. A round diamond bur ISO 008 at 6000 rpm and air / water cooling was used for the preparation of the cavities. The prepared first molar and the intact second molar of one upper jaw quadrant respectively were irradiated with pulsed, microwave-generated (2,45 GHz) plasma. The jet was gauss-shaped, had a half-width of 0,5 mm and was approximately 8 mm thick. The teeth were irradiated for 5 seconds at a helium gas flow of 2,0 l/min and a mean microwave power of 3 W. The temperature on the tooth surface was 40 °C. The cavities were filled with a self-etching adhesive and a flow composite resin. After 24 hours and 28 days, 10 rats were sacrificed at each time and the upper jaw molar segments were removed. The teeth were demineralized in 10 % EDTA for four weeks and then imbedded in paraffin. Histological sections (6 µm) were made and stained with hematoxylin-eosin (HE stain) and chloroacetate esterase stain (CAE). In the histological sections the odontoblast layer, present inflammatory cells, necrosis, pre and irritation dentin were scored.

After 24 hours, inflammatory cells could be seen clearly in both irradiated and non-irradiated pulps of the filled teeth. After 28 days, in both test group and control group, secondary dentin and decreasing inflammatory response were observed. Teeth that were treated with plasmajet but not filled showed neither after 24 hours nor after 28 days elevated inflammatory reactions in comparison with the control group. In this animal study, cold atmospheric plasma does not lead to an increased inflammatory reaction of dental pulp tissue.

## 2 Einleitung

### 2.1 Literaturübersicht

#### 2.1.1 Grundlagen physikalischer Plasmen

Neben fest, flüssig und gasförmig gelten physikalische Plasmen als vierter Aggregatzustand. Plasma ist die Bezeichnung für ein ionisiertes Gas, das zum größten Teil aus freien Ladungsträgern, neutralen Atomen, Ionen, angeregten Molekülen und den aus ionisierten und angeregten Teilchen entstehenden reaktiven Radikalen und Strahlen bestehen (Schulz, 2000; Kieft *et al.*, 2005). Trotz der freien Ladungsträger sind Plasmen, da die Anzahl der positiv und negativ geladenen Partikel nahezu gleich ist, ladungsneutral (Cap, 1994). Zu den in der Natur vorkommenden Plasmen, terrestrischer oder astrophysikalischer Natur, zählen Sonne und Sterne, die Ionosphäre, Blitze und auch das Polarlicht. Künstliches Plasma ist unter anderem in Fluoreszenzlampen, Neonschildern, Schweißlichtbögen und in Bildschirmen zu finden (Cap, 1994; Bellan, 2008; Heinlin *et al.*, 2010).

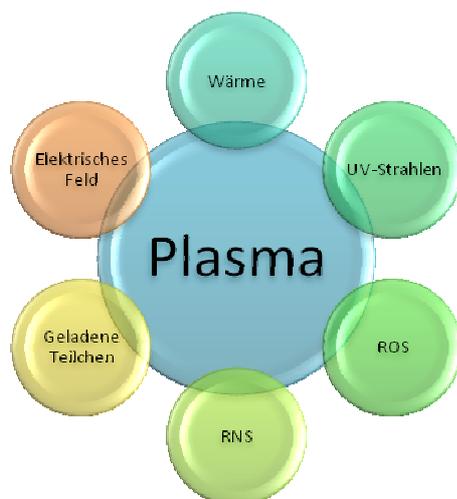


Abbildung 1: Komponente eines Plasmastrahls.

In Abhängigkeit der Temperatur von Elektronen, Ionen und neutralem Gas wird zwischen Hochtemperaturplasmen (über +100 °C) und Niedertemperaturplasmen (unter +100 °C) un-

terschieden. Im Fall der Niedertemperaturplasmen wird nur ein geringer Teil des Trägergases ionisiert. Die Energie ist auf die Erzeugung von energiereichen Elektronen und nicht auf die Erhitzung des gesamten Gases fokussiert. Hierdurch erreichen Ionen und nicht geladene Moleküle niedrigere Temperaturen als die Elektronen und werden innerhalb von Sekundenbruchteilen auf Zimmertemperatur abgekühlt. Auf Grund der Unterschiede bei der Anregung ihrer Komponenten werden Niedertemperaturplasmen auch als *non-equilibrium*-Plasmen bezeichnet. Im Fall der Hochtemperaturplasmen bleibt die Anregung konstant und die Temperatur aller Komponenten im thermodynamischen Gleichgewicht (*equilibrium*-Plasmen) (Plaggenborg, 1997; Fridman *et al.*, 2005; Fridman *et al.*, 2008; Ehlbeck *et al.*, 2011). Plasmen können auch nach den atmosphärischen Druckbedingungen während ihrer Entstehung klassifiziert werden. So gibt es Niederdruckplasmen (unter 10kPa), atmosphärische Plasmen und Hochdruckplasmen (200 – 300kPa) (Sodeoka *et al.*, 1996).

Kalte physikalische Plasmen können durch das Einwirken von Gleichspannung (DC-Hochspannung) oder elektromagnetischen Feldern im Mikrowellen- oder Hochfrequenzradiowellenbereich auf Gase erzeugt werden (Plaggenborg, 1997). Als Trägergase für die Entstehung eines Plasmastrahls, auch als Plasmajet bezeichnet, dienen Edelgase wie Helium, Argon und Neon. Reaktive Sauerstoff- (ROS: O-, OH-, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>) und Stickstoffspezies (RNS: NO-, NO<sub>2</sub>) entstehen durch Zumischung von Sauerstoff, Stickstoff oder Wasserdampf. UV-Strahlen (UVA, UVB, UVC) werden ebenfalls emittiert. Die reaktiven Spezies und die UV-Strahlung sind die aktiven Bestandteile eines Plasmajets da sie mit der Materie interagieren können (Kieft *et al.*, 2005).

Kaltes, atmosphärisches Plasma kann in drei Typen unterteilt werden (Heinlin *et al.*, 2010):

- Direktes Plasma: Hautoberfläche oder Gewebe fungieren als Elektrode.
- Indirektes Plasma: zwischen zwei Elektroden erzeugt und mittels Gasfluss auf das Zielgewebe transportiert. Ein solcher im Anregungszustand befindlicher Gasstrahl wird als Plasmajet bezeichnet (Jiang *et al.*, 2009).
- Hybrid - Plasma: kombiniert beide oben genannten Typen.

Tabelle 1: Eigenschaften verschiedener kalter, atmosphärischer Plasmen (modifiziert nach Heinlin *et al.*, 2010).

	<b>Direktes Plasma</b>	<b>Indirektes Plasma</b>	<b>“Hybrid” Plasma</b>
<b>Erzeugungsart und Eigenschaften</b>	Haut/Gewebe dient als Elektrode. Strom fließt durch den Körper.	Plasma wird zwischen 2 Elektroden erzeugt und mit der Gasströmung ans Zielgewebe transportiert.	Wird wie direktes Plasma erzeugt, hat aber die Eigenschaften der indirekten Plasmen.
<b>Gas</b>	Luft	Edelgas/Luft	Luft
<b>Reaktive Spezies</b>	Werden im Plasma erzeugt	Entstehen durch die Beimischung von Luft (Sauerstoff)	Werden im Plasma erzeugt
<b>UV-Strahlung</b>	Gering	Hoch	Gering
<b>Gastemperatur</b>	Raumtemperatur	Heiß am Entstehungspunkt, Raumtemperatur am Auftreffpunkt	Raumtemperatur

### 2.1.2 Anwendung physikalischer Plasmen in der Medizin und Zahnmedizin

Die Verwendung von physikalischem Plasma hat sich in den letzten Jahren zu einem wichtigen Forschungsgebiet der Medizin entwickelt. Plasmen wird großes Anwendungspotential in der medizinischen Industrie und Medizintechnik zugesprochen. Plasma wird bereits unter anderem zur Sterilisation von medizinischen Verbrauchsprodukten und Instrumentarium verwendet. Da die Verwendung von Niedertemperaturplasmen ein trockener Prozess, ohne die Anwendung hoch konzentrierter Substanzen oder hohen Temperaturen ist, ermöglicht sie eine sichere Sterilisation (v.a. Kunststoffe wie z.B. PET-Behälter) ohne Schädigung des Materials (Masaoka, 2007; Deilmann *et al.*, 2008). Darüber hinaus ist z.B. Hybrid-Plasma in der Lage in tiefste Risse und Poren auf der Oberfläche medizinischer Instrumente einzudringen und die erwünschte Sterilität auch in schwer zugänglichen Strukturen zu erreichen (Soloshenko *et al.*, 2000). Im Bereich der Krankenhaus-Hygiene wurde die Anwendung kalten Plasmas zur Händedesinfektion erforscht (Daeschlein *et al.*, 2012). So wurde zum Beispiel der Prototyp eines „Plasmaspenders“ entwickelt der sowohl in Krankenhäusern wie auch im privaten Haushalt genutzt werden könnte (Morfill *et al.*, 2009). Durch diese Methode kann, unter anderem, die Haut erfolgreich von methicillinresistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) dekolonisiert werden (Maisch *et al.*, 2012). Eine Reduktion der Keimbelastung bei chronisch infizierten Wunden ist ebenfalls durch kaltes Plasma zu erreichen (Ermolaeva *et al.*, 2011; Isbary *et al.*, 2011). In der Lebensmittelindustrie können physikalische Plasmen zur Pasteurisation von Lebensmitteln eingesetzt werden. Es ist zum Beispiel möglich die Entwicklung von Schimmelpilzen (*Aspergillus flavus*) unter Kontrolle zu halten (Suhem *et al.*, 2013).

Die Vorbehandlung diverser Implantatmaterialien, die in der Medizin Anwendung finden, hat sich als vorteilhaft erwiesen. So kann zum Beispiel durch die Oberflächenmodifizierung verschiedener Implantate durch kaltes atmosphärisches Plasma die Biokompatibilität verbessert und die zelluläre Adhäsion an das Material erhöht werden. In diesem Sinne wurde u.a. die Oberflächenoptimierung von Silikon (Hauser *et al.*, 2009; Pennisi *et al.*, 2010), Polyetherurethan (Schlicht *et al.*, 2010), allogenen Knochentransplantaten (Ring *et al.*, 2011) und Titan (Koban *et al.*, 2011) bestätigt. Die Integration von Hüft- oder Knieprothesen aus Titanlegierungen kann durch das Verfahren des *plasma-spraying*s begünstigt werden (Yi *et al.*, 2012).

Elektrochirurgische Techniken basierend auf heißen Plasmen sind schon seit längerer Zeit im Einsatz (Stoffels *et al.*, 2006). Eine weit verbreitete Anwendungsform ist die Argon-Plasma-Koagulation (APK) (Manner, 2008). Diese Technik wird in nahezu jedem chirurgischen Fachgebiet, sei es der Allgemein- und Viszeralchirurgie, der Urologie und Gynäkologie sowie der bronchialen- oder gastroenterologischen Chirurgie eingesetzt (Zenker, 2008). Eine der Hauptnutzungen der APK ist die Hämostase. Die Argon-Plasma-Koagulation wird zum Beispiel in der Behandlung vaskulärer Ektasien, blutenden Ulzerationen und Krampfadern eingesetzt. Eine weitere wichtige Anwendung der APK ist die Ablation von Gewebe. Diese Art der Gewebeentfernung kann unter anderem bei Barrett-Ösophagus, Polypen und Tumoren angewendet werden (Berger *et al.*, 2001; Ginsberg *et al.*, 2002; Zenker, 2008). Da die Dissektion und Koagulation in einem Arbeitsschritt erfolgen, ist ein geringerer Zeitaufwand notwendig als mit konventionellen Methoden. Ein weiterer Vorteil der APK ist die limitierte Eindringtiefe, die eine schonende chirurgische Technik ermöglicht (Berger *et al.*, 2001). Beispiele für Geräte für die Argon-Plasma-Koagulation sind Force Argon<sup>TM</sup> II von COVIDIEN, MB 181 der KLS MARTIN Group (Abbildung 2) und ARC Plus von BOWA.



Abbildung 2: Gerät für die APK der Firma KLS Martin Group, Tuttlingen, Deutschland. Quelle: [http://www.klsmartin.com/fileadmin/Inhalte/Downloads\\_Prospekte/HF-Geraete/90-812-02-07\\_01\\_09\\_MB\\_181.pdf](http://www.klsmartin.com/fileadmin/Inhalte/Downloads_Prospekte/HF-Geraete/90-812-02-07_01_09_MB_181.pdf)

Kaltes Plasma hat nachgewiesene antiphlogistische, antimikrobielle und antineoplastische Eigenschaften (Daeschlein *et al.*, 2012). In der Therapie neoplastischer Entartungen wird in Tumorzellen nach der Applikation kalten Plasmas durch die Bildung von intrazellulären Sauerstoffradikalen (ROS) die Apoptose induziert (Sensing *et al.*, 2011; Vandamme *et al.*, 2011). So bietet Plasma die Möglichkeit einer nicht invasiven Therapie maligner Melanome, bei der sogar eine gewisse Selektivität für Melanomzellen bestehen soll (Zucker *et al.*, 2012). Residuale Tumorzellen können nach Resektion von Pankreas-, Lungen- oder Leberkarzinomen durch die intraoperative Anwendung kalten Plasmas reduziert werden (Partecke *et al.*, 2012). In diesem Sinne könnte in Zukunft die Prognose von Tumorerkrankungen verbessert werden.

In der Dermatologie wird kaltes Plasma zur Therapie verschiedener Hauterkrankungen eingesetzt. Unter anderem können die atopische Dermatitis (Heinlin *et al.*, 2010), das Morbus-Hailey-Hailey (Isbary *et al.*, 2011), chronische Ulzerationen und diverse Juckreiz auslösende Erkrankungen erfolgreich therapiert werden. Die Wundheilung wird durch das Abtöten von pathogenen Keimen und Pilzen wie *Staphylococcus aureus* (auch MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, u.v.m. stark unterstützt (Morfill *et al.*, 2009; Heinlin *et al.*, 2010; Ehlbeck *et al.*, 2011; Ermolaeva *et al.*, 2011). Dabei ist die antiseptische Wirkung von gewebeerträglichem Plasma auf der Haut vergleichbar mit der herkömmlicher Mittel wie Octenidin (Octenidindihydrochlorid) (Lademann *et al.*, 2010; Lademann *et al.*, 2011). Ein großer Vorteil dieser Methode ist, im Gegensatz zu den chemischen Mitteln, dass auch Bakterien in Hautfollikeln abgetötet werden können. Die Follikel dienen sehr oft als Bakterienreservoir und ermöglichen die bakterielle Rekolonisation der Wunden (Lademann *et al.*, 2010). Plasmen sind auch in der Lage die Hautbarriere schonend zu modifizieren und so die Penetration von topischen Arzneimitteln, die auf der Hautoberflä-

che appliziert werden, zu erleichtern (Lademann *et al.*, 2011). Auch in der kosmetischen Dermatologie werden physikalische Plasmen eingesetzt. Die Plasma-Haut-Regeneration (*plasma-skin-regeneration*, PSR) ist eine auf Plasmen basierende Methode der kosmetischen Hautverjüngung. Sie ist in den USA durch die US Food and Drug Administration zugelassen. Durch die PSR können nicht nur Hautfalten sondern photogene Hautverfärbungen und Akne-narben reduziert werden (Foster *et al.*, 2008).

Im Bereich der Zahnmedizin gewinnt die Plasmatechnik ebenfalls an Bedeutung. Ein gutes Beispiel ist in der industriellen Herstellung von Zahnimplantaten aus Titan zu finden. Dort wird eine Oberflächenoptimierung der Implantate mittels Plasmabestrahlung angestrebt. Ziel ist die Verbesserung der biomechanischen Fixierung der Implantate (Teixeira *et al.*, 2012). Durch die erhöhte Benetzbarkeit der Titanoberflächen nach Plasmabearbeitung wird eine frühere und verstärkte Einwanderung und Proliferation von Osteoblasten erreicht (Diefenbeck *et al.*, 2011; Coehlo *et al.*, 2012; Duske *et al.*, 2012; Teixeira *et al.*, 2012). Hierdurch ist eine optimale Osseointegration der Implantate mit einem positiven Einfluss auf das periimplantäre Hartgewebe im Sinne eines verminderten Knochenverlustes möglich (Canullo *et al.*, 2012). Zahnimplantate aus Zirkoniumdioxid ( $ZrO_2$ ) zeigten im Tierversuch ebenfalls erhöhte Osseointegrationswerte nach Plasmabestrahlung im Vergleich zu unbestrahlten Implantaten (Shon *et al.*, 2013). Auch zur Oberflächenmodifizierung und Verbesserung der Kompatibilität von allogenen Knochentransplantaten findet kaltes Plasma Anwendung. Die Integration des Knochentransplantates wird dadurch begünstigt, dass es nach Plasmabestrahlung zu einer frühzeitigeren Angiogenese im transplantierten Gewebe kommt (Ring *et al.*, 2011).

Kaltes Plasma kann effektiv zur Zerstörung oraler Biofilme eingesetzt werden (Rupf *et al.*, 2010). *In – vitro* Untersuchungen zeigten eine höhere Effektivität der Plasmabestrahlung gegen orale Biofilme im Vergleich zu chemischen Verfahren wie der Applikation von Chlohexidindiglukonat (Wind, 2011). Diese Erkenntnis wurde ebenfalls auf Titanoberflächen dentaler Implantate bestätigt (Koban *et al.*, 2011). Eine auf kaltem Plasma basierende Therapie der Perimukositis und Periimplantitis ist durch Plasmabestrahlung durchaus denkbar. Dabei liegt der Vorteil in der Unversehrtheit der mikrostrukturierten Titanoberfläche nach der Bestrahlung (Rupf *et al.*, 2012). Zusätzlich wurde in weiteren *in - vitro* Studien die Möglichkeit der Reosseointegration der Implantate durch eine erhöhte Proliferation von Fibroblasten auf Titanoberflächen nach Plasmabestrahlung geprüft (Duske *et al.*, 2012).

In der konservierenden Zahnheilkunde kann kaltes Plasma in der adhäsiven Füllungstherapie eingesetzt werden. Auf Grund der Verringerung von Kohlenwasserstoffverbindungen an der Schmelz- und Dentinoberfläche wird die Benetzbarkeit der Zahnhartsubstanzen gesteigert (Lehmann *et al.*, 2013). Dies kann durch den Nachweis der Verringerung der Kontaktwinkel demonstriert werden. Die Oberflächenmodifizierung von Dentin mit kaltem, atmosphärischem Plasma führt zu einer Verbesserung der Zahn-Komposit-Interaktion durch eine erhöhte Penetrationstiefe des Komposits im intratubulären Dentin. Eine erhöhte „tag“-Bildung konnte nachgewiesen werden (Rupf *et al.*, 2011). Zusätzlich führt die Plasmabestrahlung zu einer chemischen und strukturellen Veränderung der Kollagenfasern und einer dadurch resultierenden Verbesserung der Interphase zwischen Kollagen und Adhäsiv-Hybridschicht (Ritts *et al.*, 2010). In Abbildung 3 wird die verbesserte Benetzbarkeit von Zahnschmelz nach Plasma-bestrahlung im Vergleich zu unbehandeltem und mit Phosphorsäure vorbehandeltem Schmelz vereinfacht graphisch dargestellt. Die Kombination von Säureätzung und Plasma steigert die Benetzbarkeit zusätzlich (Lehmann *et al.*, 2013).

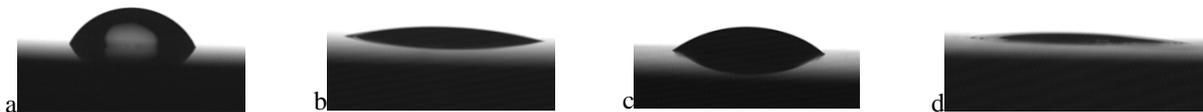


Abbildung 3: Benetzungseigenschaften von Schmelz unter verschiedenen Umständen: a) unbehandelter Schmelz, b) kaltes Plasma, c)  $H_3PO_4$  Ätzung, d)  $H_3PO_4$  Ätzung + kaltes Plasma. Quelle: A Lehmann, IOM Leipzig.

Neben der Oberflächenmodifizierung von Zahnhartsubstanzen ist auch eine Desinfektion von kariös verändertem Dentin unter Erhalt der Struktur möglich (Sladek *et al.*, 2004). Mikroinvasive Präparations- und Füllungsverfahren könnten dadurch unterstützt werden. Orale pathogene Keime wie *Lactobacillus casei*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* (Rupf *et al.*, 2009; Goree *et al.*, 2006; Fricke *et al.*, 2012) und *Enterococcus faecalis* (Yamazaki *et al.*, 2011) werden durch Plasmabestrahlung abgetötet. Studien bestätigten die erfolgreiche Desinfektion von Dentin (Sladek *et al.*, 2004), parodontalen Taschen (Puac *et al.*, 2009) und Wurzelkanälen (Yinguan *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2009) mit kaltem atmosphärischem Plasma.

Die Aktivierung von Wasserstoffperoxid durch kaltes Plasma erwies sich in *in-vitro* Studien als eine schnellere und effektivere Methode der Zahnaufhellung als die Verwendung von

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> allein. Diese Erkenntnis könnte sich die kosmetische Zahnmedizin in Zukunft zu Nutzen machen (Lee *et al.*, 2009). Bis jetzt liegen noch keine klinischen Studien zum Einsatz kalter atmosphärischer Plasmen in der Zahnmedizin vor.

### 2.1.3 Geräte zur Erzeugung kalter Plasmen

Die Entwicklung neuer und immer kleinerer Geräte für die Erzeugung kalter, atmosphärischer Plasmen könnte aus technischer Sicht in Zukunft die routinemäßige Anwendung kalter Plasmen in der Mundhöhle ermöglichen (Rupf *et al.*, 2012). So hat zum Beispiel ein Gerät zur Erzeugung kalter atmosphärischer Plasmen namens KinPen, das vom Institut für Niederdruckplasmen (INP) in Greifswald entwickelt wurde und durch die Neoplas GmbH produziert wird, die CE Zertifizierung erhalten. Die Standardausführung wird mit Argon betrieben und dient nach Herstellerangaben der Reinigung, Aktivierung und Entkeimung von Oberflächen (Quelle: <http://www.inp-greifswald.de>).



Abbildung 4a: KinPen mit Basiseinheit, Gasmischeinheit (GMU) und Gasversorgungseinheit (GSU), entwickelt vom INP-Greifswald und Produziert durch die Neoplas GmbH. Quelle: [www.inp-greifswald.de](http://www.inp-greifswald.de)

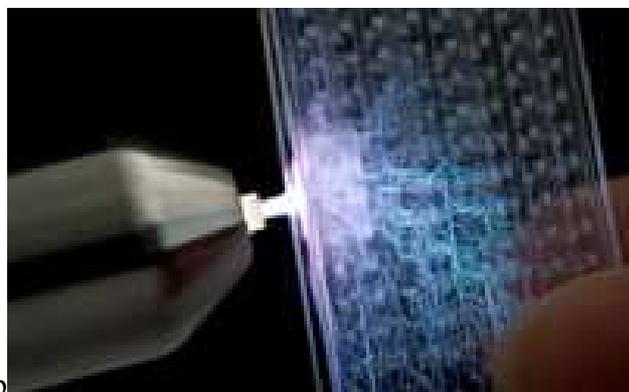


Abbildung 4 b: KinPen mit gezündetem Plasmajet. Quelle: [www.inp-greifswald.de](http://www.inp-greifswald.de)

*Plasmaquelle des IOM Leipzig*

Die in der hier präsentierten Studie verwendete Plasmaquelle wurde im Leibniz Institut für Oberflächenmodifizierung (IOM) in Leipzig entwickelt (Abbildungen 5 und 6). Der Plasmajet wird in einer mikrowellenangeregten, miniaturisierten Plasmaquelle, bestehend aus einem Elektrodenkoaxialsystem, erzeugt. Der Innenleiter besteht aus einem 0,3 mm starken Stahlrohr und repräsentiert die innere Elektrode. Zusätzlich werden die Prozessgase über diesen Innenleiter zugeführt. Der äußere Körper der Plasmaquelle bildet die zweite Elektrode. Dieser besteht aus 3,4 mm dickem Stahl zur Abschirmung der erzeugten Mikrowellen. Über einen Mikrowellengenerator, der eine gepulste Frequenz von 2,45 GHz generiert, wird die Plasmaquelle angeregt. Der verwendete Generator ermöglicht eine Peak-Leistung von 100 – 300 W, eine mittlere Leistung von 1 – 9 W und eine Pulsweite von 1–10  $\mu$ s. Die Flussrate der Gase wird über einem Massenflussregler reguliert. Die Plasmaquelle wurde ursprünglich an einen computergesteuerten 3-Achs-Bewegungssystem befestigt, um reproduzierbare Zeit-, Abstands- und Scanparameter sicher zu stellen. Die Plasmaquelle kann jedoch auch abgebaut werden um diese frei nach Bedarf bedienen zu können.



Abbildung 5: Am IOM Leipzig entwickelte Plasmaquelle (Rupf *et al.*, 2010). 1) Plasmajet; 2) und 3) Gaszufuhr; 4) Mikrowelle. Fotografie A. Lehmann, IOM Leipzig.

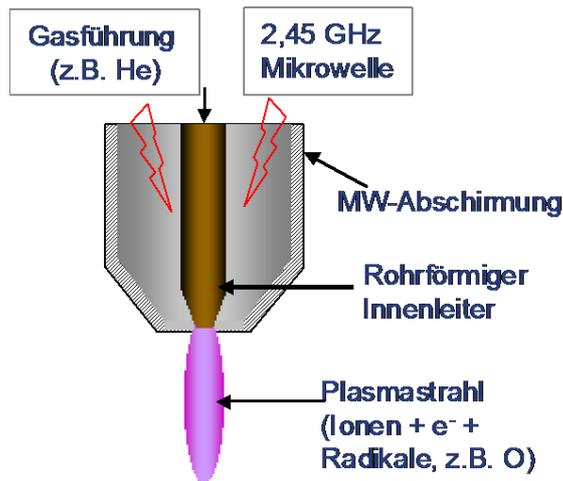


Abbildung 6: Schematische Darstellung einer Plasmaquelle und des Plasmajets. Das durch die Plasmaquelle hindurch strömende Gas wird mittels gepulster Mikrowelle (2,45 GHz) angeregt. Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Axel Schindler, IOM Leipzig.

Tabelle 2: Modifizierbare Parameter der Plasmaquelle.

<b>Plasmaanregung</b>	Gepulste Mikrowelle 2,45 GHz
<b>Pulsleistung</b>	100-300 W
<b>Pulsbreite</b>	1-10 µs
<b>Mittlere Leistung</b>	1-9 W
<b>Temperatur des Jets</b>	30 °C- 150 °C
<b>Gasfluss</b>	0,005 – 10 l/min

Tabelle 3: Einige bekannte Studien die auf der im IOM Leipzig entwickelten Plasmaquelle basieren.

<b>Titel</b>	<b>Autor/en</b>	<b>Jahr</b>
Killing of adherent oral microbes by a non-thermal atmospheric plasma jet.	Rupf S, Lehmann A, Hannig M, Schäfer B, Schubert A, Feldmann U, Schindler A	2009
Einfluss von Leistungsparametern eines kalten atmosphärischen Plasmajets auf die Destruktion von in-vitro Biofilmen.	Wind D. Quelle: 56. Jahrestagung der Europäischen Gesellschaft für Kariesforschung (ORCA), Abstract 58, Caries Res 2009;43:199	2011
Einfluss kalten atmosphärischen Plasmas auf die Zahn-Komposit-Interaktionszone - eine In-vitro-Untersuchung -	Muhammad Al Muhammad. Quelle: IADR/AADR/CADR 89th General Session San Diego, Calif., J Dent Res 90, Spec Iss A.	2012
Desinfektion und Entfernung oraler Biofilme von mikrostrukturiertem Titan mit kaltem atmosphärischen Plasma.	Rupf S, Idlibi AN, Umanskaya N, Hannig M, Nothdurft F, Lehmann A, Schindler A, Müller L, Spitzer W	2012
Destruction of oral biofilms formed in situ on machined titanium (Ti) surfaces by cold atmospheric plasma.	Idlibi AN, Marrawi FA, Hannig M, Lehmann A, Rueppell A, Schindler A, Jentsch H, Rupf S	2013
Modification of Enamel and Dentin Surfaces by Non-Thermal Atmospheric Plasma.	Lehmann A, Rueppell A, Schindler A, Zylla MI, Seifert HJ. Nothdurft F, Hannig M, Rupf S	2013

#### 2.1.4 Komposite

Der Wunsch der Patienten nach Ästhetik und die weit verbreitete Diskussion über potenziell gesundheitliche Beeinträchtigungen durch dentales Amalgam (Manhart, 2007) haben die Suche nach alternativen Füllungsmaterialien vorangetrieben. Komposite haben sich in den letzten Jahren als ästhetische Lösung im Frontzahnbereich durchgesetzt (De Araujo *et al.*, 2009). Doch auch die klinischen Indikationen für direkte Restaurationen an Seitenzähnen haben sich durch die stetige Verbesserungen der Materialeigenschaften der Komposite sowie ihrer Verarbeitungstechnik in der Praxis vervielfältigt (Pazinatto *et al.*, 2012).

Komposite sind zusammengesetzte Werkstoffe, die aus einer organischen Kunststoffmatrix (organische Phase) und anorganischen Füllkörpern (disperse Phase) bestehen (Gängler, 1995; Hellwig *et al.*, 2006). Der Verbund dieser Hauptbestandteile (Verbundphase) wird durch Silanisierung (Lung *et al.*, 2012) erreicht und ist im großen Maße für die Eigenschaften des Materials verantwortlich (Hellwig *et al.*, 2006).

**Organische Phase.** Diese besteht hauptsächlich aus Monomeren. Es werden Dimethacrylate wie das Bisphenol-A-Glycidyl-Methacrylat (Bis-GMA) verwendet (Gängler, 1995). Diese Kompositmatrixmoleküle weisen gute physikalische Eigenschaften, eine relative Farbstabilität und geringe toxische Wirkungen auf (Hellwig *et al.*, 2006). Komonomere wie das Triethylen-Glykol-Dimethacrylat (TEGDMA) fungieren als Verdünnermonomere und können wegen ihrer kurzkettigen molekularen Struktur die Viskosität des Komposits reduzieren und die Verarbeitung vereinfachen (Gängler, 1995; Hellwig *et al.*, 2006). Zusätzlich finden sich in der organischen Matrix Initiatoren, Stabilisatoren, Farbstoffe, Pigmente und andere Bestandteile (Hellwig *et al.*, 2006).

**Disperse Phase.** Diese dient der Verbesserung der mechanischen Eigenschaften (Verschleißfestigkeit, Druck- und Zugfestigkeit und E-Modul) der Komposite. Als anorganische Stoffe werden Quarz, Keramik und Siliziumdioxid verwendet (Hellwig *et al.*, 2006). Inwiefern die Eigenschaften der Komposite verändert werden, hängt vom Anteil des Füllers in der Matrix (Summitt *et al.*, 2001), sowie von der Größe und Art des Füllers (Lutz *et al.*, 1983) ab. In Abhängigkeit der Größe der anorganischen Partikel werden Komposite in (1) konventionelle

Komposite, (2) Hybrid-Komposite und (3a) homogene oder (3b) inhomogene Mikrofüller-komposite klassifiziert (nach Lutz *et al.*, 1983).

Tabelle 4: Klassifikation der Komposite basierend auf der Füllergröße (nach Lutz *et al.*, 1983).

Bezeichnung	Füllergröße
Konventionelle Komposite	1 - 5 $\mu\text{m}$
Hybrid Komposite	1 - 10 $\mu\text{m}$
Mikrofüller-Komposite	
a: Homogene Mikrofüller-Komposite	0,01 - 0,04 $\mu\text{m}$
b: Inhomogene Mikrofüller-Komposite	1 - 200 $\mu\text{m}$ , 10 - 30 $\mu\text{m}$ und 1 - 25 $\mu\text{m}$

**Verbundphase.** Diese ist für die Verbindung zwischen der Kunststoffmatrix und den Füllern verantwortlich. Es werden bipolare Silanverbindungen wie das Methacryloxypropyl-trimethoxysilan verwendet (Lutz *et al.*, 1983; Gängler, 1995). Diese Verbundphase stellt eine Schwachstelle der Komposite dar, da sie durch Hydrolyse gelöst werden kann (Gängler, 1995; Hellwig *et al.*, 2006).

### 2.1.5 Adhäsivtechnik

Kompositrestaurationen gehen keine chemische Verbindung mit Zahnhartsubstanzen ein. Auf Grund der Polymerisationsschrumpfung entwickelt sich ein Randspalt zwischen Restauration und Zahnhartsubstanz die zum Eindringen von Mikroorganismen, Perkolation, marginalen Verfärbungen und Sekundärkaries führt (Hellwig *et al.*, 2006). Um dieses Problem zu lösen wurden Materialien (*bonding agents*) und Techniken entwickelt, die eine Haftung (Adhäsion) des Komposits an Schmelz und Dentin ermöglichen.

**Schmelzadhäsion.** 1955 beschrieb Buonocore die Schmelzätzung als Grundlage für die Adhäsion von Acrylaten an Schmelz (Buonocore, 1955). Diese Konditionierung führt zu einer besseren Benetzbarkeit, einer Oberflächenvergrößerung und einem Mikroretentionsrelief welches die dauerhafte Verbindung des Komposits an der Schmelzoberfläche ermöglicht (Hellwig *et al.*, 2006). Für die Schmelzätzung wird Orthophosphorsäure zwischen 30 und 40 Gew.-% verwendet. Niedrigere Konzentrationen führen zur Bildung einer Brushitschicht ( $\text{CaHPO}_4$

2H<sub>2</sub>O), höhere Konzentrationen zur Präzipitation von Kalziumphosphatverbindungen (Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> H<sub>2</sub>O). Beides blockiert die Ätzwirkung und kann kaum mit Wasserspray entfernt werden (Lutz *et al.*, 1976; Hellwig *et al.*, 2006). Drei verschiedene Ätztypen sind beschrieben worden. Typ I ist durch die prädominierte Auflösung der Schmelzprismenkerne, Typ II durch die Auflösung der interprismatischen Substanz, und Typ III als Mischtyp beschrieben worden (Summitt *et al.*, 2001; Hellwig *et al.*, 2006). Niedrigvisköse Haftvermittler (Bonding) dringen in diese veränderte Struktur ein und haften mikromechanisch am Zahnschmelz aufgrund rheologischer und geometrischer Effekte (Hellwig *et al.*, 2006).

**Dentinadhäsion.** Während die Haftung am Schmelz relativ leicht erreicht werden kann, erweist sich die Haftung an Dentin als deutlich problematischer (Summitt *et al.*, 2001). Die Zusammensetzung des Dentins, Dentinkanälchen mit Dentinliquor, organische Bestandteile, Schmierschicht, lassen eine mikromechanische Haftung eines hydrophoben Kompositmaterials nicht zu (Hellwig *et al.*, 2006). Moderne Adhäsivsysteme ermöglichen eine mikromechanische Haftung des hydrophoben Komposits und des feuchten Dentins. Dazu muss das Dentin zuerst durch Säureätzung konditioniert werden um das Kollagenetzwerk freizulegen. Dieses freie Kollagen kann anschließend durch einen Primer, der ein hydrophiles Monomer enthält, durchdrungen und anschließend durch ein Dentinadhäsiv stabilisiert werden. Die so entstandene Schicht wird als Hybridschicht bezeichnet (Hellwig *et al.*, 2006).

Tabelle 5: Klassifikation der Adhäsivsysteme (nach Hellwig *et al.*, 2006).

Adhäsivsysteme mit selektiver Schmelzätzung
Adhäsivsysteme für die Etch-and-Rinse-Technik (Total-etch-Technik)
Adhäsivsysteme ohne separate Ätzung (Non-Rinse-Technik)

### 2.1.6 Auswirkungen von Karies, Präparation und Komposit- Füllungsmaterialien auf die Zahnpulpa

Zahnkaries ist eine der häufigsten Erkrankungen des Menschen (Marthaler, 2004). Die im Jahr 1890 durch Willoughby D. Miller aufgestellte Chemo-Parasitäre-Theorie der Kariesentstehung ist, mit einigen Anpassungen, noch bis dato gültig (Marsch und Martin, 2003). Sie besagt, dass Karies durch das Zusammenwirken von pathogenen Mikroorganismen und be-

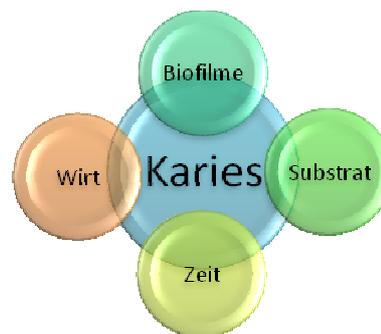
günstigen ökologischen Faktoren in der Mundhöhle entsteht. Besteht in der Mundhöhle ein erhöhtes Angebot an niedermolekularen Kohlehydraten, können kariogene Mikroorganismen (*Streptococcus mutans*) in oralen Biofilmen aus diesem Substrat organische Säuren produzieren (Takahashi & Nyvad, 2010). Wirken diese Säuren lange genug auf den Wirt ein, werden

Tabelle 6: Reaktionen der Zahnpulpa auf Karies.

1) Verringerung der Permeabilität des Dentins
2) Tertiärdentinbildung
3) Entzündung

Zahnhartsubstanzen entmineralisiert (Koenig, 1971; Hellwig *et al.*, 2006). Erste Auswirkungen der Karies auf die Pulpa können schon aus der Schmelzkaries, noch deutlicher aber aus der Dentinkaries resultieren. Bakterielle Toxine und Enzyme können relativ rasch über Dentinkanälchen bis in die Pulpa penetrieren. Im Anfangsstadium ist das Endodont in der Lage, sich durch die Obliteration von Dentinkanälen und die Bildung von Reizdentin zu schützen. Schreitet das Krankheitsbild voran, gelangen immer mehr bakterielle Produkte wie Enzyme, Endo- und Exotoxine, Polysaccharide, Peptide, organische Säuren u.v.m. in die Pulpa und verursachen eine Entzündung (Pulpitis) die im weiteren Verlauf in einer Pulpanekrose enden kann (Cohen *et al.*, 2006; Hellwig *et al.*, 2006).

Abbildung 7: Ätiologische Faktoren der Kariesentstehung. (Keys, 1962; Koenig, 1971).



Präparative und restaurative Maßnahmen an vitalen Zähnen können ebenfalls zu einer Irritation und Entzündung der Zahnpulpa führen (Murray *et al.*, 2002). Eine thermische Pulpaschädigung durch die Präparation mit rotierenden Diamanten, obwohl durch die Verwendung von Luft- und Wasserkühlung gering ausgeprägt, ist nicht ausgeschlossen (Summitt *et al.*, 2001). Zusätzliche thermische Schädigung kann durch die exothermische Abbindereaktion von Fül-

lungsmaterialien, z.B. des Komposits mit einer Temperaturerhöhung von bis zu 12°C entstehen (Hellwig *et al.*, 2006). Auch die Anwendung von Polymerisationslampen kann zu einer Erhöhung der Temperatur führen. Vor allem Quarz-Wolfram-Halogenlampe sind in der Lage einen signifikanten intrapulpalen Temperaturanstieg herbeizuführen (Dogan *et al.*, 2009). Weitere Ursachen für Pulpaschäden sind Vibration, hoher Druck, Austrocknung des Dentins und chemische Schädigung z.B. durch die Säureätzung (Cohen *et al.*, 2006) und eluirbare Monomere (v.a. TEGDMA) aus Füllungsmaterialien (Schmalz *et al.*, 2011).

Zahnfarbene Füllungsmaterialien und deren Bestandteile können zu einer entzündlichen Reaktion der Pulpa führen. Für die Zytotoxizität der Komposite sind vor allem nicht polymerisierte Monomere verantwortlich (Krifka *et al.*, 2012). Die Konversionsrate der Komposite beträgt 35 bis 77%. Dies deutet auf eine relativ hohe Prozentzahl unpolymerisierter Moleküle hin, die sich vor allem in den ersten 24 Stunden nach Polymerisation aus der Füllung lösen können, sowohl in den Speichel als auch in die Zahnpulpa (Ferracane *et al.*, 1990). Unter den eluirbaren Monomeren werden vor allem kleinere organische Moleküle, u.a. HEMA und TEGDMA ausgelöst (Michelsen *et al.*, 2003). HEMA (2-Hydroxyethyl-methacrylat) und TEGDMA (Triäthylen-glykol-dimethacrylat) sind am stärksten für die Zytotoxizität der Kompositfüllungsmaterialien verantwortlich (Schweikl *et al.*, 2007). Diese Monomere sind in der Lage Zellen (Odontoblasten, Fibroblasten, pulpale Stammzellen) zur Apoptose durch Bildung von intrazellulären Sauerstoffradikalen (ROS) zu induzieren (Samuelsen *et al.*, 2007; Krifka *et al.*, 2012). Auch die Art der Polymerisationslampe hat Einfluss auf die Konversionsrate der Komposite. So ist diese bei modernen LED-Lampen höher als bei halogenen Lampen (Silva *et al.*, 2011). Eine dünne Dentinschicht zwischen Kavität und Pulpa und der direkte Kontakt des Komposits mit frisch angeschnittenem Dentin verursachen letztendlich eine Entzündung, deren schädlichen Auswirkungen jedoch meistens reversibel sind (Lutz *et al.*, 1976; Summitt *et al.*, 2001).

### 2.1.7 Die Ratte als Tiermodell in der Zahnmedizin

Rattenmolaren können anatomisch, histologisch, biologisch und physiologisch als dem menschlichen Zahn ähnlich angesehen werden. Die biologischen Reaktionen und Prozesse während der verschiedenen Stadien der Wundheilung der Rattenzahnpulpa sind vergleichbar

mit denen anderer Säugetiere. Rattenzähne dienen zum Beispiel als Modell zur Erforschung von pulpalen Reaktionen bei Pulpaeröffnungen, direkten Überkappungen, Pulpotomien (Dammaschke, 2009) und zur Prüfung der Biokompatibilität von verschiedenen Füllungsma-  
 terialien (Six *et al.*, 2000). Rattenmolaren sind ein gültiges Studienmodell zur Erforschung  
 pulpaler Reaktionen und ermöglichen den Verzicht auf Forschung mit höheren Säugetieren  
 (Dammaschke, 2009).

Tabelle 7: Einige an Rattenzähnen durchgeführte Studien in der zahnmedizinischen Forschung.

Titel	Autor/en	Jahr
Pulpal effects of argon fluoride excimer laser irradiation and acid etching of rat molar enamel.	Arcoria CJ, Lippast MG, Speross P, Wagners MJ	1992
In vivo study of the pulp reaction to Fuji IX, a glass ionomer cement.	Six N, Lasfargues JJ, Goldberg M	2000
Reaction of rat pulp tissue to Carisolv new gel – A Histological evaluation.	Dammaschke T, Stratmann U, Danesh G, Schäfer E, Ott KHR	2006
Proliferation of rat molar pulp cells after direct pulp capping with dentine adhesive and calcium hydroxide.	Dammaschke T, Stratmann U, Fischer RJ, Sagheri D, Schäfer E	2010
Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate (MTA) and bone morphogenic protein 2 (BMP-2) and response of rat pulp to MTA and BMP-2.	Ko H, Yang W, Park K, Kim M	2010

Die Versorgung von Kavitäten im Rattenzahn mit Komposit, ermöglicht eine dichte Versiegelung gegenüber bakterieller Einwanderung (Dammaschke *et al.*, 2006). Diese Versiegelung wurde in verschiedenen Studien anhand eines „leakage tests“ geprüft (Dammaschke *et al.*, 2006, 2009, 2010). Hierbei wird ein gefüllter Rattenzahn nach Dissektion aus dem Versuchstier für 24 Stunden in eine Fuchsinlösung eingetaucht und anschließend auf dessen Richtigkeit in histologischen Schnitten geprüft. So können bakterielle Faktoren, die Einfluss auf pulpalen Entzündungen haben, ausgeschlossen werden (Dammaschke *et al.*, 2006, 2010).

Da bisher noch keine bekannte Testung über die Auswirkungen kalten Plasmas auf die lebende Zahnpulpa weder beim Menschen noch im Tiermodell durchgeführt wurde, sind die möglichen Nebenwirkungen nicht bekannt. Um diese in der vorliegenden Studie zu erforschen kamen nur vitale, gesunde Zähne, die auch nach kurzer Zeit extrahiert werden konnten, in Frage. Aus diesen Gründen sind Rattenmolaren bzw. Rattenmundschleimhaut dafür geeignet die im Rahmen dieser Studie aufgestellten Hypothesen zu prüfen.

### 2.1.8 Das Kauorgan der Ratte

Ratten haben 16 permanente Zähne. Ihr Gebiss besteht aus einem Schneidezahn und drei Molaren pro Kieferquadrant, sowohl im Ober- wie im Unterkiefer. Eckzähne und Prämolaren sind nicht vorhanden, jedoch besteht im Bereich, wo man diese Zähne vermuten würde, ein breites Diastema. Die Zahnformel ist demnach pro Kieferquadrant folgende: Schneidezähne 1/1, Canini 0/0, Prämolaren 0/0, Molaren 3/3. Milchzähne kommen nicht vor (Moore, 2000; Capello, 2008). Wie bei den meisten rattenähnlichen Nagetieren wachsen die Incisivi der Ratte lebenslang nach (elodonte Zähne). Der Apex der Schneidezähne bleibt offen. Bei Rattenmolaren hingegen ist die Zahnentwicklung und Wachstum mit dem Apexschluss vollendet (anelodonte Zähne) (Verstraete, 2003; Capello, 2008). Auf der Spitze der Höcker der Rattenmolare befindet sich ein Schmelzfreier Bereich mit freiliegendem Dentin (Yamamoto und Nowa, 1995).

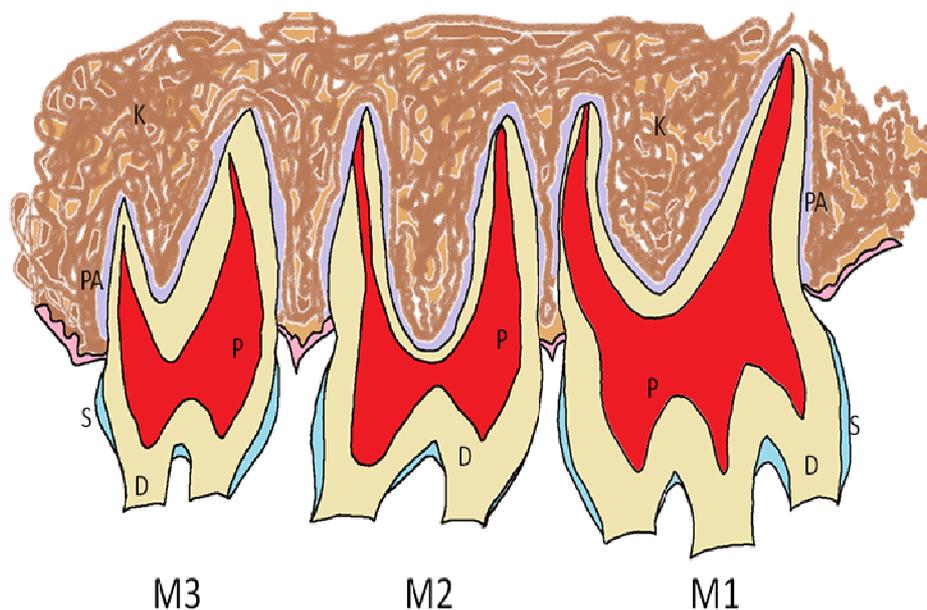


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Oberkiefer Rattenmolaren. Der erste Molar (M1) ist der Größte, der dritte Molar der kleinste Zahn. Die Höckerspitzen der Rattenzähne sind schmelzfrei. Der erste Molar hat 3 Höcker, der zweite und dritte Molar haben jeweils zwei Höcker. Legende: S: Schmelz, D: Dentin, P: Pulpa, PA: parodontales Ligament, K: Alveolarknochen.

## 2.2 Begründung, Ziel der Arbeit und Fragestellung

Kalte atmosphärische Plasmen können im Rahmen der sich etablierenden Plasmamedizin auch auf dem Gebiet der Zahnerhaltung eingesetzt werden. Da es sich um neuartige Therapieverfahren handelt, liegen *in-vivo*-Daten noch nicht vor. Für die Untersuchung der Pulpareaktion und der Reaktion der gingivalen Schleimhaut ist ein reaktives biologisches Modell unerlässlich, das Heilung bzw. die Identifikation irreversibler Schädigungsmöglichkeiten einschließt.

Im Rahmen der vorgestellten Studie sollte die Machbarkeit der Anwendung eines kalten atmosphärischen Plasmas in der adhäsiven Füllungstherapie geprüft werden. Es wird angestrebt, mit Hilfe des hier beschriebenen Versuchs, die Unbedenklichkeit des Einsatzes kalten atmosphärischen Plasmas erstmals an der Pulpa *in-vivo* nachzuweisen. In der Abwägung der geringen Leiden der Tiere zum erwarteten Erkenntnisgewinn wurde dieser Versuch als ethisch vertretbar angesehen.

Es wurden folgende Arbeitshypothesen aufgestellt:

1. Eine thermische oder durch Austrocknung des Dentins verursachte Schädigung der Zahnpulpa bei Anwendung des Plasmajets ist nicht zu erwarten.
2. Zwischen den bestrahlten und unbestrahlten Zahnproben sind ähnliche Ergebnisse zu erwarten.
3. Eine Schädigung der oralen Mundschleimhaut ist nicht zu erwarten.

## 3 Material und Methode

### 3.1 Plasmajet

#### 3.1.1 Aufbau

In der vorliegenden Studie wurde indirektes, kaltes, atmosphärisches Plasma benutzt. Die Plasmaquelle wurde am Leibniz Institut für Oberflächenmodifizierung (IOM) in Leipzig entwickelt. Diese mikrowellenangeregte, miniaturisierte Plasmaquelle bestand aus einem Elektrodenkoaxialsystem und wurde mit Heliumgas betrieben. Der Innenleiter bestand aus einem 0,3 mm starken Stahlrohr und repräsentierte die innere Elektrode. Die Prozessgase wurden über diesen Innenleiter zugeführt. Der äußere Körper der Plasmaquelle bildete die zweite Elektrode. Dieser bestand aus 3,4 mm dickem Stahl zur Abschirmung der erzeugten Mikrowellen. Über einen gepulsten Mikrowellengenerator, der eine Frequenz von 2,45 GHz generierte, wurde die Plasmaquelle angeregt. Der Generator ermöglichte eine Peak-Leistung von 100–300 W, eine mittlere Leistung von 1–9 W und eine Pulsweite von 1–10  $\mu$ s. Die Flussrate der Gase wurde über einem Massenflussregler reguliert. Für diese Studie wurde die ursprünglich auf einem computergesteuerten 3-Achsen Tischsystem montierte Plasmaquelle umgebaut (Rupf *et al.*, 2009), um eine vereinfachte Handhabung in der Mundhöhle der Versuchstiere zu ermöglichen.

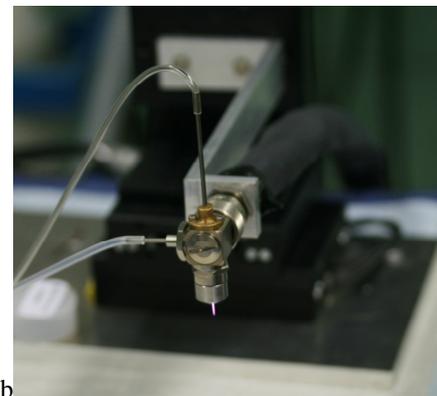
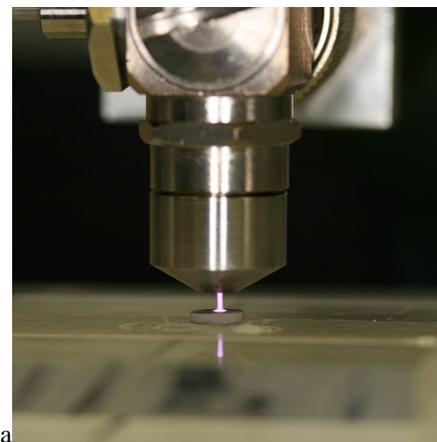


Abbildung 9a,b: Verwendete Plasmaquelle und Plasmajet. Quelle: S. Rupf, Universität des Saarlandes.

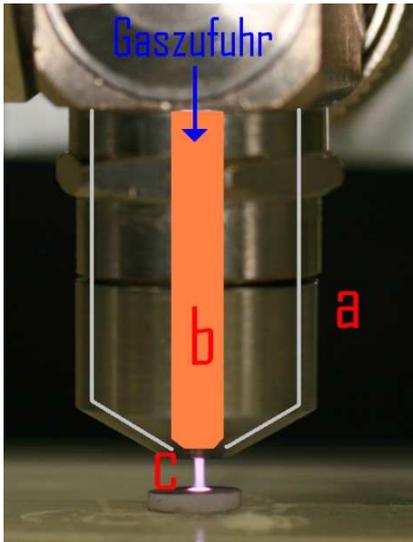


Abbildung 10: Darstellung einer Plasmaquelle und eines Plasmajets.  
 a: äußerer Stahlkörper  
 b: Innenleiter  
 c: Plasmajet

### 3.1.2 Bestrahlungsparameter

Konstante Bestrahlungsparameter wurden an allen Proben eingehalten. Die Mikrowellenpulslänge betrug  $2 \mu\text{s}$  bei einer Peakleistung von 250 W und einem Helium-Gasfluss von 2,0 Litern pro Minute.

Tabelle 8: Bestrahlungsparameter des hier vorgestellten Versuchs.

<b>Plasmaanregung</b>	Gepulste Mikrowelle 2,45 GHz
<b>Pulsleitung</b>	250 W
<b>Pulsbreite</b>	$2 \mu\text{s}$
<b>Mittlere Leistung</b>	2,4 W
<b>Temperatur des Jets</b>	$40^\circ\text{C}$
<b>Gasfluss</b>	He, 2 l/min

Die mittlere Leistung wurde auf 2,4 W eingestellt. Der erzeugte Plasmastrahl war gaussförmig, ca. 8 mm lang und hatte eine Halbwertsbreite (HBW) von 0,5 mm. Die Temperatur der Zahnoberfläche am

Strahlauftreffpunkt betrug  $40^\circ\text{C}$ . Die Temperaturkontrolle erfolgte dabei mittels Infrarot-Thermographie (Infrarotkamera Optris PI, Software PI Connect, Optris GmbH, Berlin, Deutschland). Die Bestrahlungsdauer betrug 5 s pro Zahn.

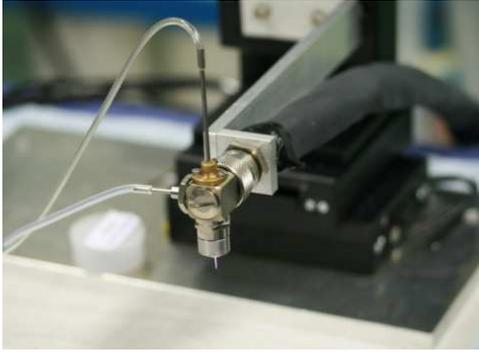


Abbildung 11: Am Leibniz Institut für Oberflächenmodifizierung in Leipzig entwickelte miniaturisierte Plasmaquelle mit gezündetem Plasmajet. Quelle: S. Rupf, Universität des Saarlandes.



Abbildung 12: Infrarotkamera Optris PI für die Wärmebestimmung. Quelle: S. Rupf, Universität des Saarlandes.

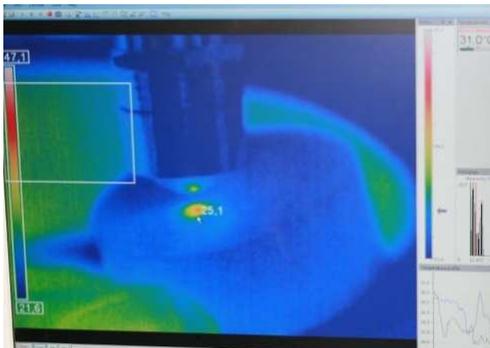


Abbildung 13: Software PI Connect für die Infrarot-Thermographie. Die Temperatur des Jets ist geringer als + 40°C. Quelle: S. Rupf, Universität des Saarlandes.

## 3.2 Probengewinnung

An 20 eigens für Tierversuche gezüchteten Sprague-Dawley Ratten wurde im split-mouth design der erste Molar beider Oberkieferquadranten für die Aufnahme einer Kompositfüllung präpariert. Die okklusalen Kavitäten besaßen einen Durchmesser von 1 x 1,5 mm und eine Tiefe von 0,5 mm bei einer Restdentinstärke von 0 bis 0,3 mm. Die Kavitätenpräparation erfolgte mit einem kugelförmigen Präparationsdiamanten ISO 008 (Komet Dental, Gebr. Brassler GmbH & Co. KG, Lemgo, Deutschland). Um die Hitzeentwicklung zu minimieren wurde mit 6000 U/min und konstanter Luft- und Wasserkühlung gearbeitet. Sowohl der präparierte

erste Molar und der unversehrte zweite Molare eines Oberkieferquadranten wurden mit kaltem, mikrowellenangeregtem, gepulstem Plasmajet bestrahlt und bildeten die Versuchsgruppe. Die Tiere wurden nummeriert und zur Wiedererkennung an den Ohren markiert. Versuchstiere mit geraden Zahlen wurden nur im linken Oberkiefer bestrahlt, Versuchstiere mit ungeraden Zahlen im rechten Oberkiefer. Die präparierten Kavitäten auf beiden Kieferhälften wurden anschließend auf identische Art und Weise mit dem selbstätzenden Adhäsiv AdheSE One (Ivoclar Vivadent GmbH, Schaan, Fürstentum Liechtenstein) und dem Flow-Komposit Tetric EvoFlow (Ivoclar Vivadent GmbH, Schaan, Fürstentum Liechtenstein) gefüllt. Die gefüllten, nicht bestrahlten ersten Molaren und die unversehrten, nicht bestrahlten zweiten Molaren bildeten die Vergleichsgruppe.

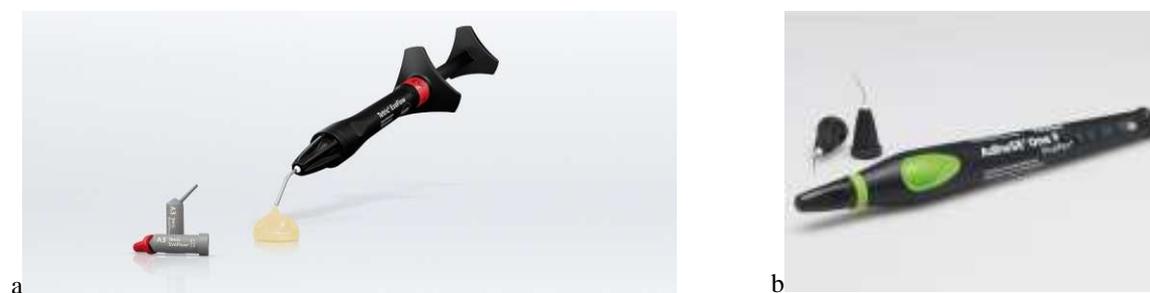
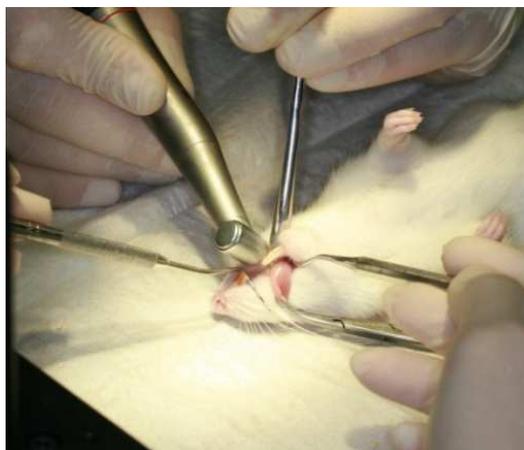


Abbildung 14: Verwendetes Füllungsmaterial. a) Flow-Komposit Tetric EvoFlow, b) Adhäsiv AdheSE One (beides Ivoclar Vivadent GmbH, Schaan, Fürstentum Liechtenstein) Quelle der Fotografien: [www.ivoclarvivadent.com](http://www.ivoclarvivadent.com)

Abbildung 15: Kavitätenpräparation für die Aufnahme einer Kompositfüllung am Rattenmolar. Quelle: S. Rupf, Universität des Saarlandes.



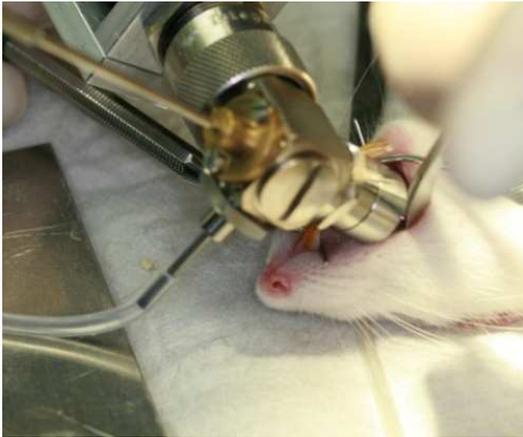


Abbildung 16: Bestrahlung eines Versuchstieres. Die Dauer der Bestrahlung betrug 5 s. Quelle: S. Rupf, Universität des Saarlandes.

Abbildung 17: Photopolymerisation des Füllungsmaterials im Rattenmaul. Quelle: S. Rupf, Universität des Saarlandes.



Bei der Behandlung von Zahnhartsubstanzen mit kaltem Plasma in der Mundhöhle ist eine akzidentelle Bestrahlung der oralen Mundschleimhaut nicht immer zu vermeiden. Um die möglichen Auswirkungen des Plasmajets auf die Schleimhaut zu beurteilen wurde zusätzlich zu den Zähnen ein ca. 5 x 5 mm großes Schleimhautareal im bukkalen Bereich der Oberkiefer Schneidezähne unter den gleichen Parametern bestrahlt.

Abbildung 18: Bestrahltes Schleimhautareal. Quelle: S. Rupf, Universität des Saarlandes.

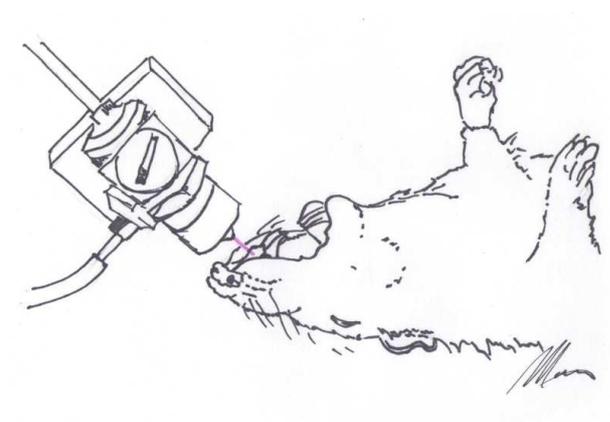


Abbildung 19: Darstellung der Bestrahlung der vestibulären Mundschleimhaut der Versuchstiere im Bereich zwischen den mittleren Schneidezähnen.

Die vorliegende Studie wurde dem § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes entsprechend durch das Landesamt für Soziales, Gesundheit und Verbraucherschutz Abteilung H „Lebensmittel und Veterinärwesen“ (Saarbrücken, Deutschland) über die Tierschutzbeauftragte der Universität des Saarlandes, nach entsprechendem schriftlichen Antrag vom 13.02.2009 genehmigt (Versuch Nr. 7/2009).

Die Narkose der Versuchstiere wurde dem Tierschutzantrag entsprechend durchgeführt. Für die Narkoseeinleitung wurden die Tiere in einen dichten Plexiglaskasten mit Isofluran gebracht. Die nachfolgende Injektionsnarkose erfolgte mit der Verabreichung von 80 mg/kg Ketamin und 5 mg/kg Xylacine. Nachinjektionen wurden bei Bedarf auf das Körpergewicht bezogen. Nach jeweils 24 Stunden und 28 Tagen wurden 10 Ratten geopfert. Beide Oberkiefermolarensegmente wurden entnommen. Die Tötung der Tiere erfolgte mit 200 mg/kg Körpergewicht Pentobarbital. Die Segmente wurden von Weichgewebe befreit und für 24 Stunden in 4%igem Formalin fixiert. Die Zähne wurden in 10%igem EDTA über 4 Wochen demi-

neralisiert um die Herstellung von feinen histologischen Schnitten zu ermöglichen. Die Molarensegmente wurden in Paraffin eingebettet. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Kiefersegmente so platziert wurden, dass medio-distale (sagittale) Schnitte der Zähne entstanden. Mit einem Mikrotom wurden histologische Schnitte der Kiefersegmente mit einer Schichtstärke von 6 µm angefertigt.

### 3.3 Auswertungsmethoden

#### 3.3.1 Einteilung der Versuchstiere

Die Versuchstiere in der hier vorgestellten Studie wurden nach dem Zufallsprinzip in 2 Gruppen eingeteilt und in verschiedenen Käfigen voneinander getrennt. Die Tiere wurden nummeriert und mit Perforationen an den Ohrläppchen gekennzeichnet. Die Ratten Nr. 1 bis Nr. 10 wurden 24 Stunden nach der Bestrahlung geopfert. Die Versuchstiere Nr. 11 bis Nr. 20 wurden 28 Tage nach der Bestrahlung mit kaltem Plasma geopfert. Versuchstiere mit geraden Zahlen wurden nur im linken Oberkieferquadranten mit kaltem, atmosphärischem Plasma bestrahlt. Versuchstiere mit ungeraden Zahlen wurden nur im rechten Oberkiefer bestrahlt. Jedem Tier wurden 4

Tabelle 9: Kennzeichnung der aus den einzelnen Ratten entnommenen Proben. Der Buchstabe X steht exemplarisch für die Nummer einer Ratte.

<b>Kennzeichnung</b>	<b>Erklärung</b>
X.1	Oberkiefer Seitenzahnsegment rechts oder links, Plasma, Füllung.
X.2	Oberkiefer Seitenzahnsegment rechts oder links, nur Füllung.
X.3	Oberkiefer Schneidezähne, nur Plasma.
X.4	Oberkiefer Schleimhaut (Mitte Vestibulum).

verschiedene Proben entnommen. Die Kennzeichnung der einzelnen Proben wird in der Tabelle 9 dargestellt. Ausgewertet wurden nur die beiden Seitenzahnsegmente des Oberkiefers (X.1 und X.2) sowie die Mundschleimhautproben aus dem Vestibulum des Oberkiefers (X.4).

### 3.3.2 Beurteilung der Zahnpulpa

Die histologischen Schnitte der Rattenzähne wurden mit Hämatoxylin-Eosin (HE Färbung nach Ehrlich, siehe Tabelle 10) und CAE (Chloracetatesterase, siehe Tabelle 11) gefärbt.

Die Hämatoxylin-Eosin Färbung ist ein auf unterschiedliche Ladungen basierendes histologisches Färbeverfahren. Das Hämatoxylin dient dabei als basische Färbung. Zelluläre Strukturen die durch Hämatoxylin gefärbt werden, werden als basophil bezeichnet. Diese sind säurehaltig, so werden Nukleinsäuren (DNS) im Zellkern, Ribosome (RNS) und RNS-reiches Zytoplasma durch Hämatoxylin dunkelblau/lila dargestellt. Eosin dagegen ist eine saure Färbung. Basische Strukturen werden demnach durch das Eosin rot-rosa gefärbt. Zum Beispiel sind Zytoplasmaproteine, extrazelluläre Proteine und Kollagenfasern eosinophil (Rüegg und Meinen, 2011).

Tabelle 10: Protokoll der verwendeten Hämatoxylin – Eosin Färbung.

<b>Entparaffinierung und absteigende Alkoholreihe</b>	
<b>Lösung</b>	<b>Einwirkzeit</b>
Entparaffinierungsmittel	10 min
100% Ethanol I	2 min
100% Ethanol II	2 min
96%iges Ethanol	2 min
70% Ethanol	2 min
Destilliertes Wasser	10 min
<b>Hämatoxylin-Eosinfärbung nach Ehrlich</b>	
Hämatoxylin (nach Ehrlich)	10 min
H <sub>2</sub> O	5 min
70%iges Ethanol + 1% HCL	1 sek
H <sub>2</sub> O (nachbläuen)	5 min
Eosin (1:10)	10 min
<b>Entwässerung mit aufsteigender Alkoholreihe und Endentparaffinierung</b>	
70% Ethanol	1 sek
96% Ethanol	1 sek
100% Ethanol I	2 min
100% Ethanol II	2 min
Entparaffinierungsmittel	2 min
Entparaffinierungsmittel	10 min

Die CAE Färbung macht sich die enzymatische Aktivität der Esterasen in den Granulozyten und anderen Abwehrzellen des Organismus zu Nutze. Höhere enzymatische Aktivität, dementsprechend höhere Präsenz von neutrophilen Granulozyten wird dunkelrot dargestellt (Markovic *et al.*, 1988).

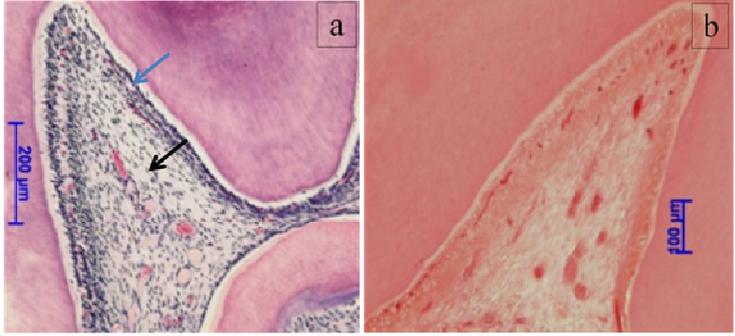
Tabelle 11: Protokoll der verwendeten Chloracetatesterasefärbung (CAE).

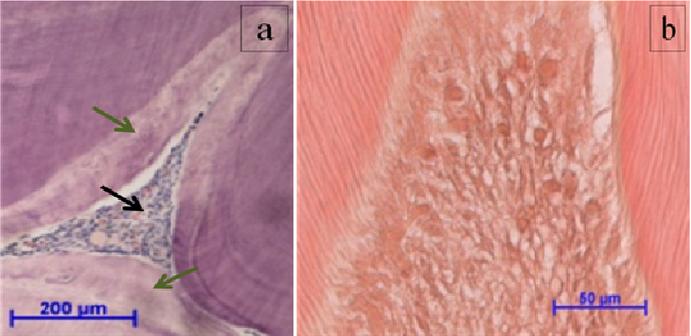
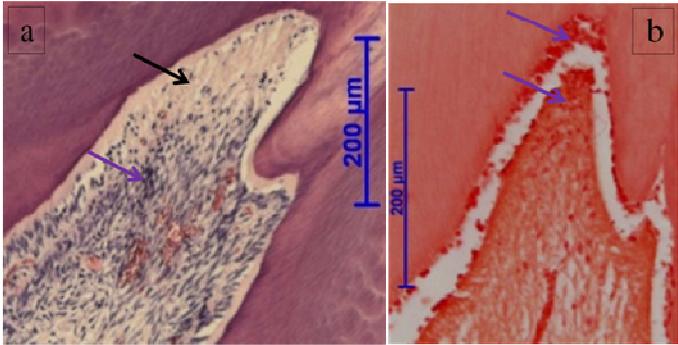
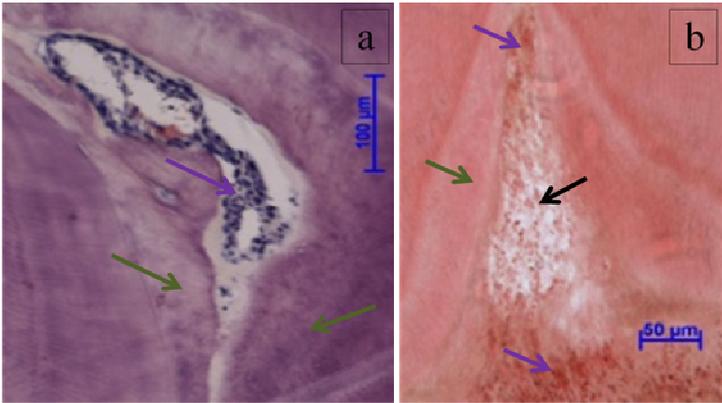
<b>Vorbereitung</b>	
Angesetzte Volumina reichen für 19 Schnitte.	
Angesetzte Lösungen (außer Pararosanilin und Na-Nitrit, 4 - 6 Wochen im Kühlschrank haltbar) nach Gebrauch verwerfen.	
<b>Ansatz der Lösungen</b>	
<u>Pararosanilin 4%:</u>	<u>Natriumnitrit (4%)</u>
0,4 g Pararosanilin	0,4 g Natriumnitrit
10 ml 2 N HCL	10 ml aqua destillata
<b>Färbung</b>	
1. Schnitte entparaffinieren. Schnitte in aqua destillata ausspülen. Reagenzlösungen ansetzen.	
2. Tropfengemisch: 20 Tropfen Pararosanilin (4%) 20 Tropfen Natrium Nitrit (4%) In einem kleinen Gefäß mischen.	
3. Tropfen zu 200 ml Na-Acetat-Veronalpuffer geben und mit 2 N HCL auf pH 6,3 einstellen. (Lösung wird trüb).	
4. Lösung mit 2 Filtertüten übereinander in einen 250-ml Erlenmayer-Kolben filtrieren.	
5. 0,14g Naphthol mit 12,6 ml Dimethylformamid in einem 20-ml Becherglass mischen.	
6. Die beiden Lösungen (3+4) im Erlenmayer-Kolben miteinander mischen (entstandene Lösung wird rosa, trüb).	
7. Lösung wiederum in große Küvette filtrieren (1 Filtertüte).	
8. Schnitte sofort in die filtrierte Lösung stellen: 30 Minuten bei Raumtemperatur.	
9. Schnitte leicht wässern: 5 - 10 Minuten.	
10. Kernfärbung in Hämatoxylin nach Mayer (Hämalaun) für 15 bis 20 Sekunden.	
11. Schnitte in aqua destillata spülen.	
12. Differenzieren mit HCL-Alkohol: 1- bis 2-mal eintauchen.	
13. Schnitte in destilliertem Wasser spülen.	
14. Fließend mit Leitungswasser wässern.	
15. Mit Glycerin-Gelatine eindecken und Fugen mit klarem Lack versiegeln.	

Zunächst wurde jeder achte Schnitt eines Kiefersegments in der HE Färbung gefärbt und unter einem Lichtmikroskop (Olympus BX 50, Olympus Corporation, Tokyo, Japan) betrachtet. Es wurden Schnitte ausgewählt, die am nächsten zur behandelten Region lagen. Hierfür wurde auf Füllungsreste, Kavität oder deutliche histologische Veränderungen geachtet. Sobald ein geeigneter Schnitt in der HE Färbung gefunden wurde, wurde der davor oder danach liegende Schnitt zusätzlich mit CAE gefärbt. Die Schnitte wurden in 1,25-, 5-, 10, 20- und 40igfacher Vergrößerung betrachtet. Bilder der Schnitte wurden mit der am Mikroskop inkorporierten Kamera (AxioCam, Carl-Zeiss, Oberkochen, Deutschland) und dem dazugehörigen Programm AxioVision (Carl-Zeiss, Oberkochen, Deutschland) für Microsoft Windows zur Dokumentation und Beurteilung aufgenommen. Die weitere Bearbeitung der Bilder bezüglich Helligkeit und Kontrast erfolgte mit Microsoft Picture Manager für Microsoft Office.

In den histologischen Präparaten wurden die Odontoblastenschicht, vorhandene Entzündungszellen, vorhandene Nekrosezonen und Prä- und Reizdentinbildung bewertet (Tabelle 12). Zur statistischen Absicherung wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test verwendet.

Tabelle 12: Scoring zur histologischen Bewertung der Zahnpulpa (adaptiert nach Arcoria *et al.*, 1992).

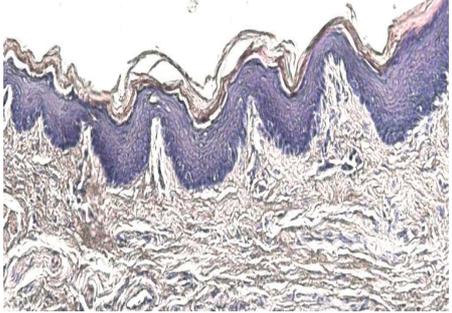
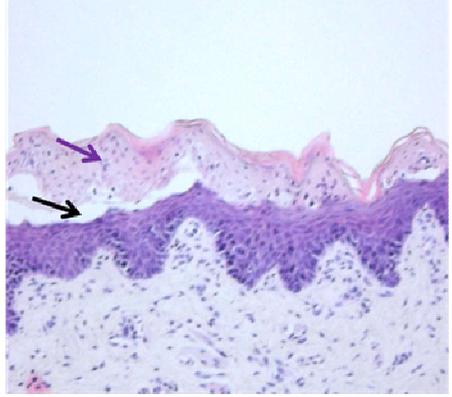
Score	Beschreibung	Bildbeispiele
1	Gesunde Pulpa, keine Entzündungszeichen, keine Reizdentinbildung	 <p>Abbildung 20: Pulpa mit Score 1. a) HE Färbung. Blauer Pfeil: intakte Odontoblastenschicht. Schwarzer Pfeil: entzündungsfreie Pulpa. b) CAE Färbung. Keine erhöhte Präsenz von Entzündungszellen erkennbar. Die dunkelroten Areale entsprechen den Erythrozyten in Blutgefäßen und sind nicht mit CAE-positiven Granulozyten zu verwechseln.</p>

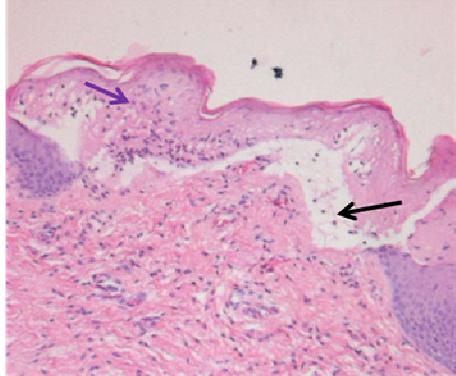
<p>2</p>	<p>Prä- und Reizdentinbildung, keine erhöhten Entzündungs- zeichen</p>	 <p>Abbildung 21: Pulpa mit Score 2. a) HE Färbung. Grüne Pfeile: Reizdentinsschicht. Schwarzer Pfeil: entzündungsfreie Zahnpulpa. b) CAE Färbung. Es sind keine CAE-positiven Zellen erkennbar.</p>
<p>3</p>	<p>Partielle Pulpanekrose, Odontoblastenschicht unterbrochen, keine Prä- oder Reizdentinbildung, Entzündung</p>	 <p>Abbildung 22: Pulpa mit Score 3. a) HE Färbung. Schwarzer Pfeil: Nekrosezone mit Zerstörung der Odontoblastenschicht. Lila Pfeil: Zone mit erhöhter Einwanderung von Entzündungszellen, diese sind stark basophil und kleiner als andere Zellen der Pulpa. b) CAE Färbung. Lila Pfeile: CAE positive Zellen, dunkelrot dargestellt, deuten auf eine Entzündung hin. CAE-positive Zellen sind Leukozyten, vor allem neutrophile Granulozyten.</p>
<p>4</p>	<p>Partielle Pulpanekrose und/oder Odontoblastenschicht unterbrochen, Prä- und Reizdentinbildung, Entzündung</p>	 <p>Abbildung 23: Pulpa mit Score 4. a) HE Färbung. Lila Pfeil: zum Teil nekrotisches und entzündetes Pulplagewebe. Grüne Pfeile: Reizdentin. b) CAE Färbung. Lila Pfeile: neutrophile Granulozyten (CAE positiv). Grüner Pfeil: Reizdentin. Schwarzer Pfeil: alterierte Pulpa.</p>
<p>5</p>	<p>Vollständige Pulpanekrose</p>	<p>Keine Abbildungen verfügbar, da dieser Score im Rahmen der Studie nicht nachweisbar war.</p>

### 3.3.3 Beurteilung der Mundschleimhaut

Für die Bewertung der Mundschleimhaut wurde ein einfaches Punktsystem, basierend auf der Tiefe der pathologischen Veränderungen, in Bezug auf die Basalmembran des Epithels verwendet. Es wurden für die Schleimhautschnitte die Hämatoxylin-Eosin- und die CAE- Färbungen verwendet.

Tabelle 13: Scoring zur histologischen Bewertung der Mundschleimhaut.

Score	Beschreibung	Bildbeispiel
1	Keine pathologische Veränderung	 <p data-bbox="938 1003 1406 1086">Abbildung 24: Schleimhaut mit Score 1. Unbeschädigtes Epithel der Mundschleimhaut.</p>
2	Nekrose/Ablösung von Epithelzellen ohne die Basalmembran zu überschreiten	 <p data-bbox="938 1512 1406 1659">Abbildung 25: Schleimhaut mit Score 2. Lila Pfeil: durch die Plasmabehandlung verändertes Epithel. Schwarzer Pfeil: Spaltbildung zwischen beschädigtes und gesundes Gewebe.</p>

<p>3</p>	<p>Nekrose/Ablösung von Epithelzellen über die Basalmembran hinaus</p>	 <p>Abbildung 26: Schleimhaut mit Score 3. Das Epithel wurde bis über die Basalmembran hinaus beschädigt. Schwarzer Pfeil: Spalt zwischen gesundem und nekrotischen Gewebe. Lila Pfeil: nekrotisches Gewebe mit Einwanderung von Entzündungszellen.</p>
----------	--	---

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse nach 24 Stunden

Im Lichtmikroskop ließ sich bei allen bestrahlten und gefüllten Molaren (Versuchsgruppe) eine deutliche Entzündungsreaktion feststellen. Diese Reaktion zeichnete sich bei allen Schnitten durch eine Pulpanekrose in den kavitätennahen Pulpahörnern mit Zerstörung der Odontoblastenschicht und leukozitärer Demarkation der Läsion aus. Bei allen Schnitten dieser Gruppe konnte in der CAE-Färbung die markante Präsenz neutrophiler Granulozyten bestätigt werden. Die Zähne zeigten noch keine Reaktion im Sinne der Bildung von Prä- oder Reizdentin. Alle Proben erhielten den Scorepunkt 3. Abgebildet sind unterschiedliche Befunde im Sinne einer repräsentativen Auswahl. Die vergebenen Scores sind jeweils in den Abbildungslegenden aufgeführt.

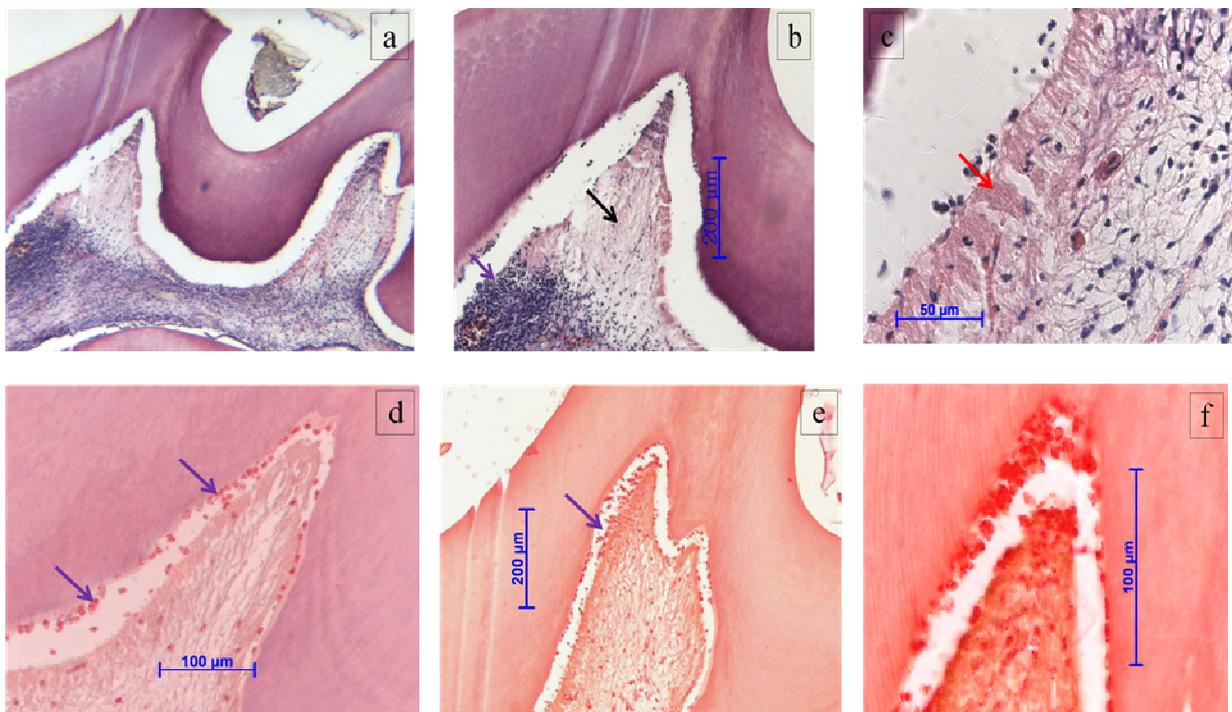


Abbildung 27: Präparat 2.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score: 3.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme. b) 10x, HE. Lila Pfeil: Zone mit erhöhter Einwanderung von Leukozyten (basophile Zellen mit reduziertem Durchmesser). Schwarzer Pfeil: Zone der Nekrose. c) 40x, HE. Roter Pfeil: Kernloses Zytoplasma eines Odontoblasten. d) 20x, CAE. Lila Pfeile: CAE-positive neutrophile Granulozyten. e) 10x, CAE. Lila Pfeile: CAE-positive Zellen. f) 40x, CAE. Die neutrophilen Granulozyten sind dunkelrot gefärbt worden.

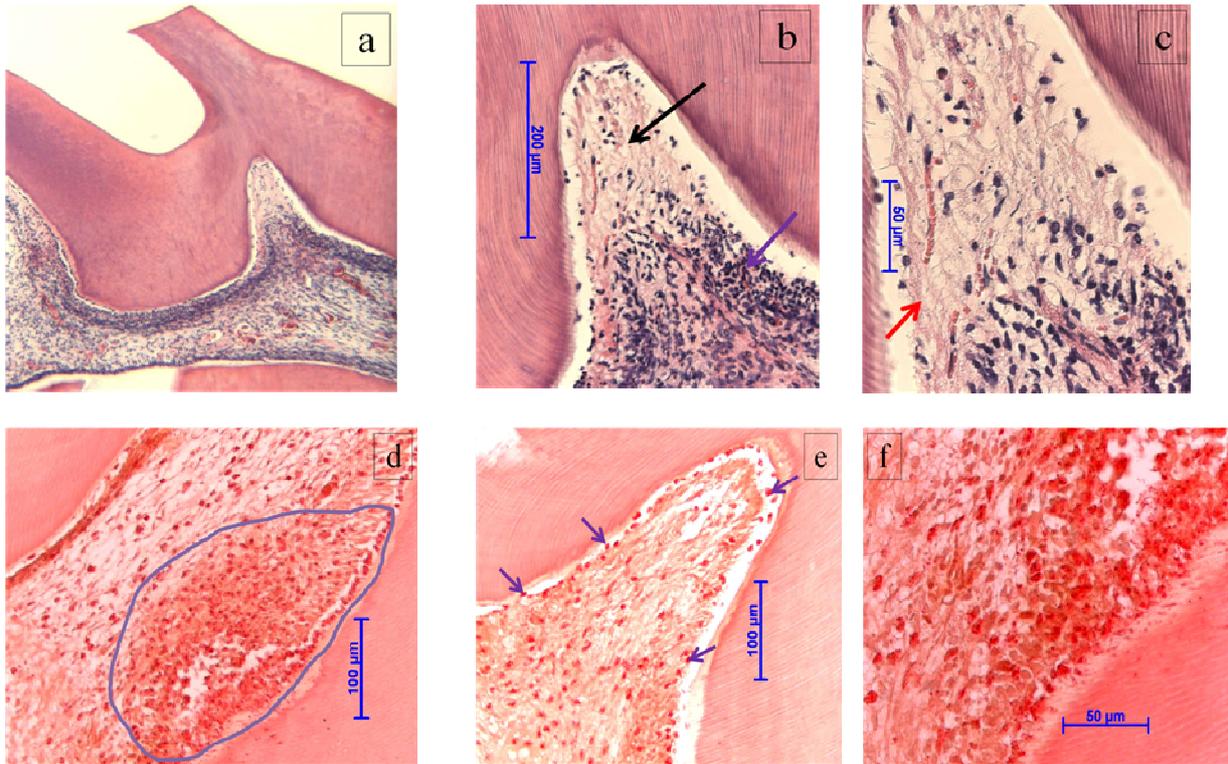


Abbildung 28: Präparat 3.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score: 3.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme. b) 20x, HE. Schwarzer Pfeil: Zone der Pulpanekrose. Lila Pfeil: Einwanderung von Leukozyten, die als kleine, stark basophile Zellen zu erkennen sind. c) 40x, HE. Roter Pfeil: zerstörte Odontoblastenschicht. d) 20x, CAE. Markierte Zone: besonders hohe Anzahl von Leukozyten e) 20x, CAE. Lila Pfeile: CAE-positive Zellen f) 40x, CAE. Die neutrophilen Granulozyten werden dunkelrot dargestellt.

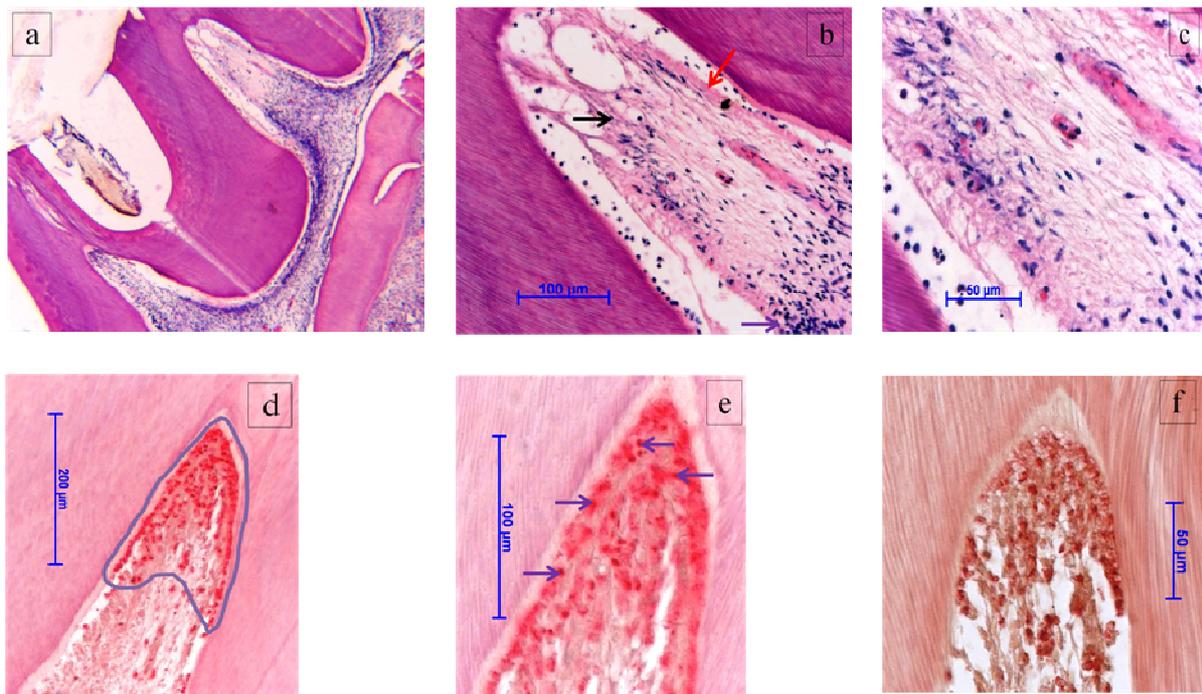


Abbildung 29: Präparat 7.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score: 3.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme b) 20x, HE. Roter Pfeil: nur das Zytoplasma der Odontoblasten ist erkennbar. Schwarzer Pfeil: nekrotische Zone. Lila

Pfeil: Einwanderung von Leukozyten c) 40x, HE. Vergrößerte Aufnahme des pathologisch veränderten Areal. Viele der Zellen sind nur noch schattenhaft erkennbar d) 20x, CAE. Demarkierte Zone: eindeutige Präsenz von Entzündungszellen (CAE-positiv) e) 40x, CAE. Lila Pfeile: CAE-positive neutrophile Granulozyten f) 40x, CAE. Mediales Pulpahorn. Die Abwehrzellen werden durch die CAE-Färbung dunkelrot dargestellt.

Die Präparate der Kontrollgruppe, bestehend aus Zähnen die mit einer Kompositfüllung versehen, aber nicht bestrahlt wurden, zeigten Nekrosezonen im Bereich der kavitätannahen Pulpahörner. Die Odontoblastenschicht war in diesen Bereichen partiell oder vollständig zerstört und die erhöhte Einwanderung von Leukozyten konnte sowohl in der HE- wie in der CAE-Färbung bestätigt werden. Prä- oder Reizdentin waren nicht vorhanden. Alle Präparate erhielten den Scorepunkt 3.

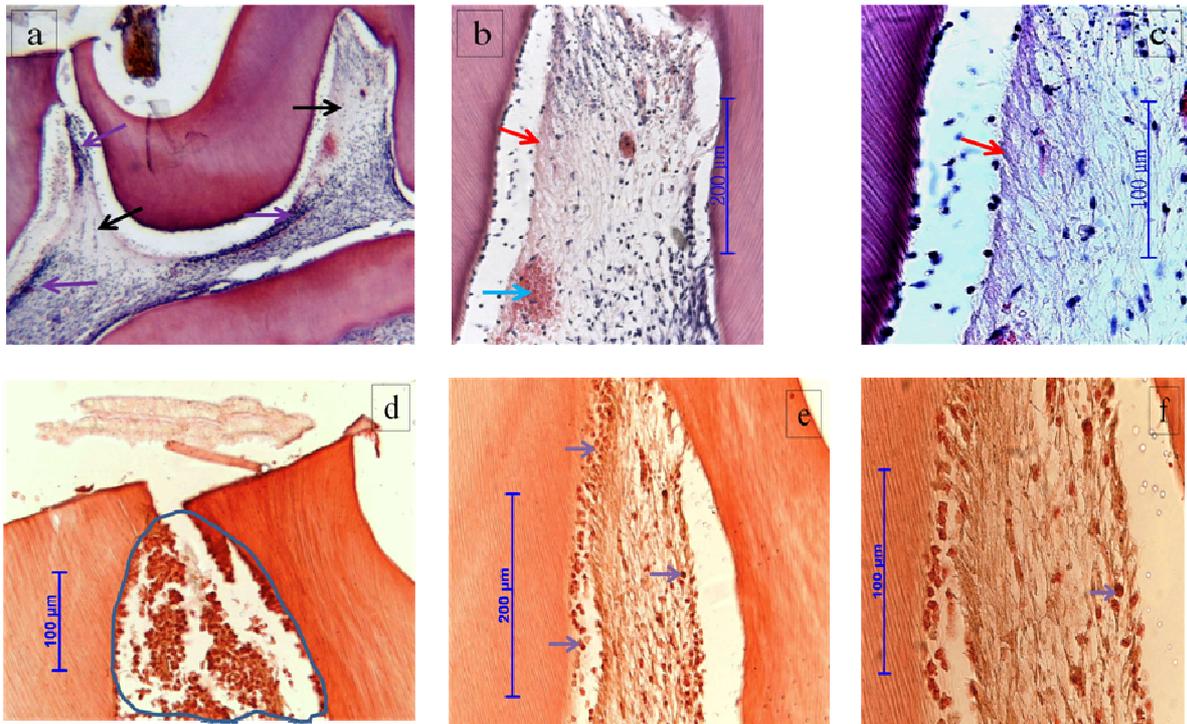


Abbildung 30: Präparat 1.2, nicht bestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score 3.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme. Schwarze Pfeile: Zonen der Nekrose. Lila Pfeile: Zonen mit erhöhten Entzündungszellen b) 20x, HE. Roter Pfeil: schattenhaft erkennbare Odontoblastenschicht ohne Kernzeichnung. Hellblauer Pfeil: Erythrozyten als Zeichen der Hyperämie c) 40x, HE. Roter Pfeil: leeres Zytoplasma eines Odontoblasten d) 20x, CAE. Demarkierte Zone: Entzündung e) 40x, CAE. Die lila Pfeile zeigen auf einige neutrophile Granulozyten f) 40x, CAE. Die Leukozyten werden dunkelrot dargestellt.

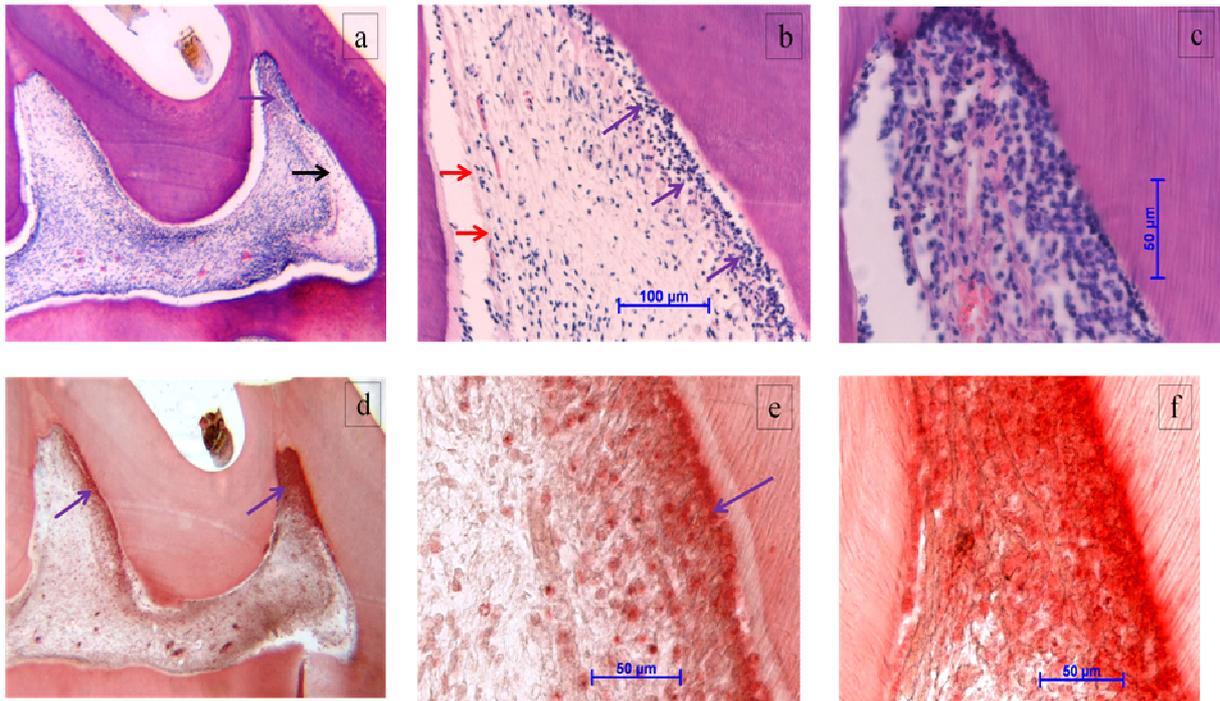


Abbildung 31: Präparat 7.2, nicht bestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score 3.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme. Schwarzer Pfeil: Nekrosezone. Lila Pfeil: Entzündungszone b) 20x, HE. Mesiales Pulpahorn. Lila Pfeile: hohe Anzahl an Granulozyten. Rote Pfeile: nekrotische Odontoblastenschicht c) 40x, HE. Stark durch Leukozyten infiltriertes Areal im Bereich des mesialen Pulpahorn auf einem nekrotischen Hintergrund d) 5x, CAE. Lila Pfeile: CAE-positive Bereiche. Die Ansammlungen von neutrophilen Granulozyten ist nach mesial, der behandelten Zone hin zugeneigt e) 40x, CAE. Abschnitt des medialen Pulpahorns. Die Granulozyten sind nach mesial in Richtung der Kavität orientiert. f) 40x, CAE. Mesiales Pulpahorn. Sehr hohe Anzahl an CAE-positiven Zellen (dunkelrot).

Die bestrahlten, unversehrten zweiten Molaren (Versuchsgruppe) erhielten nach 24 Stunden den Scorepunkt 1, da keiner der beurteilten Schnitte irgendeine pathologische Veränderung der Zahnpulpa aufwies.



Abbildung 32: Präparat 2.1, bestrahlter, unversehrter 2. Molar. **Score 1.** a) 5x, HE.. Blaue Pfeile: durchgehend intakte, vitale Odontoblastenschicht. Die entzündungsfreie interzelluläre Matrix der Pulpa ist durchsetzt von gesunden Fibroblasten und Blutgefäßen. b) 5x, CAE. Es ist keine erhöhte Anzahl CAE-positiver Zellen zu erkennen.

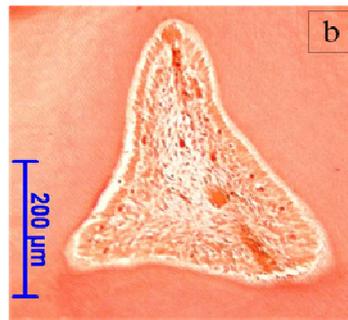
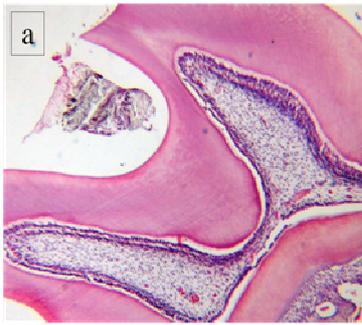


Abbildung 33: Präparat 3.1, bestrahlter, unversehrter 2. Molar. **Score 1.** a) 5x, HE. Eine durchgehend intakte Odontoblastenschicht ist eindeutig erkennbar b) 20x, CAE. In der CAE Färbung ist keine Entzündungsreaktion der Pulpa zu erkennen.

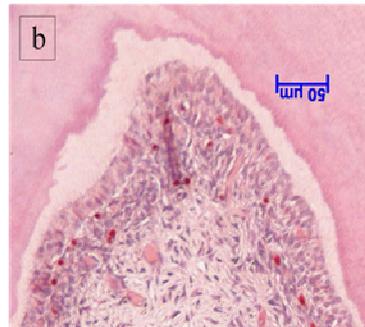
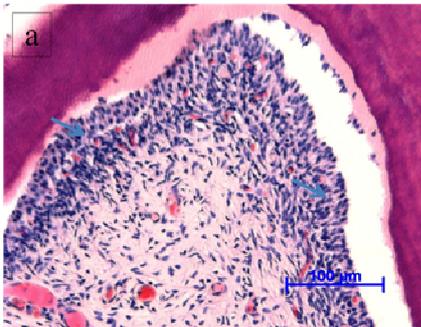


Abbildung 34: Präparat 4.1, bestrahlter, unversehrter 2. Molar. **Score 1.** a) 20x, HE. Entzündungsfreie Verhältnisse der Pulpa. Blaue Pfeile: intakte, gesunde Odontoblastenschicht. b) 20x, CAE. Es ist keine erhöhte Anzahl CAE-positiver Zellen zu erkennen.

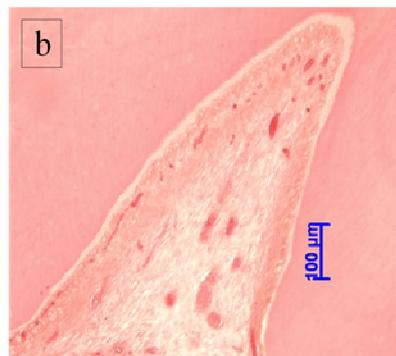
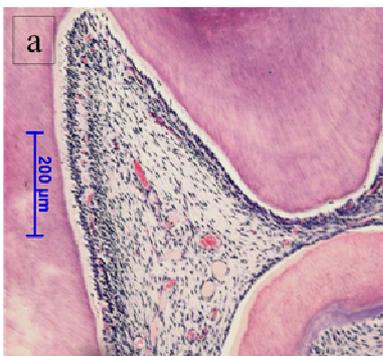


Abbildung 35: Präparat 5.1, bestrahlter, unversehrter 2. Molar. **Score 1.** a) 10x, HE. Entzündungsfreie Pulpa mit intakter Odontoblastenschicht. Keine Reizdentinbildung. b) 10x, CAE. Es ist keine erhöhte Präsenz von neutrophilen Granulozyten in der CAE-Färbung festzustellen.

Tabelle 14: Übersicht der Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung nach 24 Stunden.

Score	Bestrahlt, gefüllt	Unbestrahlt, gefüllt*	Bestrahlt, unversehrt	Unbestrahlt, unversehrt*
1	0	0	10	10
2	0	0	0	0
3	8	8	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
nicht beurteilbar/beschädigt	2	2	0	0

\*n.s.: Wilcoxon-Test

1. Gesunde Pulpa, keine Entzündungszeichen, keine Reizdentinbildung
2. Prä- und Reizdentinbildung, keine erhöhten Entzündungszeichen
3. Partielle Pulpanekrose, Odontoblastenschicht unterbrochen, keine Prä- oder Reizdentinbildung, Entzündung
4. Partielle Pulpanekrose und/oder Odontoblastenschicht unterbrochen, Prä- und Reizdentinbildung, Entzündung
5. Vollständige Pulpanekrose

In Beiden Gruppen waren jeweils 2 Präparate nicht beurteilbar. Grund dafür waren massive Beschädigungen der gefüllten Zähne die eine zuverlässige Erkennung der mikroskopischen Strukturen nicht zuließen. Die Schäden sind mit großer Wahrscheinlichkeit auf das Füllungs-material zurückzuführen. Während dem Schnittprozess wurden Füllungsreste über das Präparat in apikaler Richtung gezogen und erzeugten eine Schleifwirkung die zur Zerstörung der filigranen Strukturen führte.

## 4.2 Ergebnisse nach 28 Tagen

28 Tage nach der Kavitätenpräparation, Plasmabestrahlung und Versorgung mit einer Kompositfüllung zeigten etwa die Hälfte der Zähne aus der Versuchsgruppe abnehmende Entzündungszeichen und die Präsenz von reparativem Dentin. Diese Präparate aus der Versuchsgruppe erhielten den Scorepunkt 2 (Prä- und Reizdentinbildung, keine erhöhten Entzündungszeichen). In einem Präparat war keine Veränderung erkennbar und es erhielt den Scorepunkt 1.

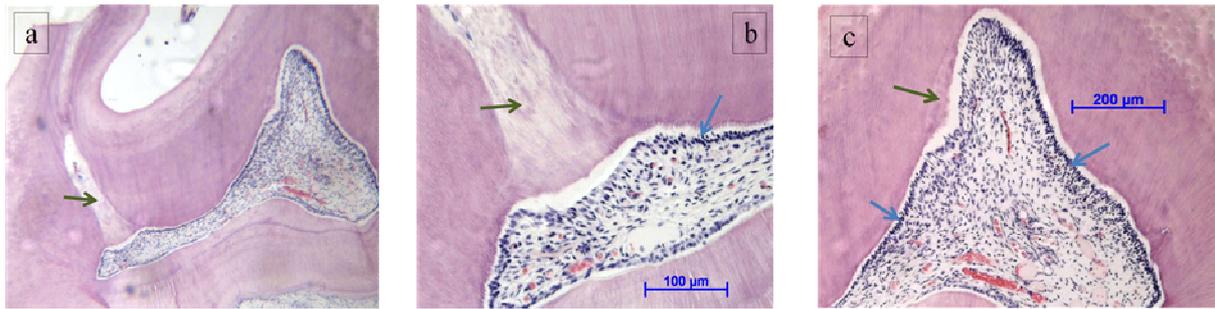


Abbildung 36: Präparat 11.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score 2.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme. Weitestgehend entzündungsfreie Pulpa mit Anzeichen eines reparativen Prozesses. Grüner Pfeil: Reizdentin im Bereich des mesialen Pulpahorns (kavitätennah). b) 20x, HE. Grüner Pfeil: Reizdentin mit irregulärer Ausrichtung der Dentinkanäle. Blauer Pfeil: Odontoblastenschicht erscheint wiederhergestellt c) 10x, HE. Entzündungsfreie Verhältnisse im kavitätenfernen Pulpahorn. Grüner Pfeil: Reizdentin. Blaue Pfeile: Odontoblastenschicht.

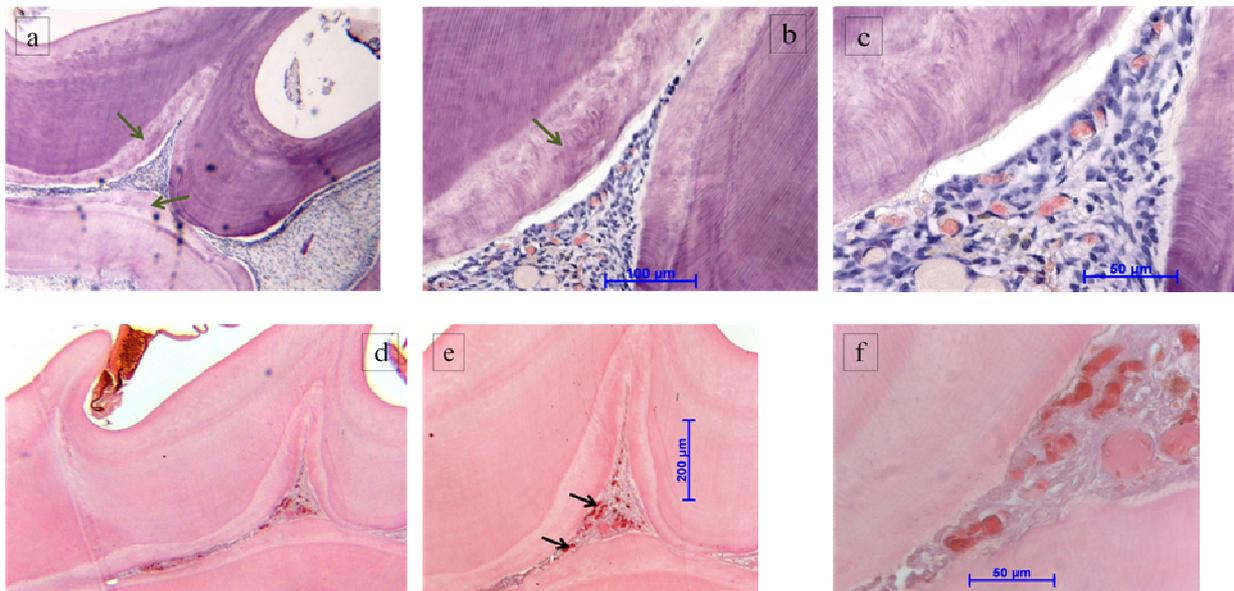


Abbildung 37: Präparat 18.1, bestrahlter und gefüllter 1 Molar. **Score 2.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme. Grüne Pfeile: Tertiärdentin. Die Entzündungsreaktion ist deutlich zurück gegangen b) 20x, HE. Grüner Pfeil: Reizdentin mit irregulär ausgerichteten Dentinkanälchen. Entzündungsfreie Pulpa c) 40x, HE. d) 5x, CAE. Übersichtsaufnahme. Kaum CAE-positive Zellen außerhalb der Blutgefäße e) 10x, CAE. Die rot gefärbten Erythrozyten in den pulpalen Blutgefäßen sind nicht mit CAE-positiven Leukozyten zu verwechseln f) 40x, CAE. Trotz erhöhter Anzahl an Blutgefäßen weitestgehend entzündungsfreie Pulpa.

Auch die Zahnpulpen der Zähne aus der Vergleichsgruppe zeigten vergleichbare positive Ergebnisse. Die Hälfte der Proben aus dieser Gruppe mit nichtbestrahlten und gefüllten Zähnen erhielt nach 4 Wochen den Scorepunkt 2 (Prä- und Reizdentinbildung, keine erhöhten Entzündungszeichen).

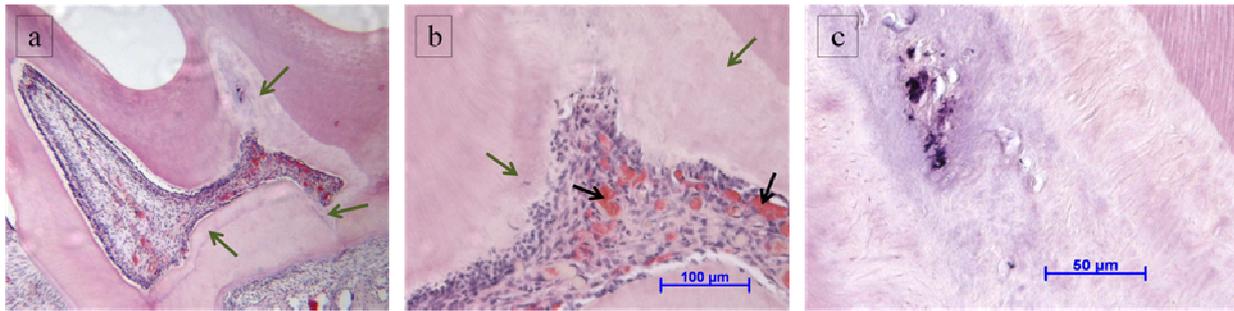


Abbildung 38: Präparat 13.2, nicht bestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score 2.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme. Grüne Pfeile: Zonen mit starker Tertiärdentinbildung b) 20x, HE. Grüne Pfeile: Reizdentin. Trotz erhöhter Anzahl an Blutgefäßen (schwarze Pfeile) ist die Entzündungsreaktion weitestgehend zurück gegangen c) 40x, HE. Tertiärdentin im mesialen Pulpahorn nahe der Kavität. Die Dentinkanäle sind irregulär ausgerichtet.

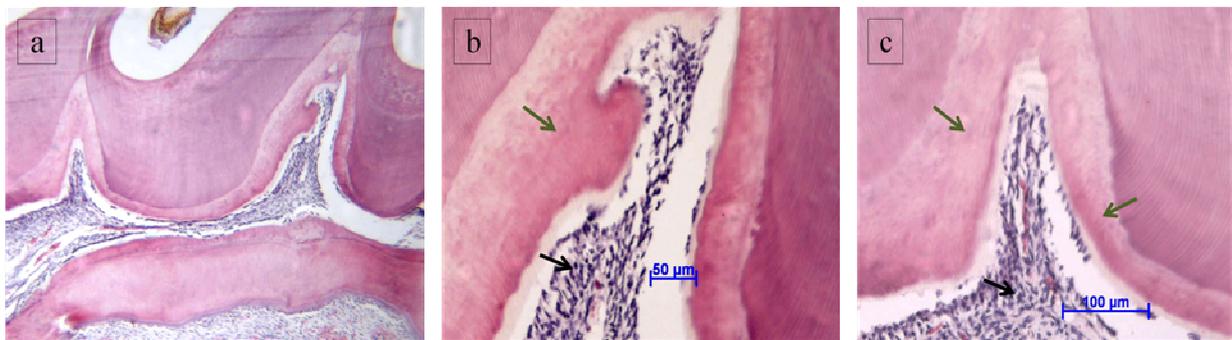


Abbildung 39: Präparat 16.2, unbestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score 2.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme b) 20x, HE. Mediales Pulpahorn. Grüner Pfeil: Tertiärdentin. Schwarzer Pfeil: entzündungsfreie Pulpa c) 20x, HE. Mesiales Pulpahorn unterhalb der Kavität. Grüne Pfeile: Reizdentin. Schwarzer Pfeil: entzündungsfreie Pulpa.

Im „worst case“ wurde sowohl in der Versuchs-, wie auch in der Vergleichsgruppe eine noch bestehende, starke Entzündungsreaktion festgestellt. Deutliche Reizdentinbildung war in allen Proben zu beobachten. 50% der Proben beider Gruppen erhielten den Scorepunkt 4 (Partielle Pulpanekrose und/oder Odontoblastenschicht unterbrochen, Prä- und Reizdentinbildung, Entzündung). Eine eindeutige, vollständige Nekrose der Zahnpulpa wurde in keinem der Zähne festgestellt.

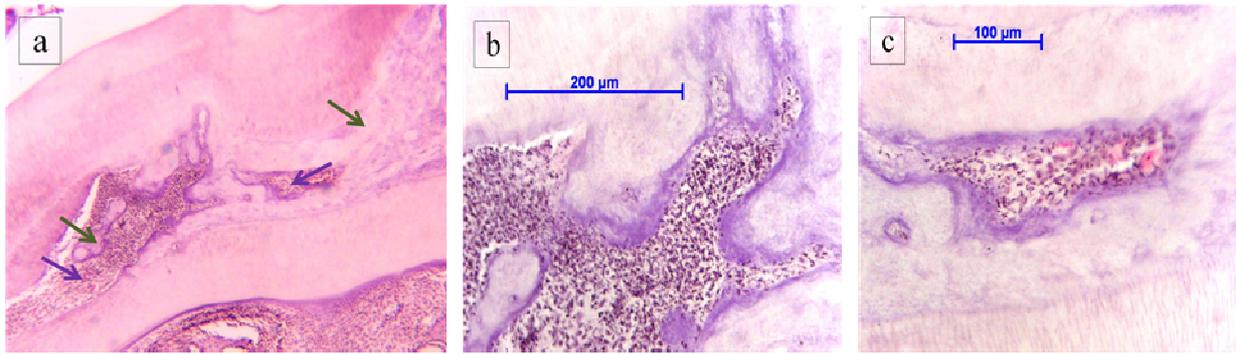


Abbildung 40: Präparat 14.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score 4.** a) 5x, HE. Grüne Pfeile: unorganisiertes, irreguläres Reizdentin. Lila Pfeile: Zonen mit fortbestehender, starker Entzündung. Hohe Anzahl an basophilen, chromatindichten Zellen b) 20x, HE. Das Pulpagewebe ist von Tertiärdentin umgeben und beinahe vollständig von Leukozyten durchsetzt c) 20x, HE. Von Reizdentin umgebenes Pulpenareal. Es sind Entzündungszellen im Gewebe erkennbar.

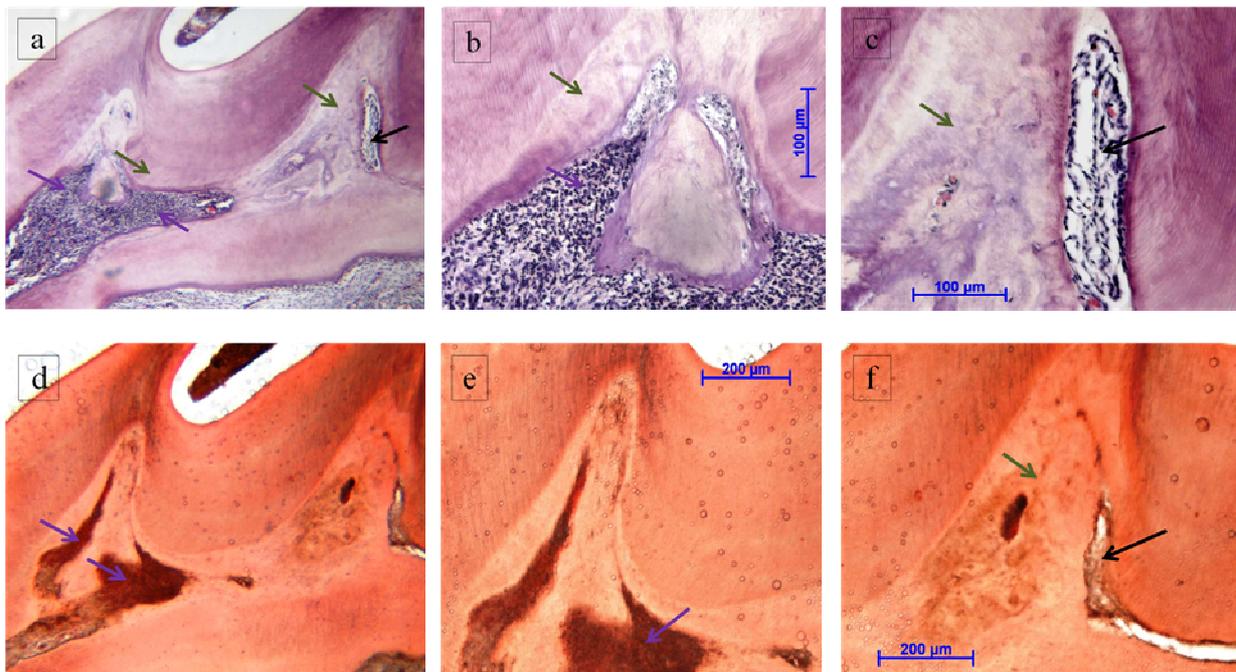


Abbildung 41: Präparat 11.2, unbestrahlter und gefüllter 1. Molar. **Score 4.** a) 5x, HE. Übersichtsaufnahme. Grüne Pfeile: Reizdentin. Lila Pfeile: Zone mit hohem Entzündungsgrad b) 20x, HE. Mesiales Pulpahorn. Das pulpale Gewebe ist von neutrophilen Granulozyten durchsetzt (Lila Pfeil). Grüner Pfeil: Reizdentin c) 20x, HE. Distaler Pulpahorn. Schwarzer Pfeil: das Pulpagewebe ist von Reizdentin umgeben. Die Entzündung ist in diesem Bereich kaum vorhanden d) 5x, CAE. Lila Pfeile: große Ansammlung CAE-positiver Leukozyten e) 20x, CAE. Kavitätennahes Pulpahorn. Lila Pfeil: CAE-positiver Bereich f) 20x, CAE. Distaler Pulpahorn. Schwarzer Pfeil: analog zu Abb. c zeigt dieses Areal wenige CAE-positive Zellen. Grüner Pfeil: Reizdentin.

Tabelle 15: Übersicht der Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung nach 28 Tagen.

Score	Bestrahlt, gefüllt	Unbestrahlt, gefüllt*	Bestrahlt, unversehrt	Unbestrahlt, unver- sehrt*
1	1	0	10	10
2	3	4	0	0
3	0	0	0	0
4	4	4	0	0
5	0	0	0	0
nicht beurteil- bar/ beschädigt	2	2	0	0

\*n.s.: Wilcoxon-Test

1. Gesunde Pulpa, keine Entzündungszeichen, keine Reizdentinbildung
2. Prä- und Reizdentinbildung, keine erhöhten Entzündungszeichen
3. Partielle Pulpanekrose, Odontoblastenschicht unterbrochen, keine Prä- oder Reizdentinbildung, Entzündung
4. Partielle Pulpanekrose und/oder Odontoblastenschicht unterbrochen, Prä- und Reizdentinbildung, Entzündung
5. Vollständige Pulpanekrose

Nach 28 Tagen waren 4 Proben auf Grund von massiven Schäden nicht beurteilbar. Der wahrscheinliche Grund wurde bereits beschrieben.

### 4.3 Ergebnisse der bestrahlten Schleimhautareale nach 24 Stunden

Es konnte bei der Beurteilung der mit Plasmajet bestrahlten Schleimhäute eine Nekrose mit Ablösung von Epithelzellen festgestellt werden. Diese Veränderungen zeichneten sich durch eine deutliche Verbreiterung des Interzellularspaltes und Verlust der Kernzeichnung aus. In einigen Fällen waren ganze Zellverbände vollständig vom Hauptgewebe abgetrennt. Ein Spalt war in allen Präparaten zwischen normalem und verändertem Epithel vorhanden. Gering ausgeprägte Entzündungsreaktionen konnten festgestellt werden. In 2 von 8 Präparaten blieb die pathologische Veränderung auf wenige Zellschichten beschränkt. Bei 4 weiteren Präparaten war das Epithel bis oder über die Basalmembran hin betroffen. Die Entzündung war in diesen Präparaten ausgeprägter. Bei drei Präparaten konnte keine Veränderung festgestellt werden. Ein Schleimhautpräparat war nicht beurteilbar da nicht ausreichend Epithel auf der Probe vorhanden war.

Abbildung 42: Präparat 3.4, bestrahlte Mundschleimhaut. **Score 3.** a) 5x, HE. Lila Pfeil: nekrotisch verändertes Epithel. Die Läsion überschreitet die Basallamina b) 40x, HE. Die Auflösung der normalen Epithelarchitektur ist in dieser Vergrößerung klar erkennbar.

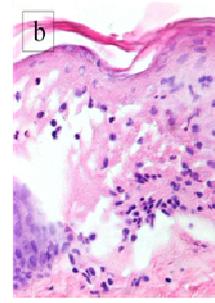
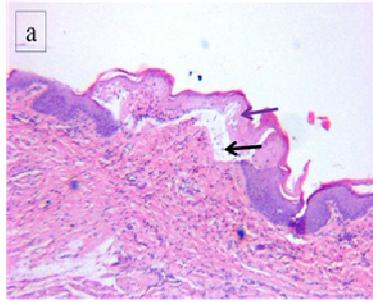


Abbildung 43: Präparat 4.4, bestrahlte Mundschleimhaut. **Score 2.** a) 5x, HE. Die Veränderung der Schleimhaut durchsetzt das Epithel nicht in voller Breite (lila Pfeil). Ein Spalt ist zwischen gesundes und pathologisches Gewebe zu erkennen (schwarzer Pfeil) b) 20x, CAE. Die Läsion ist oberhalb der schwarzen Linie erkennbar. Es sind kaum CAE-positive Zellen zu erkennen.

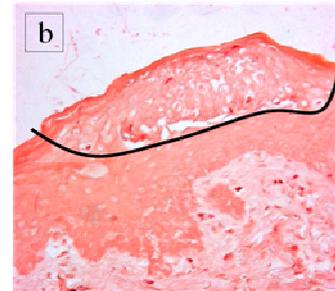
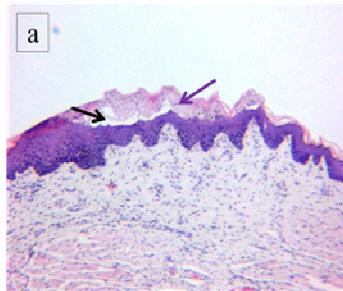


Abbildung 44: Präparat 6.4, bestrahlte Mundschleimhaut. **Score 3.** a) 10x, HE. Lila Pfeil: durch die Plasmastrahlung abgelöstes Epithel. Schwarzer Pfeil: Spaltbildung im Bereich der Basallamina b) 20x, CAE. Roter Pfeil: Ansammlung CAE-positiver Zellen.

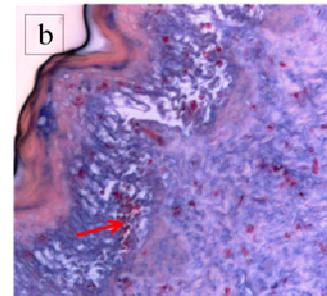
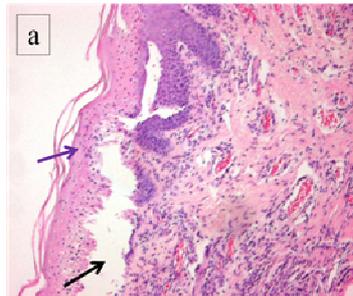


Abbildung 45: Präparat 7.4, bestrahlte Schleimhaut. **Score 2.** a) 10x, HE. Die schwarze Linie repräsentiert den Spalt zwischen abgelöstem und gesundem Gewebe. Eine ausgeprägte Entzündungsreaktion ist nicht vorhanden b) 40x, HE. Die Basalzellen sind nicht verletzt worden.

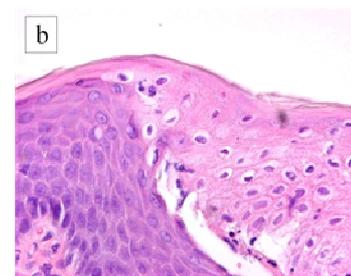
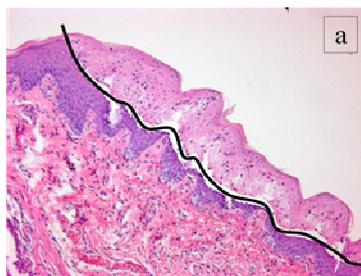


Abbildung 46: Präparat 8.4, bestrahlte Mundschleimhaut. **Score 3.** a) 10x, HE. Die Schleimhautveränderung nimmt die ganze Breite des Epithels in Anspruch. Es sind erhöht Leukozyten erkennbar. b) 20x, CAE. Neutrophile Granulozyten, durch CAE dunkelrot gefärbt, sind vermehrt im pathologisch veränderten Gewebe erkennbar.

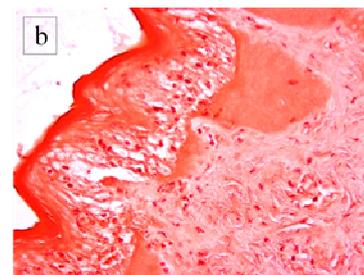
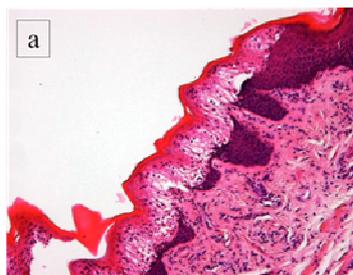


Abbildung 47: Präparat 10.4, bestrahlte Mundschleimhaut. **Score 3.** a) 10x, HE. Die rote Linie markiert den Übergang zwischen gesundem und pathologischem Gewebe. b) 20x, HE.

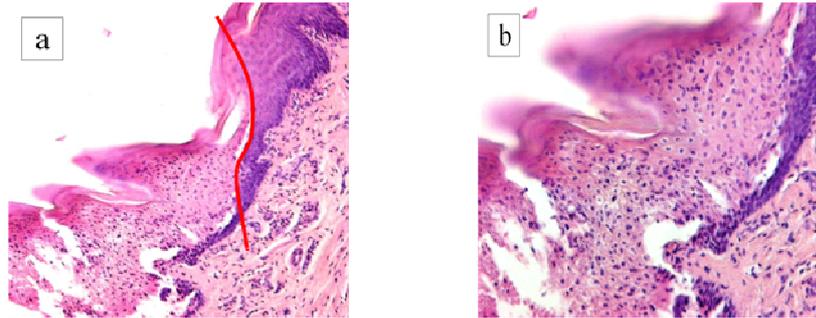


Tabelle 16: Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung der Schleimhautproben nach 24 Stunden.

Score	Anzahl
1	3
2	2
3	4
<b>Nicht beurteilbar/beschädigt</b>	1
1. Keine pathologische Veränderung 2. Nekrose/Ablösung von Epithelzellen ohne die Basalmembran zu überschreiten. 3. Nekrose/Ablösung von Epithelzellen über die Basalmembran hinaus.	

#### 4.4 Ergebnisse der bestrahlten Schleimhautareale nach 28 Tagen

28 Tage nach der Bestrahlung mit kaltem, atmosphärischem Plasma waren keine pathologischen Veränderungen im Epithel der Mundschleimhaut auffindbar. Alle Proben dieser Gruppe erhielten nach der lichtmikroskopischen Untersuchung den Scorepunkt 1.

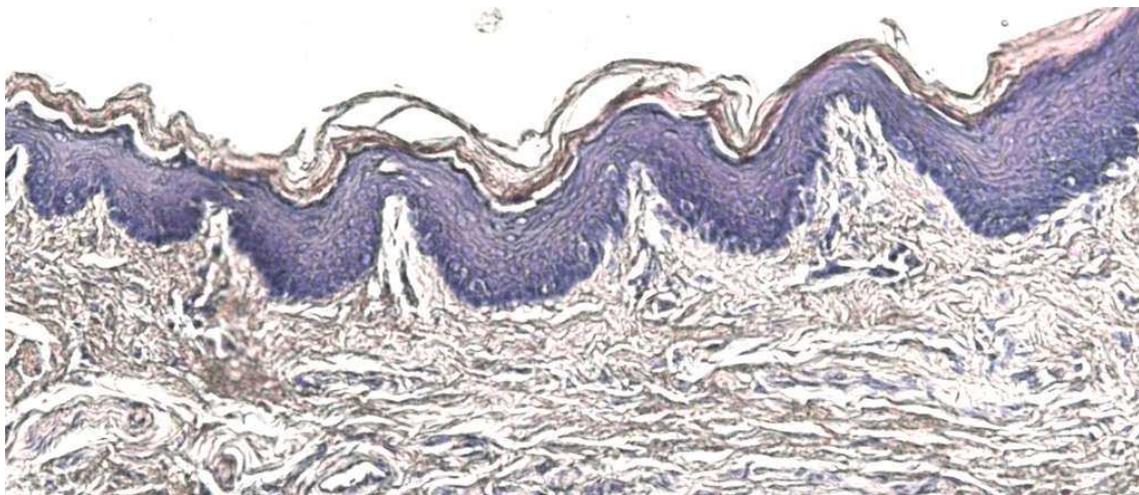


Abbildung 48: Unbeschädigtes Mundschleimhautepithel nach 28 Tagen in der HE-Färbung.

Tabelle 17: Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung der Schleimhautproben nach 28 Tagen.

Score	Anzahl
1	10
2	0
3	0

1. Keine pathologische Veränderung  
 2. Nekrose/Ablösung von Epithelzellen ohne die Basalmembran zu überschreiten.  
 3. Nekrose/Ablösung von Epithelzellen über die Basalmembran hinaus.

## 5 Diskussion

### 5.1 Studienmodell

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Reaktionen der vitalen Zahnpulpa nach Bestrahlung mit kaltem, atmosphärischem Plasma und Versorgung mit einer konventionellen Kompositfüllung zu untersuchen. Um das erwünschte Forschungsziel zu erreichen war es unabdingbar, ein vitales Studienmodell heranzuziehen, welches in der Lage war sowohl degenerative, entzündliche wie auch reparative Prozesse widerzuspiegeln. Die für die Studie benötigten Zähne sollten zudem ohne jegliche Vorschädigung sein und mussten nach 24 Stunden bzw. 28 Tagen extrahiert werden können. Bei einem menschlichen Studienmodell hätte die Möglichkeit bestanden, Weisheitszähne oder Zähne, die aus kieferorthopädischen Gründen extrahiert werden müssten (z.B. Prämolaren oder überzählige Zähne) zur Probengewinnung heranzuziehen. Da bis dato keine vergleichbare *in-vivo* Studie, weder am Menschen noch an Tieren, bekannt ist, sind die möglichen Nebenwirkungen unbekannt. Im Falle der Zähne, die im Rahmen kieferorthopädischer Behandlungen extrahiert werden, handelt es sich in den meisten Fällen um Patienten im Kindesalter. Diese Patientengruppe kommt für die experimentelle Testung neuartiger Verfahren nicht in Frage. Durch den aktuellen Stand der Geräteentwicklung ist auch die Anwendung kalter Plasmen in schwer zugänglichen Bereichen der Mundhöhle wie dem Bereich der Weisheitszähne beim Erwachsenen nicht möglich. Aus diesen Gründen kam nur ein Tierversuch für die Studie in Frage. Wie mehrere, aus der Literatur bekannte Versuche zeigen, sind Rattenmolaren ein gültiges und anwendbares Studienmodell zur Erforschung der vitalen Zahnpulpa und ihrer Reaktionen (u.a. Arcoria *et al.*, 1992; Six *et al.*, 2010; Ko *et al.*, 2010; Dammaschke *et al.*, 2006, 2009, 2010). Nachteil der Rattenmolaren ist die relativ geringe Größe der Zähne, was zu technischen Schwierigkeiten führen kann (Damaschke, 2009). Im Fall der hier vorgelegten Studie war es auf Grund der dünnen Schmelz- und Dentinschicht nicht bei allen Proben möglich, eine annähernd einheitliche Kavitätieftiefe, bzw. Restdentinstärke zu erreichen. Trotz dieser Problematik war das Tiermodell Ratte für die Ziele dieser Untersuchung ausreichend.

Die histologischen Präparate wurden hinsichtlich des Zustandes der Odontoblastenschicht, vorhandene Entzündungszellen, Nekrose, Prä- und Reizdentinbildung untersucht. Um die tatsächlichen Auswirkungen der Plasmabestrahlung am Rattenmolar zu evaluieren, wäre es wünschenswert gewesen, alle weiteren Faktoren, die eine Pulpareizung auslösen können zu kontrollieren. Die dentale Pulpa befindet sich in einer geschlossenen Kavität umgeben von den Zahnhartsubstanzen Schmelz, Dentin und Wurzelzement. Diese besondere Lage der Pulpa macht es unmöglich, in experimentellen Versuchen therapeutische Substanzen oder Elemente wie die Plasmastrahlung direkt auf die Pulpa oder in das pulpennahe Dentin zu applizieren. Um diese Problematik zu umgehen, war es notwendig, Kavitäten zu präparieren, die die Applikation des Plasmas im erwünschten Gewebe ermöglichten. Die frisch eröffneten Kavitäten mussten danach versiegelt werden, um eine bakterielle Kontamination der freigelegten Dentinkanäle und der Pulpa zu verhindern. Sowohl die Kavitätenpräparation (Kawagashi *et al.*, 2006) als auch die adhäsive Füllungstherapie (Samuelson *et al.*, 2007; Krifka *et al.*, 2012) sind jedoch in der Lage eine beachtliche Entzündung und partielle Zerstörung des pulpalen Gewebes zu verursachen. Aus diesem Grund wurde ein Forschungsdesign gewählt in denen die Zähne in verschiedenen Gruppen nach folgenden Kriterien evaluiert wurden:

- Unversehrt, nicht bestrahlt
- Unversehrt, bestrahlt
- Präpariert, nicht bestrahlt, adhäsiv versorgt
- Präpariert, bestrahlt, adhäsiv versorgt

Somit war das angewendete Studienmodell nicht in der Lage, zwischen durch Plasmabestrahlung, oder durch Kavitätenpräparation und adhäsiver Füllungstherapie verursachten Schäden zu unterscheiden. Auch ist dieses Modell nicht in der Lage eventuelle Unterschiede im Ausmaß der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies in beiden Gruppen zu erkennen. Als positiv zu bewerten ist, dass bakterielle Komponente ausgeschlossen werden können.

Die Auswirkungen der Plasmabestrahlung auf die vitale Zahnpulpa sind in der wissenschaftlichen Literatur bis dato nicht beschrieben worden.

*Durch die adhäsive Füllungstherapie verursachte Veränderungen der Zahnpulpa*

Die pulpapathologischen Veränderungen die von Kompositen ausgehen und in der vorliegenden Studie beobachtet wurden, sind in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben worden (z.B. Samuelsen *et al.*, 2007; Krifka *et al.*, 2012). Heutzutage ist eine große Auswahl an verschiedenen Füllungs- und Unterfüllungsmaterialien vorhanden, die alle milde bis ausgeprägte Reaktionen der Zahnpulpa durch chemische Reizung verursachen (Frank, 1975). Für die Zytotoxizität moderner Komposite und adhäsiver Systeme sind nicht polymerisierte Monomere verantwortlich (Krifka *et al.*, 2012; Kusdemir *et al.*, 2011). Bei einer Konversionsrate von lediglich 35 bis 77% löst sich schon innerhalb der ersten 24 eine große Anzahl unreaktierter Moleküle aus dem Füllungsmaterial heraus (Ferracane *et al.*, 1990). Vor allem die kleineren organischen Konomere HEMA (2-Hydroxyethyl-methacrylat) und TEGDMA (Triethylen-glykol-dimethacrylat) werden ausgelöst (Michelsen *et al.*, 2003). Gerade diese sind am meisten für die Zytotoxizität der Kompositfüllungsmaterialien verantwortlich (Schweickl *et al.*, 2007). Durch Bildung von intrazellulären Sauerstoffradikalen führen Monomere, die bis in die Pulpakammer diffundieren, zur Apoptose von Odontoblasten, Fibroblasten und pulpalen Stammzellen (Samuelsen *et al.*, 2007; Krifka *et al.*, 2012). Eine wichtige Rolle bei der Diffusion von Monomeren in die Pulpakammer spielt die Dicke der verbleibenden Restdentinschicht. Eine Dentinschicht mit einer Schichtstärke von unter 1,5 mm erlaubt es den oben genannten Monomeren mit geringem Molekulargewicht innerhalb von wenigen Minuten in hoher Konzentration in die Zahnpulpa zu diffundieren (Hammid und Hume, 1997; Kusdemir *et al.*, 2011). Auch dem in Kompositen und deren Adhäsivsystemen enthaltenen Photoinitiator Campherchinon werden entzündungsverursachende Eigenschaften zugeschrieben. Campherchinon verursacht eine direkte Reizung der Pulpa. Es ist in der Lage in der Zahnpulpa die Bildung von Zytokinen zu induzieren. Zusätzlich hemmt Campherchinon die Differenzierung von pulpalen Stammzellen. Da Campherchinon nicht Teil des Polymernetzwerkes ist, besteht es in leicht löslicher Form fort (Kim *et al.*, 2013). Der direkte Kontakt des Füllungsmaterials zu frisch angeschnittenem Dentin mit weit eröffneten Dentinkanälen verursacht eine, meistens reversible, Entzündung der Pulpa (Lutz *et al.*, 1976; Summitt *et al.*, 2001). Bei einer Temperaturerhöhung von bis zu 12 °C, kann es bei der Abbindereaktion des Komposits zu einer zusätzlichen thermischen Schädigung der Pulpa kommen (Hellwig *et al.*, 2006). Polymerisationslampen, die zur Aushärtung von Kompositen verwendet werden, können sich ebenfalls negativ auf die Zahnpulpa auswirken. Zum einen können vor allem Quartz-Tungsten-

Halogenlampen einen signifikanten intrapulpalen Temperaturanstieg bewirken (Dogan *et al.*, 2009). Auf der anderen Seite hat die Qualität der Lampe (Lichtspektrum, Wellenlänge) Einfluss auf die Konversionsrate des Komposits. Der Einsatz von modernen LED-Lampen verringert in der Regel die Menge an unpolymerisiertes Material im Vergleich zu Halogenlampen (Silva *et al.*, 2012). Auch Schutzfolien, die aus hygienischen Gründen über die Lampen gezogen werden, können die Konversionrate negativ beeinflussen (Coutinho *et al.*, 2013). Andere Faktoren, wie der korrekte Abstand zwischen Lampe und Komposit, die Schichtstärke des Materials und die Lichtfrequenz der Lampe, sollten ebenfalls beachtet werden (Hellwig *et al.*, 2009).

In der hier präsentierten Studie wurde zur Füllung der okklusalen Kavitäten das selbstätzende *all-in-one* Adhäsiv AdheSE One (Ivoclar Vivadent GmbH, Schaan, Fürstentum Liechtenstein) und das dünnfließende Komposit Tetric EvoFlow (Ivoclar Vivadent GmbH, Schaan, Fürstentum Liechtenstein) ohne Unterfüllung verwendet. Da die im Rahmen dieser Studie präparierten Kavitäten einen maximalen Durchmesser von ca. 1 - 1,5 mm bei einer Tiefe von lediglich 0,5 mm hatten, war die Verwendung einer Unterfüllung zum weiteren Schutz der Pulpa nicht möglich. Klinische Studien, die die Versorgung von tiefen Kavitäten (ohne Pulpaeröffnung) mit Kompositfüllungsmaterialien mit und ohne Unterfüllung miteinander verglichen, kamen zu dem Schluss, dass es keinen relevanten Unterschied bezüglich der Mikrohärtigkeit des Reizdentins (Dalpian *et al.*, 2012) und des Auftretens von postoperativen Pulpaschäden (Falster *et al.*, 2002; Banomyong *et al.*, 2013) in beiden Fällen gibt. Eine Studie welche die Toxizität konventioneller Komposite mit der ihren dünnfließenden Derivaten verglich, zeigte ein deutlich höheres zytotoxisches Potenzial bei den Flow-Kompositen. Die gleiche Studie verglich verschiedene Flow-Komposite untereinander und stellte Tetric Flow als besonders toxisch dar (Al-Hiyasat *et al.*, 2005). Der Grund der erhöhten Zytotoxizität liegt vor allem in der unterschiedlichen Zusammensetzung der beiden Komposittypen. Zum einen ist der Anteil an Füllkörpern bei *flowables* gering und der Anteil an Monomeren hoch (Al-Hiyasat *et al.*, 2005), zum anderen ist der Anteil an kurzkettigen Monomeren, v.a. TEGDMA, höher als in konventionellen Kompositen (Hellwig *et al.*, 2006). Aus diesen Gründen ist das in der vorliegenden Studie verwendete Füllungsmaterial als besonders pulpatoxisch zu bewerten.

### *Durch die Kavitätenpräparation verursachte Veränderungen der Zahnpulpa*

Vibration, hoher Druck und Austrocknung des Dentins während der Präparation zählen zu den möglichen Ursachen für Pulpaschäden während der Kavitätenpräparation. Durch Flüssigkeitsmangel und veränderte Druckverhältnisse in den Dentinkanälchen können Odontoblastenkerne in die Kanäle eingesaugt werden (Odontoblastenaspiration) und eine Entzündungsreaktion verursachen (Hellwig *et al.*, 2009). Eine thermische Pulpaschädigung durch die Präparation mit rotierenden Diamanten, obwohl durch die Verwendung von Luft-/Wasserkühlung gering ausgeprägt, ist ebenfalls nicht ausgeschlossen (Summitt *et al.*, 2001). Eine Temperaturerhöhung von 2-3°C kann schon eine reversible Veränderung der Pulpa nach sich ziehen. 10°C Temperaturanstieg verursachen nachweislich eine Nekrose der Pulpa (Hellwig *et al.*, 2009). In der vorliegenden Studie wurde versucht, diesen Effekt durch Luft-/Wasserkühlung zu minimieren.

## 5.2 Ergebnisse

Bezogen auf Schädigung der Odontoblastenschicht, Nekrosen und Entzündung sind 24 Stunden nach Plasmabestrahlung und Versorgung mit einer adhäsiven Füllung keine Unterschiede zwischen Versuchs- und Vergleichsgruppe erkennbar. Hätten in den Pulpen der Rattenmolaren bereits durch die Plasmabestrahlung Nekrosen entstanden sein können, liegt die Annahme nahe, dass ein Potenzierungseffekt durch die oben bereits erwähnten Faktoren (physikalische und chemische Reize) entstehen würde. Das Ausmaß der Nekrose, bzw. Entzündung wäre in diesen Fall bei den bestrahlten und gefüllten Zähnen deutlich größer als bei den Zähnen die nur mit einer Kunststofffüllung versehen wurden.

Bezogen auf Heilungsprozesse auf der einen Seite, und fortschreitenden entzündlichen Reaktionen auf der anderen, sind nach 28 Tagen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu erkennen. Falls physikalische Plasmen, unter den verwendeten Bestrahlungsparametern, der durch Kavitätenpräparation und Füllungstherapie vorgeschädigten Pulpa weiteren Schaden zufügen würden, ist anzunehmen, dass die Wahrscheinlichkeit einer irreversiblen Entzündung nach 28 Tagen größer wäre. Die Ergebnisse der lichtmikroskopischen

schen Untersuchung zeigten jedoch, dass es keinen Unterschied zwischen der Versuchs- und der Vergleichsgruppe in Bezug auf Nekrose und Entzündung, sowie reparativen Prozessen gibt. Diese Erkenntnis legt nahe, dass der schädliche Einfluss des atmosphärischen Plasmas, im Vergleich zu den weiteren Reizfaktoren wie Präparation, Adhäsivfüllung und Temperaturanstieg durch Polymerisationslampen, insignifikant ist. Sollte es durch Plasma dennoch zu einer größeren Schädigung der Pulpa gekommen sein, so ist das angewendete Studienmodell nicht in der Lage diese aufzuzeigen.

Wird kaltes Plasma direkt auf die unversehrte Zahnoberfläche appliziert, werden keine pathologischen Veränderungen hervorgerufen. Hierbei ist zu beachten, dass auf Grund der schmelzfreien Bereiche auf den Kauflächen von Rattenmolaren (Yamamoto und Nowa, 1995), der Plasmastrahl auch auf freiliegendem Dentin eingewirkt hat. Im lichtmikroskopischen Vergleich der Zahnpulpen zwischen auf gesunder Zahnhartsubstanz plasmabestrahlten und absolut intakten Zähnen sind keine Unterschiede erkennbar. Plasma ist, unter den in dieser Untersuchung verwendeten Bestrahlungsparametern, weder durch Hitzeeinwirkung, UV-Strahlung oder ROS, in der Lage durch eine intakte Schmelz- und Dentinschicht negativen Einfluss aus der Zahnpulpa auszuüben.

### 5.3 Perspektiven physikalischer Plasmen in der Karies- und Füllungs-therapie

Anders als in der hier vorgestellten Untersuchung, in der künstliche Kavitäten präpariert wurden, würde die klinische Anwendung kalten Plasmas bestehende kariöse Läsionen voraussetzen. Tiefe kariöse Läsionen können zu einer entzündlichen Reaktion der Pulpa bis hin zu einer Pulpanekrose führen (Bjørndal *et al.*, 2010). Die Wahrscheinlichkeit, dass trotz sorgfältiger Exkavation, kariös infiziertes Dentin in den Kavitäten verbleibt, ist hoch (Hellwig *et al.* 2009). In den meisten Fällen kommt es trotz Belassen von kariösem Dentin zu einer Stagnation der Kariesprogression obwohl Nekrosen gelegentlich vorkommen (Maltz *et al.*, 2007). Es wurde bestätigt, dass weder das vollständige Entfernen der Karies noch die Art des Liners von primärer Bedeutung für das Arretieren der Karies ist, sondern dass dichtes Versiegeln der Kavität den Zugang der verbliebenen Mikroorganismen zur Mundhöhle und damit zu weiterem Substrat unterbietet (Corralo und Maltz, 2013). Klassischerweise werden Kalziumhydro-

oxid-Präparate empfohlen, die verbliebene Mikroorganismen abtöten sollen. Diese Präparate weisen jedoch eine sehr geringe Druckfestigkeit auf und können sich unter den Füllungen auflösen (Hellwig *et al.*, 2009). In Anbetracht dieser Erkenntnisse erscheint die Vorbehandlung von tiefen kariösen Läsionen mit kaltem, atmosphärischem Plasma als äußerst sinnvoll. Physikalische Plasmen sind nachgewiesener Weise in der Lage orale pathogene Keime wie Laktobazillen und Mutans-Streptokokken (Rupf *et al.*, 2009; Goree *et al.*, 2006) im kariös infiziertem Dentin (Sladek *et al.*, 2004) abzutöten. So kann trotz Belassen von kariösem Dentin davon ausgegangen werden, dass die kariespathogenen Keime inaktiviert werden. Des Weiteren wird der Verbund zwischen den Zahnhartsubstanzen und Kompositfüllungsmaterialien durch die Plasmabestrahlung verstärkt (Ritts *et al.*, 2010; Rupf *et al.*, 2011; Muhammad 2012; Lehmann *et al.*, 2013). Durch eine chemische Veränderung der Schmelz- und Dentinoberfläche durch Verringerung der Kohlenwasserstoffverbindungen erreicht man eine erhöhte Benetzbarkeit der Oberflächen für das Adhäsivsystem (Lehmann *et al.*, 2013). Hierdurch können Randspalte vermieden und ein dichter Verschluss der Kavität zur Mundhöhle hin erreicht werden.

Bei der Exkavation tiefer kariöser Kavitäten kommt es oft zu einer akzidentellen Freilegung der Pulpa. Eine Möglichkeit, die Eröffnung der Pulpakammer zu vermeiden, bietet die zweizeitige Kariesexkavation. Dabei wird kariöses Dentin in pulpanahen Bereichen belassen und die Kavität mit einer Unterfüllung auf Calcium-Hydroxid Basis und einer temporären Füllung versorgt. Nachdem sich Tertiärdentin gebildet hat, wird die Kavität erneut eröffnet, Restkaries entfernt und die Kavität definitiv versorgt (Bjørndal *et al.*, 2010; Hellwig *et al.*, 2009). Auch hier wäre der Einsatz kalter Plasmen sinnvoll. Die Ergebnisse der hier präsentierten Studie zeigen, dass mit Plasma behandelte Zähne in gleicher Weise wie nicht bestrahlte Zähne weiterhin in der Lage sind, Tertiärdentin als Antwort auf die bakteriellen und operativen Reize zum Schutz der Pulpa zu bilden.

Die antimikrobielle Wirkung der Plasmabestrahlung ist auf die intrazelluläre Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) in Bakterien und Pilzen zurückzuführen (Kieft *et al.*, 2005; Ahn *et al.*, 2011; Brun *et al.*, 2012; Yamazaki *et al.*, 2011). Reaktive Sauerstoffradikale können dementsprechend auch bei der Applikation von Plasma auf lebendiges, menschliches Gewebe im Zellinneren entstehen. Dieser Zustand wird als oxidativer Stress bezeichnet. Oxidativer Stress kann nach Überwindung der zelleigenen antioxidativen Abwehrmechanismen

(Glutathion, Katalase, Superoxiddismutase, Oxidoreduktasen) eine Schädigung der zellulären Mitochondrien durch Dissipation des Membranpotentials verursachen. Dieser Mechanismus ist für die Einleitung der intrinsischen Apoptosekaskade verantwortlich. Bei höherer Belastung ist eine direkte DNS-Schädigung und Nekrose der Zelle möglich (Ahn *et al.*, 2011). Brun *et al.* (2012) prüften die Desinfektion der Bindehaut mittels kaltem, atmosphärischem Plasma *ex-vivo*. Dabei wurde die Bildung von ROS auf Seiten der Mikroorganismen und auf Seiten der okularen Zellen bestimmt. Keratinozyten und Fibroblasten der Konjunktiva zeigten bei diesen Versuchen eine signifikant erhöhte Bildung von reaktiven Sauerstoffradikalen 5 Minuten nach Exposition. Auf Seiten der in der genannten Studie geprüften Mikroorganismen (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *A. funigales*) war die Erhöhung der ROS ebenfalls zu beobachten. Evident war ebenfalls eine Korrelation zwischen der Entstehung von Sauerstoffradikalen und die Verringerung der zellulären Viabilität. 12 - 24 Stunden nach Exposition waren die Werte bezüglich ROS Bildung und das Auftreten von Apoptose bei Fibroblasten und Keratinozyten jedoch nahezu wieder im normalen Bereich (Brun *et al.*, 2012). Ähnliche Ergebnisse erhielten Blackert *et al.* (2012) auf Keratinozyten der Epidermis, jedoch stieg die intrazelluläre ROS-Bildung bis zu 24 Stunden stetig an. In beiden Studien war die Viabilität der Zellen und Bildung von ROS hauptsächlich von der Bestrahlungszeit abhängig. Diese zellpathologischen Veränderungen wurden in beiden oben genannten Studien erst ab einer Plasmaexposition von 5 bis 20 Minuten beobachtet. Kürzere Bestrahlungszeiten zeigten kaum signifikante Werte. Im hier vorgestellten Versuch betrug die Bestrahlungszeit lediglich 5 Sekunden. Betrachtet man zusätzlich die Zahnhartsubstanzen als Barriere, ist es vorstellbar, dass die plasmainduzierte Bildung von intrazellulären Sauerstoffradikalen in pulpalen Zellen gering sein müsste. Die vorgestellte Studie ist allerdings nicht in der Lage die ROS-Bildung zu quantifizieren. Da wie bereits erwähnt, auch Monomere aus Kompositfüllungen zur ROS-Bildung führen, wäre ein quantitativer Vergleich interessant. Auch die Langzeitschäden, besonders bezogen auf die Mutagenität durch Plasmaeinwirkung, konnten durch das verwendete Studienmodell nicht festgestellt werden. Studien zur Klärung dieser Fragen, befinden sich zwischen dem Institut für Niederdruckplasmen in Greifswald und der Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie am Universitätsklinikum des Saarlandes, bereits in Vorbereitung.

Zellstimulierende Eigenschaften der Plasmamedizin und den im Plasmajet entstehenden Sauerstoffradikalen wurden in neueren Studien beschrieben. Schmidt *et al.* (2013) prüften Verän-

derungen humaner Keratinozyten nach Plasmabestrahlung auf der Genebene. Ihre Ergebnisse zeigten, dass mit Plasma bestrahlte Zellen eine erhöhte Expression von Genen die in Verbindung mit antistress- und antioxidativen Mechanismen stehen vorweisen (z.B. erhöhte Bildung von Oxidoreduktasen). In dieser Hinsicht kann physikalisches Plasma - in angemessener Dosierung - protektiv und stimulierend auf menschlichen Zellen wirken (Schmidt *et al.*, 2013). In adäquater Dosis können durch Plasma entstandene Sauerstoffspezies (ROS) die Zellproliferation und -migration sowie die Gefäßentwicklung im Gewebe stimulieren. So kann Plasma die Angiogenese fördern und zu einer verbesserten Wundheilung beitragen (Arjunan und Clyne, 2011). Ring *et al.* (2011) prüften die Aufarbeitung von allogenen Knochentransplantaten mittels physikalischem Plasma und bestätigten eine verbesserte Angiogenese in den vorbehandelten Transplantaten. Des Weiteren ist Plasma in der Lage die interzelluläre Adhäsion zu verringern, welches die Zellteilung und Migration im Wundgewebe ermöglicht. In Bestrahlungszeiten von 10 bis 30 Sekunden trägt Plasma auf dieser Weise ebenfalls zur verbesserten Heilung bei (Haertel *et al.*, 2011). Es ist in diesem Zusammenhang denkbar, dass physikalische Plasmen eine protektive Wirkung während der Kariestherapie ausüben könnten.

## 5.4 Einfluss physikalischer Plasmen auf die Mundschleimhaut

Wissenschaftliche Literatur zu den Auswirkungen der Plasmabestrahlung auf die lebende orale Mundschleimhaut ist nicht bekannt. Auf Schweinehaut zeigten sich bei einer *ex-vivo* Studie sehr geringe und nur auf oberflächlichen Zellschichten beschränkte Abtötung von Epithelzellen nach Plasmabestrahlung (Maisch *et al.*, 2012). Wu *et al.* (2013) beschrieben ebenfalls dosisabhängige Veränderungen der intakten Schweinehaut *in-vivo* nach Plasmabestrahlung. Die Unterschiede zu intakter Haut zeigten sich in Form von Veränderungen der Zell- und Kerngröße. Auch eine gering ausgeprägte Desintegration der Lamininschicht der Basalmembran wurde beschrieben (Wu *et al.*, 2013). Daeschlein *et al.* prüften die Verträglichkeit und Schmerzempfindung bei Plasmabestrahlung am Menschen. Sie kamen zu dem Schluss, dass Plasma auf menschlicher Haut gut vertragen wird und keinen signifikanten Einfluss auf die Hautbarriere oder Hautfeuchtigkeit hat (Daeschlein *et al.*, 2011). Bei diesen Studien ist es jedoch wichtig auf die unterschiedliche histologische Architektur zwischen Haut und Schleimhäuten durch das Fehlen einer ausgeprägten Hornschicht hinzudeuten. *In-vitro* Untersuchungen auf lebende Fibroblasten zeigten, dass grundsätzlich 3 Veränderungen nach Plas-

mabestrahlung entstehen: Oberflächliche Zellen sterben, wahrscheinlich durch Austrocknung aus; tiefere Zellschichten zeigen eine gestörte zelluläre Adhäsion (zelluläre Ablösung) und Migration; zwischen diesen Schichten wurde ein azellulärer Spalt beobachtet (Shashurin *et al.*, 2008). Ähnliche Studien auf Zellkulturen beschreiben Apoptose und zelluläre Ablösung als typische Reaktionen auf kaltes Plasma. Versuche auf arteriellem Gewebe dagegen zeigten Nekrose der Fibroblasten und Schäden ähnlich denen die durch Hitze entstehen auf (Stoffels *et al.*, 2006). Die aus der vorliegenden Studie erhaltenen Ergebnisse bestätigen, dass Plasma auf Schleimhautoberflächen Veränderungen und gering ausgeprägte Schäden verursachen kann. Die Befeuchtung der Schleimhaut durch Speichel könnte dabei ein schützender Faktor sein.

### 5.5 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der vorliegenden Studien legen nahe, dass die Vorbehandlung von Kavitäten mit kaltem, atmosphärischen Plasma als Adjunktiv zur adhäsiven Füllungstherapie keine zusätzlichen Schäden des pulpalen Gewebes verursacht. Die Schädigungen, die im Rahmen der Untersuchungen beobachtet wurden, sind als Folge der Kavitätenpräparation und der pulpatomischen Komponente des Komposits und Adhäsivsystems zu werten.

Die Vorteile der Anwendung kalten Plasmas liegen in seiner Fähigkeit zur Desinfektion und der Modifizierung des Benetzungsverhaltens dentaler Oberflächen. Der Bildung von Randspalten am Füllungsrand und der Entstehung von Sekundärkaries bzw. Kariesrezidiv wird dementsprechend durch die Vorbehandlung von Kavitäten mit Plasma entgegengewirkt. So können Füllungen, die nach klassischen Karies-Präparationsregeln verwendet werden, eine höhere Lebensdauer erreichen und die allgemeine Langzeitschädigung der Zahnpulpa wird reduziert.

Im Rahmen der Studie wurden Schleimhautschädigungen als Folge der Plasmabestrahlung beobachtet. Hieraus lässt sich schließen, dass physikalische Plasmen nicht bedenkenlos in der Mundhöhle eingesetzt werden können. In Anbetracht des großen Nutzen und unter Berücksichtigung der relativ geringen Schäden bei hoher Regenerationsfähigkeit der Mundschleim-

haut ist der Einsatz des Plasmajets trotzdem als vertretbar anzusehen. Zusätzliche Schutzmaßnahmen, wie die Anwendung von Kofferdam, sollten beim Einsatz von physikalischen Plasmen in der Mundhöhle eingesetzt werden. Allerdings können, laut Auffassung des Autors, die beobachteten Veränderungen auch an therapeutische Anwendungen des atmosphärischen Plasmas auf der Schleimhaut denken lassen. Vor allem die Therapie oraler Leukoplakien, als präkanzeröse Läsionen bekannt, erscheint denkbar und Untersuchungen in dieser Richtung sollten durchgeführt werden.

In der Zukunft kann eine Weiterentwicklung der Füllungstherapie hin zu mikroinvasiven Verfahren durch den Plasmajet unterstützt werden. Weitere Untersuchungen zum adjunktiven Einsatz kalten Plasmas für die Füllungstherapie erscheinen angemessen. Unter anderem sollten die Langzeitschäden der Plasmabestrahlung, die Quantität der Bildung von reaktiven Spezies und die Mutagenität geklärt werden.

Zusammenfassend wurden die Fragen im Rahmen der aufgestellten Hypothesen wie folgt beantwortet:

1. Eine thermische oder durch Austrocknung des Dentins verursachte Schädigung der Zahnpulpa bei Anwendung des Plasmajets ist nicht zu erwarten.

Diese Hypothese kann im Fall der nicht präparierten und mit Plasma bestrahlten Zähne bestätigt werden. Im Fall der präparierten, bestrahlten und gefüllten Zähne kann die Hypothese auf Grund des dafür ungeeigneten Studienmodells weder abgelehnt noch bestätigt werden. Es konnte lediglich festgestellt werden, dass es in Bezug auf die angewendeten Bewertungsparameter keinen zusätzlichen Schaden der Zahnpulpa durch Plasma im Vergleich zu unbestrahlten Molaren gibt.

2. Zwischen den bestrahlten und unbestrahlten Zahnproben sind ähnliche Ergebnisse zu erwarten.

Diese Hypothese wurde durch die Ergebnisse der vorgelegten Studie bestätigt.

3. Eine Schädigung der oralen Mundschleimhaut ist nicht zu erwarten.

Die Hypothese wurde durch die Ergebnisse der vorgelegten Studie abgelehnt.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Ahn HJ, Kim KI, Kim G, Moon E, Yang SS, Lee JS (2011). Atmospheric-Pressure Plasma Jet Induces Apoptosis Involving Mitochondria via Generation of Free Radicals. *PLoS One* 6(11):e28154.
2. Al-Hiyasat AS, Darmani H, Milhem MM (2005). Cytotoxicity evaluation of dental resin composites and their flowable derivatives. *Clin Oral Invest* 9: 21–25.
3. Arcoria CJ, Lippast MG, Speross P, Wagners MJ (1992). Pulpal effects of argon fluoride excimer laser irradiation and acid etching of rat molar enamel. *J.Dent*; 20:100-107.
4. Arjunan KP, Clyne AM (2011). Non-thermal dielectric barrier discharge plasma induces angiogenesis through reactive oxygen species. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2011:2447-2450.
5. Banomyong D, Messer H (2013). Two-year clinical study on postoperative pulpal complications arising from the absence of a glass-ionomer lining in deep occlusal resin-composite restorations. *J Investig Clin Dent.* doi: 10.1111/j.2041-1626.2012.00160.x.
6. Bellan PM (2008). *Fundamentals of Plasma Physics.* Cambridge University Press, 1. Auflage.
7. Berger W, Huber K, Hammerschnitt N, Hörmann K (2001). Tonsillectomy with argon plasma coagulation (APC): evaluation of pain and hemorrhage. *Laryngoscope* 111(8):1423-1429.
8. Blackert S, Haertel B, Wende K, von Woedtke T, Lindequist U (2013). Influence of non-thermal atmospheric pressure plasma on cellular structures and processes in human keratinocytes (HaCaT). *J Dermatol Sci.* 0923-1811(13)00058-3.
9. Brun P, Vono M, Venier P, Tarricone E, Deligianni V, Martines E, Zuin M, Spagnolo S, Cavazzana R, Cardin R, Castagliuolo I, La Gloria Valerio A, Leonardi A (2012). Disinfection of Ocular Cells and Tissues by Atmospheric-Pressure Cold Plasma. *PLoS One* 7(3):e33245.
10. Buonocore GM (1955). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* 34:849.
11. Canulo L, Götz W (2012). Peri-implant hard tissue response to glow-discharged abutments: Prospective study. Preliminary radiological results. *Ann Anat.* 194(6):529-532.
12. Cap F (1994). *Lehrbuch der Plasmaphysik und Magnetohydrodynamik.* Springer Verlag, 1994.
13. Capello V (2008). Diagnosis and Treatment of Dental Disease in Pet Rodents. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 17(2):114-123.
14. Coehlo PG, Giro G, Texeira H, Marin C, Witek L, Thompson VP, Tovar N, Silva N (2012). Argon-based atmospheric pressure plasma enhances early bone response to rough titanium surfaces. *J Biomed Mater Res A* 100(7):1901-1906.
15. Cohen S, Hargreaves KM (2006). *Pathways of the Pulp.* Ninth edition. Mosby Elsevier Verlag, St.Louis, Missouri, USA.

16. Corralo DJ, Maltz M (2013). Clinical and Ultrastructural Effects of Different Liners/Restorative Materials on Deep Carious Dentin: A Randomized Clinical Trial. *Caries Res* 47:243–250.
17. Coutinho M, Trevizam NC, Takayassu RN, Leme AA, Soares GP (2013). Distance and protective Barrier effects on the composite resin degree of conversion. *Contemp Clin Dent*. 4(2):152-155.
18. Daeschlein G, Scholz S, Ahmed R, Majumda A, von Woedtke T, Hermann Haase H, Niggemeier M, Kindel E, Brandenburg R, Weltmann KD, Jünger M (2011). Cold plasma is well-tolerated and does not disturb skin barrier or reduce skin moisture. *JDDG* 10:509–515.
19. Daeschlein G, Scholz S, Ahmed R, von Woedtke T, Haase H, Niggemeier M, Kindel E, Brandenburg R, Weltmann KD, Juenger M (2012). Skin decontamination by low-temperature atmospheric pressure plasma jet and dielectric discharge plasma. *Journal of Hospital Infection* 81:177-183.
20. Dalpian DM, Casagrande L, Franzon R, Dutra GM, de Araujo FB (2012). Dentin microhardness of primary teeth undergoing partial carious removal. *J Clin Pediatr Dent*. 36(4):363-367.
21. Dammaschke T, Stratmann U, Danesh G, Schäfer E, Ott KHR (2006). Reaction of rat pulp tissue to Carisolv new gel – A Histological evaluation. *Australian dental Journal*; 51(1): 57-63.
22. Dammaschke T (2009). Rat molar teeth as a Study model for direct pulp capping reaserch in dentistry. *Lab Anim*. 44(1): 1-6.
23. Dammaschke T, Stratmann U, Fischer RJ, Sagheri D, Schäfer E (2010). Proliferation of rat molar pulp cells after direct pulp capping with dentine adhesive and calcium hydroxide. *Clin Oral Invest* 15:577-587.
24. De Araujo EM, Fortkamp S, Baratieri LN (2009). Closure of Diastema and Gingival Recontouring Using Direct Adhesive Restorations: A Case Report. *J Esthet Restor Dent*. 21(4):229-240.
25. Duske K, Koban I, Kindel E, Schröder K, Nebe B, Holtfreter B, Jablonowski L, Weltmann KD, Kocher T (2012). Atmospheric plasma enhances wettability and cell spreading on dental implant metals. *J Clin Periodontol*. 39(4):400-407.
26. Deilmann M, Halfmann H, Bibinov N, Wunderlich J, Awakowicz P (2008). Low-pressure microwave plasma sterilization of polyethylene terephthalate bottles. *J Food Prot*. 71(10):2119-2123.
27. Diefenbeck M, Mückley T, Schrader C, Schmidt J, Zankovych S (2011). The effect of plasma chemical oxidation of titanium alloy on bone-implant contact in rats. *Biomaterials* 32:8041-8047.
28. Dogan A, Hubbezoglu I, Dogan OM, Boyalir G, Demir H (2009). Temperature rise induced by several light curing units through human dentin. *Dent Mater J* 28(3):253–260
29. Ehlbeck J, Schnabel U, Polak M, Winter J, von Woedtke T, Brandenburg R, von den Hagen T, Weltmann KD (2011). Low Temperature Atmospheric Pressure Plasma Sources for Microbial Decontamination. *Journal of Physics D: Applied Physics* 44, 1.
30. Ermolaeva S, Varfolomeev AF, Chernukha MY, Yurov DS, Vasiliev MM, Kaminskaya AA, Moisenovich MM, Romanova JM, Murashev AN, Selezneva II, Shimizu T, Sysolyatina EV,

- Shaginyan IA, Petrov OF, Mayevsky EI, Fortov VE, Morfill GE, Naroditsky BS, Gintsburg A (2011). Bactericidal effect of non-thermal argon plasma *in vitro*, in biofilms and the animal model of infected wounds. *Journal of Medical Microbiology* 60:75-83.
31. Falster CA, Araujo F B, Straffon LH, Nör JE (2002). Indirect Pulp Treatment: In Vivo Outcomes of an Adhesive Resin System vs Calcium Hydroxide for Protection of the Dentin-pulp Complex. *Pediatric Dentistry*, Vol. 24 Issue 3, 241.
32. Ferracane JL, Condon JR. Rate of elution of leachable components from composites (1990). *Dent Mater* 6:282-287.
33. Foster KW, Moy RL, Fincher EF (2008). Advances in plasma skin regeneration. *Journal of cosmetic dermatology* 7:169-179.
34. Frank RM (1975). Reactions of Dentin and Pulp to Drugs and Restorative Materials. *J Dent Res* 1975 54: B176.
35. Fricke K, Koban I, Tresp H, Jablonowski L, Schröder K, Kramer A, Weltmann KD, Kocher T (2012). Atmospheric pressure plasma: a high performance tool for the efficient removal of biofilms. *PLoS One* 7(8):e42539.
36. Fridman A, Chirokov A, Gutsol A (2005). Non-thermal atmospheric pressure discharges. *J Phys D: Appl Phys* 38(2): R1-R24.
37. Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets V, Fridman A (2008). Applied Plasma Medicine. *Plasma Proces. Polym.* 5:503-533.
38. Gängler P (1995). *Lehrbuch der konservierenden Zahnheilkunde*, 3. Auflage. Ullstein Mosby Verlag, Berlin.
39. Ginsberg GG, Barkun AN, Bosco JJ, Burdick JS, Isenberg GA, Nakao NL (2002). The argon plasma coagulator. *Gastrointestinal endoscopy* 55(7):807-810.
40. Goree J, Liu B, Drake D, Stoffels E (2006). Killing of *S. mutans* Bacteria Using a Plasma Needle at Atmospheric Pressure. *IEEE Transactions on Plasma Science*. 34(4): 1317-1324.
41. Hammid A, Hume WR (1997). The effect of dentine thickness on diffusion of resinmonomers *in vitro*. *Journal of Oral Rehabilitation* 24; 20-25.
42. Haertel B, Wende K, von Woedtke T, Weltmann KD, Lindequist U (2011). Non-thermal atmospheric-pressure plasma can influence cell adhesion molecules on HaCaT-keratinocytes. *Exp Dermatol*. 20(3):282-284
43. Hauser J, Zietlow J, Köller M, Esenwein SA, Halfmann H, Awakowisc P, Steinau HU (2009). Enhanced cell adhesion to silicone implant material through plasma surface modification. *J Mater Sci Mater Med* 20(12):2541-2548.
44. Heinlin J, Morfill G, Landthaler M, Stolz W, Isbary G, Zimmermann JL, Shimizu T, Karrer S (2010). Plasma medicine: possible applications in dermatology. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, JDDG* 2010(8).
45. Hellwig E, Klimek J, Attin T (2006). *Einführung in die Zahnerhaltung*, 4. Auflage. Urban & Fischer Verlag, München.

46. Hellwig E, Klimek J, Attin T (2009). Einführung in die Zahnerhaltung, 5. Auflage. Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln.
47. Idlibi AN, Marrawi FA, Hannig M, Lehmann A, Rueppell A, Schindler A, Jentsch H, Rupf S (2013). Destruction of oral biofilms formed *in situ* on machined titanium (Ti) surfaces by cold atmospheric plasma. *Biofouling* 29(4):369-379.
48. Insbary G, Morfill G, Zimmermann J, Shimizu T, Stolz W (2011). Cold Atmospheric Plasma. A Successful Treatment of Lesions in Hailey-Hailey Disease. *Arch Dermatol* 147(4):388-390.
49. Jiang N, Ji A, Cao Z (2009). Atmospheric pressure plasma jet: Effect of electrode configuration, discharge behavior, and its formation mechanism. *J. Appl. Phys.* 106, 013308.
50. Kawagasi E, Nakakura-Ohshima K, Nomura S, Ohshima H (2006). Pulpal responses to cavity preparation in aged rats. *Cell Tissue Res*, 326:111-122.
51. Keys KH (1962). Recent advances in dental caries research. *Bacteriology. Int Dent J* 12:443.
52. Kieft IE. (2005) Plasma needle: exploring biomedical applications of non-thermal plasmas. PhD Thesis, Eindhoven University of Technology, Eindhoven, NL.
53. Kim RH, Williams DW, Bae S, Lee RS, Oh J-E, Mehrazarin S, Kim T, Shin K-H, Park N-H, Kang MK (2013). Camphorquinone Inhibits Odontogenic Differentiation of Dental Pulp Cells and Triggers Release of Inflammatory Cytokines. *Journal of Endodontics* 39(1):57–61.
54. Ko H, Yang W, Park K, Kim M (2010). Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate (MTA) and bone morphogenic protein 2 (BMP-2) and response of rat pulp to MTA and BMP-2. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 109(6):103-108.
55. Koban I, Holtfreter B, Hübner NO, Matthes R, Siedmann R, Kindel E, Weltmann KD, Welk A, Kramer A, Kocher T (2011). Antimicrobial efficacy of non-thermal plasma in comparison to chlorhexidine against dental biofilms on titanium discs *in vitro* – proof of principle experiment. *J Clin Periodontology* 38:956-965.
56. Koenig KG (1971). Karies und Kariesprophylaxe. Goldmann Verlag, München
57. Krifka S, Seidenader C, Hiller KA, Schmalz G, Schweikl H (2012). Oxidative stress and cytotoxicity generated by dental composites in human pulp cells. *Clin Oral Invest* 16:215–224.
58. Kusdemir M, Gunal S, Ozer F, Imazato S, Izutani N, Ebisu S, Blatz M (2011). Evaluation of cytotoxic effects of six self-etching adhesives with direct and indirect contact tests. *Dental Materials Journal* 30(6): 799–805.
59. Lademann O, Kramer A, Richter H, Patzelt A, Meinke MC, Czaika V, Weltmann KD, Hartmann B, Koch S (2010). Skin Disinfection by Plasma-Tissue Interaction: Comparison of the Effectivity of Tissue-Tolerable Plasma and a Standard Antiseptic. *Skin Pharmacol Physiol* 24:284–288.
60. Lademann O, Richter H, Meinke MC, Patzelt A, Kramer A, Hinz P, Weltmann K-D, Bernd Hartmann B, Koch S (2011). Drug delivery through the skin barrier enhanced by treatment with tissue-tolerable plasma. *Experimental Dermatology*, 20, 488–490.
61. Lademann J, Richter H, Schanzer S, Patzelt A, Thiede G, Kramer A, Weltmann K-D, Hartmann B, Lange-Asschenfeldt B (2011). Comparison of the Antiseptic Efficacy of Tissue-

- Tolerable Plasma and an Octenidine Hydrochloride-Based Wound Antiseptic on Human Skin. *Skin Pharmacol Physiol* 25:100–106.
62. Lee HW, Kim GJ, Kim JM, Park JK, Lee JK, Kim GC (2009) Tooth bleaching with nonthermal atmospheric pressure plasma. *J Endod.* 35: 587-591.
63. Lehmann A, Rueppell A, Schindler A, Zylla MI, Seifert HJ, Nothdurft F, Hannig M, Rupf S (2013). Modification of Enamel and Dentin Surfaces by Non-Thermal Atmospheric Plasma. *Plasma Process Polym.* 10(3):262-270.
64. Lu X, Cao Y, Yang P (2009) A plasma jet device for root canal sterilization. Second International Conference on Plasma Medicine. San Antonio, Texas, USA.
65. Lung CYK, Matinlinna JP (2012). Aspects of silane coupling agents and surface conditioning in dentistry: An overview. *Dental Materials* 28(5):467–477.
66. Lutz F, Lüscher B, Ochsenbein H, Mühlemann HR (1976). *Adhäsive Zahnheilkunde*. Juris Druck & Verlag, Zürich.
67. Lutz F, Phillips RW (1983). A classification and evaluation of composite resin systems. *J Prosthet Dent* 50:480-488.
68. Maisch T, Shimizu T, Li YF, Heinlin J, Karrer S, Morfill G, Zimmermann JL (2012). Decolonisation of MRSA, *S. aureus* and *E. Coli* by Cold-Atmospheric Plasma using a porcine skin model in vitro. *PloS One* 7(4):e34610.
69. Maltz M, Oliveira EF, Fontanella V, Carminatti G (2007). Deep Caries Lesions after Incomplete Dentine Caries Removal: 40-Month Follow-Up Study. *Caries Res* 41:493–496.
70. Manner H (2008). Argon plasma coagulation therapy. *Curr Opin Gastroenterol* 24(5):612-616.
71. Manhart J (2007). Restaurative und ästhetische Zahnheilkunde mit direkten Kompositen im Seitenzahnbereich. *Zahnärzteblatt Sachsen* 0506, 27-30.
72. Marsch P, Martin MV (2003). *Orale Mikrobiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
73. Marthaler TM (2004). Changes in Dental Caries 1953–2003. *Caries Res* 2004; 38:173–181.
74. Masaoka S. (2007). Plasma sterilization of polyethylene terephthalate bottles by pulsed corona discharge at atmospheric pressure. *Biocontrol Sci* 12(2):59-63.
75. Michelsen VB, Lygre H, Skalevik R, Tveit AB, Solheim E (2003). Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. *Eur J Oral Sci* 111:263-271.
76. Moore DM (2000). *Rats and Mice: Biology*. Laboratory Animal Medicine and Science Series II. Health Science Center for Educational Resources, University of Washington.
77. Morfill GE, Shimizu T, Steffes B, Schmidt H-U (2009). Nosocomial infections—a new approach towards preventive medicine using plasmas. *New Journal of Physics* 11:115019.
78. Muhammad Al Muhammad (2012). Einfluss kalten atmosphärischen Plasmas auf die Zahn-Komposit-Interaktionszone eine In-vitro-Untersuchung. Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes.

79. Markovic OT, Young DS, Markovic NS (1988). Quinidine-Induced Inhibition of Leukocyte Esterases. *Clin. Chem.* 34(3):518-524.
80. Murray PE, Jack Windsor LJ, Smyth TW, Hafez AA, Cox CF (2002). Analysis of pulpal reactions to restorative procedures, materials, pulp capping, and future therapies. *Crit Rev Oral Biol Med* 13(6):509 – 520.
81. Partecke L, Evert K, Haugk J, Döring F, Normann L, Diedrich S, Weiss FU, Evert M, Hübner NO, Günther C, Heidecke CD, Kramer A, Bussiahn R, Weltmann KD, Pati O, Bender C, von Bernstorff W (2012). Tissue Tolerable Plasma (TTP) induces apoptosis in pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *BMC Cancer* 12:473.
82. Pazinato FB, Gionordoli Neto R, Wang L, Mondelli J, Mondelli RF, Navarro MF (2012). 56-month clinical performance of Class I and II resin composite restorations. *J Appl Oral Sci.* 20(3):323-328.
83. Pennisi CP, Zachar V, Gurevich L, Patriciu A, Strujik JJ (2010). The influence of surface properties of plasma-etched polydimethylsiloxane (PDMS) on cell growth and morphology. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 3804-3807.
84. Plaggenborg, T (1997). Bildung von ionenleitenden Schichten durch plasma-anodische Oxidation. Diplomarbeit im Fach physikalische Chemie, Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie an der Universität Hannover.
85. Puac N, Lazovic S, Hadzi-Mihajlovic M et al. (2009) Plasma needle treatment of bacteria originating from periodontal pocket. Second International Conference on Plasma Medicine. San Antonio, Texas, USA.
86. Ring A, Tilkorn DJ, Goertz O, Langer S, Schaffran A, Awakowicz P, Hauser J. (2011) Surface modification by glow discharge gasplasma treatment improves vascularization of allogenic bone implants. *J Orthop Res.* 29(8):1237-44. Epub 2011 Mar 4.
87. Ritts AC, Li H, Yu Q, Xu C, Yao X, Hong L, Wang Y (2010). Dentin surface treatment using a non-thermal argon plasma brush for interfacial bonding improvement in composite restoration. *Eur J Oral Sci* 118(5):510-516.
88. Rupf S, Lehmann A, Hannig M, Schäfer B, Schubert A, Feldmann U, Schindler A (2009). Killing of adherent oral microbes by a non-thermal atmospheric plasma jet. *J Med Microbio.* 59(Pt2): 206-2012. Epub 2009 Nov 12.
89. Rupf S, al Muhammd M, Hannig M, Lehmann A, Rueppell A, Schindler A. (2011) In-vitro influence of non-thermal atmospheric plasma treatment on the tooth-composite-interface. IADR/AADR/CADR 89th General Session San Diego, Calif., *J Dent Res* 90, Spec Iss A.
90. Rupf S, Idlibi AN, Umanskaya N, Hannig M, Nothdurft F, Lehmann A, Schindler A, Müller L, Spitzer W (2012) Desinfektion und Entfernung oraler Biofilme von mikrostrukturiertem Titan mit kaltem atmosphärischen Plasma. *Zeitschrift Zahnärztliche Implantologie.* 28(2):126-137.
91. Rüegg MA, Meinen S (2011). Histopathology in Hematoxylin & Eosin stained muscle sections. SOP MDC1A\_M.1.2.004.
92. Samuelsen J, Dahla JE, Karlssona S, Morisbaka E, Becher R (2007). Apoptosis induced by the monomers HEMA and TEGDMA involves formation of ROS and differential activation of the MAP-kinases p38, JNK and ERK. *Dental Materials* 23:34-39.

93. Schlicht H, Haugen HJ, Sabetrasekh R, Wintermantel E (2010). Fibroblastic response and surface characterization of O(2)-plasma-treated thermoplastic polyetherurethane. *Biomed. Mater.* 5(2):25002.
94. Schmalz G, Krifka S, Schweikl H (2011). Toll-like Receptors, LPS, and Dental Monomers. DOI: 10.1177/0022034511405391.
95. Schmidt A, Wende K, Bekeschus S, Bundscherer L, Barton A, Ottmüller K, Weltmann KD, Masur K (2013). Non-thermal plasma treatment is associated with changes in transcriptome of human epithelial skin cells. *Free Radic Res* 47(8):577-592.
96. Schulz M (2000). Physikalische Vorgänge in gepulsten Magnetronentladungen. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium an der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg.
97. Schweikl H, Hillet KA, Eckhardt A, Bolay C, Spagnuolo G, Stempf T, Schmalz G (2008). Differential gene expression involved in oxidative stress response caused by triethylene glycol dimethacrylate. *Biomaterials* 29:1377-1387.
98. Sensing R, Kalghatgi S, Cerchar E, Fridman G, Shereshevsky A, Torabi B, Arjunan KP, Podolsky E, Fridman A, Friedman G, Azizkhan-Clifford, Brooks AD (2011). Non-thermal Plasma Induces Apoptosis in Melanoma Cells via Production on Intracellular Reactive Oxygen Species. *Ann Biomed Eng.* 39(2):674-687.
99. Shashurin A, Keidar M, Bronnikov S, Jurjus RA, Stepp MA (2008). Living tissue under threatment of cold atmospheric jet. *Applied Physics Letter* 93, 181501.
100. Shon WJ, Chung SH, Kim HK, Han GJ, Cho BH, Park YS (2013). Peri-implant bone formation of non-thermal atmospheric pressure plasma-treated zirconia implants with different surface roughness in rabbit tibiae. *Clin Oral Implants Res.* doi: 10.1111/clr.12115.
101. Silva EH, Albuquerque RC, Lanza LD, Vieira GC, Peixoto RT, Alvim HH, Yoshida MI (2011). Influence of different light sources on the conversion of composite resins. *Indian J Dent Res.* 22(6):790-4
102. Six N, Lasfargues JJ, Goldberg M (2000). In vivo study of the pulp reaction to Fuji IX, a glass ionomer cement. *Journal of Dentistry* 28 (2000) 413–422.
103. Sladek REJ, Stoffels E, Walraven R, Tielbeek PJA, Koolhoven RA. (2004) Plasma treatment of dental cavities: a feasibility study. *IEEE Trans Plasma Sci.* 32: 1540–1543.
104. Sodeoka S, Suzuki M, Ueno K (1996). Effects of High-Pressure Plasma Spraying for Yttria-Stabilized Zirconia Coating. *Journal of Thermal Spray Technology* 5:277-282.
105. Soloshenko IA, Tsiolko VV, Khomich VA, Shchedrin AI, Ryabtsey AV, Bazhenov VY, Mikhno IL (2000). Sterilization of medical products in low-pressure glow discharges. *Plasma Physics Reports* 26(9):792-800.
106. Stoffels E, Kieft IE, Sladek REJ, van den Bedem LJM, van der Laan EP, Steinbuch M (2006). Plasma needle for *in vivo* medical treatment: recent developments and perspectives. *Plasma Source Sci. Technol.* 15:169-180.

107. Suhem K, Matan N, Nisoa M, Matan N (2013). Inhibition of *Aspergillus flavus* on agar media and brown rice cereal bars using cold atmospheric plasma treatment. *Int J Food Microbiol.* 161(2):107-111.
108. Summitt JB, Robbins JW, Schwartz RS (2001). *Fundamentals of Operative Dentistry, a Contemporary Approach*. Second Edition. Quintessence Publishing Co, Inc.
109. Takahashi N, Nyvad B (2010). The Role of Bacteria in the Caries Process: Ecological Perspectives. *J DENT RES* 2011 290:294.
110. Teixeira HS, Marin C, Witek L, Freitas A Jr, Silva NR, Lilin T, Tovar N, Janal MN, Coelho PG (2012). Assessment of a chair-side argon-based non-thermal plasma treatment on the surface characteristics and integration of dental implants with textured surfaces. *J Mech Behav Biomed Mater.* 9:45-49.
111. Vandamme M, Robert E, Lerondel S, Sarron V, Ries D, Dozias S, Sobilo J, Gosset D, Kieda C, Legrain B, Pouvesle JM, Le Pape A (2011). ROS implication in a new antitumor strategy based on non-thermal plasma. *Int J Cancer*, 130(9):2185-2194.
112. Verstraete FJM (2003). Advances in Diagnosis and Treatment of Small Exotic Mam-mal Dental Disease. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 12(1):37-48.
113. D. Wind, S. Rupf, B. Schäfer, M. Hannig, A. Lehmann, T. Hofmann, A. Schindler (2009). Treatment of ex vivo Biofilms by Non-Thermal Atmospheric Plasma Jet. *Abstract 58, Caries Res* 43:199.
114. Wind D (2011). Einfluss von Leistungsparametern eines kalten atmosphärischen Plasmajets auf die Destruktion von *in-vitro* Biofilmen. Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes.
115. Wu AS, Kalghatgi S, Dobrynin D, Sensenig R, Cerchar E, Podolsky E, Dulaimi E, Paff M, Wasko K, Arjunan KP, Garcia K, Fridman G, Balasubramanian M, Ownbey R, Bar-bee KA, Fridman A, Friedman G, Joshi SG, Brooks AD (2013). Porcine intact and wounded skin responses to atmospheric nonthermal plasma. *J Surg Res.* 179(1):e1-e12
116. Yamazaki H, Ohshima T, Tsubota Y, Yamaguchi H, Jayawardena JA (2011). Micro-bicidal activities of low frequency atmospheric pressure plasma jets on oral pathogens. *Dental Materials Journal*; 30(3):384-391.
117. Yamamoto H, Nawa T (1995). Enamel free areas in rodent molars – ultrastructure of basement membrane in rat tooth germ. *Int J Dev Biol* 39:163–168.
118. Yi D, Wu C, Ma X, Ji H, Zheng X, Chang J (2012). Preparation and in vitro evaluation of plasma-sprayed bioactive akermanite coatings. *Biomed. Mater.* 7. doi:10.1088/1748-6041/7/6/06500.
119. Yinguan C, Ping Y, Qing X, Zilan X, Yubin X, Yuan P (2009). An RC Plasma Device for Sterilization of Root Canal of Teeth. *IEEE Transactions on Plasma Science*; 37(5):668-673.
120. Zenker M (2008). Argon Plasma Coagulation. *GMS Krankenhaushygiene Interdiszi-plinär* 3(1).
121. Zucker SN, Zirnheld J, Bagati A, Disanto TM, Dessoye B, Wawrzyniak J, Etemadi K, Nikiforov M, Berezney R (2012). Preferential induction of apoptotic cell death in melanoma

cells as compared with normal keratinocytes using a non-thermal plasma torch. *Cancer Biol Ther* 13(13):1299-306.

## 7 Publikationen

4<sup>th</sup> International Conference of Plasma Medicine, June 17 – 21, 2012, Orleans, France

### **Effect of cold atmospheric plasma treatment on dental pulp in rat molars**

S. Rupf<sup>1</sup>, M. Georg<sup>1</sup>, M. Hannig<sup>1</sup>, M. W. Laschke<sup>2</sup>, A. Lehmann<sup>3</sup>,  
A. Rueppell<sup>3</sup>, A. Schindler<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Clinic of Operative Dentistry, Periodontology and Preventive Dentistry, Saarland University Hospital, Homburg/Saar, D- 66421 Germany*

<sup>2</sup> *Institute for Clinical and Experimental Surgery, Saarland University Hospital, Homburg/Saar, D- 66421 Germany*

<sup>3</sup> *Leibniz Institute of Surface Modification (IOM), Leipzig, D-04308, Germany,  
E-mail: stefan.rupf@uks.eu*

Cold atmospheric plasma treatment of hard tooth substances has shown in previous investigations to disinfect by killing of adherent bacteria [1], to efficiently clean Ti surfaces from biofilms [2] and to improve tooth-filling interaction by surface modification [3].

The aim of this study was the investigation of the influence of cold plasma treatment on the rat dental pulp in combination with adhesive filling therapy.

Occlusal cavities were prepared in first upper molars of 20 Sprague-Dawley rats (1 x 1.5 x 0.5 mm, remaining dentin: 0 – 0.3 mm, diamond bur ISO 008, 6.000 U/min, air/water spray cooling). In a split mouth design, one prepared rat molar and the adjacent unprepared molar were treated with cold atmospheric plasma (pulsed microwave 2.45 GHz, mean power 3 W, plasma jet with Gaussian profile: 8 mm length 1.5 mm FWHM, 2.0 slm He, treatment time 5 s per tooth, surface temperature: maximum 40 °C). The prepared cavities were filled with a self-conditioning adhesive and flow composite material. After 24 h and 28 d ten rats each were sacrificed and the upper molar segments were dissected. Teeth were demineralized by 10 % EDTA for 4 weeks and embedded in paraffin. Histological sections (6 µm) were prepared and stained with haematoxylin-eosin (HE) and chlorazetatesterase (CAE). The odontoblast layer, appearance of inflammatory cells, necrosis, pre- and secondary dentin formation were assessed in the histological sections.

Distinct inflammation was detected in pulps of teeth treated with plasma and filling as well as in pulps of teeth which were only filled after 24 h. After 28 d in both groups secondary dentin formation and reduced inflammation were observed. Pulps of teeth treated with cold plasma but not filled did not show any increased inflammation compared to untreated controls neither after 24 h nor after 28 d.

In this animal experiment the treatment of vital teeth with cold atmospheric plasma did not result in an increased inflammation of pulp.

Supported by the German Federal Ministry of Education and Research (01 EZ 0730 / 0731)

## 8 Danksagung

Danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Stefan Rupf dafür, dass er mir die Möglichkeit gegeben hat, Teil seiner Forschungsgruppe zu sein und mich mit dem Thema der Plasmamedizin zu befassen. Ich danke Ihm für die konstante Unterstützung, Ermutigung und auch Geduld von Anfang bis Ende der Studie.

Ebenfalls danken möchte ich Frau Dr. Barbara Schäfer für die stetige und tatkräftige Unterstützung.

Danken möchte ich auch Herrn Dr. Matthias Laschke und den Mitarbeitern der Abteilung für Experimentelle Chirurgie des Universitätsklinikums des Saarlandes. Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei Fr. Janine Becker für die immer freundliche Unterstützung bei der Herstellung und Färbung der histologischen Schnitte.

Herzlichen Dank auch Herrn Dr. Axel Schindler und Frau Antje Lehmann aus dem Institut für Oberflächenmodifizierung (IOM), Leipzig für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Plasmabehandlung.

Frau Franziska Thieme, Frau Constanze Mayer und meinem Vater, Rolf Georg, möchte ich für das Korrekturlesen der Arbeit ganz herzlich danken.

## 9 Lebenslauf

**Geburtsdatum** 26.12.1983

**Geburtsort** Managua, Nicaragua

### **Beruflicher Werdegang**

Seit dem 01.08.2013 Universitätsklinikum des Saarlandes, Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Werkstoffkunde. Direktor: Prof. Dr. Philipp Kohorst.

Wissenschaftlicher Mitarbeiter.

16.01.2013 – 31.07.2013 Universitätsklinikum Würzburg, Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik. Direktor: Prof. Dr. Dipl. Ing. Ernst-Jürgen Richter.

Wissenschaftlicher Mitarbeiter.

01.03.2012 - 31.12.2012 Gemeinschaftspraxis Dres. Klumpp und Diefenbacher in Pforzheim.

Vorbereitungsassistent.

### **Studium**

SS2009 – 17.12.2011 Universität des Saarlandes (Homburg/Saar)  
Studium der Zahnmedizin (6.- 10. Fachsemester.)

12.11.2008 Anrechnung von ausländischen Studienleistungen  
Anrechnung der naturwissenschaftlichen- und zahnmedizinischen Vorprüfung sowie von 5 Semestern aus dem Studium der Zahnmedizin, durch das Landesprüfungsamt Thüringen.

### **Studium im Ausland**

2008 - 2009 Diplom in Hochschulbildung.

Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca in Sucre, Bolivien.

2001 - 2007                      Studium der Zahnmedizin.  
  
Universidad Privada del Valle in Cochabamba, Bolivien.

### **Praktika und Dienste**

04.2011 - 05.2011              Studentische Hilfskraft an der Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Universität des Saarlandes in Homburg.

Aufgaben: Herstellung eines Handbuches der Abläufe restaurativer Maßnahmen für den Phantomkurs der Zahnerhaltung und Herstellung von Modellen.

07/2006-10/2006              Sozialer Gesundheitsdienst (SSRO), im Gesundheitszentrum "Damas Salesianas", Cochabamba, Bolivien.

Aufgaben: Behandlung von Patienten in den Grunddisziplinen der Zahnheilkunde als Provinzzahnarzt.

### **Schulbildung**

25.11.2008                      Anerkennung der Hochschulreife für bisherige Studienrichtung und benachbarte Fächer durch die Bezirksregierung Düsseldorf.

2001                              Schulabschluss, Cochabamba Cooperative School in Cochabamba, Bolivien.

1998-2001                      Zehnte bis zwölfte Klasse, Cochabamba Cooperative School in Cochabamba, Bolivien.

1996-1998                      Siebte bis neunte Klasse, Alexander von Humboldt Schule in Sucre, Bolivien.

1995                              Sechste Klasse, Pestalozzi Schule in Sucre, Bolivien.

1993/94                         Fünfte Klasse, Albert Schweizer Gymnasium in Alsfeld, Hessen.

1992/93                         Vierte Klasse, Mittelpunktsschule Antrifttal in Romrod,

Hessen.

1989-1992

Erste bis dritte Klasse, Cochabamba Cooperative School in Cochabamba, Bolivien.

**Sprachkenntnisse**

Spanisch: Muttersprache

Deutsch: fließend (Test DAF Note „5“/ maximale Punktzahl, Deutsches Sprachdiplom)

Englisch: fließend (MTELP, TOEFL)

# 10 Anhang

## 10.1 Bestrahlungsprotokolle der einzelnen Ratten

Datum	Bearbeiter												
23.06.2009	Rupf Homburg												
<b>Versuchsparameter</b>													
											d=Abstand Jet/Substrat		
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung		
						He	O2a	O2i	N2				
						[sccm]	[sccm]	[sccm]	[sccm]				
<b>Ratte1</b> (K1, re 1Loch)													
(1.1)		2,4	250	5	5	2000						Ok li, Plasma+Füllung	
(1.2)					5							Ok re, Fü	
(1.3)		2,4	250	40	5							Ok FZ li Plasma (Länge 4mm)	
(1.4)		2,4			5							OK Schleimhaut, (Plasma?)	

Datum	Bearbeiter												
23.06.2009	Rupf Homburg												
<b>Versuchsparameter</b>													
											d=Abstand Jet/Substrat		
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung		
						He	O2a	O2i	N2				
						[sccm]	[sccm]	[sccm]	[sccm]				
<b>Ratte2</b> (K1, re 1Loch)													
(2.1)		2,4	250	5	5	2000						Ok li, Plasma+Füllung	
(2.2)					5							Ok re, Fü	
(2.3)		2,4	250	30	5							Ok FZ re Plasma	
(2.4)		2,4	250	10	5							OK Schleimhaut Plasma	

Datum	Bearbeiter												
23.06.2009	Rupf Homburg												
<b>Versuchsparameter</b>													
											d=Abstand Jet/Substrat		
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung		
						He	O2a	O2i	N2				
						[sccm]	[sccm]	[sccm]	[sccm]				
<b>Ratte3</b> (K1, re+li 1Loch)													
(3.1)												Ok li, Füllung	
(3.2)	4	2,4	250	5	5	2000						Ok re, Plasma+Fü	
(3.3)	4	2,4	250	20	5	2000						Ok FZ re Plasma	
(3.4)	4	2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut Plasma	

## Anhang

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte4</b> (K1, re 2Loch)												
(4.1)		2,4	250	5	5	2000						Ok li, Plasma+Füllung
(4.2)												Ok re, Fü
(4.3)		2,4	250	20	5	2000						Ok FZ li Plasma
(4.4)		2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut Plasma Mitte,Front

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte5</b> (K1, re 2Loch)												
(5.1)	4	2,4	250	5	5	2000						Ok re, Plasma+Füllung
(5.2)												Ok li, Fü
(5.3)	4	2,4	250	20	5	2000						Ok FZ re Plasma
(5.4)	4	2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut Plasma Mitte,Front

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte6</b> (K2, re 1Loch)												
(6.1)	4	2,4	250	5	5	2000						Ok li, Plasma+Füllung
(6.2)					5							Ok re, Fü
(6.3)	4	2,4	250	20	5							Ok FZ li Plasma
(6.4)	4	2,4	250	5	5							OK Schleimhaut Plasma Mitte,Front

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte7</b> (K2, re 1Loch)												
7.1	4	2,4	250	5	5	2000						Ok re, Plasma+Füllung
7.2												Ok li, Fü
7.3	4	2,4	250	20	5	2000						Ok FZ re Plasma
7.4	4	2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut Plasma Mitte,Front

## Anhang

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte8</b> (K2, #re 1Loch)												
(8.1)	4	2,4	250	5	5	2000						Ok li, Plasma+Füllung
(8.2)												Ok re, Fü
(8.3)	4	2,4	250	20	5							Ok FZ li Plasma
(8.4)	4	2,4	250	5	5							OK Schleimhaut Plasma Mitt3

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte9</b> (K2, #2Loch)												
9.1	4	2,4	250	5	5	2000						Ok re, Plasma+Füllung
9.2												Ok li, Fü
9.3	4	2,4	250	20	5	2000						Ok FZ re Plasma
9.4	4	2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut Plasma Mitte,Front

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte10</b> (K2, re 2 Loch)												
10.1	4	2,4	250	5	5	2000						Ok li, Plasma+Füllung
10.2												Ok re, Fü
10.3	4	2,4	250	20	5	2000						Ok FZ li Plasma
10.4	4	2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut Plasma Mitte,Front

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte11</b> (K3, # 1Loch)												
(11.1)	4	2,4	250	5	5	2000						Ok re, Plasma+Füllung
(11.2)												Ok li, Fü
(11.3)	4	2,4	250	20	5	2000						Ok FZ re Plasma
(11.4)	4	2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut

# Anhang

Datum		Bearbeiter											
23.06.2009		Rupf Homburg											
Versuchsparameter													
											d=Abstand Jet/Substrat		
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung		
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]				
Ratte12 (K3, re 1Loch)													
(12.1)		2,4	250	5	5	2000							Ok li, Plasma+Füllung
(12.2)													Ok re, Fü
(12.3)		2,4	250	20	5								Ok FZ li Plasma
(12.4)		2,4	250	5	5								OK Schleimhaut Plasma

Datum		Bearbeiter											
23.06.2009		Rupf Homburg											
Versuchsparameter													
											d=Abstand Jet/Substrat		
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung		
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]				
Ratte13 (K3, re 1Loch)													
(13.1)		2,4	250	5	5	2000							Ok re, Plasma+Füllung (Kavität sehr g
(13.2)													Ok li, Fü
(13.3)		2,4	250	20	5	2000							Ok FZ re Plasma
(13.4)		2,4	250	5	5	2000							OK Schleimhaut

Datum		Bearbeiter											
23.06.2009		Rupf Homburg											
Versuchsparameter													
											d=Abstand Jet/Substrat		
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung		
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]				
Ratte14 (K3, re 1Loch)													
(14.1)	4	2,4	250	5	5	2000							Ok li, Plasma+Füllung
(14.2)													Ok re, Fü
(14.3)	4	2,4	250	30	5	2000							Ok FZ li Plasma
(14.4)	4	2,4	250	5	5	2000							OK Schleimhaut Plasma

Datum		Bearbeiter											
23.06.2009		Rupf Homburg											
Versuchsparameter													
											d=Abstand Jet/Substrat		
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung		
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]				
Ratte15 (K3, # 2Loch)													
(15.1)	4	2,4	250	5	5	2000							Ok re, Plasma+Füllung
(15.2)													Ok li, Fü
(15.3)	4	2,4	250	20	5	2000							Ok FZ re Plasma
(15.4)	4	2,4	250	5	5	2000							OK Schleimhaut,

# Anhang

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte16 (K4, #1Loch)</b>												
16.1		2,4	250	5	5	2000						Ok li, Plasma+Füllung (gut getroffen)
16.2												Ok re, Fü
16.3		2,4	250	20	5	2000						Ok FZ li Plasma
16.4		2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut Plasma

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte17 (K4, re 1Loch)</b>												
17.1		2,4	250	5	5	2000						Ok re, Plasma+Füllung
17.2												Ok li, Fü
17.3		2,4	250	20	5	2000						Ok FZ re Plasma
17.4		2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut,

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte18 (K4, 1re1Loch)</b>												
18.1		2,4	250	5	5	2000						Ok li, Plasma+Füllung
18.2												Ok re, Fü
18.3		2,4	250	20	5	2000						Ok FZ li Plasma
18.4		2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut Plasma

Datum		Bearbeiter										
23.06.2009		Rupf Homburg										
<b>Versuchsparameter</b>												
d=Abstand Jet/Substrat												
Proben- nr.	d [mm]	mittl. Leistung [W]	Peakleistung [W]	t [s]	Pulslänge [µs]	Gase				T [°C]	Bemerkung	
						He [sccm]	O2a [sccm]	O2i [sccm]	N2 [sccm]			
<b>Ratte19 (K4, # 2Loch)</b>												
19.1		2,4	250	5	5	2000						Ok re, Plasma+Füllung
19.2												Ok li, Fü
19.3		2,4	250	20	5	2000						Ok FZ re Plasma
19.4		2,4	250	5	5	2000						OK Schleimhaut,

# Anhang

Datum		Bearbeiter								
23.06.2009		Rupf Homburg								
<b>Versuchsparameter</b>										
d=Abstand Jet/Substrat										
Proben-	d	mittl. Leistung	Peakleistung	t	Pulslänge	Gase		T	Bemerkung	
nr.	[mm]	[W]	[W]	[s]	[µs]	He		[°C]		
						[sccm]				
<small>Ratte20 (K4, re2 Loch)</small>										
20.1	4	2,4	250	5	5	2000			Ok li, Plasma+Füllung	
20.2									Ok re, Fü	
20.3	4	2,4	250	20	5	2000			Ok FZ li Plasma	
20.4	4	2,4	250	5	5	2000			OK Schleimhaut Plasma	

## 11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Eigenschaften verschiedener kalter, atmosphärischer Plasmen (modifiziert nach Heinlin <i>et al.</i> , 2010). .....	6
Tabelle 2: Modifizierbare Parameter der Plasmaquelle. ....	13
Tabelle 3: Einige bekannte Studien die auf der im IOM Leipzig entwickelten Plasmaquelle basieren. ....	13
Tabelle 4: Klassifikation der Komposite basierend auf der Füllergröße (nach Lutz <i>et al.</i> , 1983). ....	15
Tabelle 5: Klassifikation der Adhäsivsysteme (nach Hellwig <i>et al.</i> , 2006). ....	16
Tabelle 6: Reaktionen der Zahnpulpa auf Karies. ....	17
Tabelle 7: Einige an Rattenzähnen durchgeführte Studien in der zahnmedizinischen Forschung. ....	19
Tabelle 8: Bestrahlungsparameter des hier vorgestellten Versuchs. ....	23
Tabelle 9: Kennzeichnung der aus den einzelnen Ratten entnommenen Proben. ....	28
Tabelle 10: Protokoll der verwendeten Hämatoxylin – Eosin Färbung. ....	29
Tabelle 11: Protokoll der verwendeten Chloracetatesterasefärbung (CAE). ....	30
Tabelle 12: Scoring zur histologischen Bewertung der Zahnpulpa (adaptiert nach Arcoria <i>et al.</i> , 1992). ....	31
Tabelle 13: Scoring zur histologischen Bewertung der Mundschleimhaut. ....	33
Tabelle 14: Übersicht der Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung nach	

## Tabellenverzeichnis

---

24 Stunden. ....	40
Tabelle 15: Übersicht der Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung nach	
28 Tagen. ....	44
Tabelle 16: Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung der Schleimhautproben	
nach 24 Stunden. ....	46
Tabelle 17: Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung der Schleimhautproben	
nach 28 Tagen. ....	47

## 12 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Komponente eines Plasmastrahls. ....	4
Abbildung 2: Gerät für die APK der Firma KLS Martin Group, Tuttlingen, Deutschland. ....	8
Abbildung 3: Benetzungseigenschaften von Schmelz unter verschiedenen Umständen. ....	10
Abbildung 4a: KinPen mit Basiseinheit, Gasmischeinheit (GMU) und Gasversorgungseinheit (GSU), entwickelt vom INP-Greifswald und Produziert durch die Neoplas GmbH. ....	11
Abbildung 4 b: KinPen mit gezündetem Plasmajet. ....	11
Abbildung 5: Am IOM Leipzig entwickelte Plasmaquelle (Rupf <i>et al.</i> , 2010). 1) Plasmajet; 2) und 3) Gaszufuhr; 4) Mikrowelle. ....	12
Abbildung 6: Schematische Darstellung einer Plasmaquelle und des Plasmajets. ....	13
Abbildung 7: Ätiologische Faktoren der Kariesentstehung. (Keys, 1962; Koenig, 1971). ....	17
Abbildung 8: Schematische Darstellung der Oberkiefer Rattenmolaren. ....	20
Abbildung 9a,b: Verwendete Plasmaquelle und Plasmajet. ....	22
Abbildung 10: Darstellung einer Plasmaquelle und eines Plasmajets. ....	23
Abbildung 11: Am Leibniz Institut für Oberflächenmodifizierung in Leipzig entwickelte miniaturisierte Plasmaquelle mit gezündetem Plasmajet. ....	24
Abbildung 12: Infrarotkamera Optris PI für die Wärmebestimmung. ....	24
Abbildung 13: Software PI Connect für die Infrarot-Thermographie. ....	24
Abbildung 14: Verwendetes Füllungsmaterial. ....	25
Abbildung 15: Kavitätenpräparation für die Aufnahme einer Kompositfüllung am Rattenmolar. ....	25

Abbildung 16: Bestrahlung eines Versuchstieres. Die Dauer der Bestrahlung betrug 5 s. ....	26
Abbildung 17: Photopolymerisation des Füllungsmaterials im Rattenmaul. ....	26
Abbildung 18: Bestrahltes Schleimhautareal. ....	27
Abbildung 19: Darstellung der Bestrahlung der vestibulären Mundschleimhaut der Versuchstiere im Bereich zwischen den mittleren Schneidezähnen. ....	27
Abbildung 20: Pulpa mit Score 1. ....	31
Abbildung 21: Pulpa mit Score 2. ....	32
Abbildung 22: Pulpa mit Score 3. ....	32
Abbildung 23: Pulpa mit Score 4. ....	32
Abbildung 24: Schleimhaut mit Score 1. ....	33
Abbildung 25: Schleimhaut mit Score 2. ....	33
Abbildung 26: Schleimhaut mit Score 3. ....	34
Abbildung 27: Präparat 2.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score: 3. ....	35
Abbildung 28: Präparat 3.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score: 3. ....	36
Abbildung 29: Präparat 7.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score: 3. ....	36
Abbildung 30: Präparat 1.2, nicht bestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score 3. ....	37
Abbildung 31: Präparat 7.2, nicht bestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score 3. ....	38
Abbildung 32: Präparat 2.1, bestrahlter, unversehrter 2. Molar. Score 1. ....	38
Abbildung 33: Präparat 3.1, bestrahlter, unversehrter 2. Molar. Score 1. ....	39
Abbildung 34: Präparat 4.1, bestrahlter, unversehrter 2. Molar. Score 1. ....	39
Abbildung 35: Präparat 5.1, bestrahlter, unversehrter 2. Molar. Score 1. ....	39

## Abbildungsverzeichnis

---

Abbildung 36: Präparat 11.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score 2. ....	41
Abbildung 37: Präparat 18.1, bestrahlter und gefüllter 1 Molar. Score 2. ....	41
Abbildung 38: Präparat 13.2, nicht bestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score 2. ....	42
Abbildung 39: Präparat 16.2, unbestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score 2. ....	42
Abbildung 40: Präparat 14.1, bestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score 4. ....	43
Abbildung 41: Präparat 11.2, unbestrahlter und gefüllter 1. Molar. Score 4. ....	43
Abbildung 42: Präparat 3.4, bestrahlte Mundschleimhaut. Score 3. ....	45
Abbildung 43: Präparat 4.4, bestrahlte Mundschleimhaut. Score 2. ....	45
Abbildung 44: Präparat 6.4, bestrahlte Mundschleimhaut. Score 3. ....	45
Abbildung 45: Präparat 7.4, bestrahlte Schleimhaut. Score 2. ....	45
Abbildung 46: Präparat 8.4, bestrahlte Mundschleimhaut. Score 3. ....	45
Abbildung 47: Präparat 10.4, bestrahlte Mundschleimhaut. Score 3. ....	46
Abbildung 48: Unbeschädigtes Mundschleimhautepithel nach 28 Tagen in der HE-Färbung. .....	47