

Aus der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. M. Hannig

Untersuchungen zur Schmelzregeneration mit Apatitpasten und Adhäsiv-Apatitpasten

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2016

vorgelegt von:

Angela Seidel

geb. am: 02.09.1962 in Bad Hersfeld

Tag der Promotion:

Dekan: Prof. Dr. M.D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Hannig

2. Berichterstatter:

Carpe diem

Horaz

Inhaltsverzeichnis

1 ZUSAMMENFASSUNG	1
1.1 Deutsche Zusammenfassung	1
1.2 Summary	4
2 EINLEITUNG	7
2.1 Zahnschmelz	10
2.2 Literaturübersicht	19
Schmelzregeneration.....	19
Adhäsive	27
2.3 Ziel der Arbeit / Fragestellung	36
3 MATERIAL UND METHODE	37
3.1 Material	37
Demineralisationsmaterial	37
Konditionierungsflüssigkeit.....	37
Apatitpasten	38
Adhäsiv-Apatitpasten	39
Schmelzprobengewinnung (Prüfkörper).....	40
Schmelzprüfkörperpräparation	40
3.2 Methode.....	43
Versuchsreihe 1: Apatitpasten	43
Versuchsreihe 2: Apatitpasten	47
Versuchsreihe 3: Adhäsiv-Apatitpasten (Clearfil Tri S Bond Plus).....	49
Versuchsreihe 4: Adhäsiv-Apatitpasten (Resulcin AquaPrime+MonoBond)	53

3.3 Untersuchungsmethoden	55
Vorbereiten der Proben für die Untersuchung im REM	55
Mikrohärte nach Vickers	56
Säuretoleranz	57
Thermocycling	58
4 ERGEBNISSE	59
4.1 Versuchsreihe 1: Apatitpasten R1–R4	59
Apatitpaste R1 (HAP1-pH 1).....	60
Apatitpaste R2 (HAP1-pH 7).....	63
Apatitpaste R3 (FAP1-pH 1)	66
Apatitpaste R4 (FAP1-pH 7)	68
4.2 Versuchsreihe 2: Apatitpasten R1–R4	71
Apatitpaste R1 (HAP1-pH 1).....	72
Apatitpaste R2 (HAP1-pH 7).....	73
Apatitpaste R3 (FAP1-pH 1)	76
Apatitpaste R4 (FAP1-pH 7)	78
4.3 Elementanalyse Fluorapatitpasten.....	80
Apatitpaste R3 (FAP1-pH 1)	81
Apatitpaste R4 (FAP1-pH 7)	83
4.4 Versuchsreihe 3: Adhäsiv-Apatitpasten	85
4.4.1 Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten	85
Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpaste mit HAP1.....	86
Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpaste mit HAP2.....	88
Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpaste mit FAP1	90
Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpaste mit FAP2	92

Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten mit Apatitmischungen	93
Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten (ungeätzter Schmelz).....	95
4.4.2 Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten.....	97
Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten mit Aqua cons.....	97
Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten ohne Aqua cons.	99
4.4.3 Materialprüfungen.....	101
Mikrohärtemessungen.....	101
Prüfkörper nach Säureexposition.....	103
Prüfkörper nach Thermocycling	104
5 DISKUSSION	107
5.1 Material und Methode	107
Schmelzprüfkörper	107
Lagermedium	107
Demineralisierung.....	109
Materialien	110
REM, EDX	110
5.2 Ergebnisse Apatitpasten	111
5.3 Ergebnisse Adhäsiv-Apatitpasten	114
6 LITERATURVERZEICHNIS	120
7 DANKSAGUNG	132
8 LEBENSLAUF	133
9 ANHANG	134
9.1 Abkürzungsverzeichnis	134

9.2 Materialliste.....	136
------------------------	-----

1 Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Bei der natürlichen Schmelzbildung, der Amelogenese, bilden von den Ameloblasten sezernierte Matrixproteine ein dreidimensionales Gerüst. Diese organische Schmelzmatrix sorgt für eine geordnete Kristallisation der Hydroxylapatitkristalle. Unter der Einwirkung von Proteasen werden die Schmelzmatrixproteine zu kleineren Fragmenten degradiert und von den Ameloblasten rückresorbiert. Ausgereifter Zahnschmelz unterliegt nach seiner Bildung keinem zellulären Reparaturmechanismus. In der Literatur werden dagegen azelluläre, nanotechnologische Verfahren zur einfachen Schmelzregeneration beschrieben. Die Regenerationspasten aus 35%igem H_2O_2 , 85%iger H_3PO_4 und pulverisiertem fluoridiertem Hydroxylapatit (HAP) [Yamagishi *et al.*, 2005] oder aus 17%iger Phosphorsäure und Fluorapatit-Nanopartikeln [Wang *et al.*, 2009, Wang *et al.*, 2012] erzeugen 20–30 μm dicke schmelzähnliche Schichten aus parallel zueinander orientierten prismaartigen Mikrostrukturen [Yamagishi *et al.*, 2005, Wang *et al.*, 2009, Wang *et al.*, 2012]. Die vorliegende *in-vitro* Studie soll einen Beitrag leisten, die Schmelzregeneration auf der Basis von apatithaltigen Pasten nachzuvollziehen und eventuell zu modifizieren. Dazu wurden zwei Versuchsreihen mit Schmelzprüfkörpern aus voll ausgereiften, kariesfreien, humanen extrahierten Prämolaren und Molaren durchgeführt.

In einer ersten Versuchsreihe mit 16 Schmelzprüfkörpern blieben die natürlichen Schmelzoberflächen unbehandelt. Zur Herstellung von künstlichen Schmelzmikrodefekten wurden die Oberflächen mit 35%iger Orthophosphorsäure demineralisiert. Die Schmelzregeneration erfolgte mit Hilfe von verschiedenen Apatitpasten aus Hydroxylapatit (HAP1) und Fluorapatit (FAP1), bei unterschiedlichen pH-Bedingungen (pH 1 und pH 7) und Applikationsdauern (15 und 30 Minuten). Im Anschluss wurden die Prüfkörper mit Aqua purificata aus einer Spritzflasche abgespült, bis die Apatitpasten sichtbar abgewaschen waren. In einer zweiten Versuchsreihe mit 8 Schmelzprüfkörpern wurde die Schmelzoberfläche der Prüfkörper durch den Abtrag der aprismatischen Schmelzschicht vorbehandelt. Es folgten die Demineralisierung mit Orthophosphorsäure und die Regeneration mit Hydroxyl- oder Fluorapatit bei pH 1 und pH 7 in 30-Minuten-Zyklen. Alle Apatitpasten wurden nach Ablauf der Einwirkzeit für 10 s mit dem Luft/Wasserspray der zahnärztlichen Multifunktionsspritze unter maximalem Druck und maximaler Wasserzufuhr abgesprüht. Die Untersuchung der Schmelzprüfkörper auf ihre

mikro- bis nanomorphologischen Oberflächenstrukturen erfolgte mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie (REM). Die in dieser Studie durchgeführten Versuchsreihen mit einfachen Apatitpasten erzeugten auf den Schmelzoberflächen keine Strukturen, die als Schmelzregeneration interpretiert werden können. Die durch die Behandlung der polierten, bzw. unpolierten Schmelzoberflächen erzeugten morphologischen Strukturveränderungen zeigen als Ergebnis keine, wie in der Literatur beschriebene, organisierte, kristalline schmelzähnliche Strukturen, sondern ungeordnete Präzipitatschichten. Bei beiden Apatitmaterialien (HAP1 und FAP1) und auch bei beiden pH-Bedingungen (pH1 und pH7) bildeten sich dicht gepackte Auflagerungen, die in ihrer Zusammensetzung durch EDX-Analysen bestätigt wurden. Im Gegensatz zu den HAP1-Prüfkörpern stellte sich der Verbund zur Schmelzoberfläche bei den FAP1-Prüfkörpern ausnahmslos ohne sichtbare Grenzfläche dar. Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe, das vollständige Fehlen von Präzipitaten nach Behandlung mit der Mehrfunktions-spritze, stellen die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe, aber auch der vorausgegangenen Studien, in Frage. Die in der Literatur beschriebene Schmelzregeneration mit rein anorganischen Nanomaterialien konnte nicht nachvollzogen werden.

Der zweite Teil der Studie beschäftigte sich deshalb mit einem neuen Ansatz. Die Apatitpulver wurden mit zwei unterschiedlichen Self-Etch Adhäsiven (Clearfil Tri S Bond und Resulcin AquaPrime+MonoBond) kombiniert, um die Adhäsion des Apatits an der Schmelzoberfläche zu verbessern. Die aus den beiden Self-Etch Adhäsiven und jeweils zwei Hydroxylapatit- und Fluorapatitpulvern (HAP1/HAP2 und FAP1/FAP2) hergestellten Adhäsiv-Apatitpasten wurden nach festgelegten Applikationsprotokollen auf die Schmelzoberflächen appliziert. Dabei variierten die Mengen der Apatitpulver, die Mischungen der Apatitpulver, ebenso wie die Vorbehandlung der Schmelzoberfläche, die bei einer Auswahl der Prüfkörper vor Applikation der Adhäsiv-Apatitpaste nicht demineralisiert wurde. Alle Prüfkörper, die mit einer Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpaste behandelt wurden, zeigten im REM eine schmelzähnliche Auflage mit einem spaltfreien Verbund zur Schmelzoberfläche. Besonders die Adhäsiv-HAP1-Pasten präsentierten auf den BSE-REM-Aufnahmen einen innigen Verbund zur Schmelzoberfläche in Form einer Verzapfung. Die Ergebnisse der mit Resulcin AquaPrime+MonoBond kombinierten Apatitpulver zeugten dagegen von umfangreichen Spaltbildungen zwischen den Adhäsiv-Apatitpasten und der Schmelzoberfläche. Erst in einer Variation des Applikationsprotokolls, dem Weglassen des Aqua conservans, konnte der Verbund zum Schmelz auffällig verbessert werden. Ausgewählte Prüfkörper aus beiden Adhäsiv-Versuchsreihen wurden verschiedenen physikalisch-chemischen Materialprüfungen unterzo-

gen. Die Säuretoleranzprüfung mit 35%iger Phosphorsäure überstanden beide Adhäsiv-Apatitpasten weitestgehend unbeschadet. Erst in hohen Vergrößerungen zeigten die REM-Aufnahmen einzelne Kristallitauswaschungen. Mikrohärtemessungen, die ausschließlich mit Clearfil-Apatitpasten durchgeführt wurden, ergaben nur ungefähr 10% der Mikrohärtewerte einer polierten Schmelzoberfläche. Die Mikrohärtewerte konnten weder durch eine Erhöhung der Apatitpulvermenge, noch durch eine Veränderung der Apatitpulver-Mischungen verbessert werden. Als dritte Materialprüfung wurden Prüfkörper beider Adhäsiv-Apatitpasten einem Thermocycling-Verfahren unterzogen. In Abhängigkeit von dem verwendeten Apatitpulver offenbarten die Clearfil-Apatitpasten sehr unterschiedliche Ergebnisse. Die mit Clearfil-FAP1- und Clearfil-HAP1-Pasten behandelten Prüfkörper überstanden das Thermocycling relativ unbeschadet. Sowohl der Verbund Adhäsivpaste-Schmelz, als auch der Verbund in der Adhäsiv-Apatitpaste blieben vollständig erhalten. Mischungen von Apatitpulvern mit dem Adhäsiv Clearfil Tri S Bond Plus wiesen dagegen auf den BSE-REM-Aufnahmen ausgeprägte vertikale Risse in den Pastenauflagen auf. Der horizontale Verbund der Pastenauflage zum Schmelz blieb auch hier vollständig erhalten. Zum Vergleich wurden einzelne mit Resulcin-Apatitpaste behandelte Prüfkörper einer künstlichen Alterung unterzogen. Auch hier blieb der Verbund Pastenauflage-Schmelz völlig unbeschadet, es traten einzelne vertikale Risse im Primer-Apatitgemisch auf.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass das in dieser Studie vorgestellte neuartige Verfahren der einfachen Schmelzregeneration mit Adhäsiv-Apatitmaterialien, besonders mit dem Self-Etch Adhäsiv Clearfil Tri S Bond Plus, hervorragend funktioniert. Die Clearfil-Apatitpasten bilden Schichten mit einer großen mikro-morphologischen Ähnlichkeit zum natürlichen Schmelz, die die Schmelzmikrodefekte vollständig ausfüllen. Die Apatite verbleiben als anorganische Füllkörper eingebettet in die Matrix „Adhäsiv“ und bilden einen engen physikalisch-chemischen Verbund sowohl zum Adhäsiv als auch zur Schmelzoberfläche. Der Verbund der Adhäsiv-Apatitpasten zum natürlichen Zahnschmelz hält, bis auf wenige kohäsive Risse in den aufgelagerten Schichten, dem Thermocycling-Verfahren stand. Die polymerisierte Oberfläche zeigt sich säureresistenter als die ursprüngliche Schmelzoberfläche. Im Hinblick auf die Mikrohärte müssen die Adhäsiv-Apatitpasten noch verbessert werden.

1.2 Summary

In amelogenesis, the process of natural dental enamel formation, matrix proteins secreted by ameloblasts form a three-dimensional framework. This organic enamel matrix ensures the ordered crystallization of the hydroxylapatite crystals. Under the effect of proteases the enamel matrix proteins are degraded to smaller fragments and re-absorbed by the ameloblasts. After its formation, mature dental enamel does not undergo any cellular repair mechanism, but acellular nanotechnical procedures for simple enamel regeneration have been described in the literature. The regeneration pastes consisting of H₂O₂ (35%), H₃PO₄ (85%) and pulverized fluoridated hydroxylapatite (HAP) [Yamagishi *et al.*, 2005] or of 17% phosphoric acid and fluoroapatite nanoparticles [Wang *et al.*, 2009, Wang *et al.*, 2012], produce 20-30 µm enamel-like layers with prism-like microstructures oriented in parallel to each other [Yamagishi *et al.*, 2005, Wang *et al.*, 2009, Wang *et al.*, 2012]. The present *in vitro* study intends to verify and possibly modify, enamel regeneration on the basis of apatite-containing pastes. For this purpose, two experimental series were run with enamel test specimens from fully matured, caries-free, extracted human premolars and molars.

In a first series of experiments with 16 enamel specimens, the natural enamel surfaces remained untreated. Artificial enamel microdefects were produced by demineralizing the enamel surfaces with 35% orthophosphoric acid. Enamel regeneration was obtained with various apatite pastes of hydroxylapatite (HAP1) and fluoroapatite (FAP1) using different pH values (pH 1 and pH 7) and times of application (15 and 30 minutes). Then the test specimens were rinsed with purified water from a spray bottle until it was apparent that excesses of the apatite pastes were fully washed off. In a second series of tests with 8 enamel specimens, the enamel surface was pretreated by removing the aprismatic enamel layer. This pretreatment was followed by demineralization with orthophosphoric acid and regeneration with hydroxalapatite or fluoroapatite at pH 1 and pH 7 in 30-minute cycles. At the end of the exposure time, the apatite pastes were sprayed off with the air/water spray of the dental multifunctional syringe using maximum pressure and maximum water supply. The micromorphological to nanomorphological surface pattern of the enamel specimens was examined under the scanning electron microscope (SEM). The test series with simple apatite pastes run in the present study did not produce any structures on the enamel surfaces that could be interpreted as enamel regeneration. The morphological changes in structure obtained by the treatment of the polished and/or unpolished enamel surfaces did not result in organized, crystalline enamel-like structures, as described in the literature, but showed instead

disordered layers of precipitates. With both types of apatite material (HAP1 and FAP1) and also at both pH values (pH 1 and pH 7), we found thickly packed deposits, the composition of which was confirmed by EDX analyses as apatite. Contrary to the HAP1 test specimens, the bond of the FAP1 test specimens to the enamel surface had no identifiable interface in any of the specimens. The results of the second test series, i.e. the complete lack of apatite precipitates on the enamel after treatment with the multifunctional syringe, put in critically question not only the results of the first series of tests but also the results of previous studies. Thus, enamel regeneration by means of purely inorganic nanomaterials, described in the literature, could not be verified.

In the second part of our study we therefore took a new approach. The apatite powders were combined with two different self-etch adhesives (Clearfil Tri S Bond and Resulcin AquaPrime+MonoBond) in order to improve the adhesion of the apatite to the enamel surface. The adhesive apatite pastes made of the two self-etch adhesives and hydroxylapatite or fluoroapatite powders (HAP1/HAP2 and FAP1/FAP2), and were each applied to the enamel surfaces according to fixed application protocols. In this process, the amounts of the apatite powders, the mixtures of the apatite powders as well as the pretreatment of the enamel surface varied and, for some selected test specimens, the surface was not demineralized before the adhesive apatite paste was applied. Under the SEM, all specimens that were treated with Clearfil Tri S Bond Plus apatite paste showed an enamel-like layer with a gap-free bond to the enamel surface. Especially the adhesive HAP1 pastes demonstrated an intimate interlocking to the enamel surface on the SEM images. The results of the apatite powders combined with Resulcin AquaPrime+MonoBond, however, showed extensive gap formation between the adhesive apatite pastes and the enamel surface. Only when the application protocol was varied, i.e. omitting the Aqua conservans, the bond to the enamel could be markedly improved. Selected test specimens from both adhesive test series were subjected to various physico-chemical tests. Both adhesive apatite pastes passed the acid tolerance test with 35% phosphoric acid more or less undamaged. Only under high magnification, the SEM images revealed isolated crystallite erosions. Microhardness measurements which were only made with Clearfil apatite pastes demonstrated just about 10% of the microhardness of a polished enamel surface. Neither increasing the apatite powder amount nor changing the apatite powder mixtures resulted in better microhardness values. In the third type of material testing, the specimens of both adhesive apatite pastes were subjected to thermocycling. Depending on the apatite powder used, the Clearfil apatite pastes showed highly differing results. The

specimens treated with Clearfil FAP1 and Clearfil HAP1 pastes passed the thermocycling test more or less uncompromised. Both, the adhesive paste-to-enamel bond and the bond within the adhesive apatite paste, remained fully intact. Mixtures of apatite powders with the adhesive Clearfil Tri S Bond Plus, however, showed clearly visible vertical cracks in the paste layers on the SEM images. The paste layer-to-enamel bond remained fully intact also in this case. For comparison, some test specimens treated with Resulcin apatite paste were subjected to artificial ageing. Here again the paste layer-to-enamel bond remained fully intact with some isolated vertical cracks in the primer-apatite mixture.

In summary, it can be stated that the new procedure of simple enamel regeneration presented in our study, using adhesive apatite materials, especially self-etch Clearfil Tri S Bond Plus, works perfectly well. The Clearfil apatite pastes are forming layers of great micromorphological similarity to natural dental enamel and will completely fill the enamel microdefects. As inorganic filling material, the apatites remain embedded in the "adhesive" matrix forming a close physico-chemical bond to both the adhesive and the enamel surface. Apart from a few cohesive cracks in the deposited layers, the bond of the adhesive apatite pastes to the natural enamel passed the thermocycling test. The polymerized surface shows itself more acid resistant than the original enamel surface. With regard to microhardness the adhesive pastes still have to be improved.

2 Einleitung

Karies ist auch heutzutage weiterhin eine der am weitesten verbreiteten Krankheiten des Menschen [Bagramian *et al.*, 2009]. Die Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV) gibt einen Überblick über die Entwicklung der Mundgesundheit während der letzten Dekade [Micheelis *et al.*, 2006]. Sie zeigt auf, dass die Zahngesundheit der Deutschen dank erfolgreicher Prävention und guter zahnärztlicher Versorgung immer besser geworden ist. Die Studie verzeichnet einen Kariesrückgang in allen Altersgruppen. Im Vergleich zur DMS III aus dem Jahr 1997 war bei Kindern ein deutlicher Rückgang der Karieserfahrung um 58% zu registrieren. 12-jährige haben heute im Durchschnitt nur noch einen Kariesindex (DMFT) von 0,7. 1997 lag der DMFT-Wert noch bei 1,7. Als Ursache für den deutlichen Kariesrückgang hat die DMS IV regelmäßige Zahnarztbesuche und eine Ausweitung der Fissurenversiegelung im Rahmen der zahnärztlichen Individualprophylaxe identifiziert. Bei den Erwachsenen fiel der Kariesindex von 16,1 im Jahr 1997 auf 14,5 im Jahr 2005 [Micheelis *et al.*, 2006]. Die Kariesprophylaxe wurde im Laufe der letzten 20 Jahre im System der vertragszahnärztlichen Versorgung Deutschlands nach und nach immer weiter ausgebaut [Kettler und Splieth, 2013]. Nach den Richtlinien des Bundesausschusses der Zahnärzte und Krankenkassen vom 04.Juni 2003 beschränken sich die individualprophylaktischen Leistungen der GKV (Gesetzliche Krankenversicherung) auf Versicherte, die das sechste, aber noch nicht das 18. Lebensjahr vollendet haben. Präventive Maßnahmen beim Erwachsenen finden im GKV Bereich praktisch nicht statt. Im KZBV (Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung) Jahrbuch 2013 wird die Aufteilung der Ausgaben für die zahnärztliche Behandlung 2012 dargelegt. 4% der Ausgaben entfallen auf die Individualprophylaxe. 55% der Ausgaben werden für die konservierend-chirurgischen Leistungen aufgewandt. Ein ungleich größerer Aufwand entfällt also darauf, kavitierte Karies traditionell restaurativ zu therapieren. Doch auch in der Kariologie verlagert sich der Schwerpunkt von der invasiven Versorgung, der Restauration, hin zu Prävention und Kontrolle der Karies. Das aktuelle Wissen über die Ätiologie der Karies hat sich durch die Analytik von Nukleinsäuren, wie die Untersuchung des genetischen Faktors bei der Kariesempfindlichkeit, erweitert. Aber auch die genetische Erzeugung von Substitutionsbakterien, die keine Karies hervorrufen können, bietet Lösungen zu Verhinderung der Säurebildung in der Plaque. Ebenso zählt zu diesen zukunftsweisenden Ansätzen die Nutzung der Nanotechnologie zur Herstellung synthetischen Zahnschmelzes. Die Nanotechnologie könnte eine Alternative zur Kariesrestauration bieten. Prinzipiell bieten alle ätiologischen Faktoren der Karies Ansatzpunkte für therapeutische Interventionen [Clarkson und Czajka-Jakubowska, 2012].

Idealerweise beginnt die Kariestherapie primär mit non-invasiven Maßnahmen, die mit keiner Dezimierung der Zahnhartsubstanz einhergehen, sondern direkt an den kausalen Faktoren angreifen. Hierzu zählen Maßnahmen zur Beeinflussung des Biofilms, der Ernährung sowie der Mineralisation [Paris *et al.*, 2012]. In der non-invasiven Therapie spielen Fluoride bereits heute eine herausragende Rolle. Fluoride bewirken eine Hemmung der Demineralisation (Bildung von fluoridiertem Hydroxylapatit) und die Förderung der Remineralisation (Bildung eines Kalziumfluoridreservoirs) von Zahnhartsubstanzen [Shellis, 2012]. Schreiten die Demineralisationsprozesse unbehandelt voran, entstehen Mikroporen an der Zahnschmelzoberfläche. Das erste klinische Anzeichen ist die sogenannte Initialkaries oder „White-Spot-Läsion“. Sie wird sichtbar, wenn die Schmelzoberfläche von Plaque befreit und einige Sekunden mit Druckluft getrocknet wird. Histologisch kann sich die Initialkaries bis zu mehreren hundert Mikrometern tief in den Schmelz ausbreiten. Der Kariesprozess setzt sich fort, solange die Mikroumgebung an der Zahnoberfläche ihre Kariogenität nicht ändert. Wenn ein Patient in der Lage ist, die Mikroumgebung an der Zahnoberfläche wesentlich zu verbessern, bestehen gute Chancen, dass der Kariesprozess angehalten wird. In der täglichen Praxis finden sich viele Beispiele für die sogenannte arretierte Karies. Über das Arretieren der Läsion hinaus, wäre jedoch eine vollständige Remineralisation wünschenswert. Die vollständige Remineralisation scheint aber nur für sehr flache, nur wenige Mikrometer tiefe, künstlich erzeugte kariöse Zahnschmelzläsionen möglich zu sein [Buchalla, 2012]. Als Therapie stehen demnach nur sogenannte mikro-invasive Maßnahmen zur Verfügung. Hierzu zählen die therapeutische Versiegelung von kariösen Läsionen sowie die Kariesinfiltration. Bei der therapeutischen Versiegelung wird die Schmelzoberfläche in der Regel mit einem Kunststoff bedeckt [Egge-rtsson, 2012]. Das Prinzip der Kariesinfiltration beruht auf der Penetration eines niedrigviskosen Kunststoffs (Infiltrant) in den Läsionskörper einer Karies. Nach Aushärtung verschließt der Infiltrant die Läsionsporen und stellt somit eine Diffusionsbarriere für Säuren und niedermolekulare Kohlenhydrate dar [Meyer-Lückel und Paris, 2012].

Jüngste experimentelle Studien deuten darauf hin, dass die Nanotechnologie gegenüber der konventionellen Behandlung neue präventive Strategien bereitstellen könnte, speziell für die Remineralisierung der initialen Karies [Hannig M und Hannig C, 2010]. Die Nanotechnologie hat zwei Aspekte angeregt: Erstens die Nanostrukturen des menschlichen Schmelzes nachzuahmen und zweitens biomimetische Strategien zu entwickeln, die letztendlich zur Schmelzregeneration führen sollen.

Im ausgereiften humanen Schmelz stehen für den Fall einer Beschädigung der Schmelzoberfläche keine Zellen für eine Reparatur zur Verfügung. Die Zielsetzung einer biomimetischen Schmelzregeneration sollte daher nicht nur die Synthese von Hydroxylapatit-Kristalliten sein, sondern vielmehr der weitaus kompliziertere Schritt, die Nachahmung der hoch organisierten dreidimensionalen Nano- und Mikroarchitektur des Zahnschmelzes. Denn nur die Entwicklung synthetischer organisierter, schmelzähnlicher Hydroxylapatit-Kristallite im engen Verbund mit der zerstörten natürlichen Schmelzoberfläche bestimmt die außergewöhnlichen mechanischen Eigenschaften und auch die chemische Stabilität des Schmelzes [Yin *et al.*, 2009]. Die vorliegenden *In-vitro*-Studien zur azellulären Schmelzformation und Schmelzregeneration bedienen sich der unterschiedlichsten Strategien. Ein großer Anteil der Publikationen widmet sich der rein anorganischen Synthese von biomimetischen Hydroxylapatitnanopartikeln oder Fluorapatitnanopartikeln [Li *et al.*, 2008; Onuma *et al.*, 2005; Roveri *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2009; Willigeroth *et al.*, 2002; Yamagishi *et al.*, 2005; Zimehl *et al.*, 2004], zum größten Anteil appliziert als Paste. Die jüngsten Studien ahmen die selbstorganisierte Biomineralisation unter Zuhilfenahme von unterschiedlichsten Additiven nach: Glutaminsäure [Li *et al.*, 2011], rekombinantes Amelogenin [Fan *et al.*, 2009], Peptide [Hsu *et al.*, 2011; Chung *et al.*, 2012; Chung und Cheng, 2013; Chung und Huang, 2013], Dendri-mere [Chen *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2013], Surfactants [Zhang *et al.*, 2010; Willigeroth *et al.*, 2002; Zimehl *et al.*, 2004], HEDTA [Yin *et al.*, 2009], EDTA [Xie *et al.*, 2011] oder Gelatine [Busch *et al.*, 2003; Busch, 2004].

2.1 Zahnschmelz

Zahnschmelz wird von den Ameloblasten mit Hilfe der Schmelzmatrix gebildet, die mineralisiert und ausreift [Hellwig *et al.*, 2013]. Die während der Mineralisation stattfindende Kristallisation von Kalzium-Phosphat-Verbindungen, das anschließende Wachstum und die Verdichtung der Schmelzkristallite, sowie die sich ständig verändernde Zusammensetzung der Schmelzmatrix, werden als präeruptive Schmelzreifung bezeichnet [Radlanski, 2011]. Die dabei verbleibenden Mikroporositäten zwischen den Kristallen und die Ionendefekte in ihren Gitterstrukturen werden in der Phase der posteruptiven Schmelzreifung ausgeglichen. Dabei kommt es zur Aufnahme von Mineralien aus dem umgebenden Milieu (Speichel, Nahrungsmittel). Die Hauptbestandteile des Schmelzes sind Kalzium, Phosphor, Karbonat, Magnesium und Natrium. Kalzium und Phosphor liegen als Apatitverbindung vor. Die Apatitkristallite des Schmelzes sind im Querschnitt annähernd hexagonal und stellen sich in der Seitenansicht als kleine Stäbchen dar. Viele 1000 Schmelzkristallite liegen im Querschnitt zusammengefügt und bilden die sogenannten Schmelzprismen, die sich von der Schmelz-Dentin-Grenze bis fast zur Schmelzoberfläche erstrecken. Ausgereifter Zahnschmelz ist die härteste Substanz des menschlichen Körpers und unterliegt nach seiner Bildung keinem zellulären Reparaturmechanismus [Hellwig *et al.*, 2013].

Ameloblasten

Der Zahnschmelz ist ektodermalen Ursprungs. Die den Zahnschmelz bildenden Ameloblasten entstehen durch Differenzierung aus den Zellen des inneren Schmelzepithels. Die Schmelzbildung beginnt im Bereich der späteren Inzisalkanten bzw. der Höckerspitzen an der Schmelz-Dentin-Grenze und startet mit Hilfe der Präameloblasten durch reziproke Induktion [Ten Cate, 1998]. Die Präameloblasten initiieren bei den Odontoblasten die Ablagerung einer ersten Dentinschicht und beginnen darauf selbst mit der sekretorischen Phase. Die zelluläre Struktur der Ameloblasten reflektiert deren unterschiedliche Aufgaben, wie Matrixproduktion, Rückresorption und Mineralisation. Der reife sezernierende Ameloblast zeichnet sich durch einen Tomes-Fortsatz aus [Tomes, 1856] (Abb. 2.1), der die Fähigkeit besitzt, Matrix gleichzeitig zu sezernieren und zu resorbieren [Sasaki, 1984]. Der Fortsatz gleicht einer schräg abgeschnittenen Säule mit zwei verschieden strukturierten Oberflächen. Die Fläche mit vielen Membraneinstülpungen sezerniert Matrix, die glatte Oberfläche nicht [Wakita *et al.*, 1983]. Durch dieses Aussehen wird die Prismenstruktur des Zahnschmelzes hervorgerufen [Radlanski, 2011].

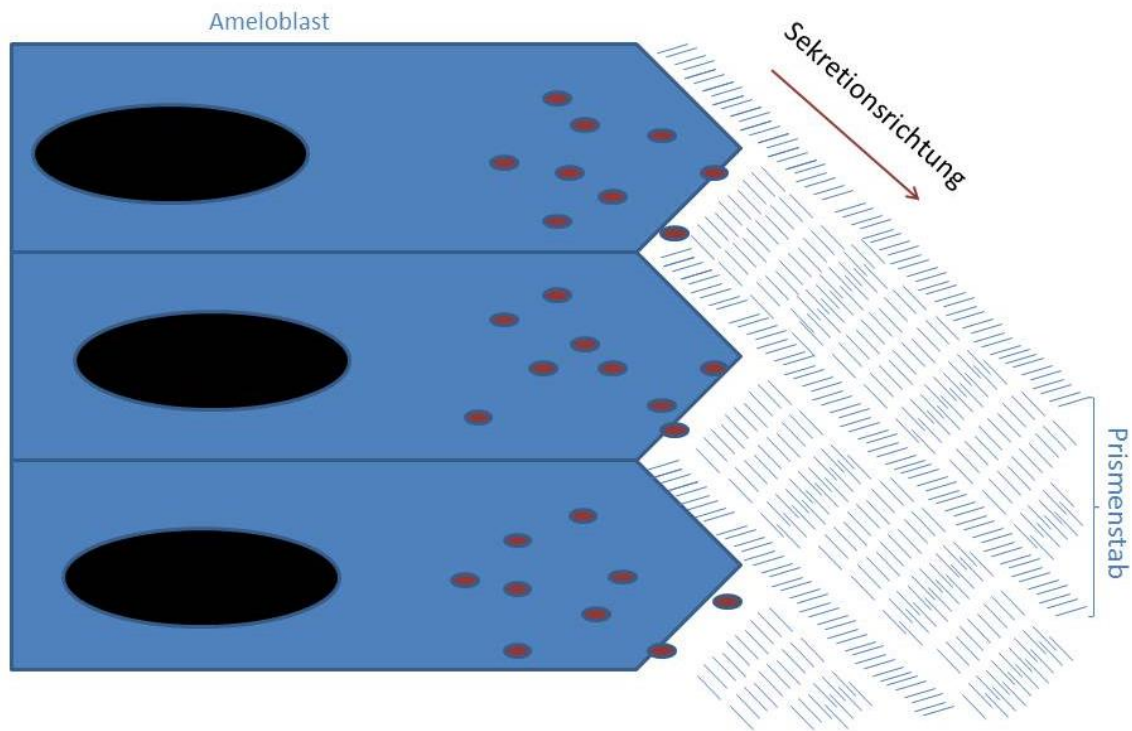


Abb. 2.1 Schematische Darstellung der Kristallitablagerung und Prismenbildung. Die Hydroxylapatitkristallite stehen senkrecht zur Sekretionsfläche der Ameloblasten. An den Gleitflächen stehen sie schräg und machen die Prismengrenzen unterscheidbar. Die Bewegung der Ameloblasten und die Sekretion der Schmelzmatrix erfolgen nicht gleichförmig (modifiziert nach Radlanski, 2011).

Pro Jahr legen die menschlichen Ameloblasten etwa 1 mm zurück, was einer täglichen Schmelzbildungsrate von etwa 3–4 μm entspricht [Radlanski, 2011].

Schmelzmatrix

Die zu Beginn der Schmelzbildung von den Ameloblasten produzierte und sezernierte organische Schmelzmatrix besteht vor allem aus Proteinen und Enzymen (Proteasen), welche die Proteine wieder abbauen [Hu *et al.*, 2005]. Die wichtigsten Schmelzmatrixproteine werden in zwei Gruppen unterschieden: die Amelogenine und die Nicht-Amelogenine [Hu *et al.*, 2007]. Die Amelogenine machen in der jungen Schmelzmatrix einen Anteil von 80–90% aus. Sie bestehen aus 175 Aminosäuren [Moradian-Oldak, 2001], sind generell hydrophobe Proteine, nur eine kurze Sequenz von Aminosäuren am C-Terminus ist eher hydrophil. Bei der Schmelzbildung sind vor allem die Amelogenine in voller Länge bei der Bildung der dreidimensionalen Matrixstruktur und der Kristallbildung von Bedeutung. Sie haben die Fähigkeit, sich in Lösung zu molekularen Suprastrukturen von etwa 20 nm Durchmessern zusammenzu-

finden, den Nanosphären [Habelitz *et al.*, 2006] (Abb. 2.2). Die Nanosphären spielen bei der Bildung der Kristallite und deren Stabilisierung eine wichtige Rolle.

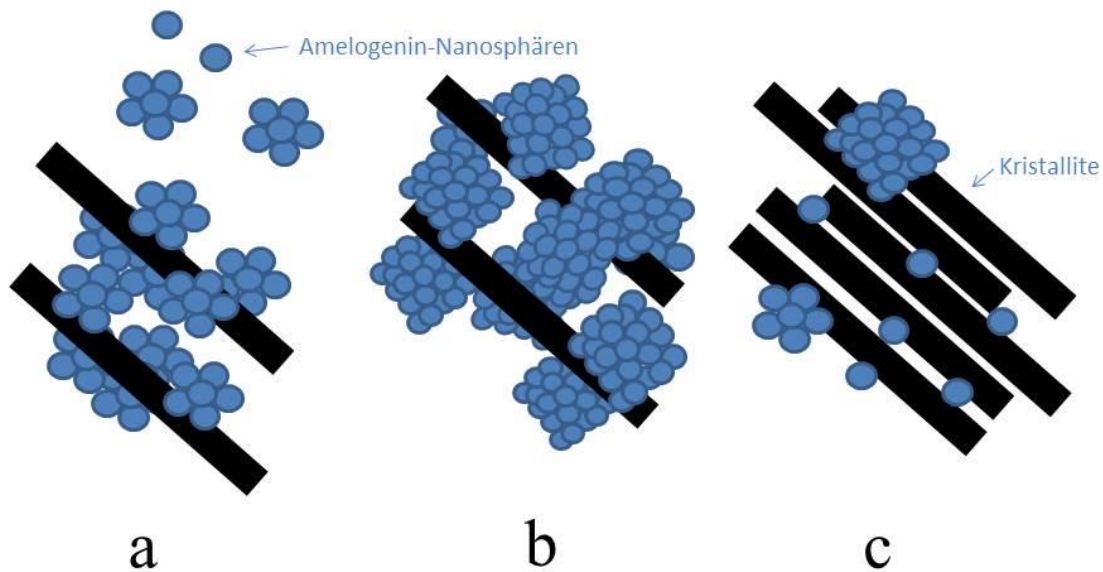


Abb. 2.2 Die Rolle der Schmelzmatrix bei der Kristallitbildung. a: Anionische Nanosphären aus 20 nm Amelogeninen bilden das Grundgerüst, entlang der c-Achse binden sie elektrostatisch die ersten Kristallkeime. b: Unter der Einwirkung von Enamelysin bilden sich hydrophobe Nanosphären, die die Matrix kurzfristig stabilisieren. c: Mit zunehmender Resorption der Schmelzmatrix wachsen die Kristallite. Der frei gewordene Raum ermöglicht den jungen Kristalliten Breitenwachstum, bis sie sich berühren (modifiziert nach Radlanski, 2011).

Der hydrophile C-Terminus der Amelogenine scheint zur Herstellung des Kontaktes zum Mineral wichtig zu sein, denn die Entstehung der Amelogenesis imperfecta steht mit dem Fehlen dieses Teils in Zusammenhang [Moradian-Oldak *et al.*, 2002]. Die anderen Schmelzmatrixproteine kommen in geringerer Menge vor: Tuftelin, Sheatlin und Enamelin. Tuftelin spielt offenbar eine steuernde Rolle beim Start der Schmelzbildung, es wurde nur in der Nähe der Schmelz-Dentin-Grenze gefunden [Deutsch *et al.*, 1995]. Enamelin findet man besonders im Bereich der Prismenscheiden. Als größtes Schmelzmatrixprotein spielt es wahrscheinlich eine Rolle bei der Bildung der Hydroxylapatitkristallite [Deutsch *et al.*, 1995]. Die Bildung von Zahnschmelz ohne die Schmelzmatrix ist unmöglich, auch wenn im reifen Zahnschmelz kaum noch organische Anteile gefunden werden [Radlanski, 2011]. Die Eigenschaft der Amelogenine, sich zu Nanosphären zusammenzufügen, gibt der Matrix eine Struktur [Deutsch *et al.*, 1995], die wiederum den Kristalliten Form und Anordnung ermöglicht [Fincham *et al.*, 1994]. Amelogenin, in Vesikelpartionen sezerniert, fügt sich zu Nanosphären mit einem Durchmesser von ca. 20 nm zusammen, die hydrophilen Carboxylenden liegen an den Außenseiten

[Radlanski, 2011]. Alle Nanosphären gruppieren sich so, dass in deren Zentren die Bildung von Mineral-Matrixkomplexen beginnt (Kristallisationskeim) [Robinson *et al.*, 2006]. Die anionischen Nanosphären geben die Richtung und die Form der ersten Kristallite vor und fungieren außerdem als Platzhalter zwischen den Kristalliten. Nachdem die Schmelzmatrixproteine ihre Aufgabe erfüllt haben, werden sie von proteolytischen Enzymen, die an der distalen Membran des Ameloblasten sezerniert werden, abgebaut. Unter der Einwirkung der Protease Enamelysin (Proteinase-1, MMP-20) verlieren die außenständigen Carboxylgruppen ihre anionischen Eigenschaften, was zu einer stabileren Schmelzmatrix führt [Radlanski, 2011]. Im nächsten Schritt spaltet eine Enamel-Serin-Protease (Proteinase-2, EMSP-1, KLK-4) [Simmer *et al.*, 2002] die Amelogenin-Nanosphären zu kleineren Fragmenten, die vom Ameloblasten resorbiert werden. Die Kristallite füllen den zwischen ihnen frei gewordenen Raum und wachsen jetzt auch in die Breite, bis sie sich berühren. Die Einlagerung von Mineralien in die Schmelzmatrix wird als präeruptive Schmelzreifung bezeichnet. Bei der Mineralisation wird Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) gebildet. Die Apatitstruktur ist ionisch, die in engem Kontakt zueinanderstehenden Kristallite werden durch elektrostatische Kräfte zusammengehalten [Schumacher *et al.*, 1990]. In dem Maß, wie die Matrix abgebaut wird, wachsen die Kristallite an Länge und Dicke. Im ausgereiften Zustand sind die Kristallite etwa 20–60 nm dick und 30–90 nm breit. Ihre Länge ist unbestimmt, sie können sich über sehr lange Distanzen von mehreren 100–1000 nm erstrecken [Boyde *et al.*, 1965].

Präeruptive Schmelzreifung

Die Prozesse während der präeruptiven Schmelzreifung beschreiben die Wandlung der initial mineralisierten Schmelzmatrix zum kristallinen Gefüge Schmelz. Diese Vorgänge beinhalten das Wachstum der Schmelzkristallite, die Verdichtung und Erhärtung des mineralisierten Gefüges, die selektive Änderung in der Zusammensetzung der Schmelzmatrix und den Verlust von Wasser sowie die mit diesen Vorgängen verbundene Aktivität im Schmelzorgan. Die präeruptive Schmelzreifung wird in vier Phasen eingeteilt. Alle Phasen beginnen inzisal oder im Bereich der Höckerspitzen [Radlanski, 2011].

Reifungsphase 1: Ameloblasten sezernieren eine homogene, leicht granuläre, noch nicht mineralisierte Matrix. Die initiale Mineralisation beginnt im Abstand von nur etwa 0,05–0,1 μm von der distalen Zellmembran des Ameloblasten. Die ersten Keime der Schmelzkristallite, die Nanosphären, sind von einem ovalen Matrixsaum umgeben [Habelitz *et al.*, 2006]. Die jungen

Kristallite sind etwa 1,5 nm dick, 30 nm breit und 80–120 nm lang [Rönholm, 1962]. Die Längsachse (c-Achse) ist senkrecht zur distalen Oberfläche des Ameloblasten ausgerichtet [Wakita *et al.*, 1983]. Der Wassergehalt beträgt 50% [Robinson, Briggs *et al.*, 1981].

Reifungsphase 2: Die Matrixproteine werden selektiv durch Gewebsflüssigkeit (Wasser) ersetzt [Robinson, Briggs *et al.*, 1981], der Mineralgehalt steigt an.

Reifungsphase 3: Fast die gesamte Matrix wird resorbiert, die Poren werden zunächst mit Gewebsflüssigkeit gefüllt. Der Schmelz ist hochgradig mineralisiert, aber noch porös [Deutsch *et al.*, 1982].

Reifungsphase 4: Die Poren werden geschlossen und maximal mineralisiert [Robinson, Briggs *et al.*, 1981].

Die Mineralisierung der Schmelzmatrix wird in drei Mineralisationsphasen und eine Endphase eingeteilt.

Primäre Mineralisation: Die primäre Mineralisation ist die initiale Phase und beschreibt die Bildung der Nanosphären und der ersten jungen Kristallite.

Sekundäre Mineralisation: Die Verdichtung des Mineralgehaltes verläuft in zwei Schüben [Suga, 1982]. Die erste Verdichtung beginnt an der Oberfläche des initial mineralisierten Schmelzes. Hat er seine endgültige Dicke erreicht, schreitet die Mineralisation zur Schmelz-Dentin-Grenze vor. Sobald die Front dieses Mineralisationsschubes die innerste Schmelzschicht erreicht hat, beginnt der zweite Schub.

Tertiäre Mineralisation: Im zweiten Schub kehrt sich die Mineralisationsrichtung um und bewegt sich Richtung Schmelzoberfläche.

Endphase: Erst in der Endphase wird der sehr hohe Mineralgehalt der oberflächlichsten Schmelzschicht erreicht. Der Wassergehalt beträgt nur noch 4 Gewichts-%. Die täglich durchschnittliche Schmelzbildungsrate von 4 µm Schmelz ist nicht konstant. Sie schwankt von weniger als 3 µm täglich in den ersten drei Monaten, bis zu mehr als 4 µm täglich nach 10 Monaten [Dean, 2000]. Auch ist die Schmelzbildungsrate an den verschiedenen Flächen der Zähne nicht konstant, sie variiert beträchtlich in Bezug auf Geschwindigkeit, Zeitfolge und Region [Radlanski, 2011].

Chemische und physikalische Parameter

Ausgereifter Zahnschmelz ist die härteste Substanz, die der menschliche Körper bilden kann. Er enthält zu 95 Gew.-% anorganische Mineralien, zu 4 Gew.-% Wasser und zu 1 Gew.-% eine organische Matrix. Der anorganische Anteil besteht vorwiegend aus Kalzium und Phosphor, mit geringen Anteilen von Natrium, Magnesium, Chlor und Kalium [Radlanski, 2011]. Insgesamt wurden bisher über 40 Spurenelemente nachgewiesen. Die Schmelzzusammensetzung ist an verschiedenen Stellen eines Zahnes unterschiedlich. Die Konzentration an Eisen, Zinn, Chlor und Kalzium nimmt von der Schmelzoberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze hin ab. Die Konzentration von Wasser, Carbonat, Magnesium und Natrium nimmt hingegen von der Schmelz-Zement-Grenze zur Schmelzoberfläche hin ab. [Hellwig *et al.*, 2013]. Das Element Fluor kommt regelmäßig, aber in sehr variablen Mengen im Zahnschmelz vor. Die höchste Konzentration findet sich stets in der oberflächlichsten, etwa 50 µm dicken Schmelzschicht, wo zwischen 300 und 1200 ppm und mehr Fluor gefunden wird. Die tieferen Schichten enthalten etwa 20-fach weniger Fluor. Kalzium und Phosphor liegen als Apatitverbindung $(\text{Ca}_{10-x}\text{PO}_{6-x}) \times \text{X}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ vor, das Kalzium-Phosphor-Verhältnis schwankt zwischen 1.8 und 2.4 [Radlanski, 2011]. Dabei handelt es sich nicht um stöchiometrische Verbindungen des Hydroxylapatits mit der Formel $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Durch ein Defizit von Kalzium-, Phosphat- und Hydroxylionen sowie das Vorhandensein von Carbonat und Hydrogenphosphat ist Schmelz aus nicht stöchiometrischen Apatitkristallen aufgebaut [Hellwig *et al.*, 2013]. Die Rolle des Carbonats zum Hydroxylapatit ist dabei noch ungeklärt. Die Hydroxylgruppe des Hydroxylapatit kann dagegen durch Fluorid- oder Chloridionen ersetzt werden. Die Mineraldichte schwankt außerordentlich, fällt aber im Allgemeinen von der Oberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze hin ab [Robinson, Weatherell, *et al.*, 1981]. Relativ hohe Mineraldichten finden sich in der Mitte des Schmelzmantels im Höckerbereich auf der Seite der Fissuren [Radlanski, 2011] und auch an den bukkalen und lingualen Zahnflächen [Hellwig *et al.*, 2013]. Wasser kommt im Zahnschmelz in zwei verschiedenen Formen vor [Hellwig *et al.*, 2013], der größere Anteil ist an die Apatitkristalle gebunden und nur etwa $\frac{1}{4}$ des Wassergehalts ist frei in der organischen Substanz verfügbar [Radlanski, 2011]. Die organische Matrix besteht im ausgereiften Schmelz aus ca. 58% Proteinen, ca. 40% Lipiden und Spuren von Kohlenhydraten, Zitrat und Laktat. Der größte Teil der organischen Matrix liegt im inneren Drittel des Schmelzmantels in Form von Schmelzbüscheln vor [Hellwig *et al.*, 2013]. Die Aminosäuren Zusammensetzung der Schmelzproteine im unreifen Schmelz, vorwiegend Amelogenine, unterscheidet sich deutlich von denen im reifen Schmelz, vorwiegend Enameline. Im unreifen Schmelz finden sich relative hohe Anteile von Glutaminsäure, Prolin und Histidin, im reifen

Schmelz mehr Anteile von Asparaginsäure, Serin und Glycin. Zu keiner Zeit enthält die Schmelzmatrix Kollagen [Radlanski, 2011].

Die Art der Schmelzentstehung und die Zusammensetzung des ausgereiften Schmelzes bestimmen seine physikalischen Eigenschaften. In bleibenden Zähnen reicht die Schichtdicke von wenigen Mikrometern am Zahnhals bis zu einem Maximum von etwa 3 mm im Bereich der Inzisalkanten und Höckerspitzen [Gillings *et al.*, 1961]. Der Zahnschmelz ist der härteste Bestandteil des menschlichen Körpers und auch der sprödeste [Radlanski, 2011]. Seine Härte liegt im Durchschnitt zwischen 250 KHN (Knoop-Hardness Numbers) an der Schmelz-Dentin-Grenze und 390 KHN an der Schmelzoberfläche [Hellwig *et al.*, 2013]. In begrenztem Umfang ist Zahnschmelz permeabel. Farbstoffe können von außen in den Schmelz eindringen, ebenso von der Pulpa her durch die Dentin-Schmelz-Grenze. Permeabilitätsstudien an 8 und 14 Jahre alten Kindern zeigten, dass der Schmelz post eruptiv deutlich an Porosität verliert und an Dichte zunimmt [Brudevold *et al.*, 1982]. Wasser und Alkohol können in relativ freiem Fluss den Schmelz durchströmen, er funktioniert im Sinne eines Molekularsiebes und Ionenaustauscher [Waters, 1971]. So können auch ohne zelluläre Anteile chemische Veränderungen stattfinden, die zur Aufrechterhaltung und zur Änderung der Schmelzzusammensetzung beitragen [Radlanski, 2011]. Die Löslichkeit des Hydroxylapatits (HAP) ist abhängig von seinen substituierten Ionen. Die Substitution mit Fluorid ergibt Fluorhydroxylapatit (FHAP), mit Carbonat Carbonathydroxylapatit (CHAP) und mit Magnesium Magnesiumhydroxylapatit (MHAP). Fluorapatit ist ein Kristall, in dem beinahe alle OH^- -Ionen in HAP durch Fluoridionen ersetzt wurden und das eine geringere Löslichkeit als HAP hat. Im menschlichen Zahnschmelz ist dies jedoch selten. Häufiger kommt es vor, dass die OH^- -Ionen nur teilweise durch Fluoridionen ersetzt werden und FHAP gebildet wird. Aber auch diese Kristalle haben eine geringere Löslichkeit als HAP. Diese chemischen Bedingungen haben einen großen Einfluss auf den Kariesprozess [Ekstrand und Zero, 2012].

Mikrostruktur

Da zwischen der Form des Tomes-Fortsatzes und der Anordnung der Kristallite ein Zusammenhang besteht, ging man historisch von einem Prisma mit einem idealen hexagonalen Querschnitt aus (Abb. 2.3) [Helmcke, 1960].

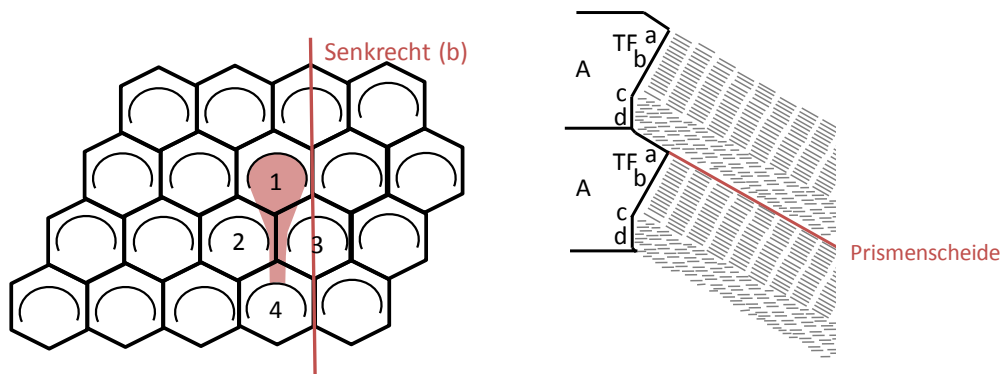


Abb. 2.3 Querschnittener hexagonaler Ameloblast (A) als Hypothese (modifiziert nach Radlanski, 2011)

Senkrechter Schnitt: Entlang der Tomes-Fortsätze (TF) unterscheidet man folgende Strukturen: eine nicht sezernierende Gleitzzone (a) und sekretorische Flächen, die dem Querschnitt des Prismenstabes (b), der gekrümmten Basis (c) und der freien eingezogenen Ameloblastenfläche (d) entsprechen.

1 – 4 Während ein Prismenstab immer von einem ihm zugeordneten Ameloblast produziert wird (1), beteiligen sich an der Formgebung des Bartbereichs des Prismas die benachbarten Ameloblasten mit ihren nicht sezernierenden Flächen (2-4).

Bei genauerer Analyse im Transmissions-Elektronenmikroskop (TEM) zeigen Prismenumrisse, in Abhängigkeit der Ebenen der Schliffpräparate, allerdings unterschiedliche Erscheinungsformen: eine runde (Typ I), hufeisenförmige (Typ II) oder schlüssellochartige (Typ III) Form, die im Verlauf des gleichen Prismas wechseln kann (Abb. 2.4) [Steiniger *et al.*, 2010].

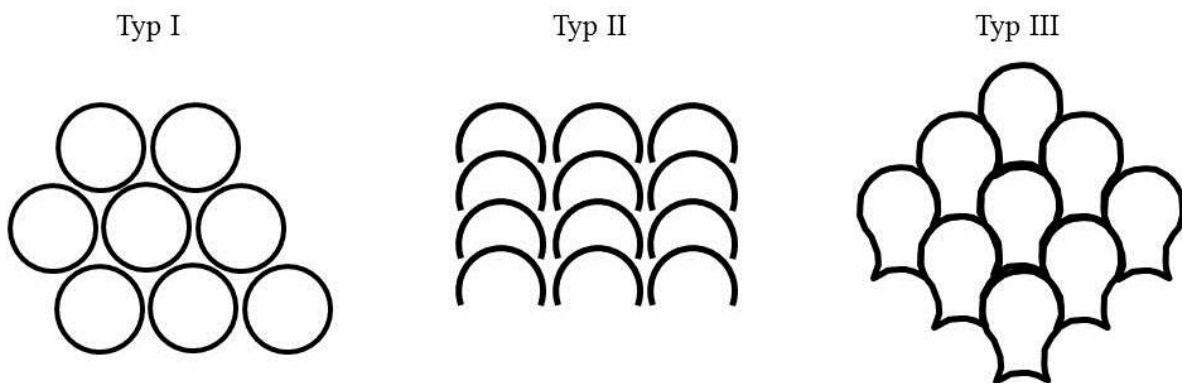


Abb. 2.4 Schmelzprismenformen (modifiziert nach Steiniger, 2011)

Neben allen Variationen der Prismenformen wird ein schlüssellochförmiger Umriss als typisch angesehen. Dabei wird der größte Anteil eines Prismas von einem Ameloblasten produziert, es beteiligen sich aber noch drei weitere nachbarschaftliche Ameloblasten an der Formgebung. Man bezeichnet den Hauptanteil des Prismas als Prismenkopf und den kleineren Teil, der seine Form durch die Lage zwischen drei weiteren Prismenköpfen erhält, als Prismenbart. Der Tomes-Fortsatz wächst zu einer schräg-diagonalen Säule an, die koronal in einer halbkreis- bis hufeisenförmigen Kante endet (Abb. 2.3c). Der zentrale Bereich des Tomes-Fortsatzes sezerniert den Hauptteil der Schmelzmatrix. Die Richtung der Kristallite ist stets senkrecht zur sezernierenden Zellmembran, nur im Randbereich weichen die Kristallite von der Hauptrichtung des Prismenstabes ab. Entlang der Grenzfläche zwischen den einzelnen Prismenstäben bleibt eine lange dünne Matrixschicht bestehen, die Prismenscheide. Sie macht im Wesentlichen den organischen Anteil von 1% im reifen Schmelz aus. Sowohl im Zahnhalsbereich als auch in der Kronenregion beträgt der mittlere Prismendurchmesser $5,5\text{ }\mu\text{m}$ mit Schwankungen von $1,5\text{ }\mu\text{m}$ [Radlanski, 2011]. Jedes Schmelzprisma verläuft ohne Unterbrechung von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Schmelzoberfläche [Radlanski, 2011]. Nur an der Zahnoberfläche und an der Schmelz-Dentin-Grenze gibt es eine schmale prismenfreie Zone [Steiniger *et al.*, 2010].

2.2 Literaturübersicht

Schmelzregeneration

Synthese von biomimetischen Nanopartikeln–anorganisch

Der einfachste Ansatz der biomimetischen Schmelzregeneration besteht in der nanotechnologischen Nachbildung der kleinsten Baueinheiten des natürlichen Zahnschmelzes, orientiert an Größe, Form und Zusammensetzung der humanen Schmelzkristallite [Hannig M und Hannig C, 2014]. In der Literatur ist bereits 2005 eine Paste zur schnellen Reparatur von frühen Schmelzläsionen beschrieben worden [Yamagishi *et al.*]. Die Bestandteile der rein anorganischen Paste sind eine wässrige Lösung aus 35%igem H_2O_2 und 85%iger H_3PO_4 und pulverisiertem fluoridiertem Hydroxylapatit (HAP). Auf die vorgeätzte Schmelzoberfläche wird für 15 min die stark saure Paste ($\text{pH} < 2$) appliziert und unter der Behandlung entsteht eine 20 μm dicke Schicht aus Fluorhydroxylapatit, die spaltfrei der Schmelzoberfläche aufliegt. Die neu gebildeten Fluorapatit-Kristallite (100–400 nm in der Länge und 20–80 nm im Durchmesser) stehen regulär orientiert zur natürlichen Schmelzoberfläche. Nicht nur die Größenverhältnisse der neu entstandenen Fluorapatit-Kristallite stimmen in ihrer Dimensionierung mit denen der humanen Schmelzkristallite überein. Die TEM-Analyse zeigt ein dreidimensionales Muster, das mit der bekannten Kristallgitterstruktur von natürlichem Hydroxylapatit übereinstimmt. Allerdings ist ein Kontakt der Paste zur Gingiva aufgrund der hohen Azidität und dem Gehalt an Wasserstoffperoxid nicht zulässig [Yamagishi *et al.*, 2005]. In einer geringfügigen Abwandlung dieser Methode stellten Wang *et al.* [2009] eine Paste ausschließlich aus 17%iger Phosphorsäure und Fluorapatit-Nanopartikeln her und erzeugten nach 15minütiger Behandlung der geätzten Schmelzflächen eine 30 μm starke Apatitschicht. Die neu gebildeten Mikrostrukturen bestehen aus Bündeln nano-skaliert stäbchen- und plättchenförmiger Kristallite und sind parallel zueinander und senkrecht zur Schmelzoberfläche angeordnet [Wang *et al.*, 2009]. Eine weiterführende Studie untersuchte den Effekt von verschiedenen pH-Werten auf die Reparatur von Schmelzerosionen durch Nano fluorapatitpasten. Die Paste bestand aus einer Kombination von 17%iger Phosphorsäure mit Nano fluorapatit-Partikeln (10 nm im Durchmesser und 40 nm Länge) und wurde unter Zusatz von Natronlauge bei drei verschiedenen pH-Werten getestet ($\text{pH} < 1$, $\text{pH} 4.5$, $\text{pH} 7.5$). Die REM-Analyse zeigte in allen drei Gruppen eine ca. 30 μm dicke Schicht, spaltfrei zur geätzten Schmelzoberfläche. Die Schichten werden aus parallel zueinander orientierten prismaartigen Mikrostrukturen gebildet, die wiederum aus Bündeln nadelartiger Nano fluorapatit-Kristallite bestehen. Das Einstellen eines neutralen pH-Wertes ($\text{pH} 7$) war effizient für die „schnelle Reparatur“ der frühen Karies, er-

leichtert somit die morphologische Rekonstruktion und verbessert signifikant die Vickershärte. Der ermittelte Wert von 304.9 HV entspricht fast der Vickershärte von natürlichem unbehandeltem Schmelz (350 HV) [Wang *et al.*, 2012]. Die Ergebnisse der Studien mit den Nano-fluorapatit-Phosphorsäure-Pasten scheinen vielversprechend für einen Einsatz *in vivo*, besonders aufgrund des neutralen pH-Wertes, der relativ simplen Vorgehensweise und einem überschaubaren zeitlichen Rahmen. Die Grundlage einer bemerkenswert einfachen Studie bilden die sogenannten „basic building blocks“, 20-40 nm große Hydroxylapatit-Nanopartikel aus humanem Schmelz [Li *et al.*, 2008]. Die mit 37%iger Phosphorsäure vorbehandelten Schmelzproben von menschlichen Molaren werden mit einer HAP-Suspension aus 20 nm Partikeln beträufelt. Die Ähnlichkeit der synthetischen 20 nm messenden Nanopartikel und den kleinsten Bausteinen des natürlichen Apatits resultiert in einer effektiven Adsorption an der geätzten Schmelzoberfläche. Eine Ultraschallbehandlung der 40-50 nm dicken Schicht erbrachte keinen Abtrag, und besonders auffällig ist die massive Reduktion der Säurelöslichkeit dieser neu gebildeten Schicht aus artifiziellen HAP-Nanopartikeln [Li *et al.*, 2008]. Die Untersuchungen von Li *et al.* zeigen, dass die Größeneffekte von essenzieller Bedeutung sind im Hinblick auf den Versuch der partiellen Schmelzregeneration mit biomimetischen Apatit-Nanopartikeln [Hannig M und Hannig C, 2014]. Einen weiteren Ansatz zu einer rein anorganischen Synthese zeigten Roveri *et al.* [2008] in der Herstellung von Zink-substituierten Carbonat-Apatit-Nanopartikelaggregaten. Eine auf CHA (Carbonat-Hydroxyapatit) basierende Paste wurde über einen Zeitraum von drei Wochen in regelmäßigen Intervallen in vorgeätzte Schmelzoberflächen eingebürstet. Die Schicht aus synthetischen CHA-Nanopartikeln war weniger kristallin als der humane Schmelz. Biomimetisch synthetisierte Apatitnanopartikel oder Fluorapatitnanopartikel zeigen eine hohe chemische Affinität zur natürlichen Schmelzoberfläche und können daher unter *In-vitro*-Bedingungen zur partiellen Auffüllung von erosiven Mikrodefekten an der Schmelzoberfläche eingesetzt werden. Die unorganisierte Abscheidung und Einlagerung individueller Apatitnanopartikel kann allerdings nur bedingt zur azellulären Schmelzregeneration beitragen [Hannig M und Hannig C, 2014].

Synthese von biomimetischen Nanopartikeln–Additive

- Amelogenin

Die Amelogenine machen den größten Anteil der organischen Matrix während der natürlichen Schmelzbildung aus. Die von ihnen gebildeten anionischen Nanosphären geben die Richtung und die Form der ersten Kristallite vor. Haben die Schmelzmatrixproteine ihre Aufgabe bei der Bildung und der Anordnung der Kristallite erfüllt, werden sie von den proteolytischen Enzymen abgebaut [Radlanski 2011]. Der Ansatz von Fan *et al.* [2009], die physiologische Wirkungsweise von Amelogenin in ein *In-vitro* Experiment einzubringen, stellt sich folgendermaßen dar. Die mit 3%iger Salpetersäure vorbehandelten humanen Schmelzpräparate werden für 2–3 h bei 37 °C und pH 7.6 in eine Kalzium-Phosphatlösung eingetaucht, der rekombinantes porzines Amelogenin und NaF zugesetzt wurden. Nach 12-16 h bewirkt Amelogenin die Abscheidung von nadelartigem, fluoridiertem HAP in orientierten Bündeln auf der Schmelzoberfläche. In allen bisher beschriebenen biomimetischen Verfahren wird unter Verwendung von Amelogenin die extrem hohe Packungsdichte der Kristallite im natürlichen Schmelz jedoch nicht erreicht [Hannig M und Hannig C, 2014]. Ein alternatives Modell zur Remineralisierung der Initialkaries stellen Fan *et al.* [2012] in einer Studie mit einem amelogenin-freisetzenden Hydrogel vor. Das Hydrogel aus Agarpuder enthält Zusätze von rekombinanten Amelogenin (rP172), Kalzium, Phosphaten und Fluorid. Demineralisierte humane Schmelzscheiben wurden in das Hydrogel eingetaucht, mit künstlichem Speichel bedeckt und für 36 h bei 37 °C inkubiert. Das Amelogenin fördert die Bildung von organisierten, stangenartigen Bündeln aus Hydroxylapatit. Gleichzeitig verbessert sich die Mikrohärtigkeit. Eine weitere Kombination eines amelogeninhaltigen Hydrogels, hier mit Chitosan, funktioniert über die supramolekularen Strukturen des Amelogenins, die Kalzium-Phosphat-Cluster stabilisieren und deren Ketten linear anordnen [Ruan *et al.*, 2013]. Das Amelogenin-Chitosan-Hydrogel wurde auf geätzte humane Schmelzoberflächen appliziert, bei Raumtemperatur getrocknet und anschließend bei 37 °C für 7 Tage in künstlichem Speichel gelagert. Die etwa 50 µm dicke, neu gewachsene Schicht besteht aus schmelzähnlich organisierte Kristallen, mit einem Durchmesser von 50 nm, nahezu parallel zueinander angeordnet und mit einer dichten Schnittstelle zur Schmelzoberfläche. Die mechanischen Eigenschaften, wie Elastizitätsmodul und Mikrohärtigkeit konnten deutlich verbessert werden.

- Aminosäuren

Amelogenin wird als das aktive Protein in der natürlichen Schmelzreifung beschrieben. Im unreifen Schmelz besteht das Amelogenin aus einem hohen Anteil an Glutaminsäure. So haben Li *et al.* [2011] die Experimente mit rein anorganischen 20 nm messenden HAP-Partikeln unter dem Zusatz von Glutaminsäure weitergeführt. Die auf der Schmelzoberfläche präadsorbierten HAP-Nanopartikel wurden mit einer glutaminsäurehaltigen Lösung behandelt. Nach 72 h verwandelten sich die 20 nm HAP-Partikel auf der Schmelzoberfläche in stäbchenartige Kristallite (40-50 nm im Durchmesser, 300-500 nm Länge). Die bevorzugte Orientierung der gebildeten Kristallite war identisch zu der Orientierung der natürlichen Schmelzkristalle. Analog zu Amelogenin nutzt die Glutaminsäure die beiden aktiven Carboxylatgruppen, um einerseits an die Schmelzoberfläche zu adsorbieren und andererseits an ein weiteres HAP zu binden. Glutaminsäure kann in einer Apatitformation zwei Calciumionen überbrücken und führt so zu einer selbstorganisierten Kristallisation entlang der c-Achse.

- Peptide

Die Gewinnung von Amelogenin ist aufwendig. So wird nach Substanzen gesucht, die eben solche Eigenschaften aufweisen und die Fähigkeit zur selbstorganisierten Ausbildung supra-molekularer Nanostrukturen besitzen [Hannig M und Hannig C, 2014]. Peptide werden aus Aminosäuren gebildet, je nach der Anzahl der Aminosäureeinheiten pro Molekül nennt man sie Dipeptid, Tripeptid usw. bis zu Polypeptiden [Morrison und Boyd, 1977]. Eine Reihe von Studien setzt als Additiv diese kleinen biomimetischen Moleküle ein. Chung *et al.* führten 2012 und 2013 drei Studien mit verschiedenen Peptiden durch. Die Versuche mit einer biokompatiblen 100 µmol NSS(Asparagin-Serin-Serin)-Lösung erzeugte nach 14 Tagen eine gleichmäßige Deposition von Apatit-Nanopartikeln, die erosiven Schmelzläsionen können damit jedoch nur partiell repariert werden. Die Nanohärte erreicht etwa 34% der Härte der nicht erodierten Schmelzoberfläche. Die Behandlung der vorbehandelten Schmelzoberfläche mit einer 3DSS(Aspartat-Serin-Serin)-Lösung führte zu einer Nanoapatitschicht, deren mechanische Eigenschaften 20% der von natürlichem Schmelz erreicht. Das von Hsu *et al.* [2011] entwickelte Achtfach-Oligomer 8DSS (Aspartat-Serin-Serin) bewirkt innerhalb von 24 h die Keimbildung von Calciumphosphat aus einer Mineralisationslösung (SBF = simulated body fluid). Nanohärte und Elastizitätsmodul weisen im Vergleich zu den ohne Peptid behandelten Prüfkörpern signifikant höhere Werte auf. Eine relativ aktuelle Studie [Li *et al.*, 2014]

berichtet von der Entwicklung eines neuartigen amphiphilen Oligopeptides (OPA), das die biomimetische Mineralisation auf humanen Schmelzscheiben fördert. REM- und TEM-Untersuchungen zeigten ein sich selbstorganisierendes Oligopeptid aus Nanofasern. Der vor-geätzte Zahnschmelz wurde bei 37 °C in einer Mineralisationslösung aus OPA und Kalziumphosphat inkubiert. Nach 24 h bildete sich auf der Schmelzoberfläche ein homogenes Präzipitat aus Hydroxylapatit-Kristallen, allerdings auch in der nicht oligopeptid-haltigen Lösung. Ebenso waren die gegenüber dem geätzten Zahnschmelz verbesserten Mikrohärtewerte der Prüfkörper mit Hydroxylapatit-Präzipitaten in Gegenwart des Oligopeptids ähnlich zu denen ohne Oligopeptid. Diverse Studien widmen sich den sogenannten Peptid-Scaffolds, die ein biomimetisches Gerüst für die Schmelzremineralisation mit Hydroxylapatit bereitstellen. Das sich selbst-organisierende P₁₁-4 Peptid erhöht, zusammen mit einer Remineralisationslösung, nach 5 Tagen signifikant die Mineralisation einer artifiziellen Kariesläsion. Dabei ist das P₁₁-4 Peptid sogar in der Lage, Kristallkeime zu bilden [Kirkham *et al.*, 2007]. In einer klinischen Studie mit 15 Probanden wurden „White-Spot“-Läsionen, nach einer Vorbehandlung mit einer Ätzlösung, einmalig mit einer P₁₁-4 Peptid-Lösung touchiert. Nach 30 Tagen hatte sich die Größe der Läsion signifikant verringert [Brunton *et al.*, 2013]. Kazuki *et al.* [2015] entwickelten ein zweistufiges Kristallwachstumsverfahren, basierend auf einer Monoschicht eines artifiziellen Peptids. In einem ersten Schritt bildete sich aus dem Peptid und einem fluoridhaltigen „simulated body fluid“ eine 15 µm dicke Basalschicht aus Hydroxylapatit-Mikrostangen (nach 24 h). Die in einem zweiten Schritt zugesetzte Asparaginsäure-haltige „simulated body fluid“ initiiert die Miniaturisierung des Hydroxylapatits in Nanostäbchen. Im Gegensatz zu den Schicht-Modellen ist die Anwendung von Schmelzmatrixproteinen zur biomimetischen Schmelzregeneration relativ simpel. In einer *In-vitro* Studie wird das Regenerationspotential zweier kommerziell erhältlicher Schmelzmatrixproteine, Emdogain und Curodont repair, und einer Aminfluoridlösung verglichen [Schmidlin *et al.*, 2015]. Curodont enthält das sich selbst organisierende artifizielle Peptid P₁₁-4 und wird in wässriger Lösung appliziert. Die Bestandteile des Emdogain, porcine Amelogenine, sind eine Fraktion von Schmelzmatrixproteinen, die zementbildend wirken [Wolf und Rateitschak, 2012]. Die gefriergetrockneten Proteinfractionen wurden in Essigsäure aufgelöst. Nach einer fünfminütigen Applikation auf geätzten Schmelzoberflächen erfolgten die vorsichtige Entfernung der Materialien und die Einlagerung der Schmelzscheiben für 21 Tage in künstlichem Speichel bei 37 °C. Da eine Entkalkung der Schmelzoberfläche zu einer „Erweichung“ führt, wurden die Resultate der Versuchsreihen allein an der Veränderung der Mikrohärtigkeit ermittelt. Für die beiden Schmelzmatrixproteine wurde ein signifikanter Anstieg der Mikrohärtigkeit beobachtet.

- Dendrimere

Die Bezeichnung Dendrimer ist von den griechischen Wörtern „dendron“ (Baum) und „meros“ (Teil) abgeleitet worden. Dendrimere oder Kaskadenmoleküle sind Makromoleküle mit hochverzweigten dreidimensionalen Strukturen. Im Zentrum des Moleküls befindet sich die Kerneinheit, von der aus mehrere Verzweigungseinheiten ausgehen. Das PAMAM(Polyamidoamin)-Dendrimer bildet einen intramolekularen Hohlraum, in den unter anderem organische Moleküle eingelagert werden können. Mit wachsender Anzahl der Generationen verändert sich die Form des Dendrimers, von der fünften bis zur zehnten Generation nimmt das Dendrimer eine kugelförmige Gestalt an [Friedhofen, 2006]. Demineralisierte Schmelzoberflächen sollen mit Hilfe einer biomimetischen Methode repariert werden. Dazu untersuchten Chen *et al.* [2013] den Effekt eines PAMAM-Dendrimers auf die Kristallisation von Hydroxylapatit. Mit 3%iger Salpetersäure geätzte Schmelzoberflächen werden zunächst für 30 min in eine carboxylierte PAMAM-Lösung eingetaucht und dann für 20 h unter nahezu physiologischen Bedingungen (37 °C, pH 7.0) in einer fluoridierten Calciumphosphatlösung inkubiert. Mit Hilfe des carboxylierten PAMAM-Templates bilden sich stäbchen-ähnliche Fluorhydroxylapatit-Nanokristallite, parallel zur Längsachse der humanen Schmelzoberfläche. In der Überlegung, die organische Matrix der natürlichen Schmelzbildung mit der Fähigkeit der Selbstorganisation nachzuahmen, synthetisierten Wu *et al.* [2013] ein ALN-PAMAM-COOH-Dendrimer. Diese Verbindung zeigt eine geringe Toxizität und eine spezifische Adsorption an die natürliche Schmelzoberfläche. Nach einer vierwöchigen Reifung in künstlichem Speichel bewirkt das Dendrimer die Remineralisierung in Form von HAP auf der mit 37%iger Phosphorsäure vorbehandelten Schmelzoberfläche. Die artifiziellen HAP-Kristallite bestehen aus parallelen Bündeln schmelzartiger Nanokristallitstäbchen. Die Mikrohärtete erreichte bemerkenswerte 95,5% der unbehandelten Schmelzoberfläche.

- Surfactant

Surfactants (von engl. surface active agent) sind grenzflächenaktive Substanzen, die die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit oder die Grenzflächenspannung zwischen zwei Phasen herabsetzen, z.B. Tenside oder Mizellen. Mizellen (von lat. mica = Klümpchen) sind Aggregate aus amphiphilen Molekülen, die sich in einem Dispersionsmedium spontan zusammenlagern. Dieser Vorgang wird Selbstaggregation genannt. Die inverse Mizelle agiert mit umgekehrter Orientierung, d.h. mit einem hydrophilen Zentrum und einer hydrophoben Peripherie.

In einem simplen hydrothermalen Verfahren zur Herstellung von geordneten schmelzähnlichen Hydroxylapatit-Nanopartikeln verwendeten Zhang *et al.* [2010] als oberflächenaktive Substanz die inverse Mizelle. Die TEM-Analyse zeigte einheitliche 10 µm große HAP-Nanostäbchen, die an der Längsachse parallel zueinander angeordnet sind.

- HEDTA, EDTA

EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure) und Hydroxy-EDTA sind Komplexbildner, die mit Kationen besonders stabile Chelatkomplexe bilden. Yin *et al.* [2009] verwendeten einen simplen chemischen Ansatz und erzeugten eine schmelzprismenähnliche Fluorapatitschicht direkt auf der Schmelzoberfläche. Die präparierten Schmelzscheiben von humanen Molaren wurden für 30 Sekunden mit 85%iger Phosphorsäure geätzt und anschließend in einer Calciumphosphat-Lösung unter Zusatz von HEDTA und KF über einen Zeitraum von 8 Tagen bei nahezu physiologischen Bedingungen (pH 6, 37 °C, 1 atm) aufbewahrt. Die REM-Analyse zeigte eine regenerierte Schicht aus prismenähnlichen Strukturen mit einem Querschnitt von 2-4 µm, arrangiert aus Bündeln einzelner Kristallite. Die stäbchenähnlichen Kristallite besitzen einen für Apatit typischen hexagonalen Querschnitt von etwa 300-400 nm. Die mechanischen Eigenschaften der neu regenerierten Fluorapatitschicht sind vergleichbar mit denen des natürlichen Schmelzes. Das Verfahren kann aufgrund seiner Einfachheit und seinen günstigen Reagenzien viele neue Anwendungen in der Klinik finden. Allerdings ist HEDTA nicht für den Verzehr geeignet, und die Lösung kann in dieser Form nicht in die Mundhöhle eingebracht werden. EDTA wird zur Chelatierung von Calciumionen und zur kontrollierten Keimbildung und Wachstum der HAP-Kristallite verwendet. Schon 1968 berichtete Simpson in einer Pionierarbeit über die Synthese von faserigem HAP, das er aus Calciumhydrogenphosphat (CaHPO_4) und EDTA gewinnt. Xie *et al.* [2011] synthetisierten aus EDTA, Calciumhydrogenphosphat und NaF erfolgreich eine Fluorapatitschicht mit einer hexagonalen Struktur auf der präparierten Schmelzoberfläche. Nach 8 Tagen in einer Mineralisationslösung bildete sich eine dichte Schicht aus typischem Apatit mit einem hexagonalen Querschnitt von 1–2 µm. Die neu gebildeten Kristallite waren parallel zueinander angeordnet und senkrecht zur Schmelzoberfläche orientiert. Diese geordnete Orientierung ist der „Schlüsselfaktor“ für die enge Integration an den natürlichen Schmelz. Nach einer Reaktionszeit von 5 Tagen war die Mikrohärtigkeit der neu regenerierten Schicht höher als die der natürlichen Zähne.

- Gelatine

Eine Gelatinematrix führt zum Wachstum hierarchisch geordneter kugelförmiger Aggregate aus Fluorapatit-Gelatine-Komposit [Busch, 2004]. In einem Vier-Schichtverfahren werden die mit 30%iger Phosphorsäure geätzten Schmelzproben nacheinander mit einer jeweils 2 mm dicken Schicht aus Phosphatgel (fluoridhaltig) und ionenfreier Gelatine bedeckt und zuletzt in einem abgeschlossenen Gefäß für 20-60 min bei 37 °C in einer neutralen Calciumchlorid-Lösung aufbewahrt. Die neu gebildeten Fluorapatitkristallite stehen im Wesentlichen parallel zueinander, sind aber mit einer Schichtdicke von etwa 5 µm noch nicht ausgereift, die Mikrohärtigkeit entspricht der von Dentin. Nach 10 Zyklen ähnelt die Schicht eher Schmelz. Nach 36 Zyklen zeigt die SEM-Analyse senkrecht zur Schmelzoberfläche angeordnete Kristallite, die Beschaffenheit und die Größe der Kristallite ähneln denen der Schmelzoberfläche. Im Gegensatz zum humanen Schmelz ist Kollagen (der Hauptbestandteil von Gelatine ist denaturiertes Kollagen) das Matrixprotein von Knochen, nicht von Schmelz. Diese Vier-Schichttechnik wurde von Guentsch *et al.* [2010] *In-vivo* mittels einer Schiene getestet. Nach einer Tragedauer von 8 h zeigen 77,3% der untersuchten Flächen eine homogenere Struktur. Die Applikationsdauer ist im Verhältnis zur 500 nm starken regenerierten Fluorapatitschicht aus klinischer Sicht kritisch zu betrachten [Hannig M und Hannig C, 2014]. Ein Vier-Schicht-Hydrogel Modell zur biomimetischen Mineralisation erzeugte eine schmelzähnliche Schicht mit prismatischen Strukturen [Cao *et al.*, 2013]. Das aus Agarosepulver, CaCl₂, dest. Wasser und NaF präparierte Hydrogel wurde auf vorgeätzte humane Schmelzscheiben appliziert und mit einem zweiten ionenfreien Hydrogel und einer Phosphatlösung bedeckt. Nach 2 Tagen bildete sich auf der Schmelzoberfläche eine Präzipitatschicht aus nicht besonders dicht gepackten, stäbchenartigen Kristalliten. Nach 6 Tagen Inkubation formten die hexagonalen, prismenartigen Strukturen eine homogene und dichte Schicht von etwa 3,5 µm. Die neu gebildete Präzipitatschicht führte zu einer deutlichen Verbesserung der mechanischen Eigenschaften (Elastizitätsmodul und Mikrohärtigkeit).

Adhäsive

Einleitung

Die restaurative Zahnheilkunde hat von den Anfängen der traditionellen makromechanischen Retentionstechniken einen faszinierenden Wandel hin zu minimal-invasiven Therapien mit Entwicklung der Adhäsivtechnik vollzogen. Den Grundstein der Adhäsion legte 1955 Buonocore, der unter Verwendung von Phosphorsäure „die Oberfläche der Zähne für eine bessere Haftung vorbereitete“. Schon 1956 beschreibt eine weitere Arbeit unter Verwendung dieser „Schmelz-Säureätztechnik“ den Verbund von mit Salzsäure geätztem Dentin und Glycerolphosphatdimethacrylat (GPDM) [Brudevold *et al.*, 1956]. Die frühen Dentinadhäsive konnten allerdings nie den Anforderungen für den klinischen Einsatz gerecht werden [Frankenberger *et al.*, 2013]. Die sogenannten Dentinhaftvermittler entwickelten sich weiter zu bifunktionalen Monomeren mit reaktiven Gruppen, die mit dem Calciumhydroxylapatit bzw. den organischen Kollagenbestandteilen des Dentins chemisch reagieren [Van Meerbeek *et al.*, 2006]. Das von Kuraray 1978 eingeführte Clearfil Bond System F basierte auf Phosphorestern von Methacrylatderivaten, um eine ionische Wechselwirkung mit Calcium zu erzielen [Eliades *et al.*, 1985]. Klinisch erwiesen sie sich jedoch bereits recht früh als Fehlschlag, da diese Adhäsive hauptsächlich an der schwachen Schmierschicht anhafteten [Van Meerbeek *et al.*, 2012]. Gemeinsam war diesen Adhäsiventwicklungen die fehlende Dentinkonditionierung [Van Meerbeek *et al.*, 2006]. Erste klinische Erfolge wurden erst Ende der 1980er Jahre nach Einführung von z.B. Gluma (Bayer Dental), Syntac (Ivoclar Vivadent) und A.R.T. Bond (Coltene) [Frankenberger *et al.*, 2013] unter Verwendung der selektiven Schmelzätzung dokumentiert [Krejci *et al.*, 1994]. In der Praxis ist ein selektives Ätzen der Schmelzränder oft nicht zu bewerkstelligen [Frankenberger *et al.*, 2013] und es wurde aus Japan ein Total-Etch-Ansatz eingeführt, um auch die Schmierschicht auf dem Dentin zu entfernen [Fusayama *et al.*, 1979]. Die Total-Etch-Technik konnte sich in Europa und Amerika wegen Bedenken einer Pulpaschädigung zuerst nicht durchsetzen [Van Meerbeek *et al.*, 2012]. Eine Studie aus dem Jahr 1992 konnte allerdings nachweisen, dass die Säure maximal etwa 30 µm in das Dentin eindringt und per se keine schädigende Wirkung auf das Dentin hat [Pashley, 1992]. Der Durchbruch der Adhäsivtechnik erfolgte Mitte der 1990er Jahre mit der Entwicklung der 3-Schritt-Adhäsive, die in Etch-and-Rinse-Technik (die heute korrekte Bezeichnung für die Total-Etch-Technik) verwendet werden [Van Meerbeek *et al.*, 2012]. Wesentlich ist die Vorbehandlung des Dentins mit Konditionierern und Primern [Van Meerbeek *et al.*, 2012]. Die Konditionierung des Dentins erfolgt hier mit schwachen organischen Säuren, wie z.B. Maleinsäure. Die

Schmierschicht wird modifiziert, das Kollagen und die Dentintubuli werden freigelegt und es findet eine hydrophile Infiltration statt. Der Dentinprimer enthält vor allem wasserlösliche Monomergemische und hat die Aufgabe, die hydrophile Dentinoberfläche mithilfe enthaltener amphiphiler Moleküle, wie z.B. PEGDMA (Polyethylenglycoldimethacrylat) oder HEMA (2-Hydroxyethylmethacrylat), für eine bessere Haftung vorzubereiten. Das im Anschluss applizierte und lichtgeärtete hydrophobe Bonding stellt den Verbund zum Komposit her [Frankenberger *et al.*, 2013]. Der Wunsch nach einer Vereinfachung der Vorgehensweise führte zu den One-Bottle-Adhäsiven, die in 2-Schritt Etch-and-Rinse-Technik verarbeitet werden. Primer und Bonding werden als zwei Komponenten, aber in nur einer Flasche, angeboten [Frankenberger *et al.*, 2000]. In der Literatur zeigen diese One-Bottle-Adhäsive durchweg schlechtere Ergebnisse im Vergleich zu den aufwendigeren Systemen [Frankenberger *et al.*, 2013]. Neben den Etch-and-Rinse Adhäsiven haben sich gegenwärtig auch die Self-Etch Adhäsive etabliert. In der Anwendung der Self-Etch Adhäsive entfällt der Schritt der separaten Ätzung. Die selbstkonditionierenden Dentinprimer enthalten dagegen funktionelle, saure Monomere, die die Zahnschmelz gleichzeitig konditionieren und primen, also die Penetration der Monomere in das Dentin gewährleisten [Van Meerbeek *et al.*, 2011]. Damit ist die Ätztiefe identisch mit der Infiltrationstiefe des Monomers [Miller, 2001] und ein Zusammenfallen des Kollagennetzwerkes wird umgangen [Frankenberger *et al.*, 2014]. Self-Etch Adhäsive existieren als 2-Schritt- und als 1-Schritt-Systeme. Beim 2-Schritt-System wird ein Self-Etch-Primer auf Schmelz und Dentin appliziert und getrocknet, bevor im zweiten Schritt das Adhäsiv aufgetragen und lichtgehärtet wird [Frankenberger *et al.*, 2014]. Die Trennung der Wirkstoffe in den 2-Schritt-Systemen führt zu einer längeren Haltbarkeit, macht aber eine zusätzliche Vermischung der Komponenten erforderlich. Die 1-Schritt-Self-Etch Adhäsive kombinieren als All-in-one Adhäsive alle Komponenten [Van Meerbeek *et al.*, 2011]. Sie enthalten eine ausgewogene Mischung von hydrophilen und hydrophoben Monomeren und sind so sauer, dass sie neben der Funktion des Adhäsivs gleichzeitig auch die des Ätzmittels und des Primers erfüllen [Frankenberger *et al.*, 2014]. Alle Self-Etch Adhäsive enthalten Wasser als ionisierendes Medium, das die Selbstätzung erst ermöglicht [Van Meerbeek *et al.*, 2011]. Nach den vorgeschriebenen Einwirkzeiten müssen das Wasser, aber auch Lösungsmittel, wie Aceton und Alkohol, verblasen werden [Frankenberger *et al.*, 2014]. Die tatsächliche Interaktionstiefe von Self-Etch Adhäsiven hängt von deren pH-Wert ab. Sie variiert von einigen hundert Nanometern nach einem „ultra-milden“ Self-Etch Vorgehen (pH >2.5), über eine Tiefe von 1 µm bei „milden“ Self-Etch Adhäsiven (pH ~2), einer Interaktionstiefe von 1-2 µm durch „moderate“ Adhäsive (pH 1-2) bis zu mehreren Mikrometern Tiefe bei „starken“ Adhäsiven

(pH <1). Ausschließlich mit den starken Self-Etch Adhäsiven bilden sich die typischen Adhäsiv-Tags am Dentin und erzielen dort eine wirkungsvolle Versiegelung des Dentins. Die aktuellen Haftwerte der Self-Etch Adhäsive zeigen eine große Bandbreite, abhängig von der Zusammensetzung der Adhäsive, besonders aber von den enthaltenen funktionellen Monomeren [Van Meerbeek *et al.*, 2011].

Funktionelle Monomere

Die modernen dentalen Self-Etch Adhäsive sind typischerweise eine Mischung aus verschiedenen Monomeren, Initiatoren, Inhibitoren, Lösungsmitteln, Füllkörpern und weiteren Zusätzen, wie anorganischen und organischen Säuren. Die Monomere sind die Hauptkomponenten. Sie ermöglichen die Bildung von dauerhaft kovalenten Bindungen zwischen dem Adhäsiv, dem restaurativen Komposit und dem Zahnhartgewebe [Moszner *et al.*, 2012]. Die meisten der derzeit verwendeten Monomere sind Methacrylate [Van Landuyt *et al.*, 2007]. Die verwendeten Methacrylate können entsprechend ihrer Funktion eingeteilt werden in saure und nicht saure funktionelle Monomethacrylate, in vernetzende Dimethacrylate oder in multifunktionelle Methacrylate. Das am häufigsten eingesetzte nicht-saure Monomethacrylat ist HEMA [Moszner *et al.*, 2012]. Es erleichtert die Benetzung des nach der Phosphorsäureapplikation freigelegten Kollagen-Netzwerkes und fördert die optimale Penetration des Primers in das demineralisierte Dentin [Frankenberger *et al.*, 2000]. Da die weiter entwickelten, sauren funktionellen Monomethacrylate, wie Phenyl-P (2-methacryloyloxyethyl-phenylhydrogenphosphat) oder 10-MDP (10-methacryloyloxydecyl-dihydrogenphosphat), in den Self-Etch Adhäsiven ebenso zu besseren Benetzungseigenschaften des Adhäsives beitragen, verringert sich der Einsatz von HEMA zusehends [Van Landuyt, Snauwaert *et al.*, 2008]. Die in dieser Studie vorgestellten Ergebnisse zeigen, dass eine geringe Menge an HEMA auch in Self-Etch Adhäsiven durchaus vorteilhaft auf die Haftkraft zur Zahnschmelz sein kann. Vier experimentelle Self-Etch Adhäsive, die sich ausschließlich in ihrem Gehalt an HEMA unterscheiden, wurden hinsichtlich ihrer Bindungsstärke auf humanem Schmelz und Dentin untersucht. Dabei zeigte das 10% HEMA-Adhäsiv die beste Bindungsstärke. Die sauren funktionellen Monomere erfüllen verschiedene Funktionen: sie ätzen das Zahnhartgewebe, verbessern die Monomerpenetration [Van Landuyt *et al.*, 2007] und polymerisieren mit den anderen Monomeren in den Primern, den Adhäsiven und den restaurativen Materialien [Moszner *et al.*, 2012].

- HEMA

2- Hydroxyethylmethacrylat (Abb. 2.5) ist ein wasserlösliches, niedrig visköses Monomer [Van Landuyt *et al.*, 2007], das in wässriger Lösung sauer reagiert.

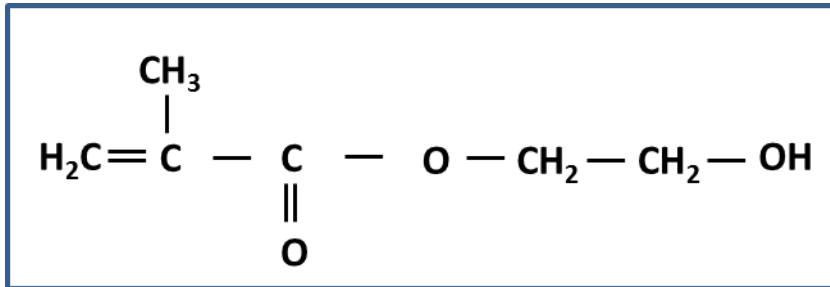


Abb. 2.5 HEMA Strukturformel

HEMA verbessert aufgrund seiner ausgeprägten Hydrophilie die Mischbarkeit und Löslichkeit der polaren und unpolaren Komponenten und das Benetzungsverhalten der flüssigen Adhäsive [Moszner *et al.*, 2012] und damit auch die Penetration der Adhäsive im demineralisierten Dentin [Nakabayashi *et al.*, 1992]. Ebenso wird berichtet, dass HEMA die Haftfestigkeit des Adhäsives positiv beeinflusst [Nakaoki *et al.*, 2000]. Wird die HEMA-Konzentration allerdings von 10% auf 36% erhöht, geht der begünstigende Effekt auf die Haftkraft des Adhäsivs wieder verloren. Mikroskopisch sind an der Grenzfläche zum Adhäsiv, sowohl bei Schmelz, als auch bei Dentin, ungehärtete Adhäsivtropfen sichtbar [Van Landuyt, Snauwaert *et al.*, 2008]. Aufgrund des reduzierten Polymerisationsumsatzes an der Grenzfläche [Van Landuyt, Snauwaert *et al.*, 2008] verschlechtern sich die mechanischen Eigenschaften der polymerisierten Adhäsive. Die Bindungsfestigkeit wird herabgesetzt und die Wasseraufnahme wird begünstigt [Moszner *et al.*, 2005]. Chemisch betrachtet besitzt HEMA nur eine einzige polymerisierbare Gruppe und polymerisiert deshalb nur linear [Van Landuyt *et al.*, 2007]. Quervernetzte Polymere zeigen allerdings bessere mechanische Eigenschaften als linear vernetzte Polymere [Oadian, 2004]. Der größte Nachteil von HEMA ist sein hohes allergenes Potential. Aufgrund der schnellen Penetration durch Handschuhe und Haut (geringes Molekulargewicht) kann das Monomer eine Kontaktdermatitis verursachen [Sandberg *et al.*, 2002]. Da HEMA nicht ausschließlich in der Zahnheilkunde verwendet wird, sondern auch in Acrylharzlacken, Acrylnägeln oder Kontaktlinsen, werden Kreuzallergien beschrieben [Goosens, 2004]. Resulcin Aqua Prime+MonoBond, ein in dieser Studie verwendetes selbstkonditionierendes Adhäsiv, enthält als selbstkonditionierenden Bestandteil in der Komponente Aqua Prime einen sogenannten HEMA-Ester der Phosphorsäure (Abb. 2.6).

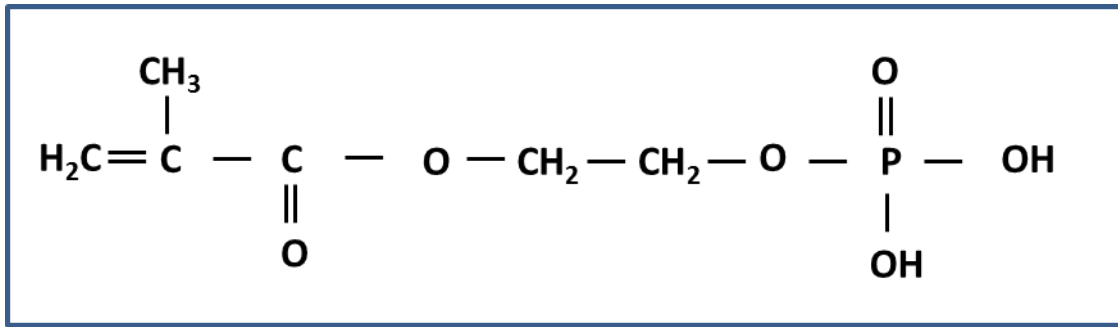


Abb. 2.6 Strukturformel des HEMA-Phosphorsäureesters: 2-Methacryloyloxyethyl dihydrogenphosphat (nach Hannig *et al.*, 1999)

Der pH-Wert des Aqua Primes liegt bei 0.7 und ist damit mit den konventionellen Phosphorsäuren der Etch-and-Rinse Technik vergleichbar. An labialen Schmelzoberflächen von Rinderincisivi zeigte sich in REM-Aufnahmen nach der Behandlung mit Resulcin Aqua Prime ein vergleichbares Ätzmuster, wie es nach Phosphorsäureätzung entsteht [Hannig *et al.*, 2000]. Randspaltuntersuchungen von Füllungen, die mit Resulcin AquaPrime+MonoBond in Klasse-II-Kavitäten an humanen Molaren gelegt wurden, zeigten einen dauerhaften Randschluss zwischen Schmelz und Komposit. Auch nach thermomechanischer Belastung kam es zu keiner signifikanten Verschlechterung der Füllungsqualität [Hannig *et al.*, 1999].

- 10-MDP

Nachdem Kuraray 1976 mit der Erfindung von Phenyl-P (2-Methacryloyloxyethyl-phenylhydrogenphosphat) das erste Adhäsivmonomer der Zahnmedizin vorgestellt hatte, wurde dessen molekulare Struktur 1983 dahingehend verbessert, dass ein Molekül mit größerer Haftfähigkeit an der Zahnschmelz entstand. Das Ergebnis dieser Entwicklungsarbeiten war das MDP Monomer (10-Methacryloyloxydecyl-Dihydrogenphosphat), das durch seine besondere Monomerstruktur überzeugte (Abb. 2.7).

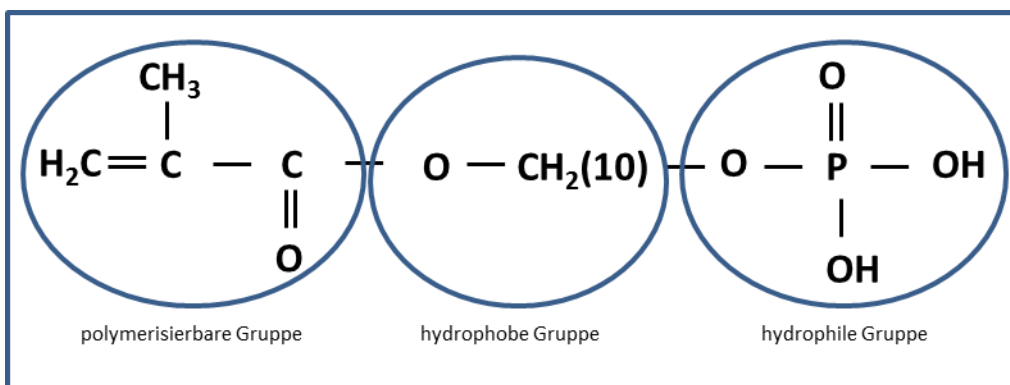


Abb. 2.7 Strukturformel des funktionellen Monomers 10-MDP (modifiziert nach Moznier *et al.*, 2012)

Beim Vergleich der chemischen Bindungseffizienz der drei untersuchten funktionellen Monomere 10-MDP, 4-MET und Phenyl-P, zeigte die quantitative Bestimmung der Kohlenstoffkonzentration mittels XPS für das Phosphat-basierte funktionelle Monomer 10-MDP das signifikant größte Bindungspotential zu HAP [Yoshida *et al.*, 2004]. Schon eine kurze Behandlung (30 sec) des HAP mit 10-MDP produziert im XPS eine deutliche C 1s Spitze, die sich durch eine 30-minütige Behandlung nicht erhöhen lässt. 10-MDP zeigt ein hohes Bindungspotential zu HAP in einer klinisch praktikablen Applikationszeit. Die chemische Bindungskapazität von 4-MET an HAP ist deutlich schwächer, die von Phenyl-P ist von allen drei funktionellen Monomeren klar am schwächsten. Auch in wässriger Lösung zeigt die 10-MDP-HAP Verbindung die größte Stabilität, was durch die geringe Auflösungsrate des Calciumsalzes in Wasser bestätigt wird [Yoshida *et al.*, 2004]. Die Daten der Calciumsalz-Auflösungsraten bestätigen das noch im Folgenden vorzustellende AD-Konzept (Ahäsion-Dekalzifikation-Konzept) [Yoshida *et al.*, 2001]. Die Kristallgitteruntersuchung von mit 10-MDP behandeltem HAP bestätigte die chemische Interaktion beider Substanzen: ein oder zwei der P-OH Gruppen des 10-MDP dissoziieren H^+ , um als P-O^- Gruppe mit dem Ca^{2+} des HAP chemisch reagieren zu können [Fukeygawa *et al.*, 2006] (Abb. 2.8).

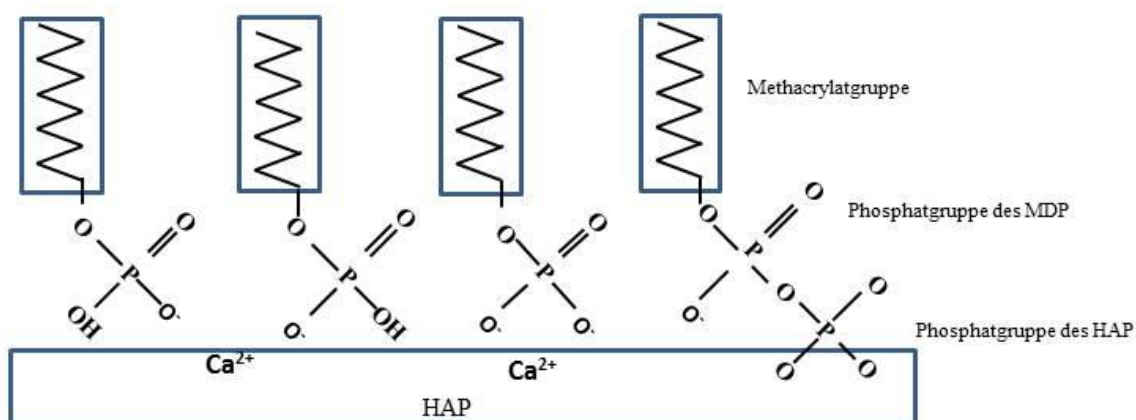


Abb. 2.8 Ein Modell der chemischen Wechselwirkung von 10-MDP mit HAP: 10-MDP bindet elektrostatisch an die Ca^{2+} -Ionen und die PO_4^{3-} -Gruppen des HAP, die durch Dekalzifikation von HAP in einer wässrigen Lösung herausgelöst werden (modifiziert nach Tanaka *et al.*, 1997).

Die XRD-Untersuchung zeigte, dass die Bindung von 10-MDP an HAP mit einer charakteristisch selbstorganisierten Nanoschicht von 4 nm einhergeht (Abb. 2.9). Jede Schicht besteht aus zwei 10-MDP-Molekülen, die mit ihren Methacrylatgruppen direkt aufeinander und ihren funktionellen Hydrogenphosphatgruppen voneinander entfernt stehen. In den Schichten sind zusätzlich Calciumsalze des 10-MDP abgelagert, die die Schicht zusammenhalten [Fukeygawa *et al.*, 2006]. Solch eine Nanoschicht konnte für andere funktionelle Monomere wie 4-MET

oder Phenyl-P nicht nachgewiesen werden [Yoshihara *et al.*, 2010]. Da die ausgeprägte chemische Affinität von 10-MDP zu HAP zuerst an synthetischem HAP nachgewiesen wurde [Yoshihara *et al.*, 2010], untersucht eine weiterführende Studie, ob die Applikation von 10-MDP auch dann eine Nanoschicht auf Schmelz und Dentin erzeugt, wenn diese einem klinischen Protokoll folgt [Yoshihara *et al.*, 2011]. Die hohe chemische Affinität von 10-MDP zu HAP wurde durch die Ergebnisse der XRD-Untersuchungen bestätigt. Das Einreiben von experimentellen 10-MDP-Lösungen oder Clearfil SE Bond Primer auf Schmelz und Dentin erzeugte schon nach 20 Sekunden eine selbstorganisierte Nanoschicht, bestehend aus zwei MDP-Molekülen mit Calcium und einem stabilisierenden Calciumsalz (CaMHP_2). Die Nanoschicht auf Dentin war signifikant größer, zur Verbesserung der mikromechanischen Verankerung wurde eine selektive Schmelzätzung mit Phosphorsäure empfohlen [Yoshihara *et al.*, 2011].

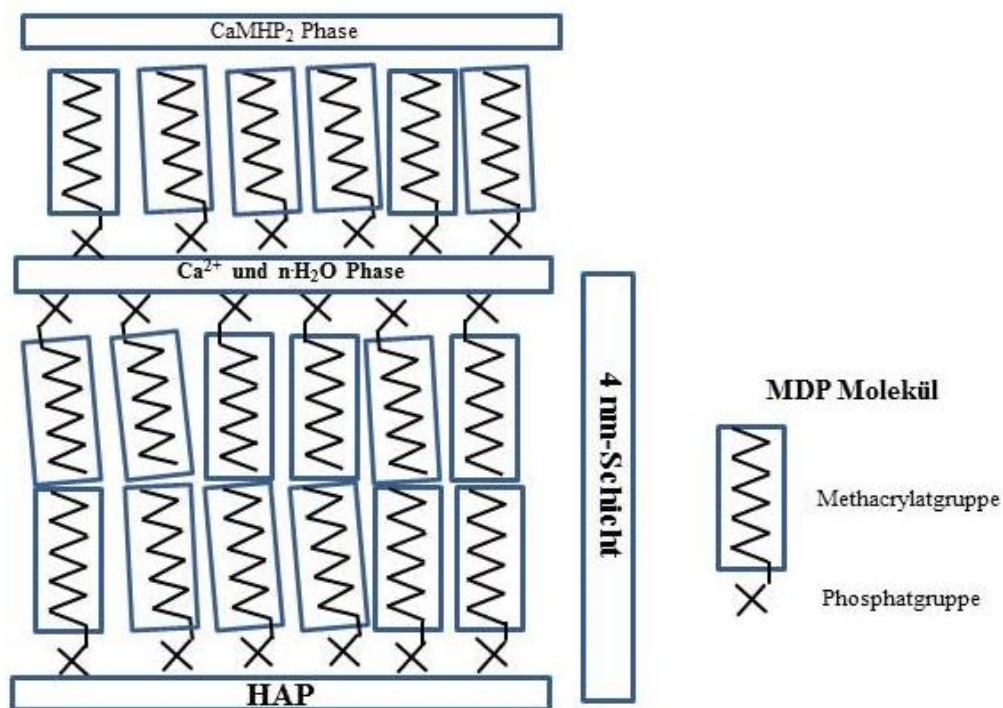


Abb. 2.9 Ein Modell einer möglichen Bindung von HAP an 10-MDP: zwei aufeinander gelagerte Moleküle 10-MDP (mit einer jeweiligen Molekülkettenlänge von ca. 1.95 nm) und die Ausfällung eines MDP-Calciumsalzes (CaMHP_2) erklärte die Bildung einer Nanoschicht von ca. 4 nm (modifiziert nach Fukegawa *et al.*, 2006).

- Adhäsion-Dekalzifikation-Konzept

Der grundlegende Bindungsmechanismus der dentalen Adhäsive an Schmelz und Dentin basiert im Wesentlichen auf einem Austauschprozess, bei dem aus der Zahnhartsubstanz entfernte Mineralien durch Monomere ersetzt werden. Die polymerisierten Monomere haften mikromechanisch in den Porositäten der Zahnhartsubstanz [Van Meerbeek *et al.*, 2003]. Zusätzlich zu der mikromechanischen Verankerung hat eine mögliche chemische Bindung zwischen funktionellen Monomeren und der Zahnhartsubstanz für Aufmerksamkeit gesorgt [Yoshida *et al.*, 2004]. Das Adhäsion-Dekalzifikation-Konzept (AD-Konzept) beschreibt die Interaktion von funktionellen Monomeren mit HAP-haltigem Gewebe [Yoshida *et al.*, 2001] (Abb. 2.10).

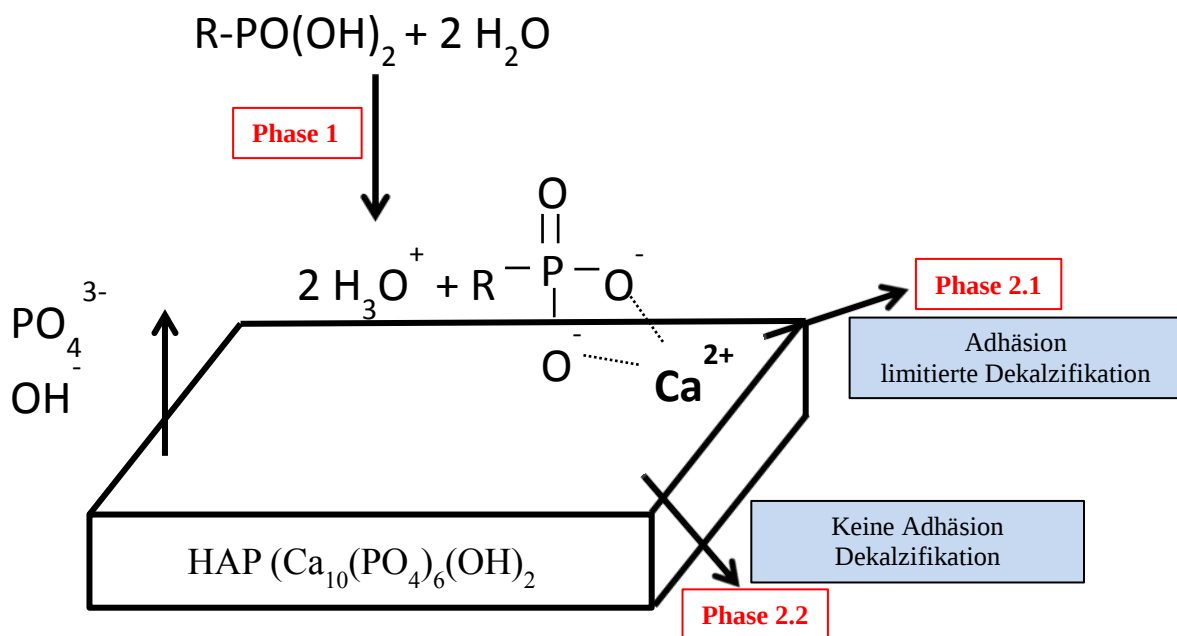


Abb. 2.10 Adhäsion-Dekalzifikation-Konzept (modifiziert nach Yoshida *et al.*, 2001)

In Phase 1 binden die sauren Monomere (hier z.B. die Phosphatgruppe des sauren Monomers: $R-PO(OH)_2$) chemisch über eine Ionenbindung mit dem Calcium des HAP. Phosphat- und Hydroxylionen werden freigesetzt, es resultiert eine elektroneutrale Oberfläche. In Abhängigkeit der Stabilität des gebildeten Calciumsalzes verbleiben für die nächste Phase zwei Optionen. In Phase 2.1 bleiben hydrolytisch stabile Calciumsalze, wie z.B. das Calciumsalz des 10-MDP, adhäsiv mit dem HAP verbunden und sorgen für eine Limitierung der Oberflächendekalzifikation. Moleküle wie Phosphorsäure, Maleinsäure oder funktionelle Monomere wie 4-MET oder Phenyl-P bilden dagegen nur instabile Calciumsalze mit dem HAP. In Phase 2.2 zerfallen diese Calciumsalze, es resultiert eine weitere Dekalzifikation mit der Freisetzung

von Calcium- und Phosphationen [Van Meerbeek *et al.*, 2011]. Die Auflösungsgeschwindigkeit der jeweiligen Calciumsalze dieser drei funktionellen Monomere verhielt sich invers zu ihrem chemischen Bindungspotential zu HAP: je intensiver das chemische Bindungspotential, desto weniger Calciumsalz wurde gelöst [Yoshida *et al.*, 2001].]. Die chemische Bindung von 10-MDP an HAP ist nicht nur effektiver, sie ist auch stabiler in Wasser als die 4-MET- und Phenyl-P-Bindungen an HAP [Yoshida *et al.*, 2004].

2.3 Ziel der Arbeit / Fragestellung

In der Literatur werden zahlreiche, erfolgreiche biomimetische Strategien zur Bildung von schmelzähnlichen Strukturen beschrieben. Ein erstes Ziel der vorliegenden Untersuchung bestand darin zu prüfen, in wieweit mit den in der Literatur beschriebenen einfachen phosphorsäurehaltigen Apatitpasten unter *in-vitro* Bedingungen tatsächlich schmelzähnliche Schichten generiert werden können. Es zeigte sich hierbei jedoch, dass die in der Literatur aufgezeigten Verfahren der Schmelzregeneration mit Hilfe saurer oder auch neutraler Apatitpasten nur bedingt nachvollziehbar waren. Das zweite Ziel der Studie beschäftigte sich daher mit einer möglichen Verbesserung der sauren Apatitpasten unter Verwendung einer neuartigen Kombination aus sauren Self-Etch Adhäsiven und Apatitpulver. Dabei sollte die Frage beantwortet werden, ob unter Anwendung von Self-Etch Adhäsiven einerseits ein chemischer Verbund der Apatitpartikel innerhalb der Apatitpaste sowie andererseits die adhäsive Anhaftung der Apatitpaste an der Schmelzoberfläche erzielt werden kann.

3 Material und Methode

3.1 Material

Die in der Studie verwendeten Materialien sind in der Materialliste 9.2 im Anhang aufgelistet.

Demineralisationsmaterial

Zur Erzeugung von Schmelzmikrodefekten wurde die Schmelzoberfläche mit einer 35%igen pastösen Phosphorsäure demineralisiert (Ultra-Etch, Ultradent Products Inc, USA).

Konditionierungsflüssigkeit

Die Konditionierung der Schmelzoberfläche erfolgte unmittelbar vor Applikation der Regenerationspasten mit 17%iger Phosphorsäure.

Apatite

Für die Untersuchungen standen zwei Hydroxylapatitpulver, HAP1 und HAP2 (Kalident 100 bzw. Kalident Nano, Kalichem, Brescia, Italien) sowie zwei Fluorapatitpulver, FAP1 und FAP2 (S&C Polymer, Elmshorn) zur Verfügung. Das Fluorapatitpulver FAP2 lag in silanisierter Form (vorbehandelt mit 3-Methacryloxyethyltrimethoxy-silan) vor. Die Abb. 3.1 zeigt REM-Aufnahmen der in dieser Studie verwendeten Apatitpulver. Die Kristalle der beiden Hydroxylapatitpulver, HAP1 und HAP2, sind auch in der 20000fachen Vergrößerung nicht als Einzelkristalle zu differenzieren (Abb. 3.1a und b). Die HAP-Pulver erscheinen als eine amorphe Masse. Die REM-Aufnahmen der Fluorapatitpulver FAP1 und FAP2 lassen dagegen eine deutliche stäbchenartige Kristallform erkennen (Abb. 3.1c und d).

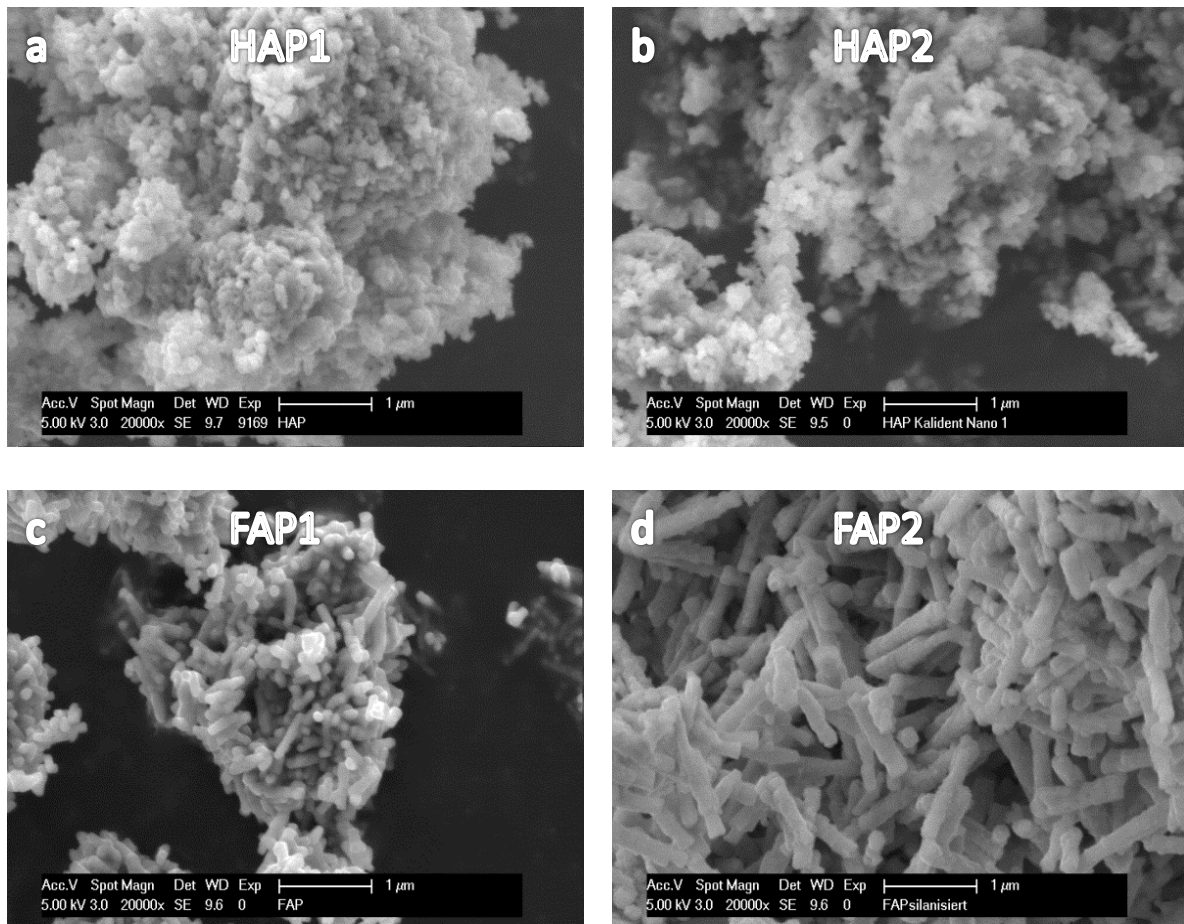


Abb. 3.1 REM-Aufnahmen der Apatitpulver. a: HAP1. b: HAP2. c: FAP1. d: FAP2. Originalvergrößerungen 20 000fach.

Apatitpasten

Tab. 3.2 Bestandteile der Regenerationspasten R1–R4

Regenerationspasten ohne Additive				
Apatitpaste	HAP 1	FAP 1	17% Phosphor- säure pH 1	Aqua purificata pH 7
R1	X		X	
R2	X			X
R3		X	X	
R4		X		X

Die Apatitpasten wurden vor der Applikation jeweils frisch aus HAP1-Pulver oder FAP1-Pulver und 17%iger Phosphorsäure (pH 1) oder Aqua purificata (pH 7), in einem Dappenglas gemischt. Daraus resultieren vier verschiedene Apatitpasten (Tab. 3.2).

Adhäsiv-Apatitpasten

Die Adhäsiv-Apatitpasten setzten sich aus verschiedenen Apatitpulvern und zwei verschiedenen Additiven zusammen. Als Apatitpulver kamen alle in Abb. 3.1 aufgezeigten Materialien (**HAP 1**, **HAP 2**, **FAP 1** und **FAP 2**) zur Anwendung. Als Additive wurden folgende handelsübliche dentale Materialien verwendet:

- **Clearfil Tri S Bond Plus**
- **Resulcin AquaPrime + MonoBond**

Clearfil Tri S Bond Plus (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan) gehört zu der jüngsten Generation der Self-Etch Adhäsive, die auch All-in-one-Adhäsive genannt werden. In einer weiteren Vereinfachung der klinischen Anwendung kann Clearfil Tri S Bond Plus als ein mildes, selbstkonditionierendes Monopräparat direkt auf die zu restaurierende Zahnoberfläche aufgetragen werden. Resulcin Aquaprime+MonoBond (Merz Dental GmbH, Deutschland) repräsentiert dagegen ein selbstkonditionierendes dentales Mehrkomponenten-Adhäsiv mit einer getrennten Applikation von Primer und Bond. Tabelle 3.3 zeigt eine Auflistung aller Bestandteile der verwendeten Additive.

Abb. 3.3 Inhaltsstoffe der aufgeführten Additive

Material	Bestandteile	pH-Wert
Clearfil Tri S Bond Plus	15-35% Bisphenol-A-Diglycidyl-Methacrylat 10-35% 2-Hydroxymethacrylat (HEMA) <20% Ethanol <0.1% Natriumfluorid 10-MDP, hydrophiles Dimethacrylat, hydrophobes Methacrylat, Kolloidales Silizium, Kampferchinon, Akzeleratoren, Initiatoren, Wasser	2.3
Resulcin AquaPrime+MonoBond	AquaPrime: 2-Hydroxyethyl-methacrylsäurephosphat (HEMA-Phosphat)	0.7
	MonoBond: Polymethacrylologomaleinsäure, Triethylenglocoldimethacrylat, Bisphenol-A-diglycidylmethacrylat	2.3

Schmelzprobengewinnung (Prüfkörper)

Für die Herstellung der Schmelzprüfkörper wurden frisch extrahierte, kariesfreie und unbehandelte humane Prämolaren und Molaren verwendet. Die Wurzeloberflächen der Zähne wurden unverzüglich nach der Extraktion grob mit Scalern, scharfen Löffeln und Einmalskalpellen von Zahnstein, Konkrementen und desmodontalem Gewebe befreit. Zur Feinpolitur wurden die Wurzeloberflächen mit nicht fluoridierter Politurpaste (Cleanic Prophy Paste, KerrHawe AS) und einem Miniatur ZR-Nylon Bürstchen behandelt.

Bis zu einer Weiterverwendung wurden die Zähne in 70%igem Ethanol, in einem abgedunkelten und verschlossenen Gefäß bei 6–8 °C im Kühlschrank aufbewahrt.

Schmelzprüfkörperpräparation

Aus den vestibulären und oralen Kronenanteilen der Prämolaren und Molaren wurden ungefähr 5x5 mm große Dentin unterstützte Schmelzprüfkörper präpariert.

Die Präparation wurde hochtourig mit Präparationsdiamanten in verschiedenen Formen (Komet, Gebr. Brasseler, Lemgo, D) in einem zahnärztlichen Winkelstück (INTRACompact 25 LHC, KAVO Dental, D) bei 60000 U/min unter maximaler Wasserkühlung durchgeführt (Abb.3.4).



Abb. 3.4 Präparationsinstrumente

Nach dem okklusalen Abtrag mit einem zylindrischen Diamanten (Komet, Nr. 6847.314.016) wurden die Schmelzfenster bis ins Dentin mit einem konischen Präparationsdiamanten (Komet, Nr.S 6850.314.016) freipräpariert und mit einem Hartmetallfinierer (Komet, Nr. H 375 R.016) poliert.

In einem weiteren Schritt wurden die Zahnkronen in mesio-distaler Richtung komplett bis zur Schmelz-Zementgrenze durchtrennt (Abb. 3.5).

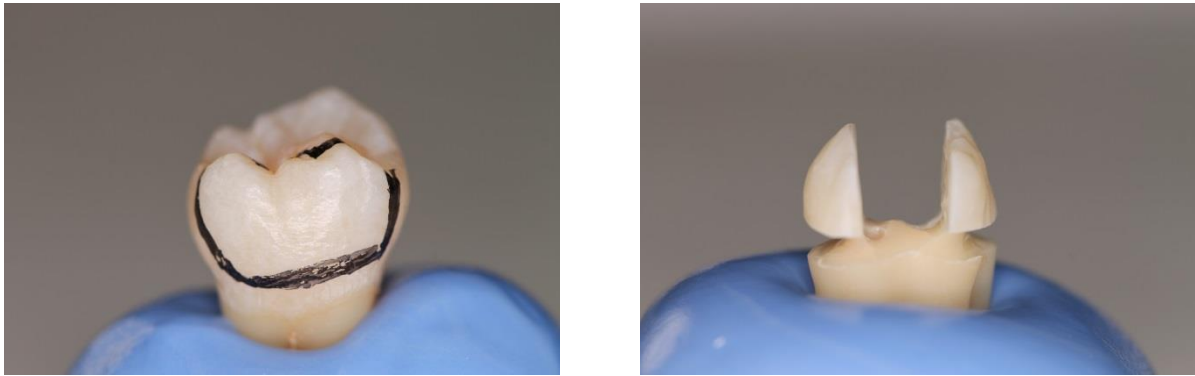


Abb. 3.5 Präparation der Schmelzproben

Die Dentinflächen wurden plan poliert, um die spätere Befestigung auf Objektträgern für die REM Untersuchung zu erleichtern. In einem weiteren Schritt erfolgte die Abtrennung der Schmelzproben vom Wurzelanteil wiederum mit einem konischen Präparationsinstrument (Komet; Nr. S 6850.314.016) und dem dazugehörigen konischen Hartmetallfinierer (Komet, Nr. H 375 R.016).

Bei den Schmelzprüfkörpern der ersten Versuchsreihe wurden zur besseren Orientierung auf der Schmelzoberfläche mit Hilfe einer diamantierten Trennscheibe (Komet; Nr. 7818.104.080) Markierungen (Rillen) angebracht (Abb.3.6a).

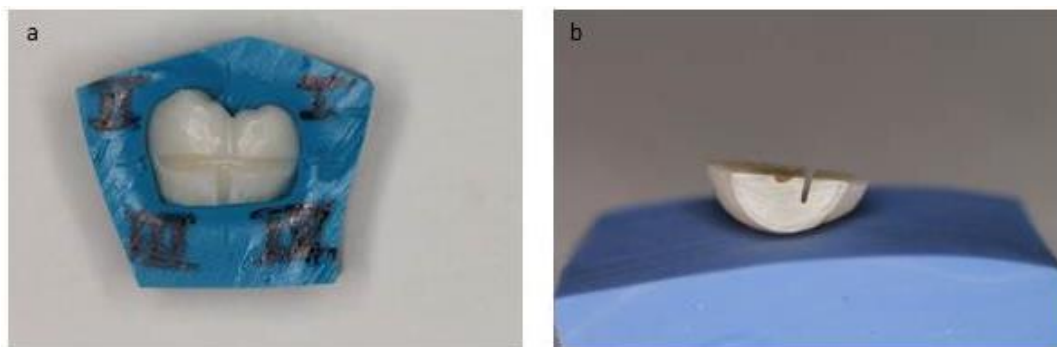


Abb. 3.6 a: Rillenmarkierungen auf der Schmelzoberfläche, b: Präparation einer Sollbruchstelle im Dentin

Die in einzelne Sektoren eingeteilten Schmelzoberflächen (I –IV) erfahren während der Versuchsdurchführung unterschiedliche Behandlungen.

In Vorbereitung auf mögliche REM (Rasterelektronenmikroskop) Untersuchungen wurde nach Entfernen der Restpulpa auf der Dentinseite mit einer Trennscheibe (Komet; Nr. 945 B 104.100) eine Sollbruchstelle in Zone II und III eingearbeitet (Abb. 3.6b).

Die fertig präparierten Schmelzprüfkörper wurden zur besseren Handhabung in A-Silikon (Imprint 4 Penta Heavy, 3M, Neuss, D) eingebettet. Dazu wurde das A-Silikon im Pentamix 3 Mischgerät angemischt und in Einmaldappengläser gefüllt. Die Schmelzproben wurden mit dem Dentinanteil als Retention in das Silikon eingebettet. Nach dem Aushärten des Silikons konnten handliche Blöcke mit einem Einmalskalpell (B.Braun, Cutfix Nr. 11, Melsungen, D) herausgeschnitten werden.

Die in Silikon eingebetteten Schmelzprüfkörper wurden auf der Unterseite des Silikonsockels mit Hilfe eines Hartmetall Rosenbohrers (Komet, Nr. H 1SM.204.014) durchnummeriert. Bis zur Durchführung der Versuchsreihen wurden die Schmelzprüfkörper trocken in einem luftdichten Transportbehälter gelagert.

3.2 Methode

Versuchsreihe 1: Apatitpasten

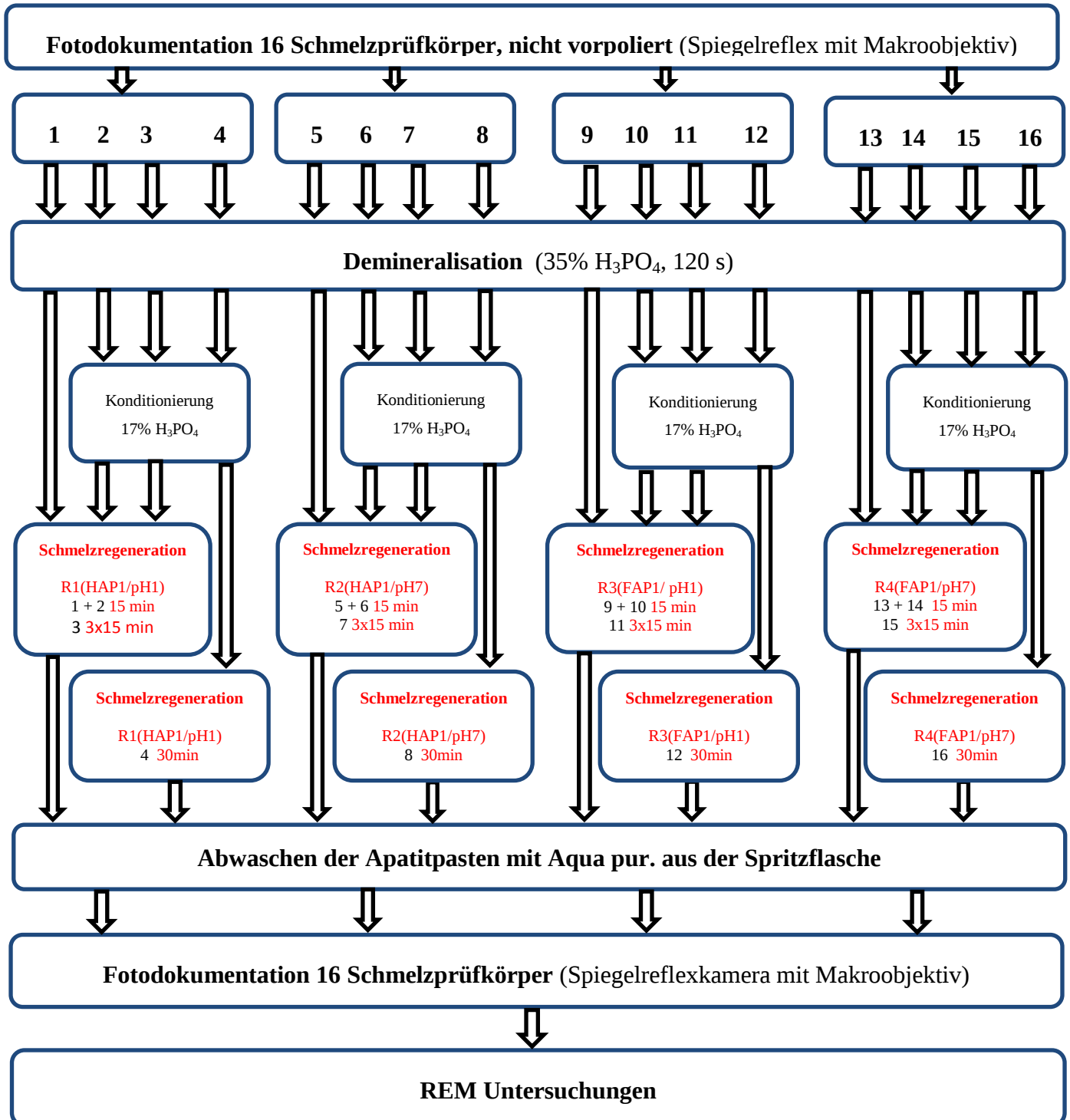


Abb. 3.7 Versuchsreihe 1 als Fließdiagramm

Vorbereitung und Fotodokumentation

Für die Versuchsreihe 1 wurden 16 Schmelzprüfkörper, wie zuvor beschrieben, vorbereitet. Die Schmelzprüfkörper wurden in Abhängigkeit der verwendeten Apatitpasten in vier Gruppen zu jeweils vier Prüfkörpern angeordnet:

Prüfkörper 1–4: Apatitpaste R1 (HAP1 und 17% H_3PO_4 , pH 1)

Prüfkörper 5–8: Apatitpaste R2 (HAP1 und Aqua purificata, pH 7)

Prüfkörper 9–12: Apatitpaste R3 (FAP1 und 17% H_3PO_4 , pH 1)

Prüfkörper 13–16: Apatitpaste R4 (FAP1 und Aqua purificata, pH 7)

Vor Beginn der Versuchsdurchführung wurden alle Proben fotodokumentiert (Spiegelreflexkamera Canon EOS 1100D, Taiwan mit Makroobjektiv EF 100 mm, f/2.8L Canon, Japan und Makro-Ringblitz MR-14EX II, Canon, Japan).

Demineralisation

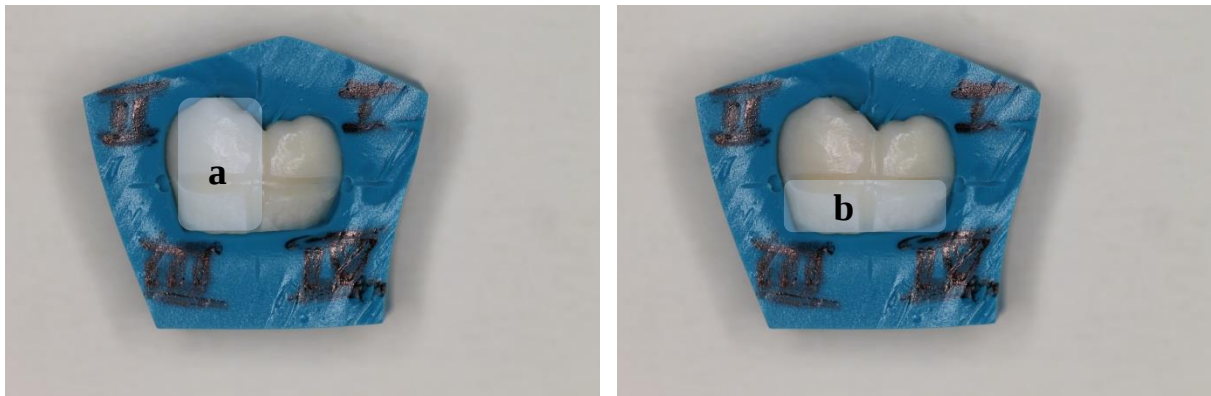


Abb. 3.8 Schemazeichnung der Schmelzoberfläche. a: Demineralisationszone (Zone II und III). b: Regenerationszone (Zone III und IV)

Die Zonen II und III (a = Demineralisationszone) aller Schmelzprüfkörper wurden mit 35%igem Phosphorsäuregel (Ultra-Etch, Ultradent, USA) für 120 s demineralisiert (Abb. 3.8) und die Phosphorsäure mit dem Luft/Wasserspray der Multifunktionsspritze 20 s abgesprüht, danach mit der Luftdüse der Multifunktionsspritze moderat trocken geblasen.

Konditionierung

Die Schmelzprüfkörper mit den künstlich hergestellten Schmelzmikrodefekten wurden sofort der Weiterbehandlung unterzogen. Nur die Schmelzprüfkörper 2–4, 6–8, 10–12 und 14–16 wurden vor der Schmelzregeneration einer Konditionierung unterzogen. Dazu wurde die vor-

her festgelegte Regenerationszone = b (Zonen III und IV), sowohl geätzte, als auch unbehandelte Schmelzoberfläche (Abb. 3.8), mit 17%iger Phosphorsäure vorbehandelt. Die Säure wurde mit Hilfe eines Einmalpinsels aufgetragen.

Schmelzregeneration

Alle Schmelzprüfkörper wurden mit Apatitpasten auf der Regenerationszone weiterbehandelt (Abb. 3.8). Dabei wurden vier verschiedene Apatitpasten vorbereitet (Tabelle 3.2). Bei den mit 17%iger Phosphorsäure konditionierten Prüfkörpern wurde darauf geachtet, dass die frisch angemischten Apatitpasten unverzüglich, bevor die Säure eingetrocknet war, auf die Regenerationszone aufgetragen wurden. Bei dem größten Anteil der Prüfkörper wurde die Paste für 15 min belassen ($n = 12$), bei einem kleineren Anteil der Prüfkörper wurde die Einwirkzeit der Pasten auf 30 min verlängert ($n = 4$). Die Applikationszeiten wurden mit Hilfe einer Stoppuhr kontrolliert. Im Anschluss wurden die Pastenaufgaben mit Aqua purificata aus einer Spritzflasche abgespült, bis sie sichtbar abgewaschen waren. Als eine zusätzliche Variable wurden bei einem Teil der Schmelzprüfkörper weitere 2 Schmelzregenerationszyklen von 15 min durchgeführt. Dazu wurden die Apatitpasten für jeden Zyklus frisch angemischt. Die Schmelzproben wurden luftgetrocknet, wiederum mit der Spiegelreflexkamera fotodokumentiert und bis zur Weiterbehandlung, bzw. Untersuchung im Rasterelektronenmikroskop trocken in einer luftdichten Transportbox, horizontal gelagert, aufbewahrt.

Die Tabelle 3.9 zeigt im Detail eine Übersicht über die Versuchsvariablen der Prüfkörper 1–16.

Tabelle 3.9 Übersicht der Versuchsvariablen: Konditionierung, Apatitpasten, Applikationszeit

PRÜFKÖRPER	KONDITIONIERUNG	R1	R2	R3	R4	ZEIT
1		X				15 min
2	X	X				15 min
3	X	X				3x15 min
4	X	X				30 min
5			X			15 min
6	X		X			15 min
7	X		X			3x15 min
8	X		X			30 min
9				X		15 min
10	X			X		15 min
11	X			X		3x15 min
12	X			X		30 min
13					X	15 min
14	X				X	15 min
15	X				X	3x15 min
16	X				X	30 min

Versuchsreihe 2: Apatitpasten

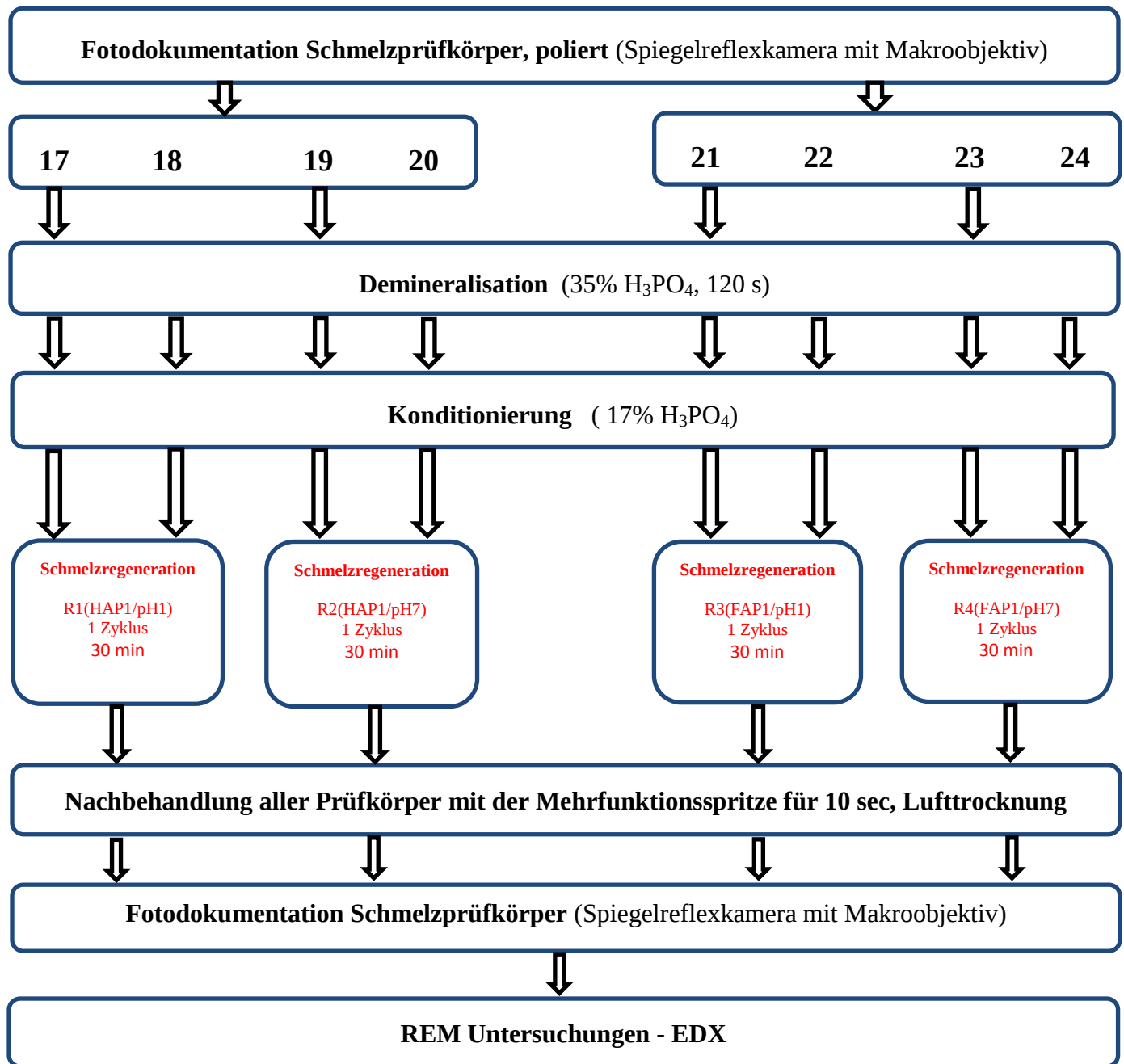


Abb. 3.10 Versuchssreihe 2 als Fließdiagramm

Vorbereitung und Dokumentation

Für die Versuchsreihe 2 wurden die Schmelzprüfkörper 17–22 wie zuvor beschrieben vorbereitet. Allerdings wurde bei allen Schmelzprüfkörpern die komplette Schmelzoberfläche vorpoliert. Die Politur erfolgte mit Hilfe eines blauen Winkelstückes (INTRAmatic Lux2 20LN, KAVO Dental, D) und Super Snap Politurscheiben (SHOFU Dental, D) bei 15000 U/min und maximaler Wasserkühlung. Auf eine Rillenmarkierung der Schmelzoberfläche in Demineralisations- und Regenerationszonen wurde verzichtet.

Vor Beginn der Versuchsdurchführung wurden alle Prüfkörper fotodokumentiert.

Demineralisation

Die Schmelzoberfläche der Prüfkörper 17, 19, 21 und 23 wurde mit 35%igem Phosphorsäuregel (Ultra-Etch, Ultradent, USA) für 120 s demineralisiert und die Phosphorsäure mit dem Luft/Wasserspray der Multifunktionsspritze 20 s abgesprüht, danach mit der Luftdüse der Multifunktionsspritze moderat trocken geblasen.

Konditionierung

Alle Schmelzprüfkörper wurden vor der Schmelzregeneration konditioniert, d.h. die gesamte Schmelzoberfläche wurde mit 17%iger Phosphorsäure benetzt.

Schmelzregeneration

Bevor die Säureapplikation eintrocknen konnte, wurde unverzüglich mit der Applikation der Apatitpasten fortgefahren. Alle Apatitpasten R1–R4 wurden frisch angemischt, mit einem Einmalpinsel aufgetragen und für 30min auf der Schmelzoberfläche belassen. Nach Ablauf der Einwirkzeit wurden alle Apatitpasten für 10 sec mit dem Luft/Wasserspray der Multifunktionsspritze unter maximalem Druck und maximaler Wasserzufuhr abgesprüht. Die Schmelzprüfkörper wurden nach der Lufttrocknung in der staubdichten Transportbox eingelagert.

Versuchsreihe 3: Adhäsiv-Apatitpasten (Clearfil Tri S Bond Plus)

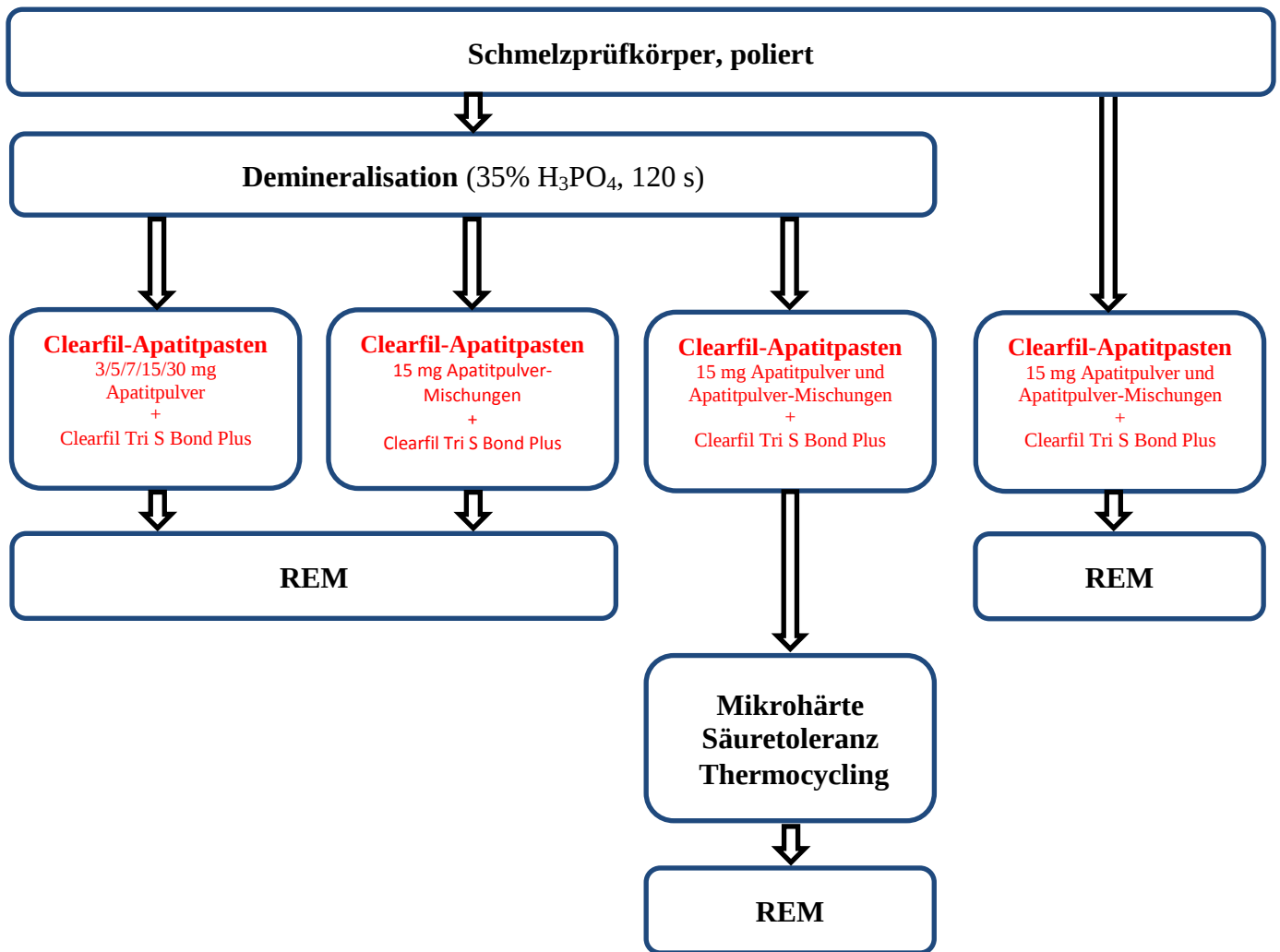


Abb. 3.11 Versuchsreihe 3 als Fließdiagramm

Vorbereitung

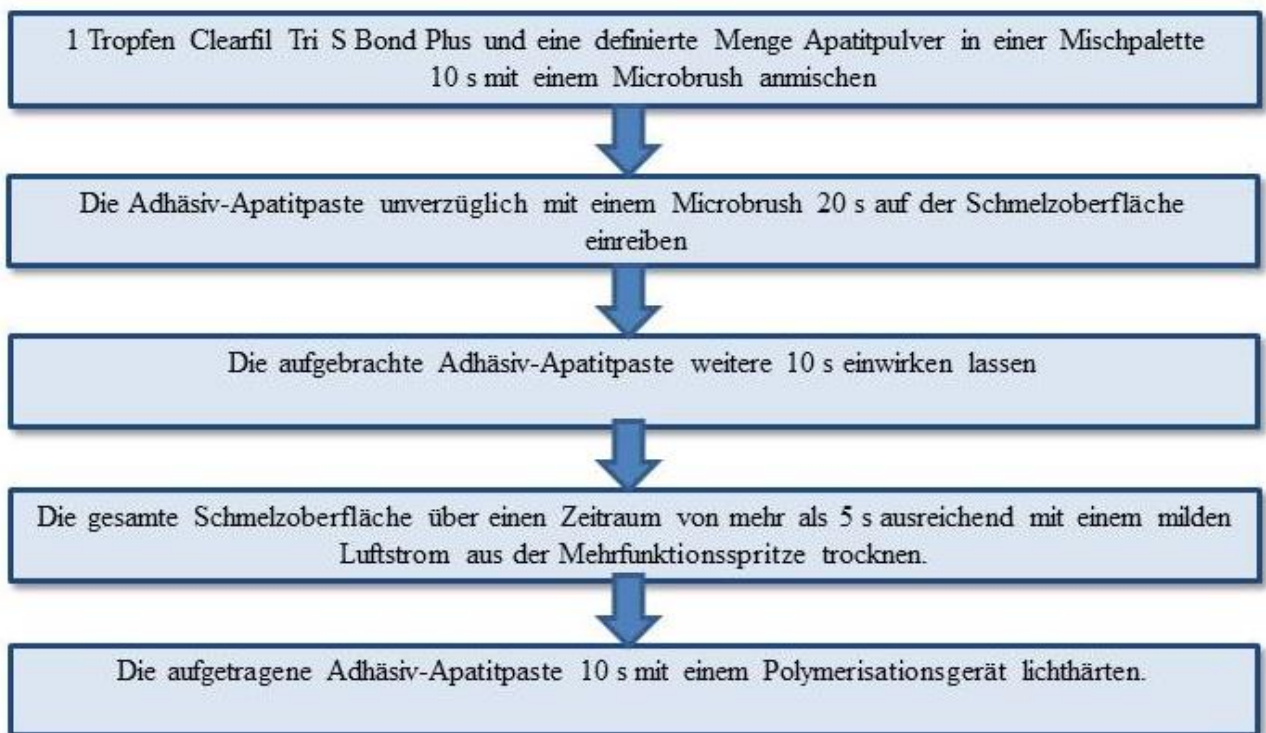
Die Schmelzprüfkörper für die Additivversuchsreihen wurden, wie schon zuvor beschrieben, vorbereitet. Die Schmelzoberfläche wurde mit Super Snap Politurscheiben (SHOFU Dental, D) und einem blauen Winkelstückes (INTRAmatic Lux2 20LN, KAVO Dental, D) bei 15000 U/min und maximaler Wasserkühlung vorpoliert. Eine Rillenmarkierung der Schmelzoberfläche erfolgte nicht.

Demineralisation

Die Schmelzoberfläche der Prüfkörper 17, 19, 21 und 23 wurde mit 35%igem Phosphorsäuregel (Ultra-Etch, Ultradent, USA) für 120 s demineralisiert und die Phosphorsäure mit dem Luft/Wasserspray der Multifunktionsspritze 20 s abgesprüht, danach mit der Lufterdüse der Multifunktionsspritze moderat trocken geblasen.

Adhäsiv-Apatitpasten mit Clearfil Tri S Bond Plus

Die Applikation der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten folgte den Herstellerangaben der Fa. Kuraray für die Indikationen der direkten Restaurationen mit lichtgehärtetem Komposit, der Kavitätenversiegelung als Vorbehandlung bei indirekter Restauration, sowie der Behandlung von freiliegenden Wurzeloberflächen (Tab. 3.12).



Tab. 3.12 Applikationsprotokoll für die Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten

Das Applikationsprotokoll wurde mit **einer Variation** durchgeführt. Bei fünf Schmelzprüfkörpern entfiel der Arbeitsschritt der Schmelz-Demineralisation.

Nach diversen Vorversuchen erschien es sinnvoll, die Adhäsiv-Apatitpasten mit festgelegten Mengen des Adhäsivs, 1 oder 2 Tropfen, und der Apatitpulver (3–30 mg) herzustellen. Nur so konnte eine Reproduzierbarkeit der Versuchsreihen, aber auch ein sinnvoller Vergleich der behandelten Schmelzprüfkörper gewährleistet werden. Die Tabellen 3.13a-c zeigen die Zusammensetzungen der mit dem Clearfil Tri S Bond Plus angemischten Adhäsiv-Apatitpasten, im Folgenden AAP genannt.

Tabelle 3.13a Zusammensetzung der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten (HAP1 und HAP2)

Adhäsiv-Nanopasten mit Clearfil Tri S Bond Plus			
AAP	Clearfil Tri S Bond Plus	Apatitpulver	Anzahl (n)
1	1 Tropfen	3 mg HAP1	2
2	1 Tropfen	5 mg HAP1	2
3	1 Tropfen	7 mg HAP1	1
4	1 Tropfen	15 mg HAP1	5
5	2 Tropfen	30 mg HAP1	1
6	1 Tropfen	3 mg HAP2	2
7	1 Tropfen	5 mg HAP2	2
8	1 Tropfen	7 mg HAP2	2
9	1 Tropfen	15 mg HAP2	6
10	2 Tropfen	30 mg HAP2	2

Tabelle 3.13b Zusammensetzung der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten (FAP1 und FAP2)

Adhäsiv-Nanopasten mit Clearfil Tri S Bond Plus			
AAP	Clearfil Tri S Bond Plus	Apatitpulver	Anzahl (n)
1	1 Tropfen	3 mg FAP1	2
2	1 Tropfen	5 mg FAP1	2
3	1 Tropfen	7 mg FAP1	10
4	1 Tropfen	15 mg FAP1	6
5	2 Tropfen	30 mg FAP1	2
6	1 Tropfen	3 mg FAP2	2
7	1 Tropfen	5 mg FAP2	2
8	1 Tropfen	7 mg FAP2	1
9	1 Tropfen	15 mg FAP2	1
10	2 Tropfen	30 mg FAP2	1

Die Besonderheit der Adhäsiv-Apatitpasten AAP 21-25 besteht in der Mischung von zwei Apatitpulvern und dem Adhäsiv Clearfil Tri S Bond Plus. Dabei wurden jeweils 7.5 mg der Apatitpulver mit einem Tropfen des Adhäsivs vermischt (Tab. 3.13c)

Tabelle 3.13c Clearfil Tri S Bond Plus (ein Tropfen)–Apatitpasten-Mischungen (alle 15 mg)

Adhäsiv-Nanopasten mit Clearfil Tri S Bond Plus und Apatitpulver-Mischungen			
AAP	Apatitpulver 1	Apatitpulver 2	Anzahl (n)
21	HAP1	HAP2	6
22	HAP1	FAP1	1
23	FAP1	FAP2	5
24	HAP2	FAP2	5
25	HAP2	FAP1	1

Versuchsreihe 4: Adhäsiv-Apatitpasten (Resulcin AquaPrime+MonoBond)

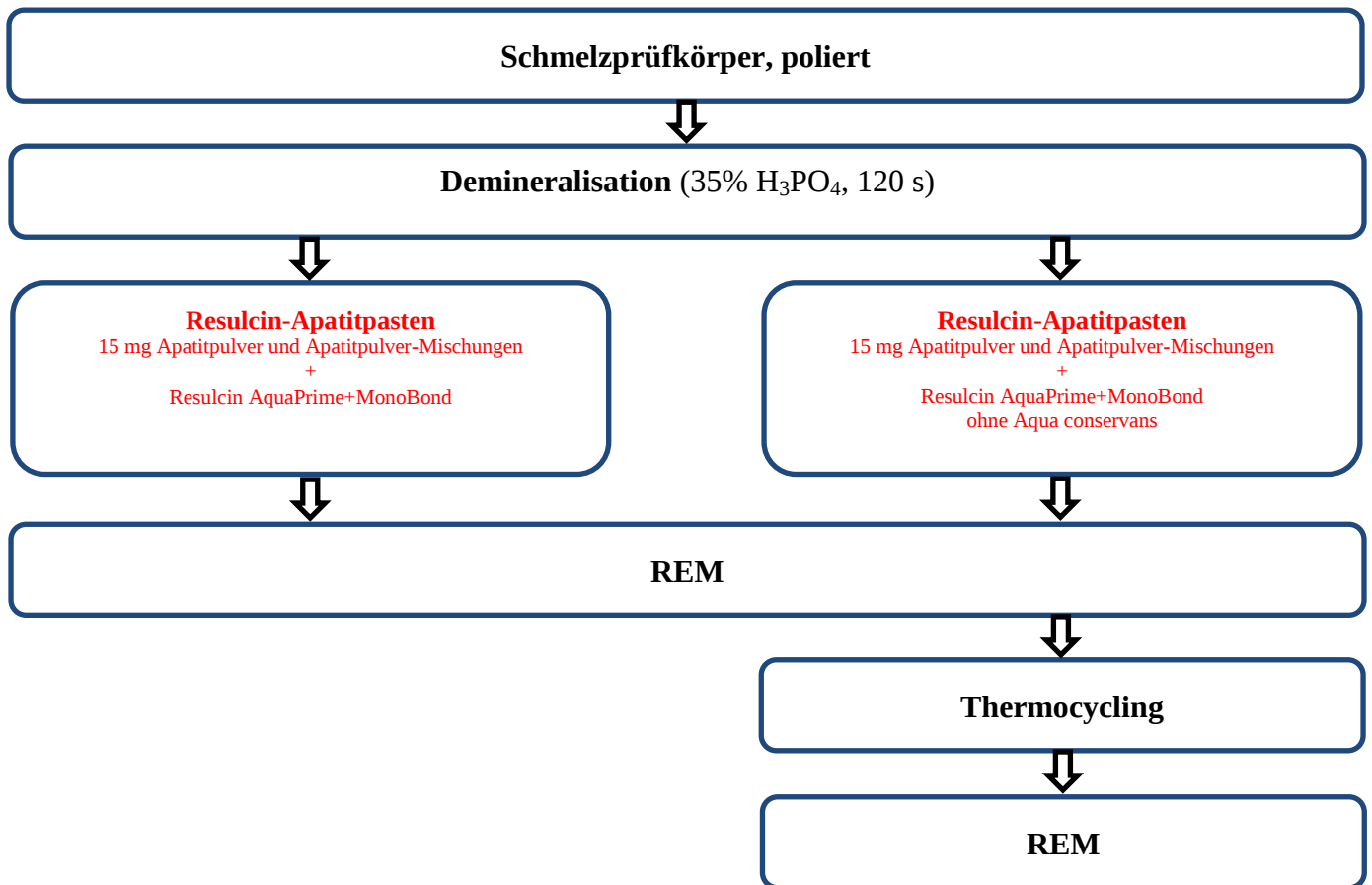
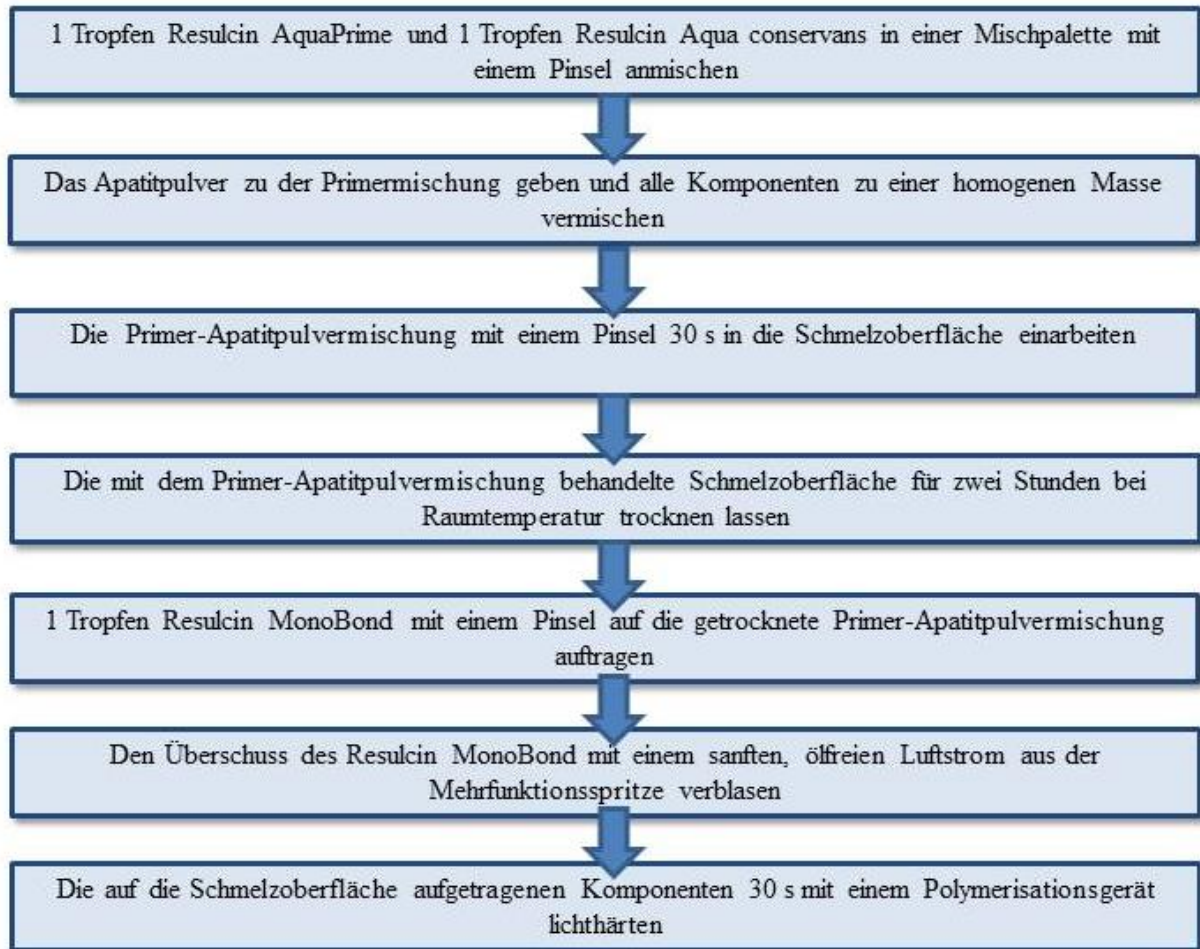


Abb. 3.14 Versuchsreihe 4 als Fließdiagramm

Adhäsiv-Apatitpasten mit Resulcin AquaPrime+MonoBond

Die Anwendung des Adhäsivs Resulcin AquaPrime+MonoBond entspricht den von der Fa. Merz vorgegebenen Anwendungsvorschriften für den chemischen Verbund zwischen Schmelz und lichthärtbaren Kompositen. Die Applikation der Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten folgt dem Applikationsprotokoll aus Tabelle 3.15.



Tab. 3.15 Applikationsprotokoll für die Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten

Die komplette Versuchsreihe wurde mit den in Tabelle 3.15 aufgeführten Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten auch als **Variante** ohne den Zusatz von Aqua conservans durchgeführt. Die Tabelle 3.16 zeigt im Detail die Bestandteile der Resulcin-Apatitpasten AAP26-AAP29.

Tabelle 3.16 Zusammensetzung der Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten

Adhäsiv-Nanopasten mit Resulcin und Nanomaterial			
AAP	Resulcin	Apatitpulver	Anzahl (n)
26	nach Protokoll	15 mg HAP2	2
27	nach Protokoll	30 mg HAP2	2
28	nach Protokoll	15 mg FAP1	2
29	nach Protokoll	30 mg FAP1	2

Polymerisation

Die Polymerisation der Nanomaterial-Adhäsiv-Mischungen erfolgte mit dem Modell „blue-phase G2“ der Firma Ivoclar Vivadent (Schaan, Liechtenstein). Als Belichtungsprogramm wurde in allen Adhäsiv-Versuchsreihen das Programm HIP (High Power) gewählt. In diesem Modus bleibt über die Dauer der Polymerisation eine konstante Lichtintensität von 1100mW/cm² erhalten.

3.3 Untersuchungsmethoden

Vorbereiten der Proben für die Untersuchung im REM

Um eine Probe der REM Untersuchung zugänglich zu machen, muss sie leitfähig, sauber, hochvakuumbeständig, stabil unter Elektronenbeschuss sein und eine hinreichend große Sekundärelektronenausbeute liefern [Stetter A, 2004]. Elektrisch nicht leitende Proben müssen in einem konventionellen REM mit einer leitfähigen Schicht überzogen werden, um Aufladungen zu vermeiden. Aus diesem Grund werden die Proben mit einer dünnen Schicht Kohlenstoff (20 nm) bedampft. Diese Schichten sind dünn genug, um die Oberflächenstruktur der Probe nicht zu verändern, erzeugen allerdings eine durchgehend leitfähige Schicht, die die Untersuchung im REM ermöglicht [Reingruber]. Die Kohlenstoffbedampfung wurde in einem sogenannten Sputter vorgenommen.

Alle REM-Untersuchungen wurden dem FEI XL 30 ESEM FEG Elektronenmikroskop der Fa. FEI durchgeführt (FEI, Eindhoven, Niederlande).

Mikrohärte nach Vickers

Um verlässliche Messwerte zu ermitteln, ist es erforderlich, die zu prüfende Fläche senkrecht zum Eindringkörper zu positionieren und den Prüfkörper auf einer stabilen Unterlage parallel zur Messfläche sicher zu befestigen. In der vorliegenden Versuchsreihe wurden die Schmelzprüfkörper auf einer Glasplatte in Arrow Traxx (R-dental, Hamburg) eingebettet (Abb. 3.17). Arrow Traxx ist ein modellierbares, lichthärtbares weiß-opakes Mikrohybrid-Komposit auf Dimethacrylatbasis (Abb. 3.17b). Es eignet sich hervorragend zur stabilen Fixierung der Schmelzprüfkörper. Nach dem Aushärten des Arrow Traxx mit der bluephase G2 (Ivoclar Vivadent), 20 s in HIP, resultiert eine ausreichend harte Unterlage, die eine präzise Messdurchführung gewährleistet.

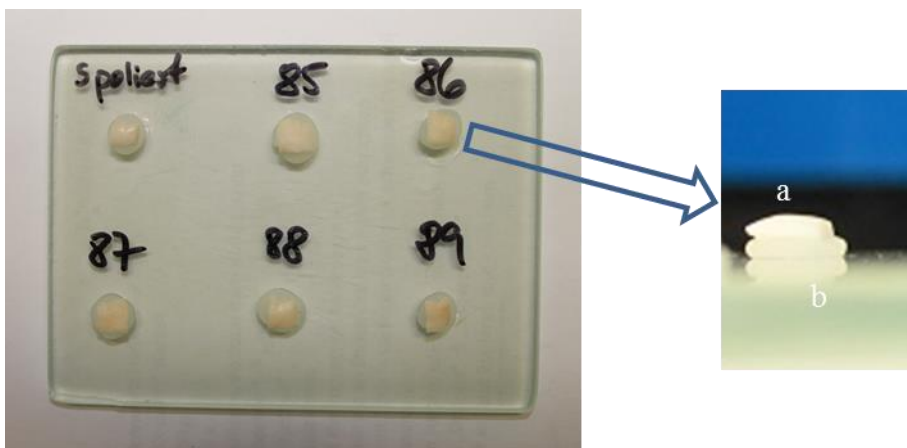


Abb. 3.17 Fixierung der Schmelzprüfkörper auf einer Glasplatte: a Schmelzprüfkörper, b eingebettet in Arrow Traxx.

In der vorliegenden Studie kam das Mikrohärtemessgerät Duramin 5 (Fa. Stuers, Ballerup, Dänemark) zur Anwendung. Die Messungen erfolgten durchgängig mit einer Kraft von 100 p und einer Expositionszeit von 10 s. Dabei war das Objektiv des angeschlossenen Auflichtmikroskops horizontal exakt gegen den Indentieraufsatz austauschbar. Jeder Schmelzprüfkörper wurde fünf Messungen unterzogen. Aus den fünf Messwerten eines jeden Prüfkörpers wurde der Mittelwert ermittelt. Die Tabelle 3.18 führt im Detail die Schmelzprüfkörper ($n = 7$) auf, die einer Mikrohärteprüfung unterzogen wurden. Geprüft wurden 15 mg und 30 mg Adhäsiv-Apatitmischungen aus der Clearfil Tri S Bond Plus Versuchsreihe.

Tabelle 3.18 Schmelzprüfkörper, an denen Mikrohärtemessungen erfolgten

Clearfil Tri S Bond Plus
AAP 4 = HAP1 15 mg
AAP 5 = HAP1 30 mg
AAP 14 = FAP1 15 mg
AAP 15 = FAP1 30 mg
AAP 21 = HAP1 und HAP2 15 mg
AAP 23 = FAP1 und FAP2 15 mg
AAP 24 = HAP2 und FAP2 15 mg

Säuretoleranz

Mit ausgewählten Schmelzprüfkörpern der Clearfil- und der Resulcin-Versuchsreihen wurde ein Säuretoleranztest durchgeführt (Tabelle 3.19).

Tabelle 3.19 Schmelzprüfkörper für den Säuretoleranztest

Clearfil Tri S Bond Plus	Resulcin AquaPrime+MonoBond
AAP 4 = HAP 15 mg	AAP 26 = HAP2 15 mg
AAP 21 = HAP1 und HAP2 15 mg	AAP 27 = HAP2 30 mg
AAP 23 = FAP1 und FAP2 15 mg	AAP 28 = FAP1 15 mg
AAP 25 = FAP1 und HAP2 15 mg	AAP 29 = FAP1 30 mg

Dazu wurde für 5 min Ultra-Etch (Ultradent, USA), 35%ige Phosphorsäure, auf die behandelte Oberfläche der Schmelzprüfkörper appliziert, danach mit dem Luft/Wasserspray der Multifunktionsspritze unter maximalem Druck 20 s abgesprüht und mit der Luftdüse der Multifunktionsspritze moderat trocken geblasen. Mögliche Mikrostrukturveränderungen wurden im REM untersucht.

Thermocycling

Eine Methode der Alterungssimulation von Materialien in der Zahnheilkunde ist die Temperaturwechselbelastung durch Thermocycling. In Tabelle 3.20 sind die dem Thermocycling-Prüfverfahren zugeführten Schmelzprüfkörper aufgelistet.

Tabelle 3.20 Schmelzprüfkörper für die Thermocycling-Materialprüfung

Clearfil Tri S Bond Plus	Resulcin AquaPrime+MonoBond
AAP 8 = HAP2 7 mg (n=1)	AAP 26 = HAP2 15 mg (n=1)
AAP 9 = HAP2 15 mg (n=5)	AAP 27 = HAP2 30 mg (n=1)
AAP 10 = HAP2 30 mg (n=1)	AAP 28 = FAP 15 mg (n=1)
AAP 13 = FAP1 7 mg (n=5)	AAP 29 = FAP 30 mg (n=1)
AAP 14 = FAP1 15 mg (n=5)	
AAP 15 = FAP1 30 mg (n=1)	
AAP 21 = HAP1 und HAP2 15 mg (n=1)	
AAP 25 = FAP1 und HAP2 15 mg (n=1)	

Die in A-Silikon (Imprint 4 Penta Heavy, 3M, Neuss, D) eingebetteten Schmelzprüfkörper wurden einer thermischen Wechselbelastung von 2500 Zyklen in einem Thermocycling Prüfsystem (Willytec Thermocycler V 2.8, SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen-Westerham, Deutschland) ausgesetzt. Dabei tauchten die Probenkörbe für jeweils 30 s abwechselnd in ein 5 °C und ein 55 °C temperiertes Wasserbad mit dest. Wasser. Die Mikrostrukturveränderungen wurden im REM untersucht.

4 Ergebnisse

Alle Schmelzprüfkörper wurden nach Durchführung der Versuchsreihen einer qualitativen Bewertung mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskopes (REM) unterzogen.

Die Behandlung der Schmelzprüfkörper mit Apatitpasten führte zu mehr oder weniger ausgeprägten morphologischen Veränderungen auf der Schmelzoberfläche.

4.1 Versuchsreihe 1: Apatitpasten R1–R4

Alle Prüfkörper der ersten Versuchsreihe wurden aus extrahierten humanen Molaren gewonnen. Auf der nicht polierten Oberfläche wurden Markierungen angebracht (Abb. 4.1a), basal wurde eine Sollbruchstelle für die Bruchpräparate vorbereitet (Abb. 4.1b und 3.6b).

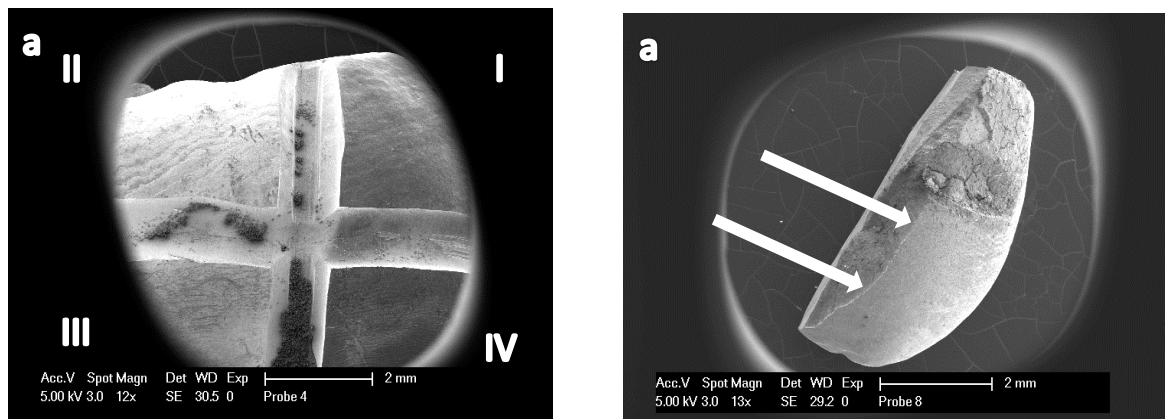


Abb. 4.1 Repräsentative REM-Aufnahmen. a: Markierungen auf der Schmelzoberfläche, Prüfkörper 4. b: Bruchpräparat Prüfkörper 8, untersuchte Schmelzoberfläche (Pfeile). Originalvergrößerungen: 12fach(a), 13fach(b).

Die Einteilung in vier Zonen ermöglichte eine unterschiedliche Vorbehandlung und damit eine erhöhte Variationsbreite auf demselben Präparat (Abb. 4.2).

Tabelle 4.2 Vorbehandlung der Zonen I–IV

II	Demineralisation mit 35% H_3PO_4	Unbehandelt	I
III	Demineralisation mit 35% H_3PO_4, Konditionierung mit 17% H_3PO_4 (außer Prüfk. 1, 5, 9, 13)	Konditionierung mit 17% H_3PO_4 (außer Prüfk. 1, 5, 9, 13)	IV

Als Referenzaufnahmen für alle morphologischen Veränderungen der Schmelzoberfläche dienten REM-Aufnahmen von natürlichen, unbehandelten Schmelzoberflächen (Abb. 4.3a) und natürlichen, aber demineralisierten Schmelzoberflächen (Abb. 4.3b).

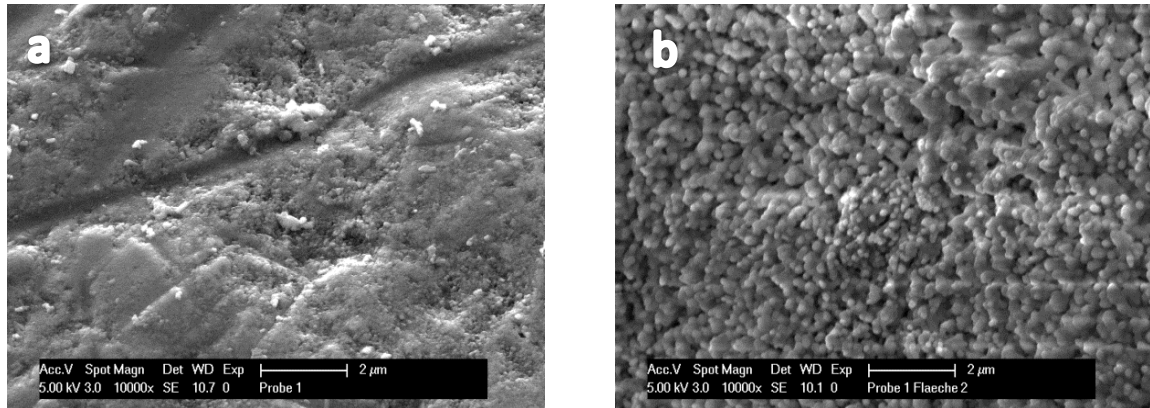


Abb. 4.3 Repräsentative REM-Aufnahmen. a: einer natürlichen, unbehandelten Schmelzoberfläche b: einer natürlichen, demineralisierten Schmelzoberfläche. Originalvergrößerungen 10 000fach.

Apatitpaste R1 (HAP1-pH 1)

Die Prüfkörper 1–4 dokumentieren die Ergebnisse der Versuchsvariante mit der Apatitpaste **R1** (HAP1, pH 1). Die REM-Aufnahmen der **Zonen III** zeigen unterschiedliche Oberflächenstrukturen (Abb. 4.4). Die in 1000facher Vergrößerung netzartigen Auflagerungen (Abb. 4.5a) erscheinen bei 10000facher Vergrößerung als eher dicht gepackte, amorphe Strukturen mit kugelförmigen Einlagerungen (Abb. 4.4b-e). Auf dem Bruchpräparat von Prüfkörper 4 ist eine, sich deutlich von der natürlichen Schmelzoberfläche abgrenzende dichte, amorphe Auflagerung zu sehen (Abb. 4.4f, Pfeil). Zwischen den amorphen Auflagerungen der konditionierten (Abb. 4.4c-e) und nicht konditionierten (Abb. 4.4a, b) Prüfkörpern besteht praktisch kein Unterschied.

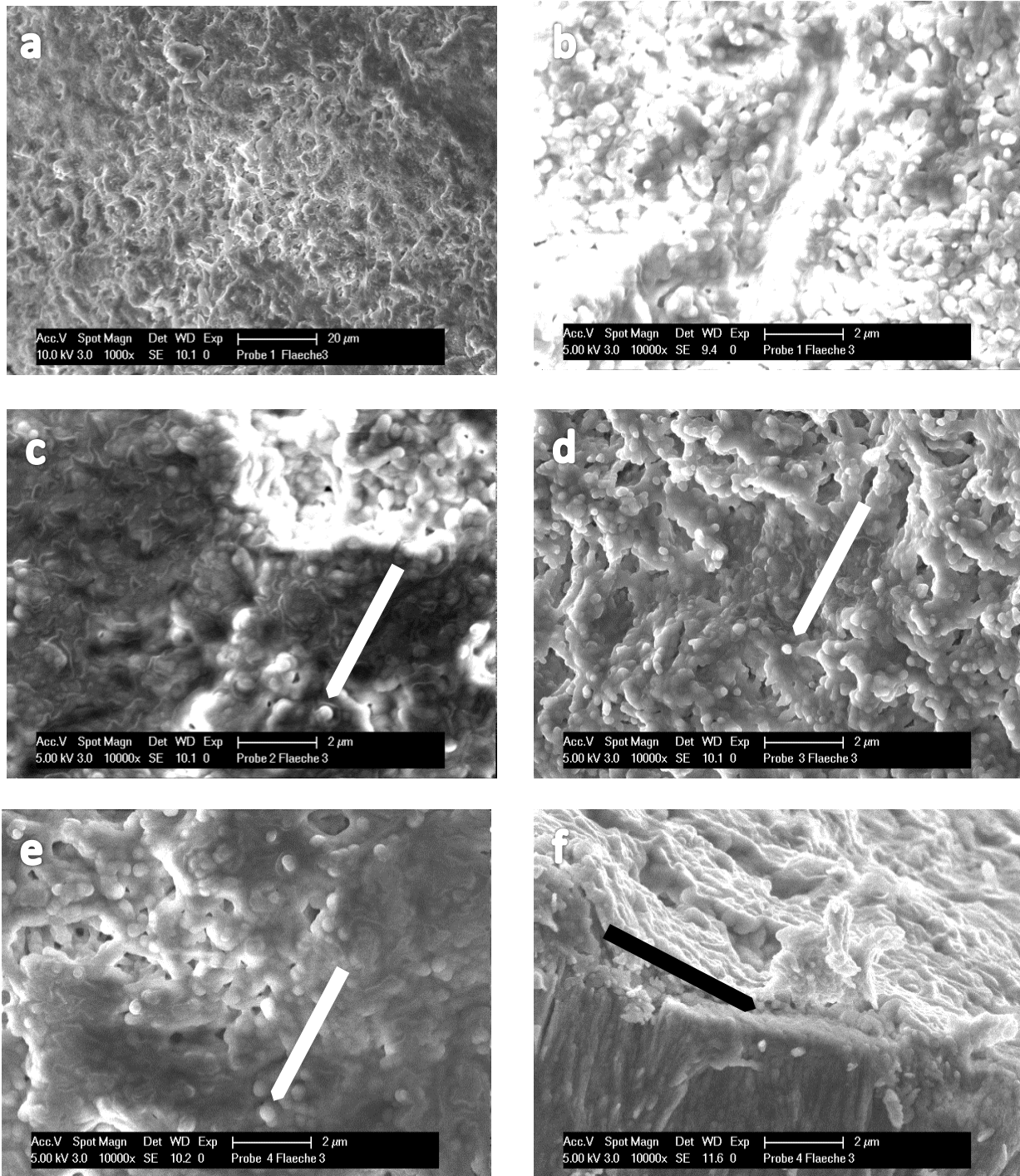


Abb. 4.4 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R1 behandelten Schmelzoberflächen, demineralisiert, amorphe Auflagerungen mit kugelförmigen Strukturen (Pfeile c-e). a,b: Prüfkörper 1(ohne Konditionierung, 15 min Zyklus). c: Prüfkörper 2 (15 min Zyklus). d: Prüfkörper 3 (3x15 min Zyklen). e: Prüfkörper 4 (30 min Zyklus). f: Bruchpräparat von Prüfkörper 4, der Pfeil zeigt die Grenzfläche Schmelz - Präzipitate. Originalvergrößerungen 1 000fach (a), 10 000fach (b-f).

Die Präzipitate auf den vorher nicht demineralisierten **Zonen IV** der Prüfkörper 1–4, behandelt mit HAP1 bei pH 1 (**R1**), unterscheiden sich augenscheinlich von den Auflagerungen der demineralisierten **Zone III**. Auf der weder demineralisierten, noch konditionierten Schmelzoberfläche des Prüfkörpers 1 (Abb. 4.5a) sind vereinzelte kristalline Präzipitate, vermutlich HAP1 (Pfeil), zu sehen; tendenziell geringfügig mehr Präzipitate auf dem Prüfkörper 3, der mit 3x15 min behandelt wurde (Abb. 4.5c).

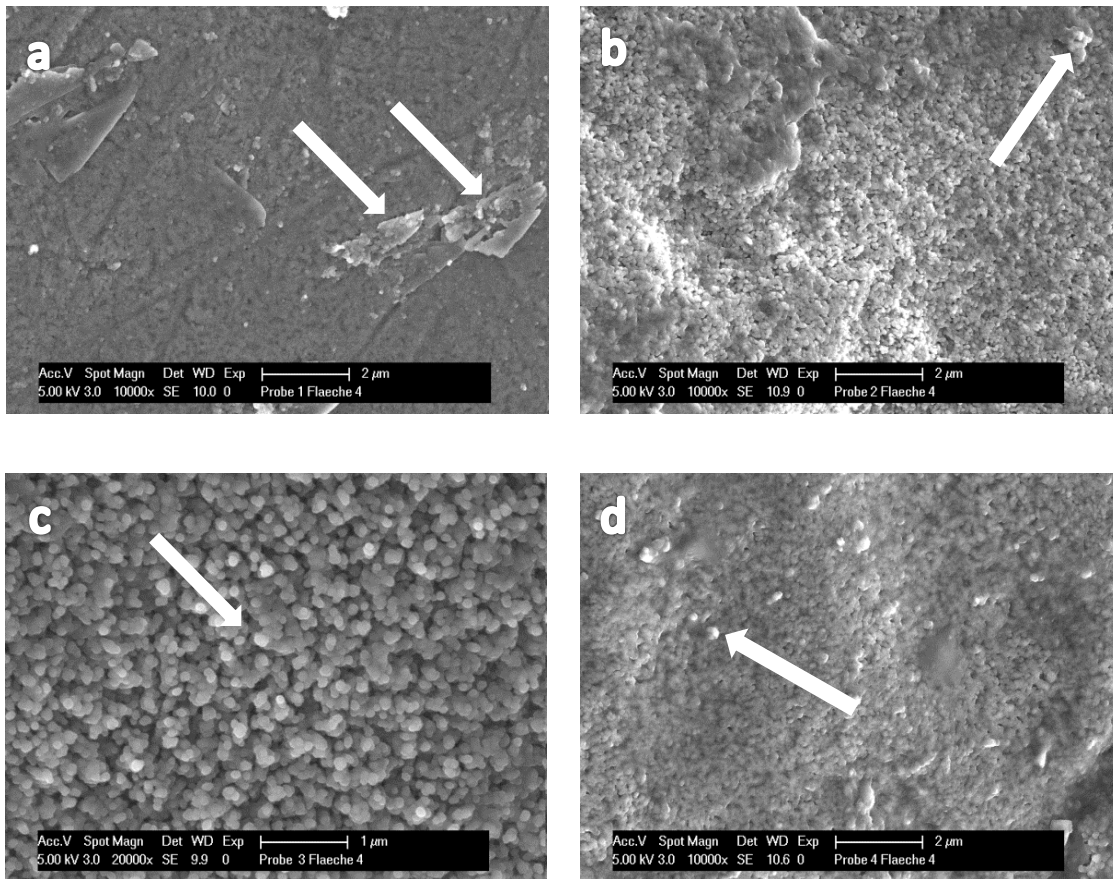


Abb. 4.5 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R1 behandelten Schmelzoberflächen, nicht demineralisiert, auffällig wenige kugelförmige Präzipitate, vermutlich HAP Kristalle (Pfeile a–d). a: Prüfkörper 1(ohne Konditionierung, 15 min Zyklus). b: Prüfkörper 2 (15 min Zyklus). c: Prüfkörper 3 (3x15 min Zyklen). d: Prüfkörper 4 (30 min Zyklus). Originalvergrößerungen 10 000fach (a, b, d), 20 000fach (c).

Apatitpaste R2 (HAP1-pH 7)

Bei den Prüfkörpern 5–8 wurde die Versuchsreihe mit der Apatitpaste **R2** (HAP1, pH 7) durchgeführt. In Abb. 4.6 sind die Ergebnisse der vorher demineralisierten **Zonen III** aufgelistet. Auffällig ist eine große Menge an kristallinen Präzipitaten, ähnlich dem HAP1-Kristall (Abb. 4.6a, b, d, Pfeile), wobei der nicht konditionierte Prüfkörper 5 eine verhältnismäßig geringere Auflage an Präzipitaten zeigt. Einzig der Prüfkörper 7 fällt durch eine dichte Auflagerung an amorphen Strukturen auf (Abb. 4.6c). Das Bruchpräparat des Prüfkörpers 8 weist eine deutliche Grenzfläche (Pfeil) zwischen natürlicher Schmelzoberfläche und der kristallinen Auflagerung auf (Abb. 4.6e). Aufgrund der deutlich erkennbaren Grenzfläche konnte die Schichtdicke der kristallinen Auflagerung mit 65,5µm ausgemessen werden.

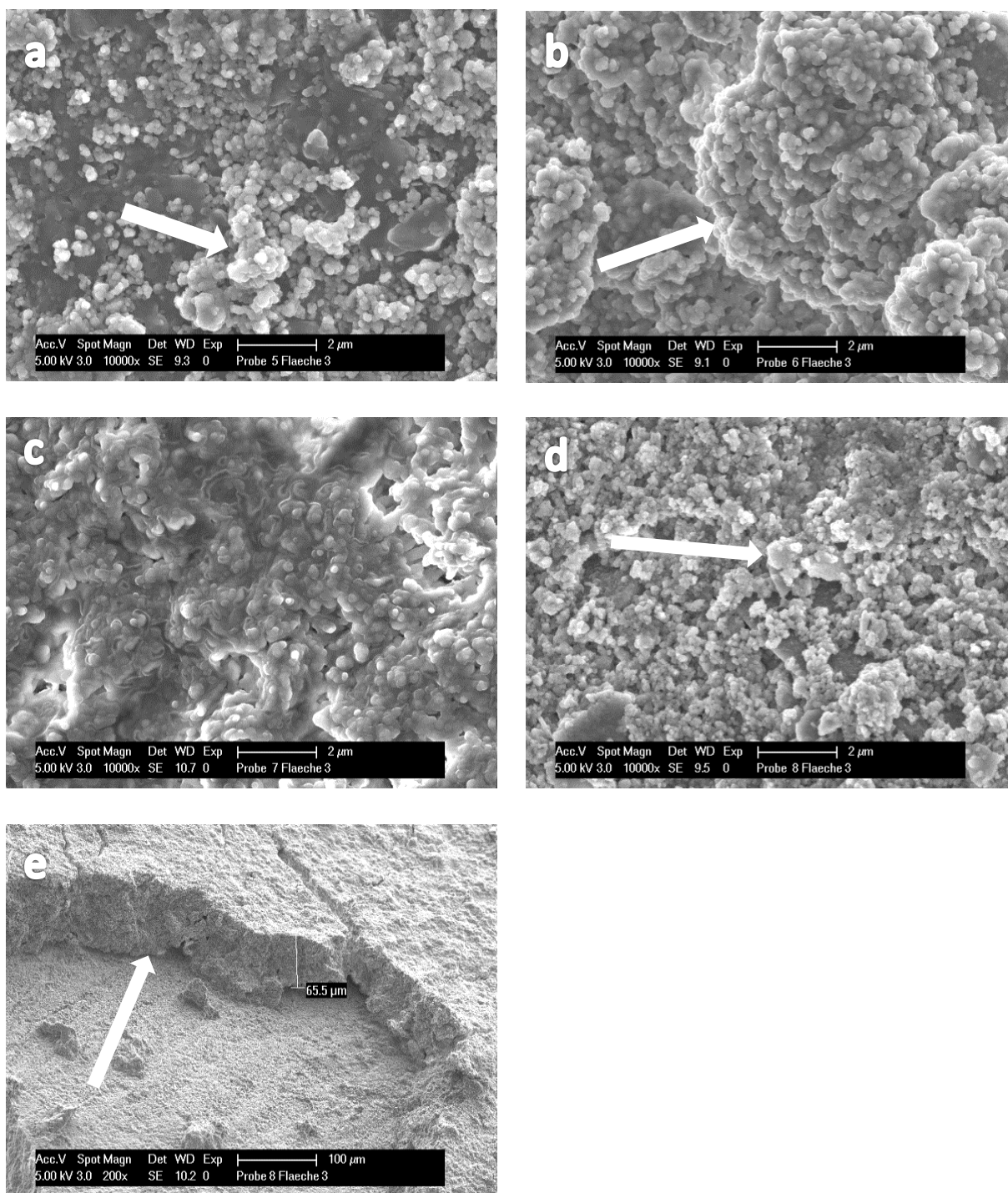


Abb. 4.6 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R2 behandelten Schmelzoberflächen, demineralisiert, mit zunehmender Zyklusanzahl (c) und Zyklusdauer (d, e) auch eine Zunahme an kristallinen Auflagerungen auf der Schmelzoberfläche (Pfeile a, b, d), amorphe Auflagerungen (c). a: Prüfkörper 5 (ohne Konditionierung, 15 min Zyklus). b: Prüfkörper 6 (15 min Zyklus). c: Prüfkörper 7 (3x15 min Zyklen). d: Prüfkörper 8 (30 min Zyklus). e: Bruchpräparat von Prüfkörper 8, Pfeil: Grenzfläche - Präzipitate. Pfeile a, b, d: vermutlich HAP1 Kristalle. Originalvergrößerungen 10 000fach (a-d), 200fach (e).

Die Präzipitatablagerungen auf den REM-Aufnahmen der **Zonen IV** der Prüfkörper 5–8 unterscheiden sich kaum von denen der Zone III. Die typische HAP1 Kristallstruktur ist auf allen Prüfkörpern wiederzufinden (Abb. 4.7a, c: Pfeile). Auf dem nicht konditionierten Prüfkörper 5 (Abb. 4.7a) erscheinen sie in weitaus geringerer Anzahl, als auf den Prüfkörpern 6 und 7 (Abb. 4.7b, c), am dichtesten gepackt auf dem Prüfkörper 8 (Abb. 4.7d).

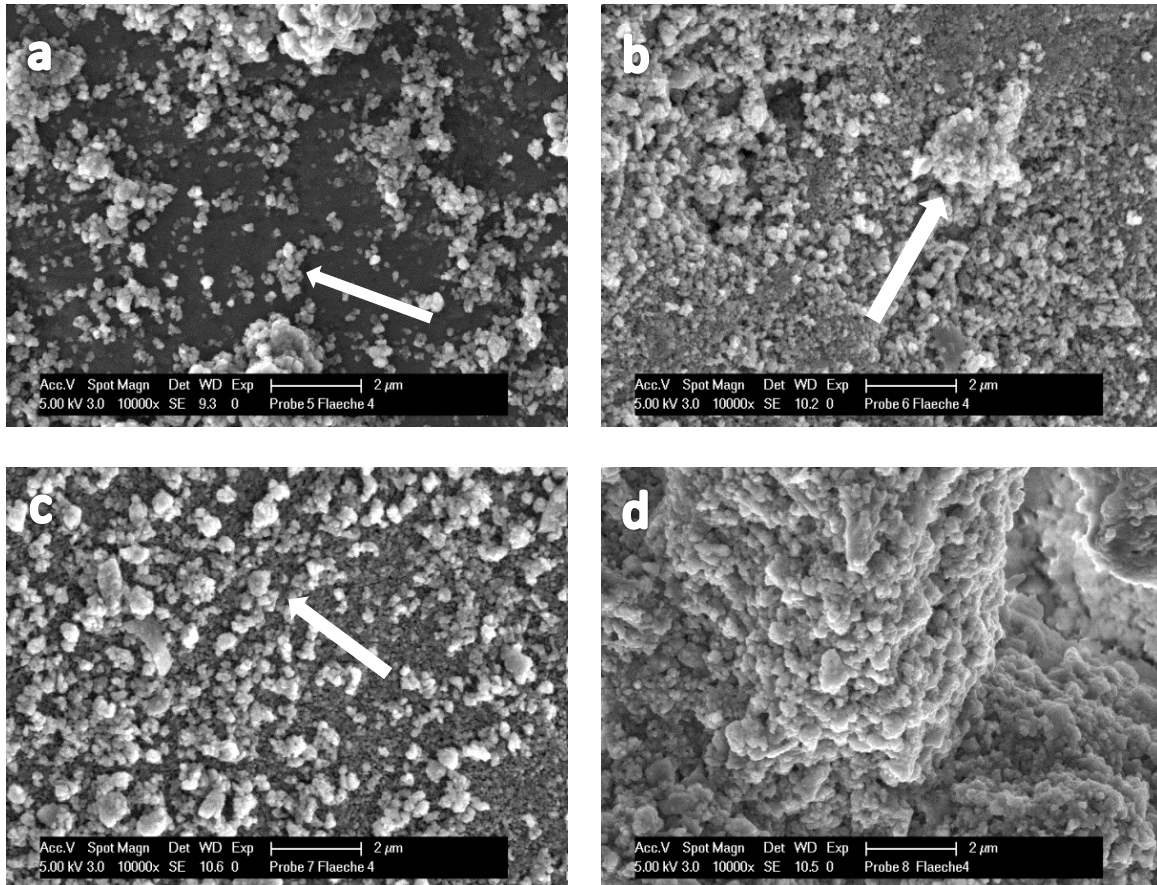


Abb. 4.7 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R2 behandelten Schmelzoberflächen, nicht demineralisiert, vereinzelt lose aufgelagerte kristalline Präzipitate (Pfeile a–c), auffällig dicht gepackte kristalline Anhäufungen auf Prüfkörper 8 (30 min Zyklus). a: Prüfkörper 5 (ohne Konditionierung, 15 min Zyklus). b: Prüfkörper 6 (15 min Zyklus). c: Prüfkörper 7 (3x15 min Zyklen). d: Prüfkörper 8 (30 min Zyklus). Pfeile a,c: vermutlich HAP1 Kristalle. Originalvergrößerungen 10 000fach (a–d).

Apatitpaste R3 (FAP1-pH 1)

Die Prüfkörper 9–12 dokumentieren die Ergebnisse der Versuchsvariante mit der Apatitpaste **R3** (FAP1, pH 1). Auf fast allen REM–Aufnahmen der **Zonen III** der Prüfkörper 9–12 sind nur einzelne stäbchenförmige kristalline Präzipitate, vermutlich FAP1 Kristalle, auf den demineralisierten Schmelzoberflächen zu sehen (Abb. 4.8a, c–f: Pfeile); auf der Oberfläche des Prüfkörpers 10 (Abb. 4.9b) sind keine Präzipitate erkennbar. Der Prüfkörper 12 (30 min Zyklus) zeigt dagegen eine dicht gepackte Auflagerung an stäbchen förmigen Strukturen, praktisch ohne Grenzfläche zur natürlichen Schmelzoberfläche (Abb. 4.8e, f).

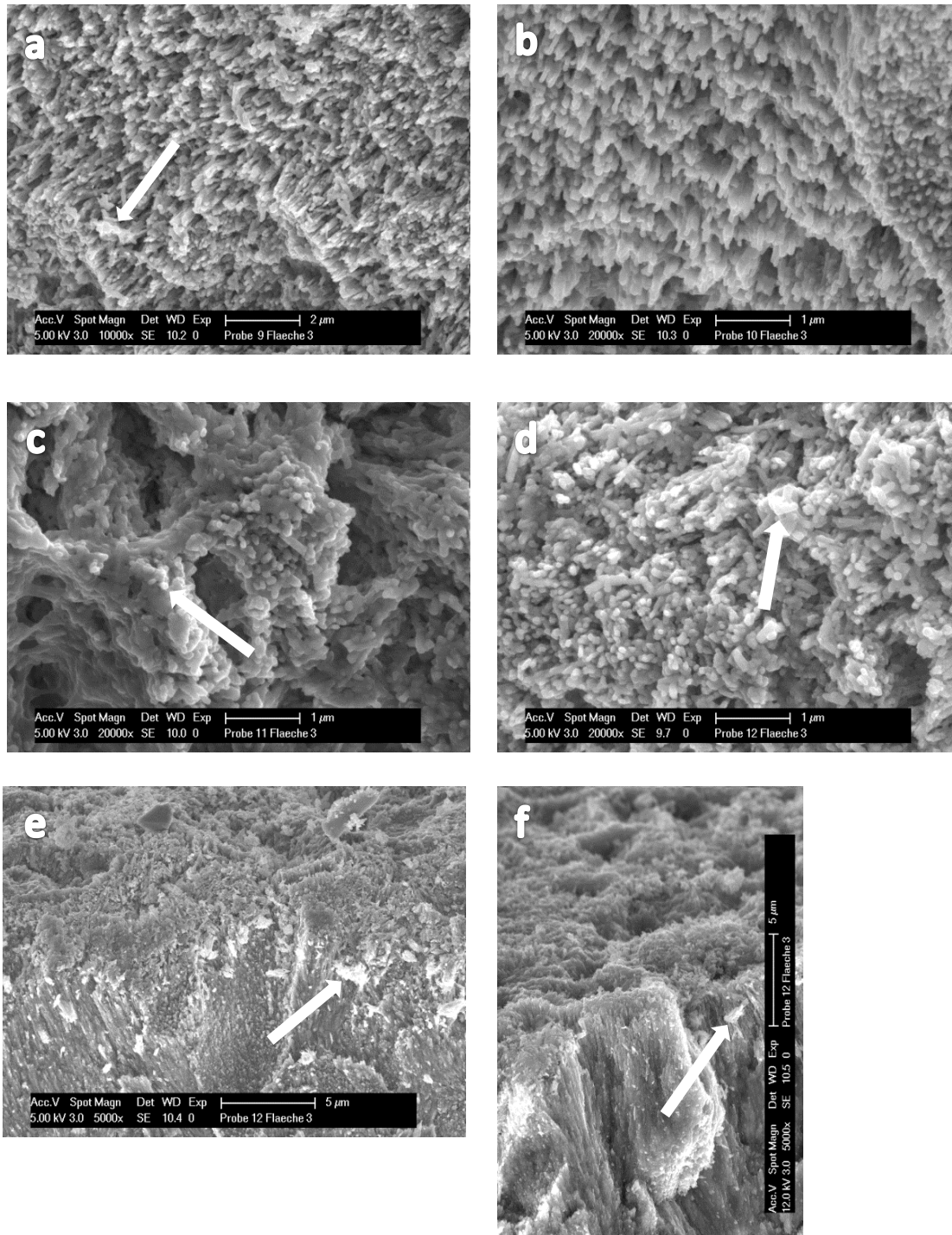


Abb. 4.8 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R3 behandelten Schmelzoberflächen, demineralisiert, mit zunehmender Zykluswiederholung (c) und Zyklusdauer (d) mehr kristalline Präzipitate (Pfeile a, c–f), Prüfkörper b (15 min Zyklus) ohne Präzipitate. a: Prüfkörper 9 (ohne Konditionierung, 15 min Zyklus). b: Prüfkörper 10 (15 min Zyklus). c: Prüfkörper 11 (3x15 min Zyklen). d: Prüfkörper 12 (30 min Zyklus). f: Bruchpräparat von Prüfkörper 12. Pfeile a, c–f: FAP1 Kristalle. Originalvergrößerungen 5000fach (e, f), 10 000fach (a), 20 000fach (b, c, d).

Die Applikation der Apatitpaste **R3** hinterließ auf den nicht demineralisierten **Zonen IV** der Prüfkörper 9–12 mehr oder weniger vereinzelte, lose aufliegende Präzipitate an FAP1 Kristallen (Abb. 4.9, Pfeile). Der Prüfkörper 9, der auch nicht konditioniert wurde, zeigt dabei auffällig eine größere Anzahl an kristallinen stäbchenförmigen Strukturen (Abb. 4.9a).

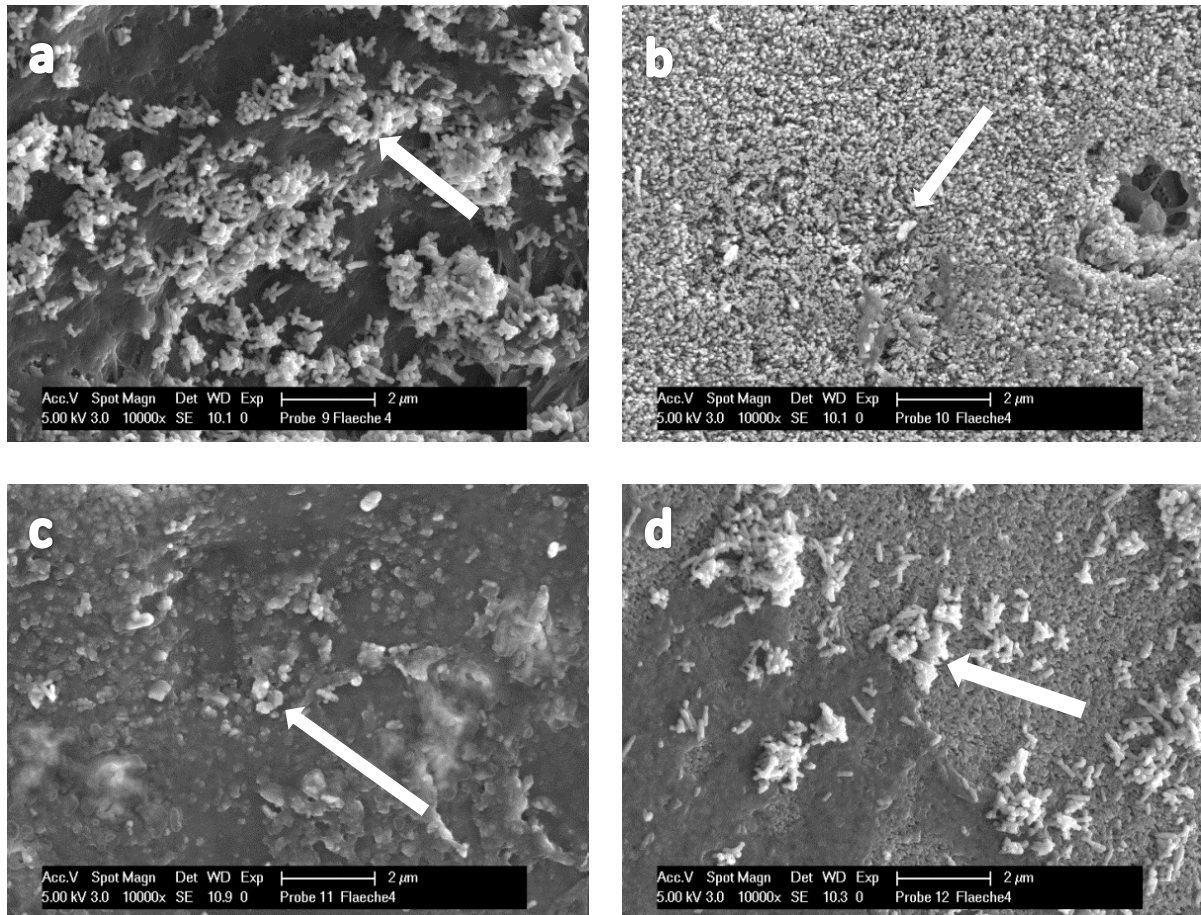


Abb. 4.9 REM-Aufnahmen der mit FAP1 bei pH 1 behandelten Schmelzoberflächen, nicht demineralisiert, wenige, lose aufliegende FAP Kristalle (Pfeile a–d). a: Prüfkörper 9 (ohne Konditionierung, 15 min Zyklus). b: Prüfkörper 10 (15 min Zyklus). c: Prüfkörper 11 (3x15 min Zyklen). d: Prüfkörper 12 (30 min Zyklus). Originalvergrößerungen 10 000fach (a–d).

Apatitpaste R4 (FAP1-pH 7)

Bei den Prüfkörpern 13–16 wurde die Versuchsreihe mit der Apatitpaste **R4** (FAP1, pH 7) durchgeführt. Die Oberfläche des Prüfkörpers 13, nicht konditioniert, zeigt eine typische demineralisierte Schmelzoberfläche ohne kristalline Präzipitate (Abb. 4.10a). Auf den Oberflächen der demineralisierten und kondensierten **Zonen III** der Prüfkörper 14–16 fallen dagegen dicht gepackte Präzipitatauflagerung auf. Zusätzlich lassen sich vereinzelt stäbchenförmige kristalline Strukturen auf der Präzipitatoberfläche ausmachen, bei denen es sich vermutlich

um FAP1 Kristalle handelt (Abb. 4.10b–f). Das Bruchpräparat verdeutlicht die dicht gepackte Präzipitatauflagerung, ohne Grenzfläche zur natürlichen Schmelzoberfläche (Abb. 4.10e–f).

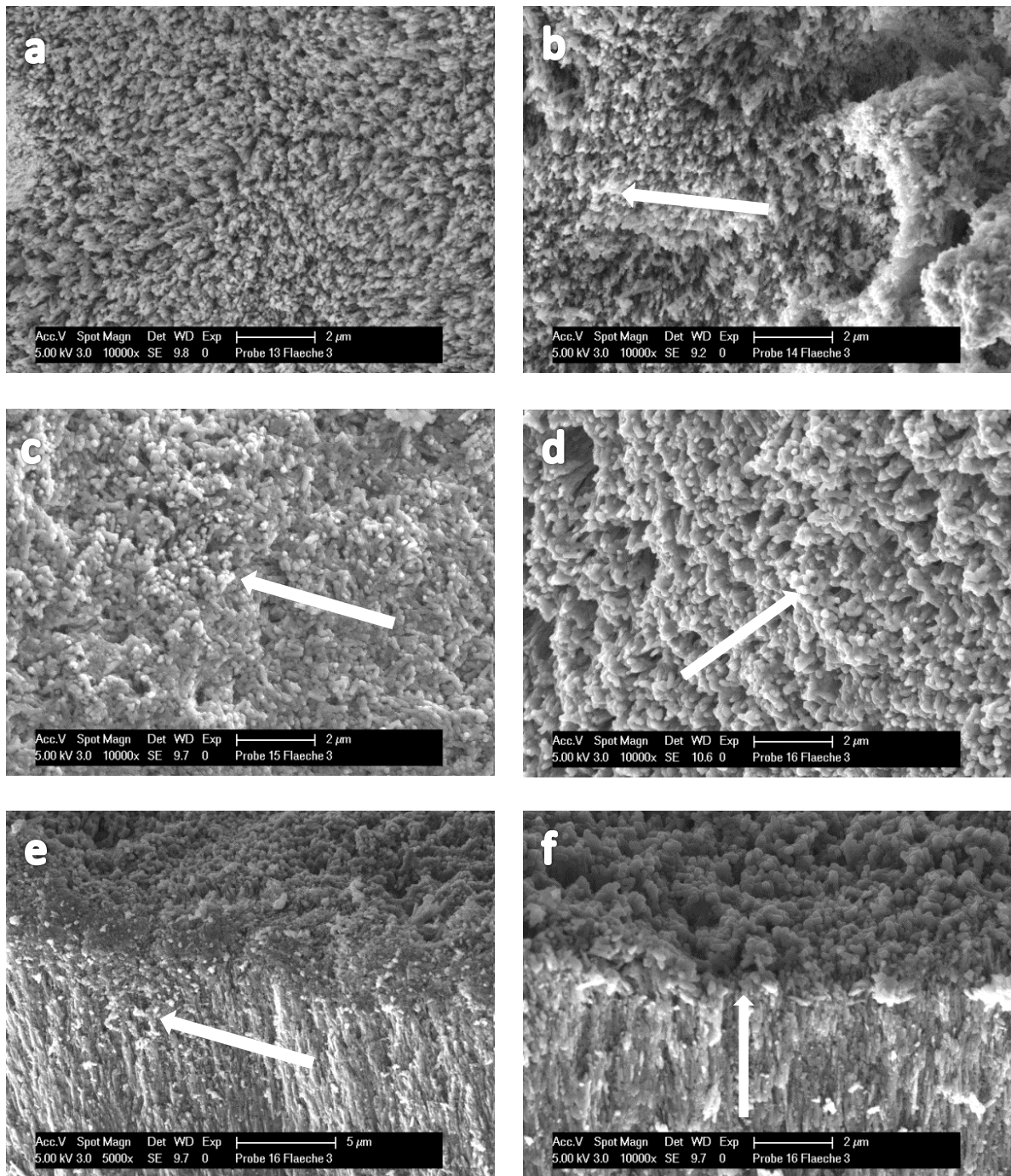


Abb. 4.10 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R4 behandelten Schmelzoberflächen, demineralisiert, kompakte Auflagerungen, die natürliche Schmelzoberfläche bedeckend (b–f), stäbchenförmige FAP1 Kristalle (Pfeile b–e). a: Prüfkörper 13 (ohne Konditionierung, 15min Zyklus). b: Prüfkörper 14 (15min Zyklus). c: Prüfkörper 15 (3x15min Zyklen). d: Prüfkörper 16 (30min Zyklus). e, f: Prüfkörper 16 Bruchpräparat (Präzipitatauflagerung ohne Grenzfläche, Pfeil e). Originalvergrößerungen 5000fach (e), 10 000fach (a–d, f).

Die Verteilung der stäbchenförmigen kristallinen Präzipitate zeigt auf allen REM-Aufnahmen der **Zonen IV**, der nicht demineralisierten Prüfkörper 12–16, ein ähnliches Muster (Abb. 4.11). Deutlich erkennbar sind lose aufgelagerte stäbchenförmige Kristalle (Pfeile), vermutlich FAP1 Kristalle.

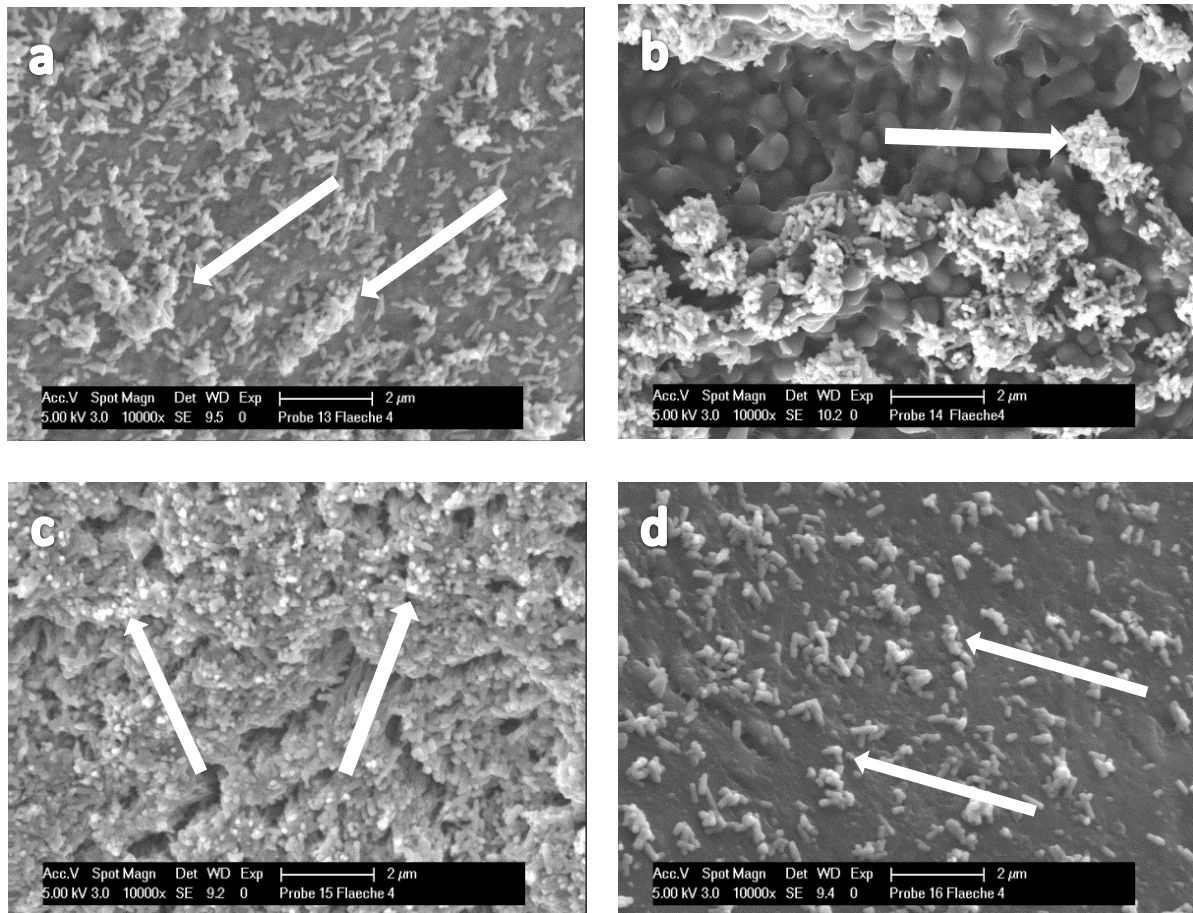


Abb. 4.11 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R4 behandelten Schmelzoberflächen, nicht demineralisiert, nur lose aufgelagerte FAP1 Kristalle (Pfeile a–d). a: Prüfkörper 13 (ohne Konditionierung, 15 min Zyklus). b: Prüfkörper 14 (15 min Zyklus). c: Prüfkörper 15 (3x15 min Zyklen). d: Prüfkörper 16 (30 min Zyklus). Originalvergrößerungen 10 000fach (a–d).

4.2 Versuchsreihe 2: Apatitpasten R1–R4

Alle Prüfkörper der zweiten Versuchsreihe wurden aus extrahierten humanen Molaren gewonnen. Die Schmelzoberfläche wurde poliert, basal wurde eine Sollbruchstelle für die Bruchpräparate vorbereitet.

Konstant blieben bei allen Prüfkörpern die Konditionierung mit 17% H_3PO_4 , die Zyklusdauer von 30 min und die Nachbehandlung mit der Mehrfunktionsspritze, MF.

Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe unterschieden sich zum Teil signifikant von den Ergebnissen der ersten Versuchsreihe. Deshalb werden die Ergebnisse der Prüfkörper 4, 8, 12 und 16, die einem identischen Versuchsablauf unterzogen wurden, nochmals aufgeführt. Die Versuchsreihen unterscheiden sich lediglich in der Vorbehandlung der Prüfkörper (die Schmelzoberflächen der ersten Versuchsreihe wurden in ihrem natürlichen Zustand belassen, die der zweiten Versuchsreihe wurden poliert) und ihrer Nachbehandlung (die Apatitpasten wurden in der ersten Versuchsreihe mit Aqua purificata aus der Spritzflasche abgewaschen, in der zweiten Versuchsreihe dagegen mit einer Mehrfunktionsspritze abgesprüht). Als Referenzaufnahme dient die REM-Aufnahme einer vorpolierten, aber nur demineralisierten Schmelzoberfläche (Abb. 4.12).

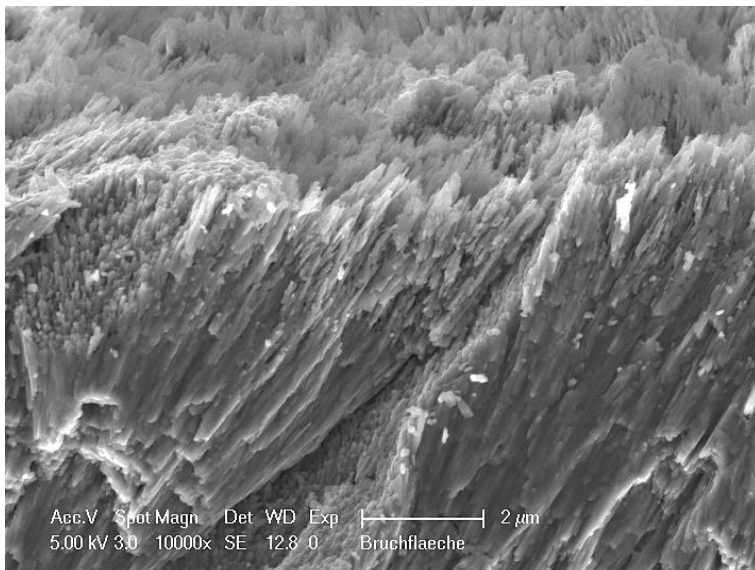


Abb. 4.12 Repräsentative REM-Aufnahme einer vorpolierten, demineralisierten Schmelzoberfläche. Originalvergrößerung 10 000fach-10 000fach (b).

Apatitpaste R1 (HAP1-pH 1)

Die Prüfkörper 17 und 18 wurden mit der Apatitpaste **R1** (HAP1, pH 1) behandelt. Die REM-Aufnahmen des Prüfkörpers 17, der demineralisiert und konditioniert wurde, zeigen das typische Bild von demineralisiertem Schmelz, völlig frei von Präzipitaten (Abb. 4.13a, b). Im Vergleich dazu die REM-Aufnahmen des Prüfkörpers 4, Zone III: amorphe Auflagerungen mit einer deutlich sichtbaren Grenzfläche zur Schmelzoberfläche (Abb. 4.13c, d, Pfeil: Grenzfläche Schmelz-Auflagerung).

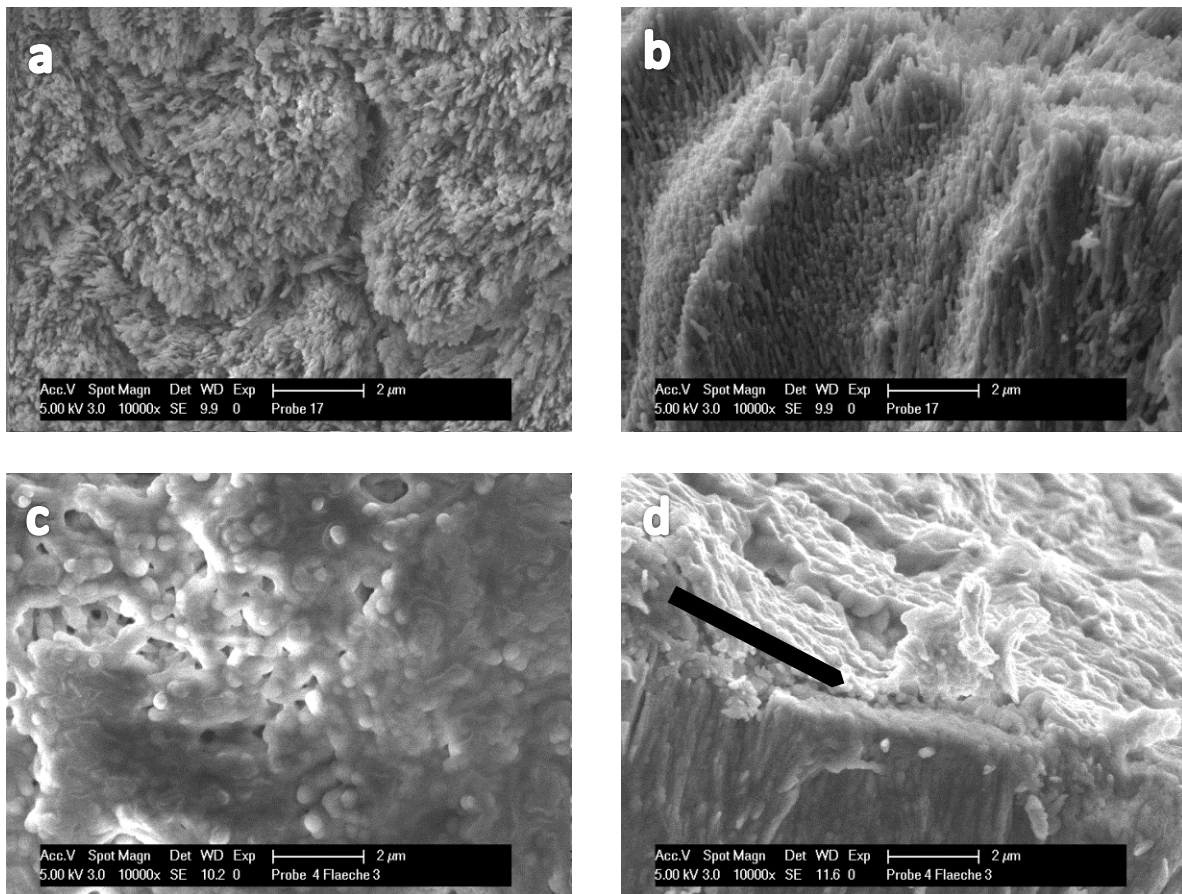


Abb. 4.13 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R1 behandelten Schmelzoberflächen, demineralisiert und konditioniert, keine Präzipitate. a: Prüfkörper 17 (poliert, abgesprüht mit MF). b: Bruchpräparat von Prüfkörper 17. c: Prüfkörper 4, Zone III (abgewaschen mit A. p.) d: Bruchpräparat von Prüfkörper 4, Zone III (Pfeil: Grenzfläche Schmelz-Auflagerung). Originalvergrößerungen 10 000fach.

Die Abb. 4.14 zeigt die Ergebnisse der Prüfkörper 18 und 4 (Zone IV). Hier wurde auf die Demineralisation der Schmelzoberflächen verzichtet, die sonstigen Versuchsparmeter sind identisch zu den Prüfkörpern 17 und 4, Zone III. Die REM-Aufnahmen des Prüfkörpers 17 offenbaren ebenso das typische Bild von demineralisiertem Schmelz, keine Präzipitate (Abb.

4.14a, b). Ohne invasive Nachbehandlung resultieren auf dem Prüfkörper 4 einzelne wenige Präzipitate (Abb. 4.15c).

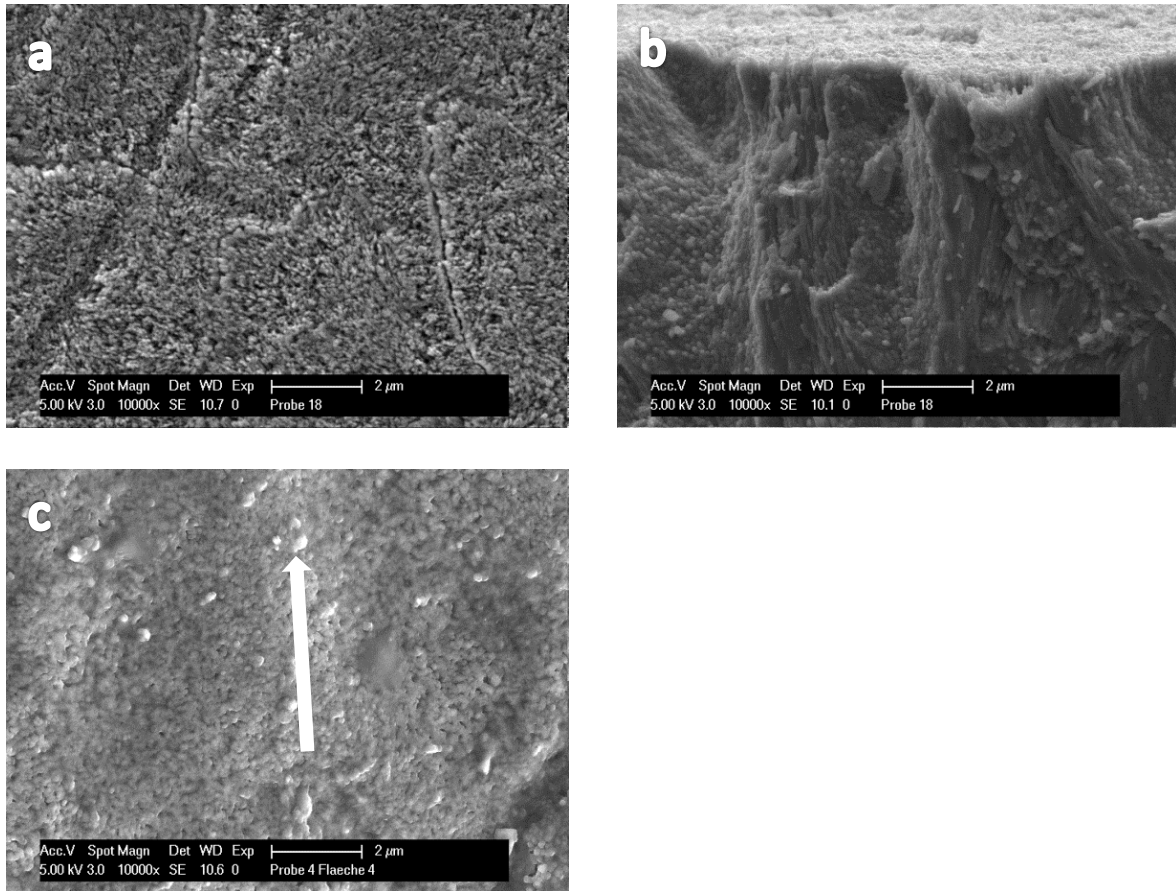


Abb. 4.14 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R1 behandelten Schmelzoberflächen, konditioniert, keine Präzipitate. a: Prüfkörper 18 (poliert, abgesprüht mit MF). b: Bruchpräparat von Prüfkörper 18. c: Prüfkörper 4, Zone IV (abgewaschen mit A. p.), Pfeil: einzelne Präzipitate. Originalvergrößerungen 10 000fach.

Apatitpaste R2 (HAP1-pH 7)

Die Prüfkörper 19 und 20 wurden mit der Apatitpaste **R2** (HAP1, pH 7) behandelt, 19 demineralisiert und konditioniert, 20 nur konditioniert. Im Vergleich dazu der Prüfkörper 8 mit seinen Zonen III und IV. Auch der Prüfkörper 19 zeigt in den REM-Aufnahmen nur demineralisierte Schmelzoberflächen (Abb. 4.15a, b). Die weniger invasive Nachbehandlung des Prüfkörpers 8 (einfaches Abwaschen) hinterlässt dagegen große Mengen an Präzipitaten (Abb. 4.15c und d, Abb. 4.16c).

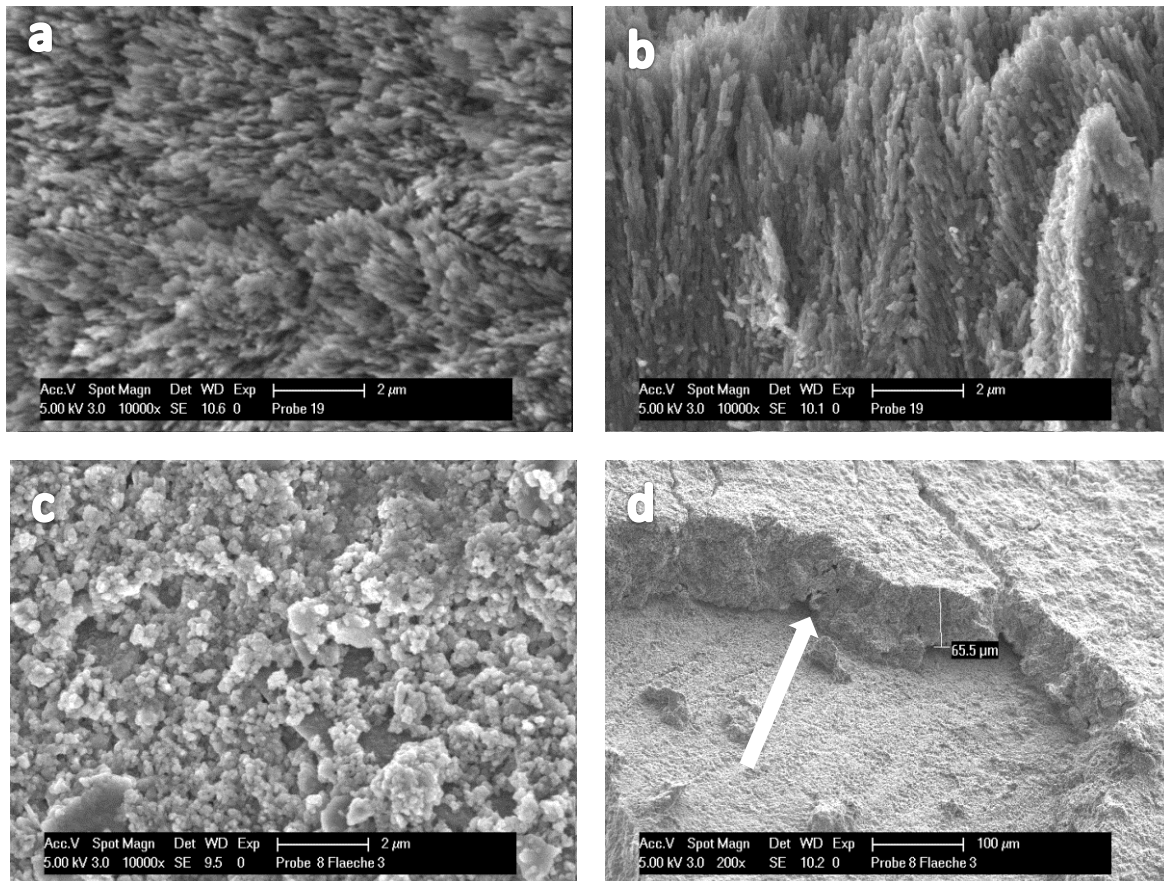


Abb. 4.15 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R2 behandelten Schmelzoberflächen, demineralisiert und konditioniert, keine Präzipitate. a: Prüfkörper 19 (poliert, abgesprüht mit MF). b: Bruchpräparat von Prüfkörper 19. c: Prüfkörper 8, Zone III (abgewaschen mit A. p.) d: Bruchpräparat von Prüfkörper 8, Zone III (Pfeil: Grenzfläche Schmelz–Auflagerung). Originalvergrößerungen 200fach (d), 10 000fach (a–c).

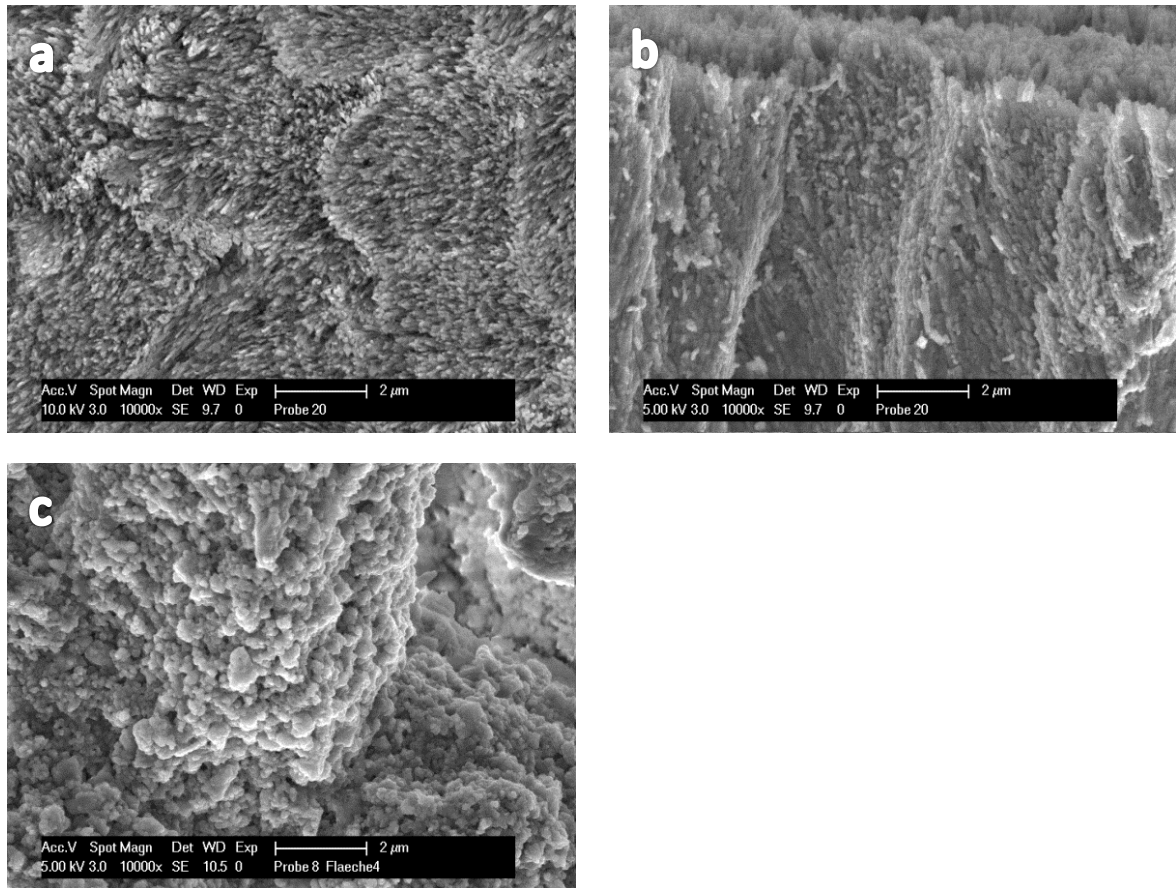


Abb. 4.16 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R2 behandelten Schmelzoberflächen, konditioniert, keine Präzipitate. a: Prüfkörper 20 (poliert, abgesprüht mit MF). b: Bruchpräparat von Prüfkörper 20. c: Prüfkörper 8, Zone IV (abgewaschen mit A. p.). Originalvergrößerungen 10 000fach.

Apatitpaste R3 (FAP1-pH 1)

Auch die REM-Aufnahmen der Prüfkörper 21–24, alle behandelt mit dem Fluorapatitpulver, zeigen nahezu identische Ergebnisse. Die Benetzung der Prüfkörper 21 und 22 mit der Apatitpaste **R3** (FAP1, pH 1) ergibt folgende Bilder: unabhängig davon, ob der Prüfkörper demineralisiert und konditioniert wurde (Prüfkörper 21), oder nur konditioniert wurde (Prüfkörper 22), die REM-Aufnahmen präsentieren auflagenfreie demineralisierte Schmelzoberflächen (Abb. 4.17a, b und 4.18a, b).

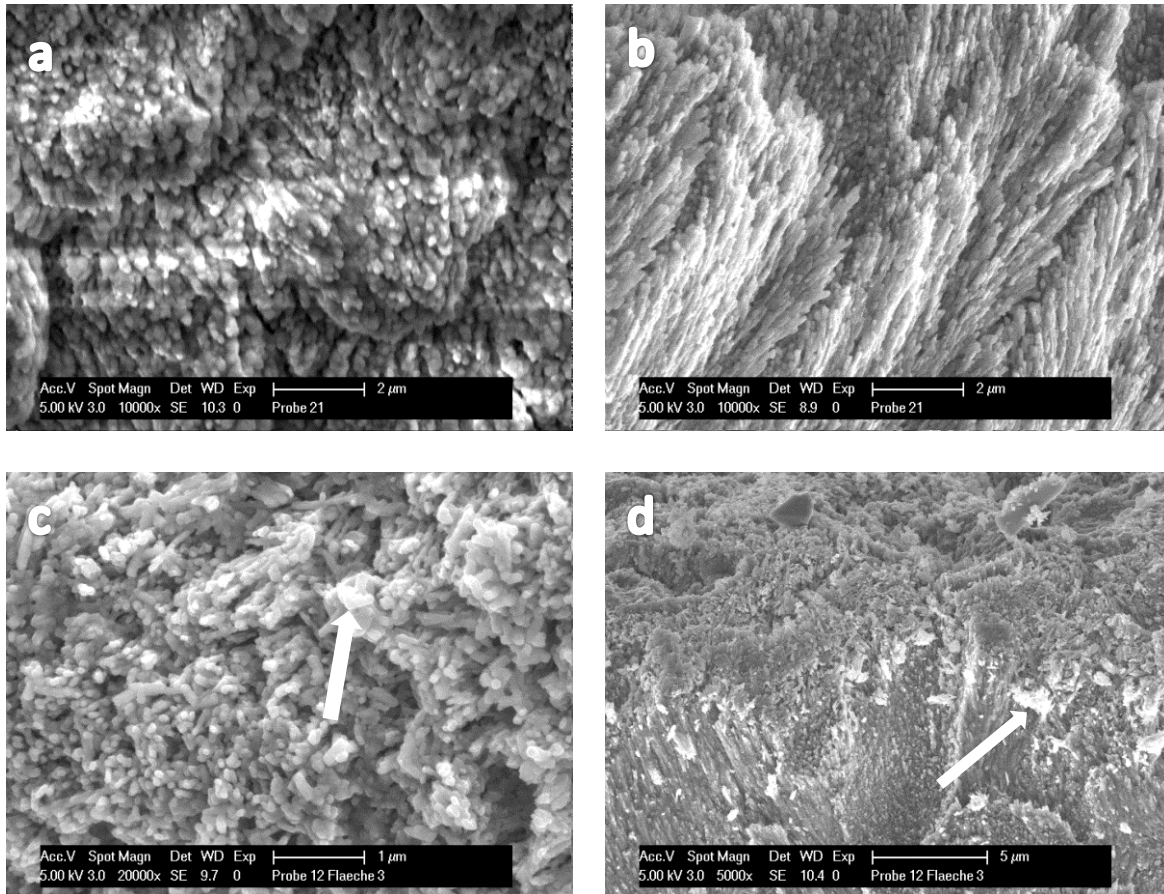


Abb. 4.17 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R3 behandelten Schmelzoberflächen, demineralisiert und konditioniert, keine Präzipitate. a: Prüfkörper 21 (poliert, abgesprüht mit MF). b: Bruchpräparat von Prüfkörper 21. c: Prüfkörper 12, Zone III (abgewaschen mit A. p.), Pfeil: einzelne Präzipitate, vermutlich FAP1 Kristalle. d: Bruchpräparat von Prüfkörper 12, Zone III, Pfeil: einzelne Präzipitate, FAP1 Kristalle. Originalvergrößerungen 5 000fach (d), 10 000fach (a, b), 20 000fach (c).

Der vergleichbare Versuchsablauf aus der ersten Versuchsreihe hinterließ auf der Schmelzoberfläche des Prüfkörpers 12 vereinzelt kristalline Präzipitate, völlig unabhängig von einer vorausgegangenen Demineralisation und Konditionierung (Abb. 4.17c und d: Zone III) oder einer alleinigen Konditionierung (Abb. 4.18c und d: Zone IV).

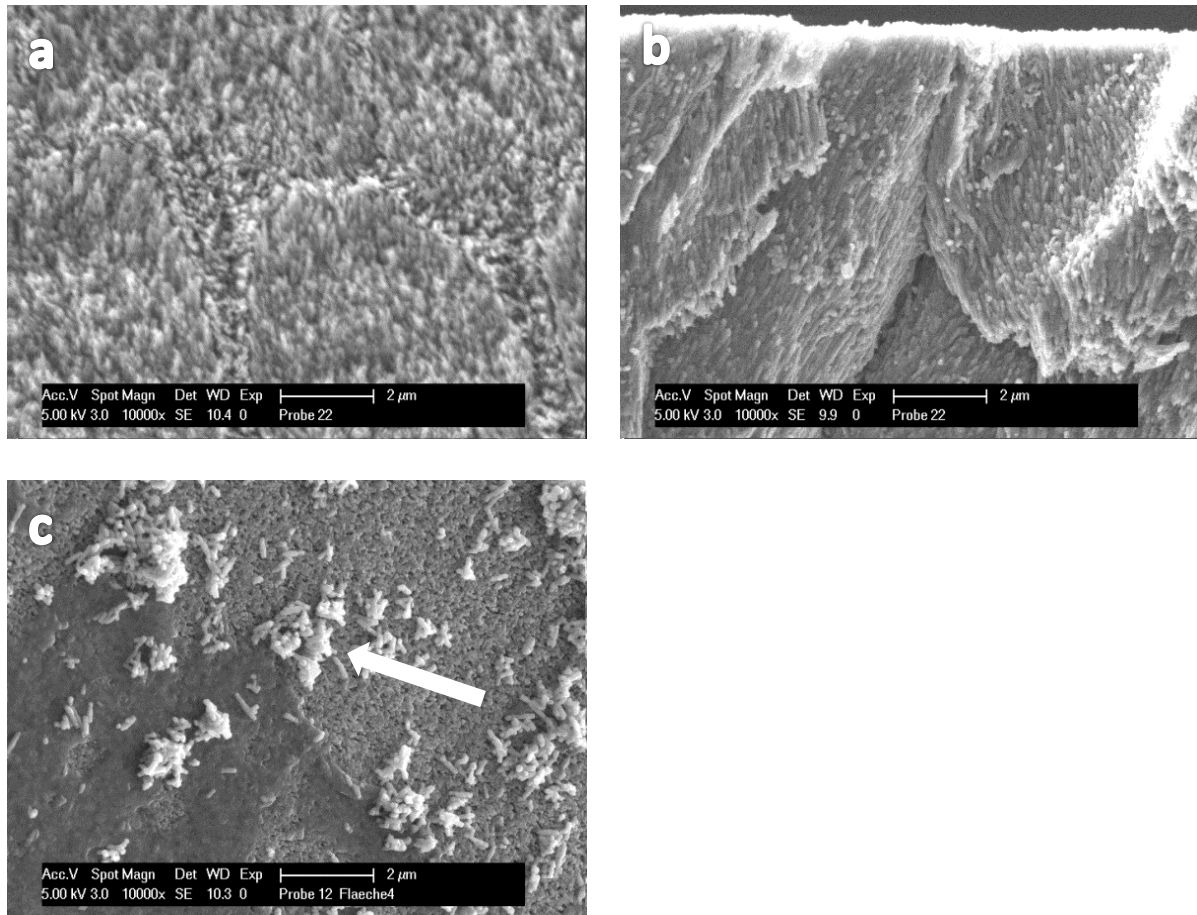


Abb. 4.18 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R3 behandelten Schmelzoberflächen, konditioniert, keine Präzipitate. a: Prüfkörper 22 (poliert, abgesprüht mit MF). b: Bruchpräparat von Prüfkörper 22. c: Prüfkörper 12, Zone IV (abgewaschen mit A. p.), Pfeil: einzelne Präzipitate, FAP1 Kristalle. Originalvergrößerungen 10 000fach.

Apatitpaste R4 (FAP1-pH 7)

Die letzte Versuchsreihe wurde mit der Apatitpaste **R4** (FAP1, pH 7) durchgeführt. In der Aufsichtsaufnahme des Prüfkörpers 23, demineralisiert und konditioniert, sind keine Präzipitate auf der demineralisierten Schmelzoberfläche zu erkennen (Abb. 4.19a). Die REM-Aufnahme des Bruchpräparates weist dagegen einzelne Präzipitate auf (Abb. 4.19b). Auf dem Prüfkörper 24, nur konditioniert, verbleiben keine sichtbaren Auflagerungen, nur eine demineralisierte Schmelzoberfläche (Abb. 4.20a, b).

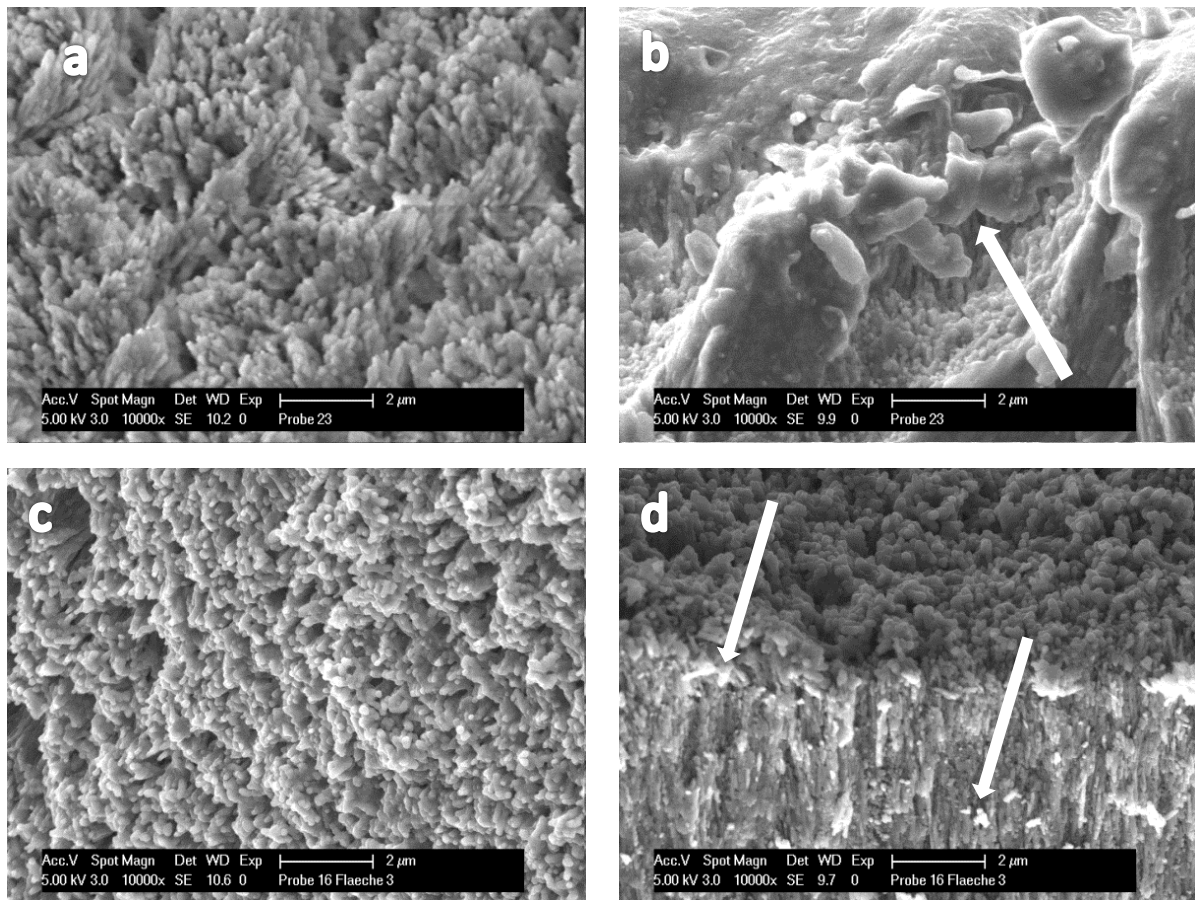


Abb. 4.19 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R4 behandelten Schmelzoberflächen, demineralisiert und konditioniert, vereinzelt lose aufliegende kristalline Präzipitate. a: Prüfkörper 23 (poliert, abgesprüht mit MF). b: Bruchpräparat von Prüfkörper, Pfeil : einzelne Präzipitate. c: Prüfkörper 16, Zone III (abgewaschen mit A. p.) d: Bruchpräparat von Prüfkörper 16, Zone III, Pfeile: einzelne Präzipitate, FAP1 Kristalle. Originalvergrößerungen 10000fach.

Deutlich erkennbar verbleiben auf dem vergleichbaren Prüfkörper 16 aus der ersten Versuchsreihe vereinzelt stäbchenförmige Präzipitate (Abb. 4.19c und d: Zone III und Abb. 4.20c: Zone IV).

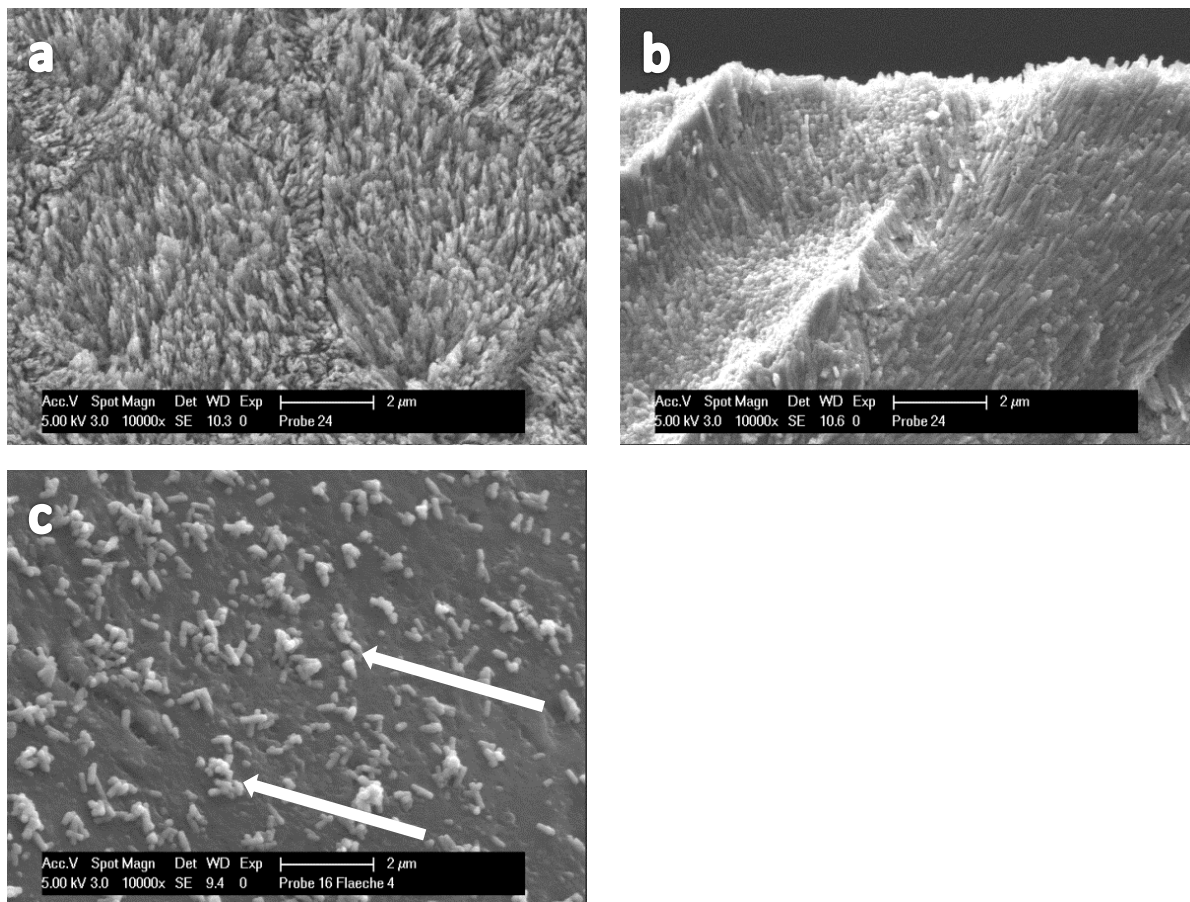


Abb. 4.20 REM-Aufnahmen der mit Apatitpaste R4 behandelten Schmelzoberflächen, konditioniert, keine Präzipitate. a: Prüfkörper 24 (poliert, abgesprüht mit MF). b: Bruchpräparat von Prüfkörper 24. c: Prüfkörper 16, Zone IV (abgewaschen mit A. p.), Pfeile: einzelne Präzipitate, FAP1 Kristalle. Originalvergrößerungen 10 000fach.

4.3 Elementanalyse Fluorapatitpasten

Um die Ergebnisse der Fluorapatit-Versuchsreihen quantitativ identifizieren zu können, wurden von repräsentativen Prüfkörpern zusätzlich EDX-Analysen (Energiedispersive Röntgenfluoreszenz) angefertigt. Die Analysen werden hier ausschließlich auf ihren Fluoridgehalt hin verglichen und als Massenprozentanteil (engl. wt. %) angegeben. Als Referenzanalysen dienen die natürliche Schmelzoberfläche eines impaktierten Weisheitszahn (Abb. 4.21a, Prüfkörper 26), die polierte, aber unbehandelte Schmelzoberfläche eines Molaren, (Abb. 4.21b, Prüfkörper 25), sowie HAP1-Kristalle (Abb. 4.21c) und FAP1-Kristalle (Abb. 4.21d).

Referenzprüfkörper

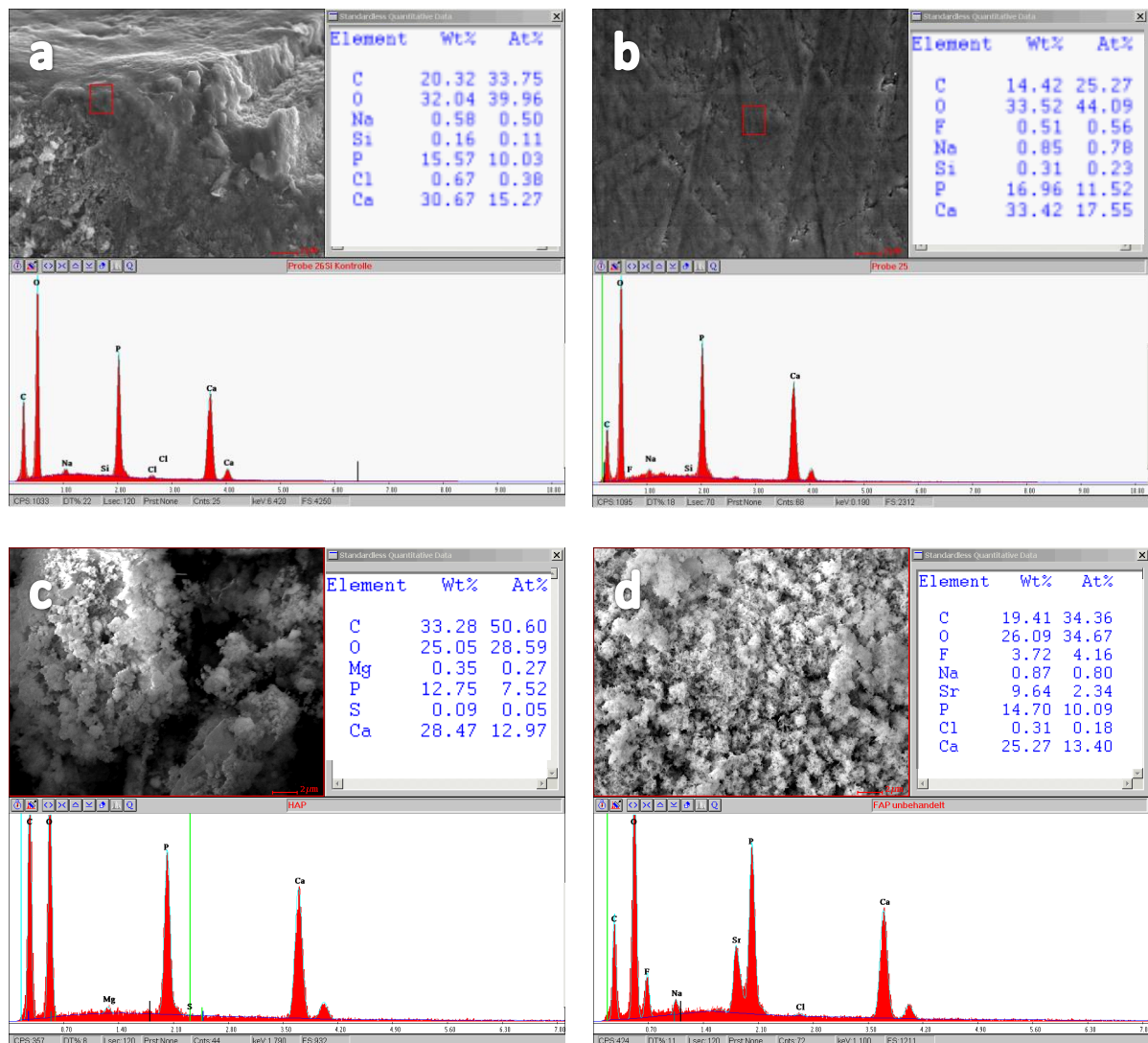


Abb. 4.21 EDX Analyse a: Prüfkörper 26 (natürliche Schmelzoberfläche), b: Prüfkörper 25 (polierte Schmelzoberfläche), c: HAP1-Kristalle, d: FAP1-Kristalle

Apatitpaste R3 (FAP1-pH 1)

Die Vergleichsanalysen beziehen sich im Folgenden auf den bei der Untersuchung angewandten pH-Wert der Fluorapatitpasten. Die Prüfkörper 10,12, 21 und 22 wurden mit der Apatitpaste **R3** behandelt. Die Applikationsdauer betrug bei Prüfkörper 10 fünfzehn Minuten, bei allen anderen dreißig Minuten.

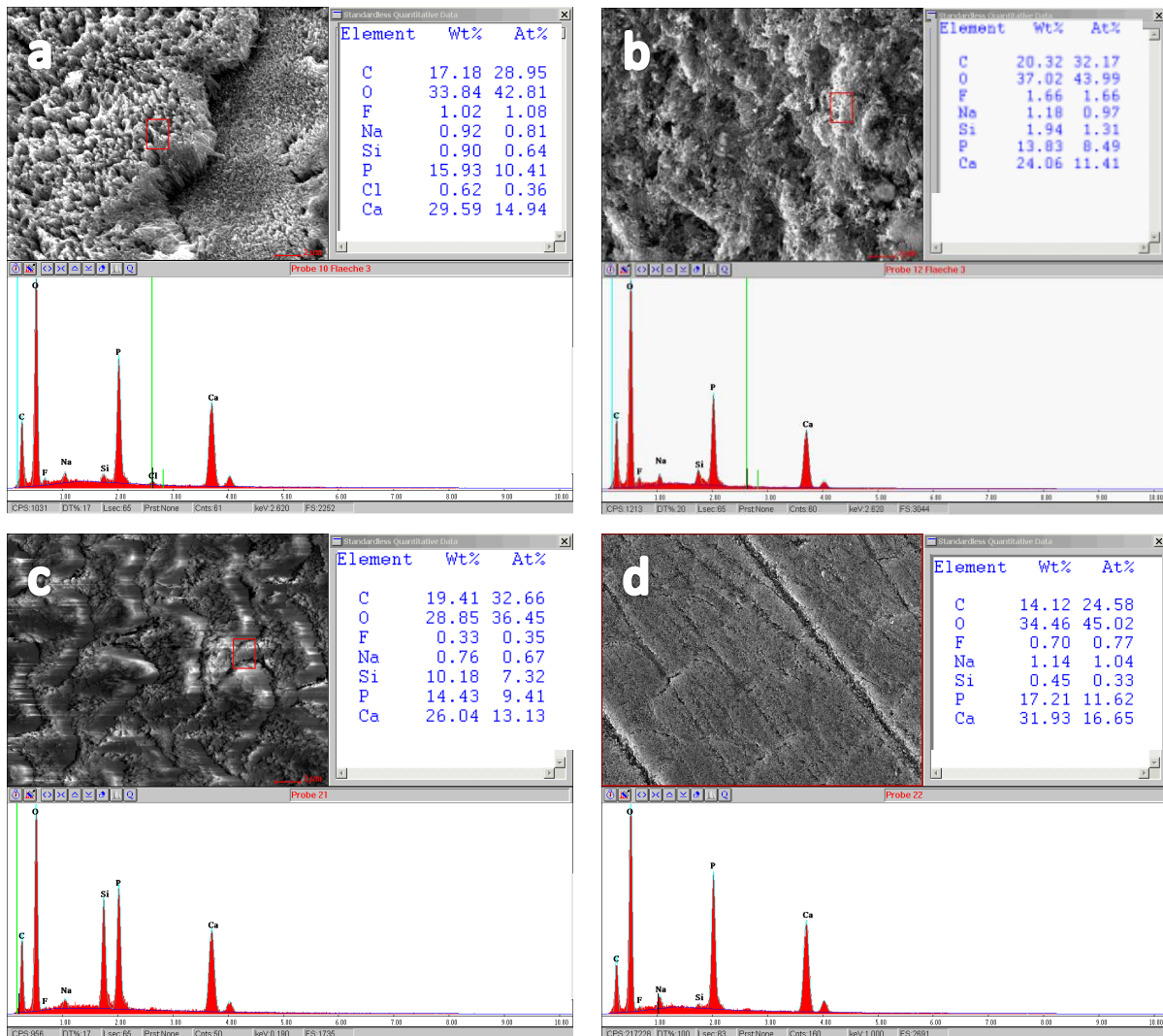


Abb. 4.22 EDX-Analyse a: Prüfkörper10 (FAP1/pH 1, 15 min). b: Prüfkörper 12 (FAP1/pH 1, 30 min). c: Prüfkörper 21 (FAP1/pH 1, 30 min, MF). d: Prüfkörper 22 (FAP/pH 1, 30 min, MF, nicht demineralisiert).

Tab. 4.23 EDX-Analyse: Vergleich der Fluorid-Analysewerte der repräsentativen Prüfkörper (wt. %)

	10	12	21	22	25	26	FAP
F⁻	1.02	1.66	0.33	0.70	0.51	-----	4.09

Vergleicht man die Prüfkörper der ersten Versuchsreihe (Prüfkörper 10 und 12), so repräsentiert der Prüfkörper 10 mit der kürzeren Zyklusdauer von 15 Minuten auch den geringeren Fluoridwert (1.02 wt. %), der höchste Wert in dieser Reihe wird bei Prüfkörper 12 mit einem 30minütigem Zyklus erreicht (1.66 wt. %). Demgegenüber bewegen sich die Prüfkörper 21 und 22 mit ihren Messwerten (0.33 wt. % und 0.70 wt. %) im Bereich der Werte der unbehandelten Schmelzoberfläche des Prüfkörpers 25 (0.51 wt. %). Auffällig erscheint hier der geringfügig höhere Fluoridgehalt des Prüfkörpers 22, der nicht demineralisiert wurde (Tab. 4.23).

Apatitpaste R4 (FAP1-pH 7)

Die für die EDX-Analyse repräsentativen Prüfkörper 14,16, 23 und 24 wurden mit der Apatitpaste **R4** behandelt. Die Applikationsdauer betrug bei Prüfkörper 14 fünfzehn Minuten, bei allen anderen dreißig Minuten.

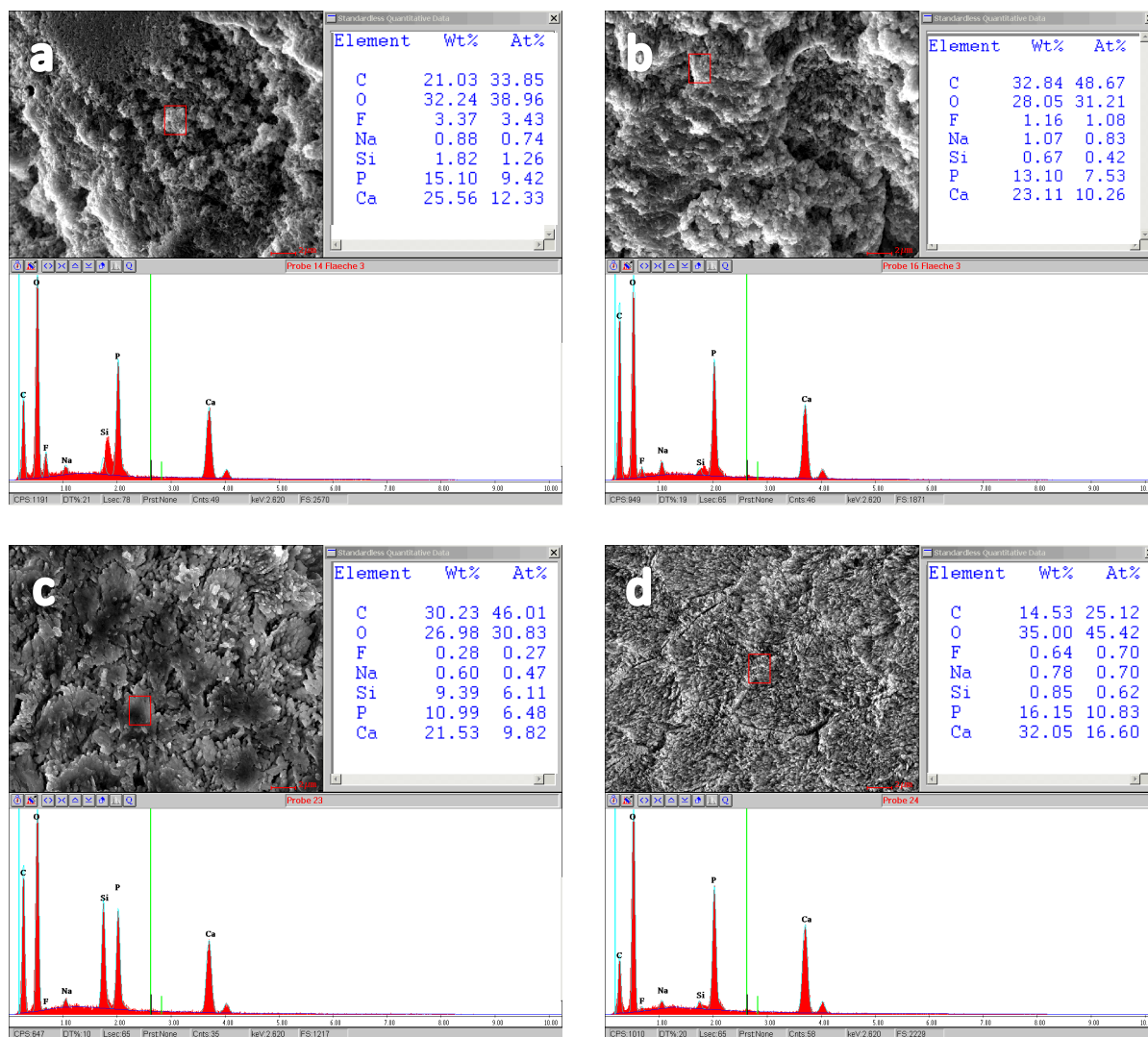


Abb. 4.24 EDX-Analyse a: Prüfkörper14 (FAP1/pH 7, 15 min). b: Prüfkörper 16 (FAP1/pH 7, 30 min). c: Prüfkörper 23 (FAP1/pH 7, 30 min, MF). d: Prüfkörper 24 (FAP/pH 7, 30 min, MF, nicht demineralisiert).

Tab. 4.25 EDX-Analyse: Vergleich der Fluorid-Analysewerte der repräsentativen Prüfkörper (wt. %)

	14	16	23	24	25	26	FAP
F⁻	3.37	1.16	0.28	0.64	0.51	-----	4.09

Die Analyse der mit Apatitpaste R4 (FAP1-pH 7) behandelten Prüfkörper folgt tendenziell der mit Apatitpaste R3 (FAP1-pH 1) behandelten Prüfkörpern (Tab. 4.23). Die nur mit Aqua purificata abgewaschenen Prüfkörper 14 und 16 zeigen die höchsten Werte (3.37 wt. % und 1.16 wt. %). Die für die Prüfkörper 23 und 24 ermittelten Fluorid-Werte (0.28 wt. % und 1.16 wt. %) liegen im Bereich des für den Referenzprüfkörpers 25 ermittelten Wertes (0.51 wt. %). Auffällig erscheint auch hier der höhere Fluoridgehalt des Prüfkörpers 24, der nicht de-mineralisiert wurde (Tab. 4.25).

4.4 Versuchsreihe 3: Adhäsiv-Apatitpasten

4.4.1 Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten

Im Gegensatz zu den ersten beiden Versuchsreihen wurden in der dritten Versuchsreihe alle Schmelzoberflächen poliert (Politur mit einem blauen Winkelstückes (INTRAMatic Lux2 20LN, KAVO Dental, D) und Super Snap Politurscheiben (SHOFU Dental, D) bei 15000 U/min und maximaler Wasserkühlung), auf eine Rillenmarkierung der Schmelzoberfläche wurde verzichtet. Allerdings wurde bei allen Schmelzprüfkörpern auf der Dentinseite eine Sollbruchstelle angebracht (Abb. 3.6b). Die so erhaltenen Bruchkörper gewähren bei den REM Untersuchungen einen unmanipulierten Einblick in die Vertikalschichten des Präparates. Als Referenzaufnahmen der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten Versuchsreihe dienen einerseits die REM-Aufnahme des Prüfkörpers, der ausschließlich mit dem Self-Etch Adhäsiv Clearfil Tri S Bond Plus nach Applikationsprotokoll (Tab. 3.12) behandelt wurde (Abb. 4.26), sowie zur besseren Differenzierung der Ergebnisse hier nochmals die REM-Aufnahmen der Apatitpulver: HAP1 und HAP2, FAP1 und FAP2 (Abb. 4.27).

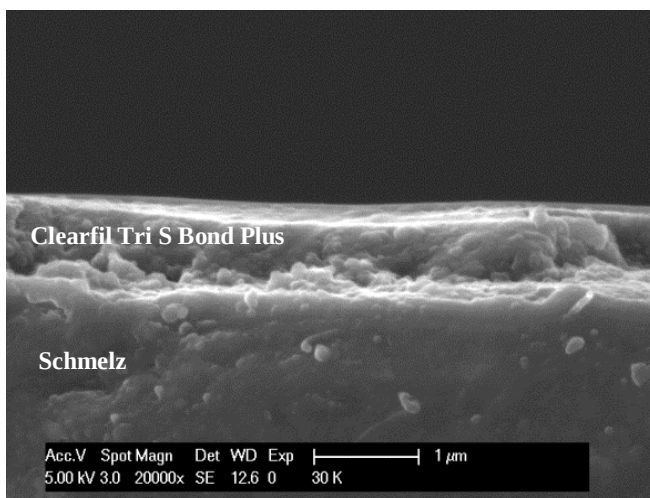


Abb. 4.26 Referenzaufnahme: mit Clearfil Tri S Bond Plus behandelter Schmelzprüfkörper, Bruchpräparat. Originalvergrößerung 20 000fach.

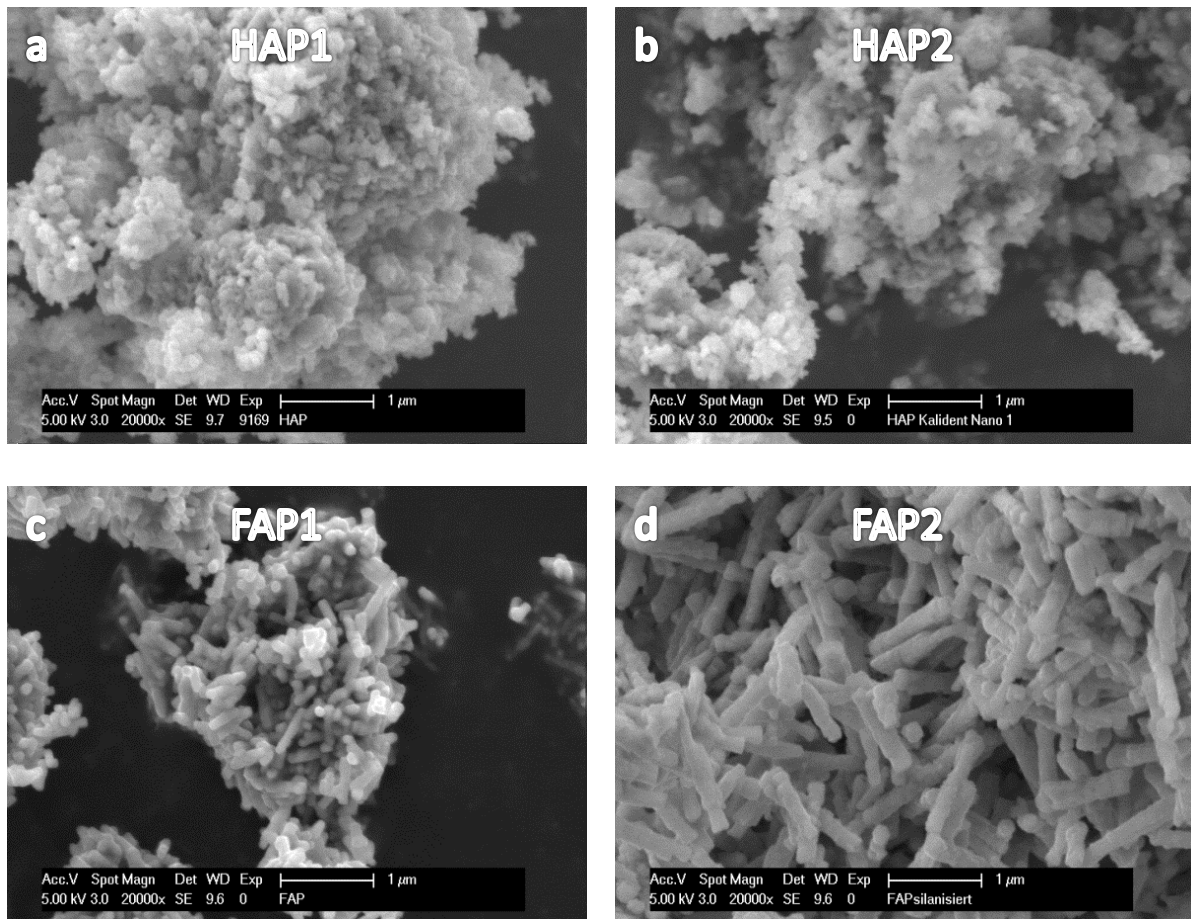


Abb. 4.27 Apatitpulver: a: HAP1. b: FAP1. c: HAP2. d: FAP2. Originalvergrößerungen 20 000fach.

Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpaste mit HAP1

Die Abb. 4.28 präsentiert die Ergebnisse der Clearfil-HAP1-Pasten mit einer ansteigenden Menge an HAP1-Pulver. Der mit **5 mg HAP1** behandelte Prüfkörper (Abb. 4.28a) zeigt eine homogene Auflage mit einem spaltfreien Verbund zur Schmelzoberfläche (siehe Pfeil), allerdings auch wenig sichtbaren Nanomaterial. Auch bei den mit **7 mg HAP1** (Abb. 4.28b) und **15 mg HAP1** (Abb. 4.28c) behandelten Prüfkörpern erscheint die Oberfläche homogen, die Auflagen allerdings deutlich gefüllt mit Apatitmaterial. Der Verbund zur Schmelzoberfläche verbleibt auch nach dem Bruch spaltfrei. Die Grenzfläche Schmelz-AAP kann auf den SE-REM-Bildern (Abb. 4.28b und c) nur noch vermutet werden. Zur Abgrenzung der chemischen Strukturen dient deshalb eine BSE-REM-Aufnahme (Abb. 4.28d) des mit **15 mg HAP1** behandeltem Prüfkörper. Erst hier wird deutlich, dass sich die AAP-Auflage regelrecht im Schmelz verzapft.

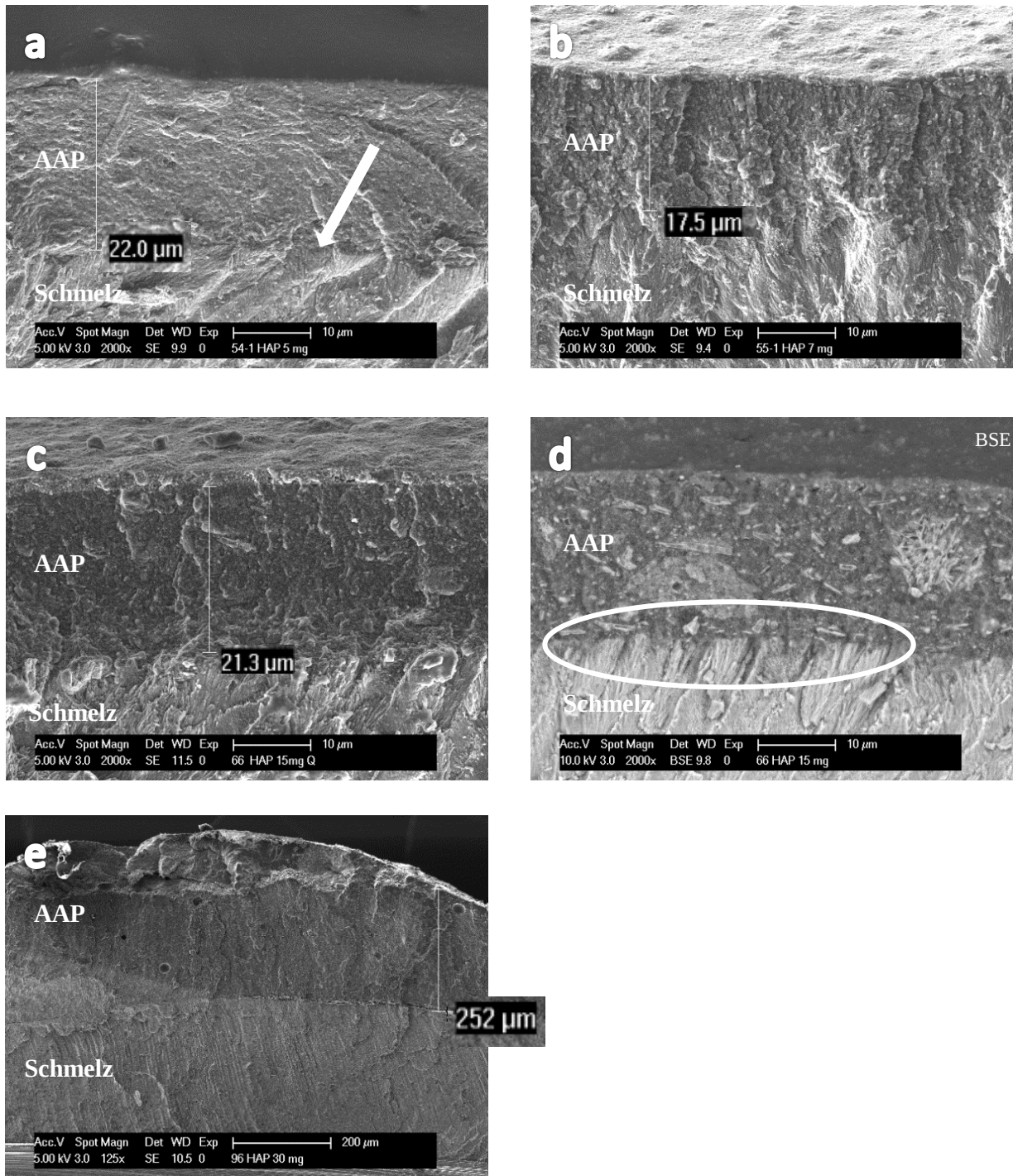


Abb. 4.28 REM-Aufnahmen der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten mit HAP1, Bruchpräparate. a: 5 mg HAP1, spaltfreie, aber deutlich sichtbare Grenzfläche Schmelz/Auflage (Pfeil), 22 µm Schichtdicke. b: 7 mg HAP1, spaltfreier Verbund zwischen Schmelzoberfläche und Auflage, 17.5 µm Schichtdicke. c: 15 mg HAP1, spaltfreier Verbund, 21.3 µm Schichtdicke. d: 15 mg HAP1, BSE, die AAP-Auflage verzapft sich regelrecht in der Schmelzoberfläche. e: 30 mg HAP1, spaltfreier Verbund, Oberfläche deutlich rauer, 252 µm Schichtdicke. Originalvergrößerungen 2 000fach (a-d), 125fach (e).

Der mit **30 mg HAP1** behandelte Prüfkörper wurde ausschließlich für die Mikrohärtemessung hergestellt, die Ausgangsmaterialien dabei einfach verdoppelt. Der gute Verbund bleibt erhalten, die Oberfläche zeigt sich dagegen rau (Abb. 4.28e).

Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpaste mit HAP2

Die HAP2 Adhäsiv-Apatitpasten zeigen in allen Clearfil-Mischungsverhältnissen keine Dehiszenz zur Schmelzoberfläche (Abb. 4.29). Auf dem Weg zu einem optimalen Mischungsverhältnis präsentiert Abb. 4.29a den mit **3 mg HAP2** behandelten Prüfkörper mit deutlich weniger Nanomaterial in der Auflage. Die Auflagen des mit **7 mg HAP2** (Abb. 4.29b) und des mit **15 mg HAP2** (Abb. 4.29c) behandelten Prüfkörpern erscheinen dagegen kompakt und mit einer mikro-morphologischen Ähnlichkeit zum Schmelz. Das BSE-REM-Bild des mit 15 mg HAP2 behandelten Prüfkörpers grenzt die Materialien gegeneinander ab: Schmelz, AAP-Auflage (Abb. 4.29d), eine Verzapfung zum Schmelz ist nicht sichtbar. Der mit **30 mg HAP2** behandelte Prüfkörper für die Mikrohärtemessung (Abb. 4.29e und f) zeigt ein identisches Bild.

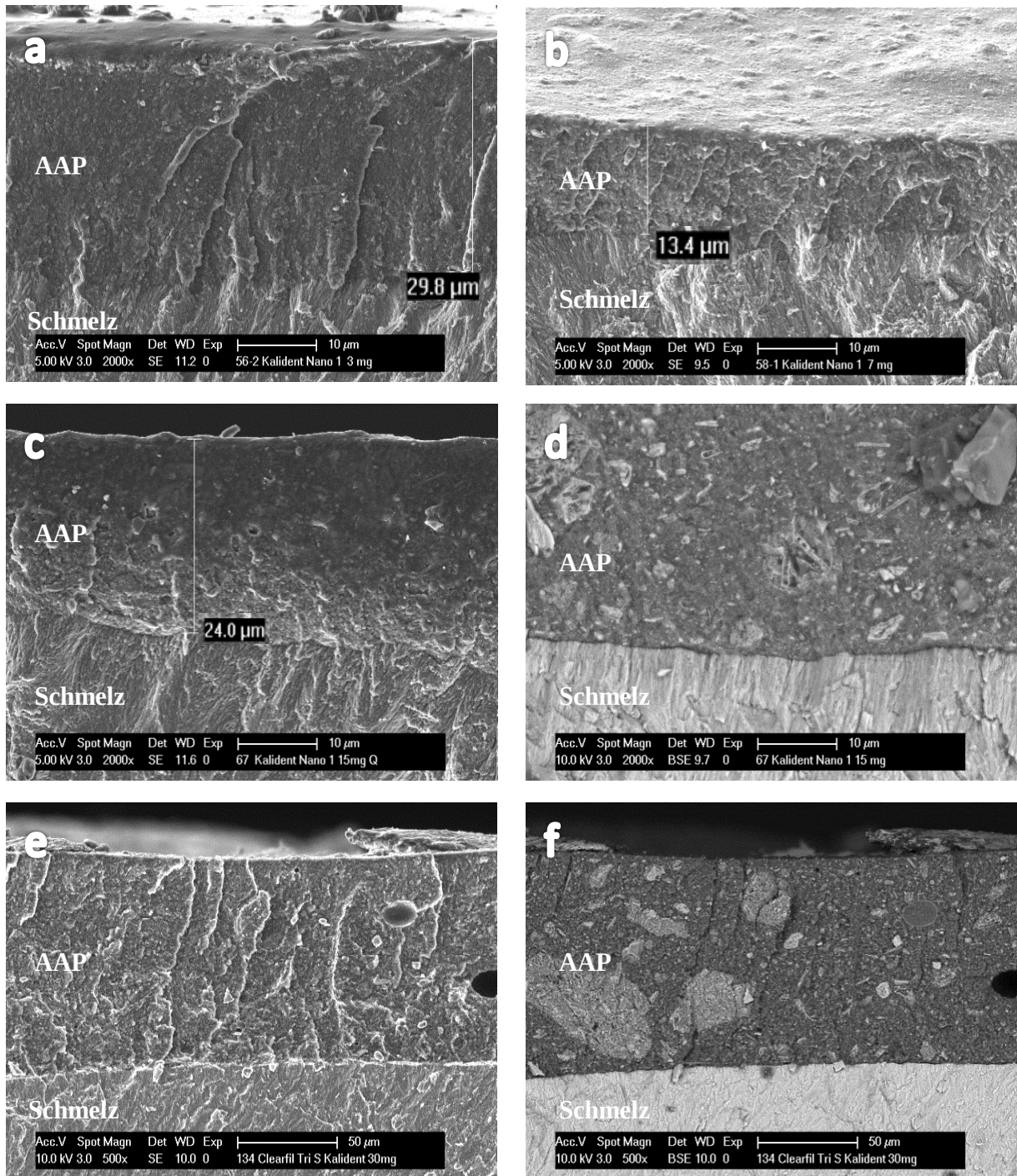


Abb. 4.29 REM-Aufnahmen der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten mit HAP2, Bruchpräparate. a: 3 mg HAP2, spaltfreie Grenzfläche Schmelz/Auflage, 29.8 µm Schichtdicke. b: 7 mg HAP2, spaltfreier Verbund zu einer schmelzähnlichen Auflage, 13.4 µm Schichtdicke. c: 15 mg HAP2, 24 µm Schichtdicke. d: 15 mg HAP2, BSE, lückenloser Verbund zur Schmelzoberfläche ohne Verzapfung. e: 30 mg HAP2. f: 30 mg HAP2, BSE. Originalvergrößerungen 2 000fach (a-d), 500fach (e, f).

Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpaste mit FAP1

Die REM-Aufnahmen der Clearfil-FAP1 Versuchsreihe zeigen auffällig rauere Oberflächen bei vergleichsweise geringen Mengen an Apatitpulver (Abb. 4.30a, b). Der Verbund Schmelz/AAP-Auflage aller FAP1-Prüfkörper bleibt auch nach dem Brechen der Prüfkörper unbeschadet und frei von Dehiszenzen, obwohl es zu keiner Verzapfung in der Schmelzoberfläche kommt. Während in der AAP-Auflage des mit **3 mg FAP1** behandelten Prüfkörpers kaum Apatitmaterial sichtbar wird (Abb. 4.30a), erscheint die AAP-Auflage des mit **7 mg FAP1** behandelten Prüfkörpers wieder sehr kompakt und schmelzähnlich (Abb. 4.30b). Auch der mit **15 mg FAP1** behandelte Prüfkörper zeigt ein harmonisches Bild (Abb. 4.30c), der Verbund scheint lückenlos, das Apatitmaterial verteilt sich homogen im Adhäsiv (Abb. 4.30d). Die Verdoppelung der Materialien führt im mit **30 mg FAP1** behandelten Prüfkörper zu einer weniger homogenen Materialverteilung mit Lufteinschlüssen (Abb. 4.30f, Pfeil).

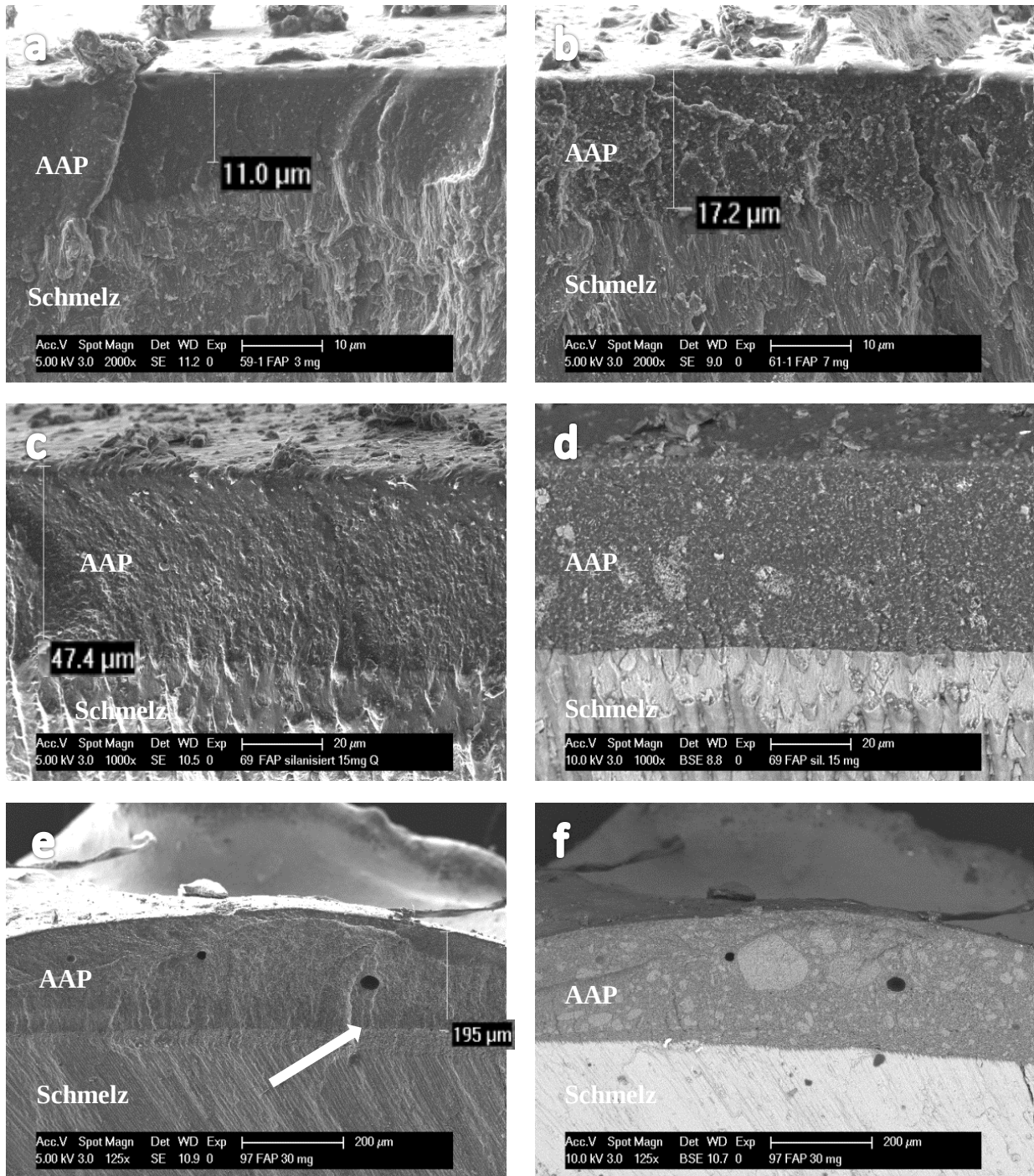


Abb. 4.30 REM-Aufnahmen der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten mit FAP1, Bruchpräparate. a: 3 mg FAP1, spaltfreie Auflage, 11 µm Schichtdicke. b: 7 mg FAP1, spaltfreie, schmelzähnliche Auflage, 17.2 µm Schichtdicke. c: 15 mg FAP1, spaltfrei, 47.4 µm Schichtdicke. d: 15 mg FAP1, BSE. E: 30 mg FAP1, spaltfrei, Lufteinschlüsse, 195 µm Schichtdicke. f: 30 mg FAP1, BSE. Originalvergrößerungen: 2 000fach (a, b), 1 000fach (c, d), 125fach (e, f).

Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpaste mit FAP2

Die Abbildung 4.31 zeigt repräsentative REM-Aufnahmen der Clearfil-FAP2 AAP-Mischungen. Auch bei diesem Apatitmaterial hinterlässt der Bruch der Prüfkörper keinen Verlust am Verbund Schmelzoberfläche/AAP-Mischung (Abb. 4.31a-d). Die Oberflächen erscheinen im Vergleich zu den FAP1-Prüfkörpern weniger rau. Schon der mit **5 mg FAP2** behandelte Prüfkörper bildet auf der Schmelzoberfläche eine kompakte, schmelzähnliche Auflage (Abb. 4.31a). Auch die mit **7 mg FAP2** (Abb. 4.31b) und **15 mg FAP2** (Abb. 4.31c) behandelte Prüfkörper zeigen nahezu identisch gute Ergebnisse. Die Materialverteilung in der 15 mg AAP-Mischungen ist homogen, der Verbund zur Schmelzoberfläche erfolgt zapfenfrei (Abb. 4.31d).

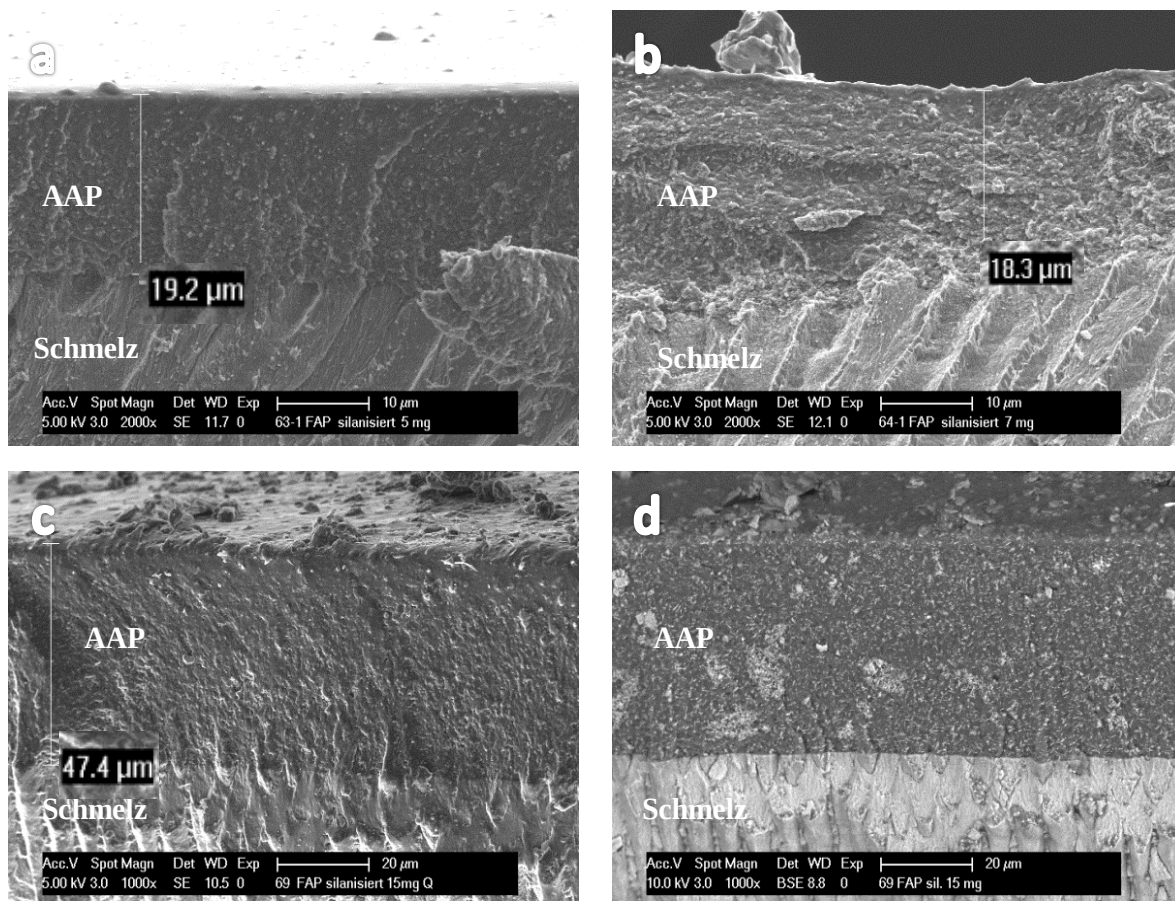


Abb. 4.31 REM-Aufnahmen der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten mit FAP2, Bruchpräparate. a: 5 mg FAP2, spaltfreie Auflage, 19.2 µm Schichtdicke. b: 7 mg FAP2, spaltfreie Auflage, 18.3 µm Schichtdicke. c: 15 mg FAP2, spaltfreie Auflage (Vergrößerung 5000fach), 47.4 µm Schichtdicke. d: 15 mg FAP2, BSE. Originalvergrößerungen: 2 000fach (a, b), 1 000fach (c, d).

Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten mit Apatitmischungen

Alle REM-Aufnahmen der 15 mg-Apatitmischungen mit dem Adhäsiv Clearfil Tri S Bond Plus bestätigen die guten Ergebnisse der Monopräparate. Besonders die Auflage des mit **15 mg HAP1/HAP2** behandelten Prüfkörpers zeigt eine große Ähnlichkeit zu der Ultrastruktur des Schmelzes (Abb. 4.32a), die Grenzfläche ist in der 5 000fachen Vergrößerung zu erahnen. Auf der BSE-Aufnahme desselben Prüfkörpers erscheint ein dichter Verbund des Adhäsiv-Apatitgemisches zur Schmelzoberfläche, leicht verzapft (Abb. 4.32b, Pfeile). Der mit **15 mg HAP1/FAP1 behandelte** Prüfkörper (Abb. 4.32c) offenbart einen scheinbar noch innigeren Verbund zum Schmelz (Abb. 4.32d, BSE), der auch für den mit **15 mg FAP1/FAP2** behandelten Prüfkörper gültig scheint (Abb. 4.32e und f). Bei einem Vergleich der BSE-Aufnahmen findet man die gleichmäßigste Verteilung der Apatitmaterialien im 15 mg FAP1/FAP2 Prüfkörper (Abb. 4.32f).

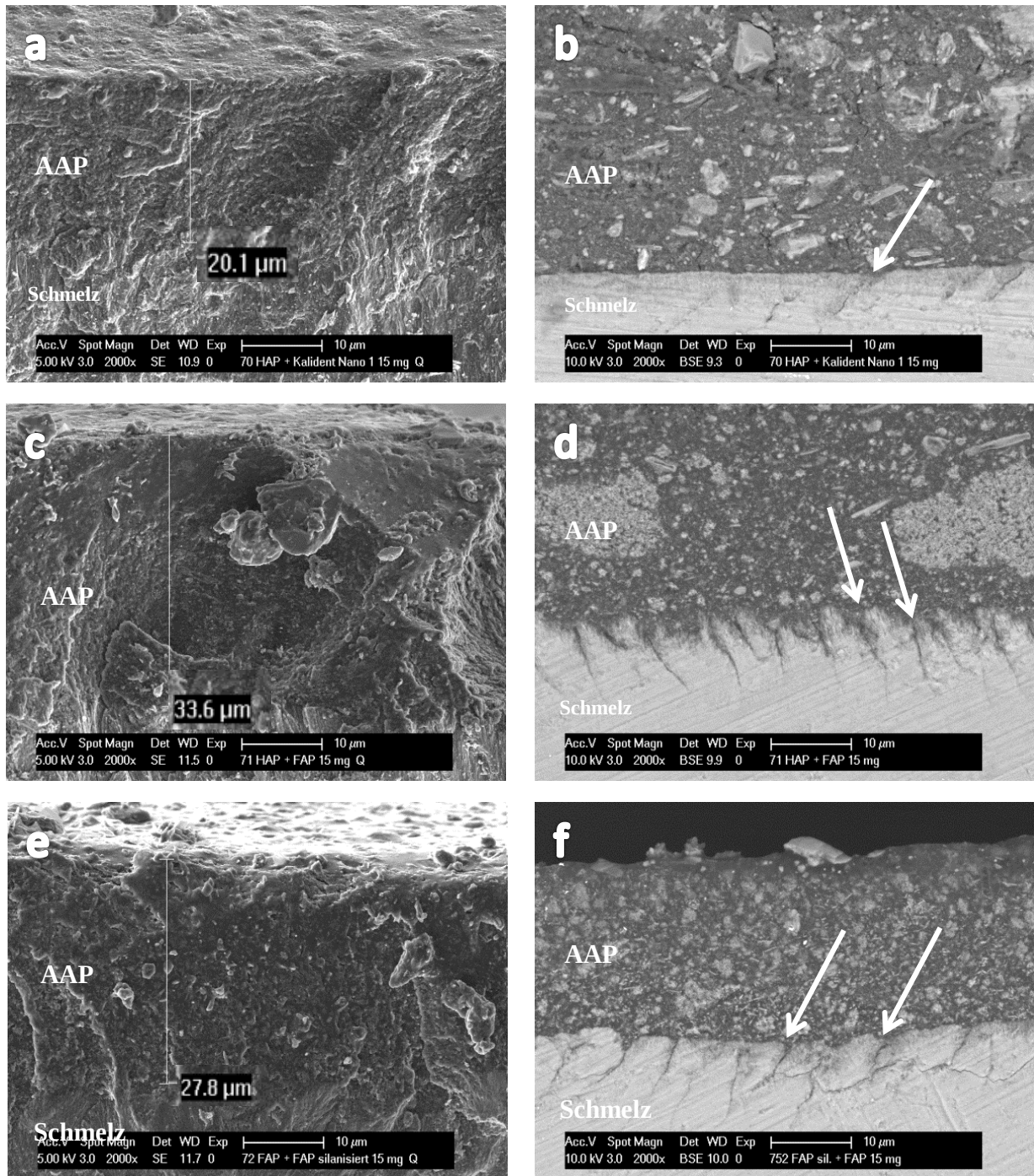


Abb. 4.32 REM-Aufnahmen der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten mit Apatitmischungen, Bruchpräparate. a: 15 mg HAP1/HAP2, spaltfrei, 20.1µm Schichtdicke. b: 15 mg HAP1/HAP2, BSE. c: 15 mg HAP1/FAP1, spaltfrei, 33.6 µm Schichtdicke. d: 15 mg HAP1/FAP1, BSE. e: 15 mg FAP1/FAP2, spaltfrei, 27.8 µm Schichtdicke. f: 15 mg FAP1/FAP2, BSE. Enge Verzapfungen zwischen AAP-Mischungen und den Schmelzoberflächen (b,d und f: Pfeile). Originalvergrößerungen: 2 000fach.

Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten (ungeätzter Schmelz)

Ausgewählte Prüfkörper aus der Clearfil-Versuchsreihe (alle 15 mg Prüfkörper) wurden in einer Abwandlung des Applikationsprotokolls behandelt. Die Adhäsiv-Apatitpasten wurden auf die polierte, aber ungeätzte Schmelzoberfläche aufgetragen. Die Zusammenstellung der BSE-Aufnahmen, mit der Konzentration auf die Grenzflächen, dokumentiert die markanten Unterschiede zu der Standardapplikation (Abb. 4.33). Während die 15 mg-Prüfkörper mit AAP-Auflagen aus **HAP1, FAP1 und FAP1/FAP2** einen deutlichen Spalt an der Grenzfläche zur Schmelzoberfläche zeigen (Abb. 4.33a, b und e), besteht zwischen den AAP-Auflagen aus **HAP1/HAP2 und FAP2/HAP2** und der Schmelzoberfläche ein spaltfreier, allerdings unverzapfter Verbund (Abb. 4.33c und d).

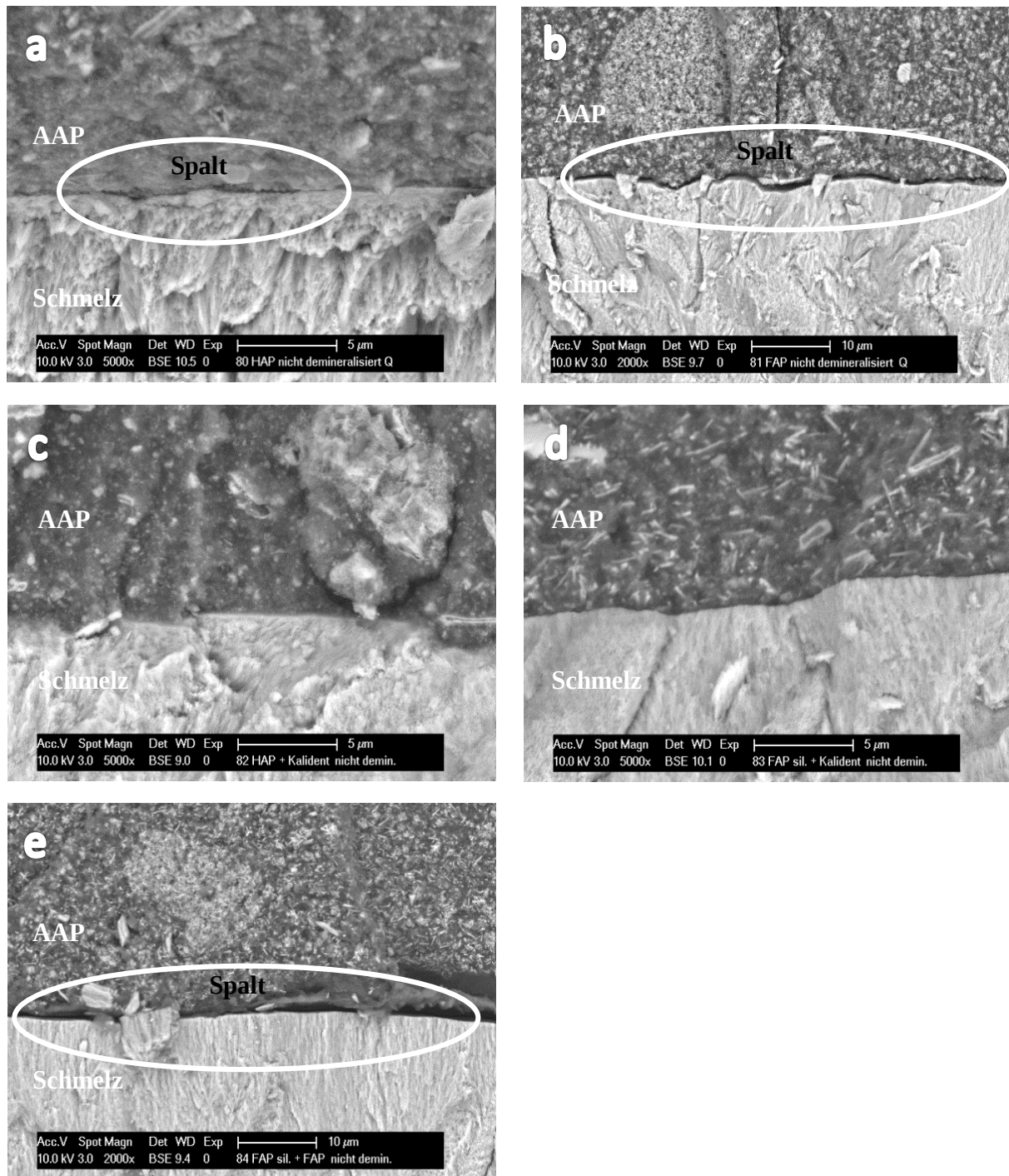


Abb. 4.33 REM-BSE-Aufnahmen der Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten, ungeätzte Schmelzoberflächen, Bruchpräparate. a: 15 mg HAP1, deutlich erkennbarer Spalt. b: 15 mg FAP1, deutlich erkennbarer Spalt. c: 15 mg HAP1/HAP2, spaltfreier Verbund. d: 15 mg FAP1/HAP2, spaltfreier Verbund. e: 15 mg FAP1/FAP2, deutliche Spaltbildung. Originalvergrößerungen: 5 000fach (a, c, d), 2 000fach(b, e).

4.4.2 Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten

Als Referenzaufnahmen der Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten Versuchsreihe dienen die REM-Aufnahmen des Prüfkörpers, der ausschließlich mit dem Self-Etch Adhäsiv Resulcin AquaPrime+MonoBond nach Applikationsprotokoll behandelt wurde (Abb. 4.34). Resulcin AquaPrime+MonoBond gehört zu den 2-Schritt Self-Etch Adhäsiven, die BSE-REM-Aufnahme (Abb. 4.34b) zeigt deutlich die einzelnen Schichten.

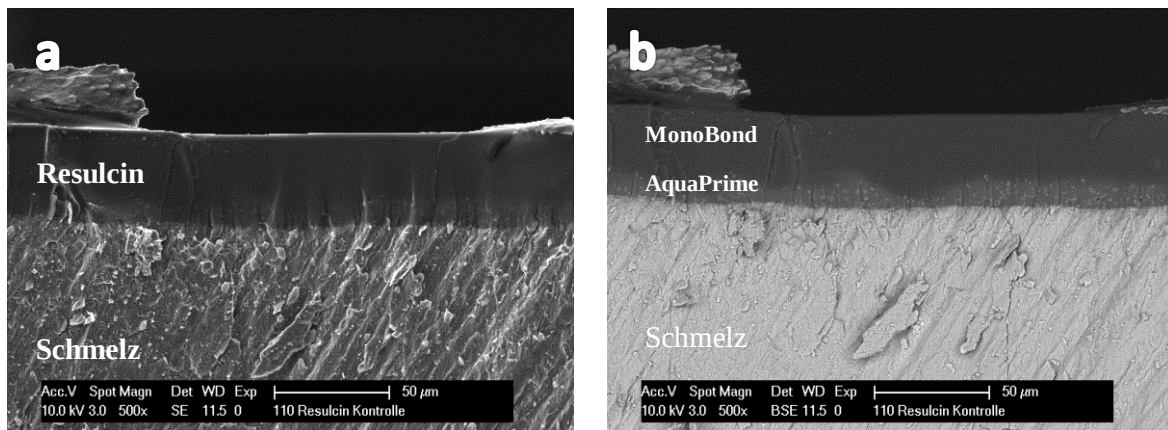


Abb. 4.34 Referenzaufnahmen Resulcin AquaPrime+MonoBond. a: SE-REM. b: BSE-REM Originalvergrößerungen: 500fach.

Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten mit Aqua cons.

Die Applikation der Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten nach Applikationsprotokoll (Tab. 3.15) führt zu den in Abb. 4.35 dargestellten Ergebnissen. Sowohl der mit **15 mg HAP2** behandelte Prüfkörper, als auch der mit **30 mg HAP2** behandelte Prüfkörper offenbaren eine weitreichende Spaltbildung. Während sich bei dem 15 mg-Prüfkörper der Spalt in großen Anteilen der Grenzfläche zum Schmelz darstellt (Abb. 4.35a), befindet sich der kohäsive Bruch im 30 mg-Prüfkörper ausschließlich in der Resulcin-Apatitpaste (Abb. 4.35c). In dem mit **15 mg FAP1** behandelten Prüfkörper (Abb. 4.35b) kommt nur ein unzureichender Verbund zur Schmelzoberfläche zustande. Ganz im Gegensatz zu dem mit **30 mg FAP1** behandelten Prüfkörper (Abb. 4.35d), die Adhäsiv-Apatitpaste verbindet sich spaltfrei mit der Schmelzoberfläche.

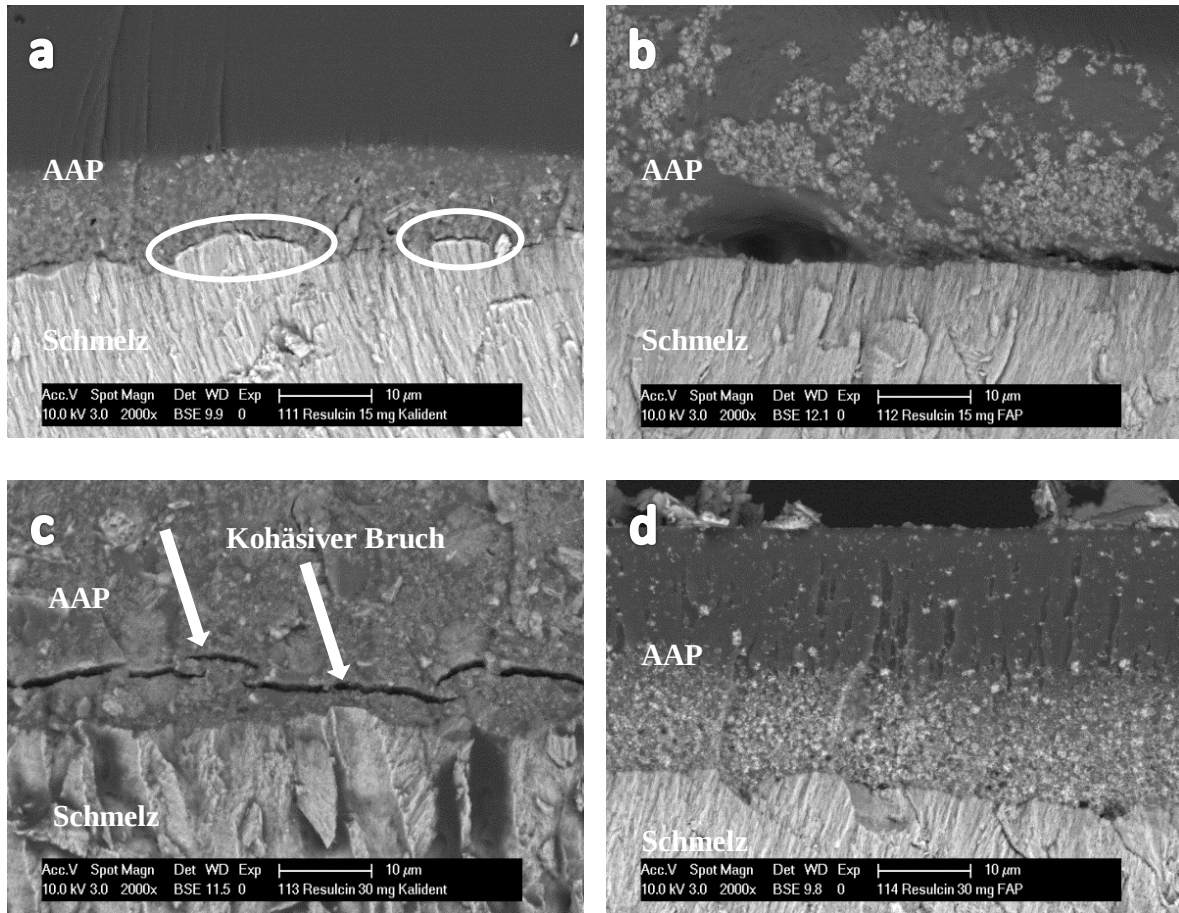


Abb. 4.35 REM-Aufnahmen der Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten mit Aqua conservans, Bruchpräparate. a: 15 mg HAP2, umfangreiche Spaltbildung an der Grenzfläche. b: 15 mg FAP1, unzureichender Verbund an der Grenzfläche. c: 30 mg HAP2, Spalt in der Adhäsiv-Apatitpaste. d: 30 mg FAP1, Grenzfläche spaltfrei. Originalvergrößerungen: 2 000fach.

Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten ohne Aqua cons.

In einer Variation des Applikationsprotokolls wurden die AquaPrime-Apatitmischungen ohne Aqua conservans hergestellt und appliziert.

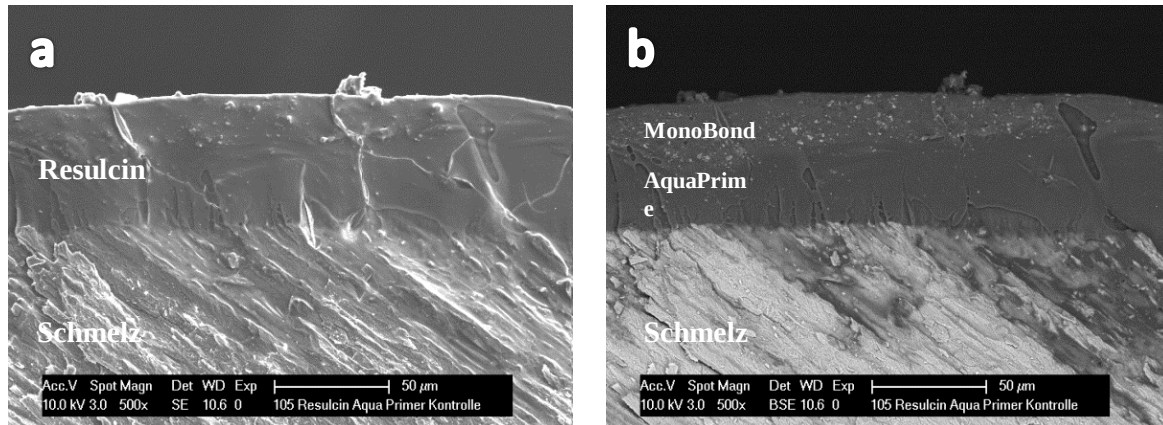


Abb. 4.36 Referenzaufnahme AquaPrime+MonoBond ohne Aqua conservans. a: SE-REM. b: BSE-REM Originalvergrößerungen: 500fach (a).

Die Referenzaufnahmen der reinen Adhäsiv Auflage zeugen von einem guten, spaltfreien Verbund (Abb. 4.36a und b).

Auch die REM-Aufnahmen der Resulcin-Apatitpasten ohne Aqua conservans bestätigen dieses Ergebnis (Abb. 4.37a, c und d).

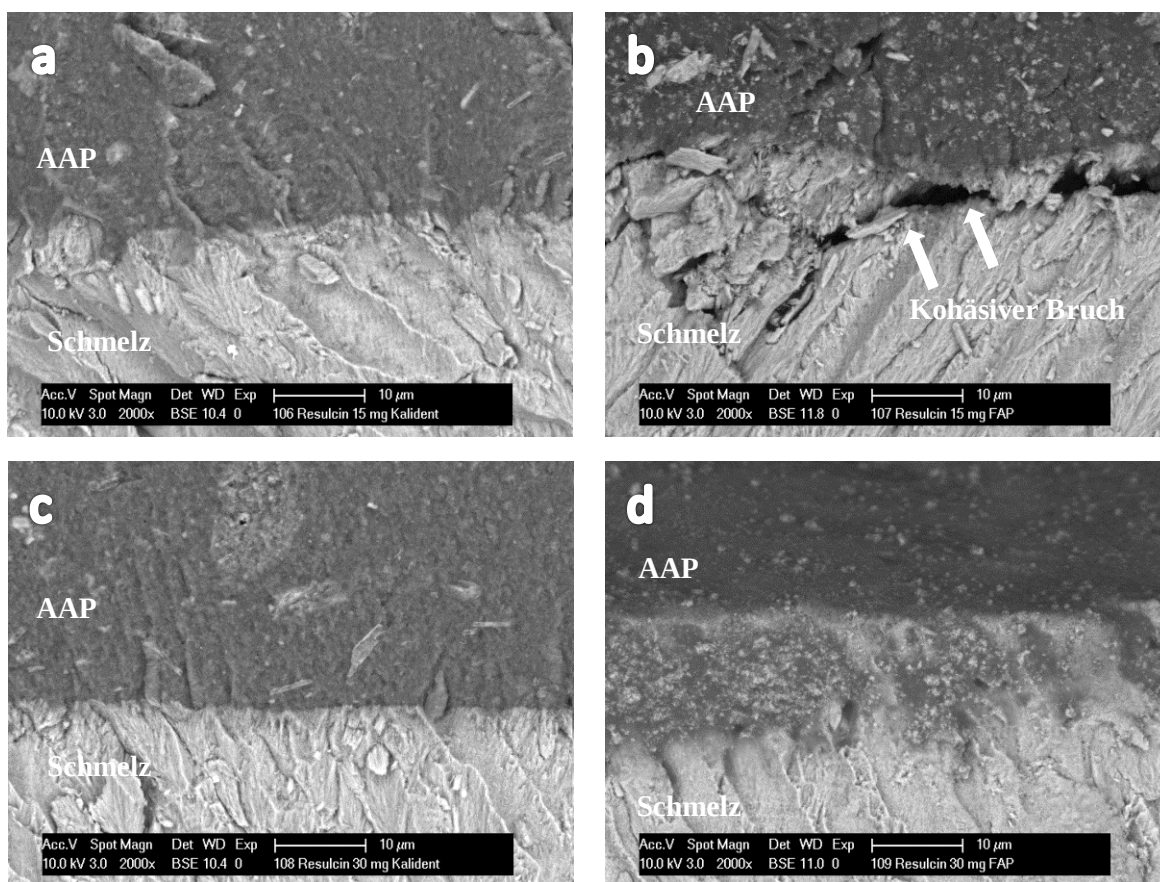


Abb. 4.37 REM-Aufnahmen der Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten ohne Aqua conservans, Bruchpräparate. a: 15 mg HAP2, spaltfrei. b: 15 mg FAP1, kohäsiver Bruch im Schmelz (Pfeile). c: 30 mg HAP2, spaltfrei. d: 30 mg FAP1, spaltfrei. Originalvergrößerungen: 2 000fach.

Nur die REM-Aufnahmen des mit **15 mg FAP1** behandelten Prüfkörpers weisen einen durchgehenden, kohäsiven Bruch im Schmelz auf (Abb. 4.37b).

4.4.3 Materialprüfungen

Mikrohärtemessungen

Die Mikrohärtemessungen nach Vickers (HV) wurden ausschließlich an Prüfkörpern der Clearfil Tri S Bond Plus-Versuchsreihe durchgeführt. Die Zusammenfassung der Messergebnisse erfolgt in den Tabellen 4.38 und 4.39a-d. Als Referenzmessungen dienen die Mittelwerte und Standardabweichungen auf einer polierten Schmelzoberfläche und auf einer mit dem Adhäsiv Clearfil Tri S Bond Plus nach Applikationsprotokoll behandelten Schmelzoberfläche (Tabelle 4.38).

Tabelle 4.38: Mittelwerte der Vickershärte (HV) mit Standardabweichung für die Referenzprüfkörper: polierte Schmelzoberfläche und Adhäsiv

Prüfkörper	Mittelwert und Standardabweichung
Polierte Schmelzoberfläche	387.12 ± 17.83
Adhäsiv nach Applikationsprotokoll	13.72 ± 0.49

Die Tabellen 4.39a-d fassen die Mikrohärtemessungen für ausgesuchte Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten zusammen. Die Applikation der Clearfil-Apatitpasten erfolgte nach dem Applikationsprotokoll Tab. 3.12.

Tabelle 4.39a: Mittelwerte der Vickershärte (HV) mit Standardabweichungen für Clearfil Tri S Bond Plus-15 mg Apatitpasten

Prüfkörper	Mittelwert und Standardabweichung
AAP 4 = HAP1	30.1 ± 6.13
AAP 28 = FAP1	26.22 ± 7.5
AAP 21 = HAP1 und HAP2	23.84 ± 4.43
AAP 23 = FAP1 und FAP2	16.46 ± 2.51
AAP 25 = FAP1 und HAP2	25.62 ± 3.72

Für die Apatitmaterialien HAP1, FAP1 und HAP2 erfolgte eine aufsteigende Messreihe (Tabelle 4.39c-d). Zwei 30 mg Prüfkörper (HAP1 und FAP1) wurden extra für die Mikrohärtemessung angefertigt. Die Schichtdicke der Clearfil-Apatitpasten sollte so massiv verstärkt

werden (30 mg HAP1: 252 µm und 30 mg FAP1: 195 µm), dass eine Verfälschung der Messung gegen die Schmelzoberfläche ausgeschlossen werden konnte.

Tabelle 4.39b: Mittelwerte der Vickershärte (HV) mit Standardabweichungen für Clearfil Tri S Bond Plus–HAP1-Apatitpasten

Prüfkörper	Mittelwert und Standardabweichung
AAP 2 = 5 mg HAP1	44.66 ± 3.81
AAP 3 = 7 mg HAP1	23.28 ± 7.28
AAP 4 = 15 mg HAP1	30.1 ± 6.13
AAP 5 = 30 mg HAP1	53.58 ± 5.96

Tabelle 4.39c: Mittelwerte der Vickershärte (HV) mit Standardabweichungen für Clearfil Tri S Bond Plus–HAP2-Apatitpasten

Prüfkörper	Mittelwert und Standardabweichung
AAP 7 = 5 mg HAP2	33.82 ± 6.16
AAP 8 = 7 mg HAP2	32.94 ± 7.02
AAP 9 = 15 mg HAP2	32.12 ± 5.48

Tabelle 4.39d: Mittelwerte der Vickershärte (HV) mit Standardabweichungen für Clearfil Tri S Bond Plus–FAP1-Apatitpasten

Prüfkörper	Mittelwert und Standardabweichung
AAP 12 = 5 mg FAP1	26.5 ± 7.81
AAP 13 = 7 mg FAP1	32.88 ± 14.38
AAP 14 = 15 mg FAP1	26.22 ± 7.50
AAP 15 = 30 mg FAP1	27.04 ± 20.68

Die Vergleichsmessungen auf der unbehandelten, aber polierten Schmelzoberfläche wiesen deutlich höhere Werte auf. Die Adhäsiv-Apatitpasten erreichen trotz unterschiedlicher Apatitmaterialien und auch Materialmengen nur ungefähr 10% der Mikrohärtewerte einer polierten Schmelzoberfläche.

Prüfkörper nach Säureexposition

Die REM-Aufnahmen von repräsentativen Prüfkörpern aus beiden Adhäsiv-Apatitpasten Versuchsreihen zeigen nach der Säurebehandlung mit 35%iger Phosphorsäure eine fast vollständige Unversehrtheit der Oberfläche (Abb. 4.40a, c und d). Lediglich auf den 10 000fachen Vergrößerungen sind einzelne Kristallit auswaschungen sichtbar (Abb. 4.40b).

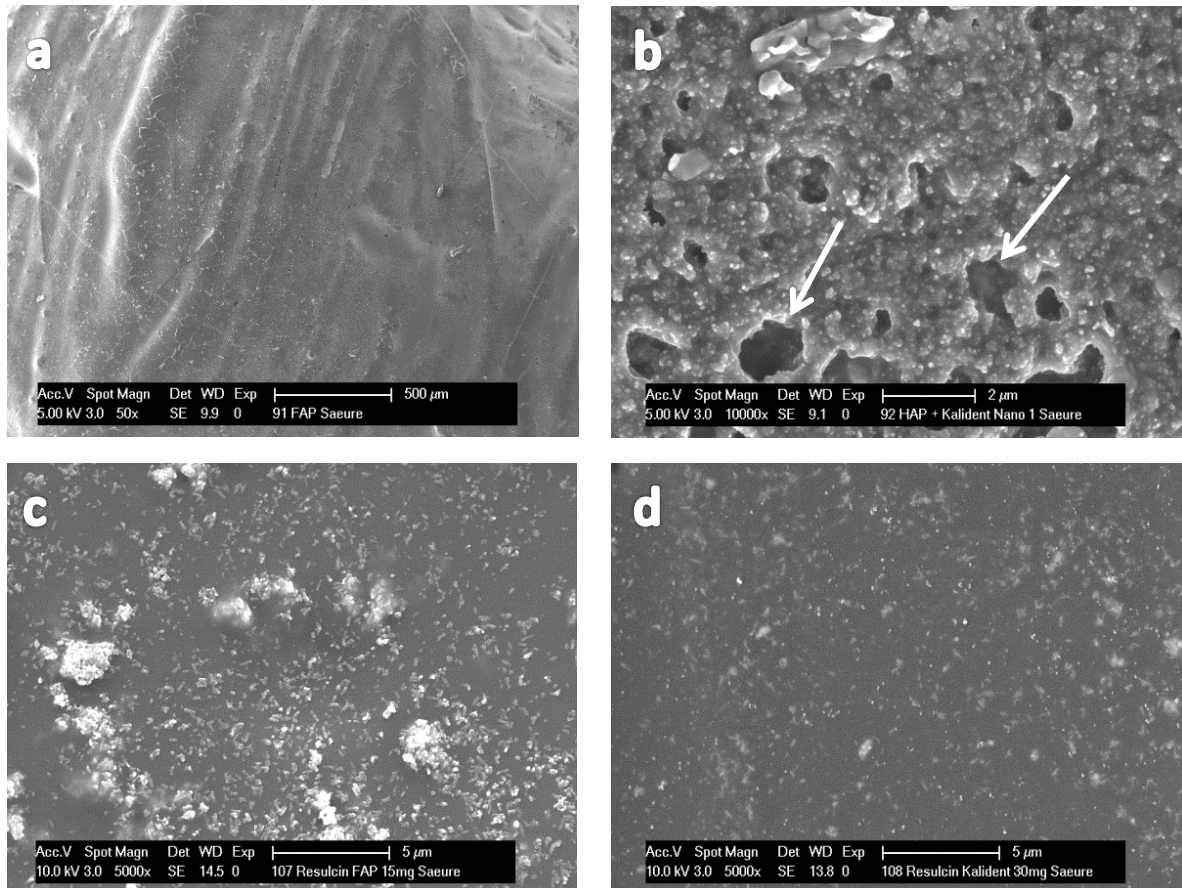


Abb. 4.40 REM-Aufnahmen nach Säureexposition. a: Clearfil 15 mg FAP1. b: Clearfil 15 mg HAP1/HAP2, Kristallit auswaschungen (Pfeile). c: Resulcin 15 mg FAP1. C: Resulcin 30 mg HAP2. Originalvergrößerungen: 50fach (a), 5 000fach(c, d), 10 000fach (b).

Prüfkörper nach Thermocycling

Die Adhäsiv-Nanopasten der Clearfil Tri S Bond Plus Versuchsreihe reagierten unterschiedlich auf das Thermocycling Verfahren. Auf den BSE-REM-Aufnahmen der mit **HAP2 7 mg und 30 mg** behandelten Prüfkörpern (Abb. 4.41a und b) und auch der mit **15 mg-Mischungen HAP1/HAP2 und FAP1/HAP2** (Abb. 4.41c und d) behandelte Prüfkörpern sind ausgeprägte vertikale Risse in der Adhäsiv-Apatitpaste sichtbar. Der horizontale Verbund auf der Schmelzoberfläche bleibt erhalten. Die mit **7 mg und 15 mg FAP1** behandelten Prüfkörper und der mit **15 mg HAP2** behandelte Prüfkörper überstanden die Thermowechselbelastung relativ unbeschadet. Die Abb. 4.42 verdeutlicht dies in parallel zueinander gestellten SE- und BSE-REM-Aufnahmen der genannten Prüfkörper.

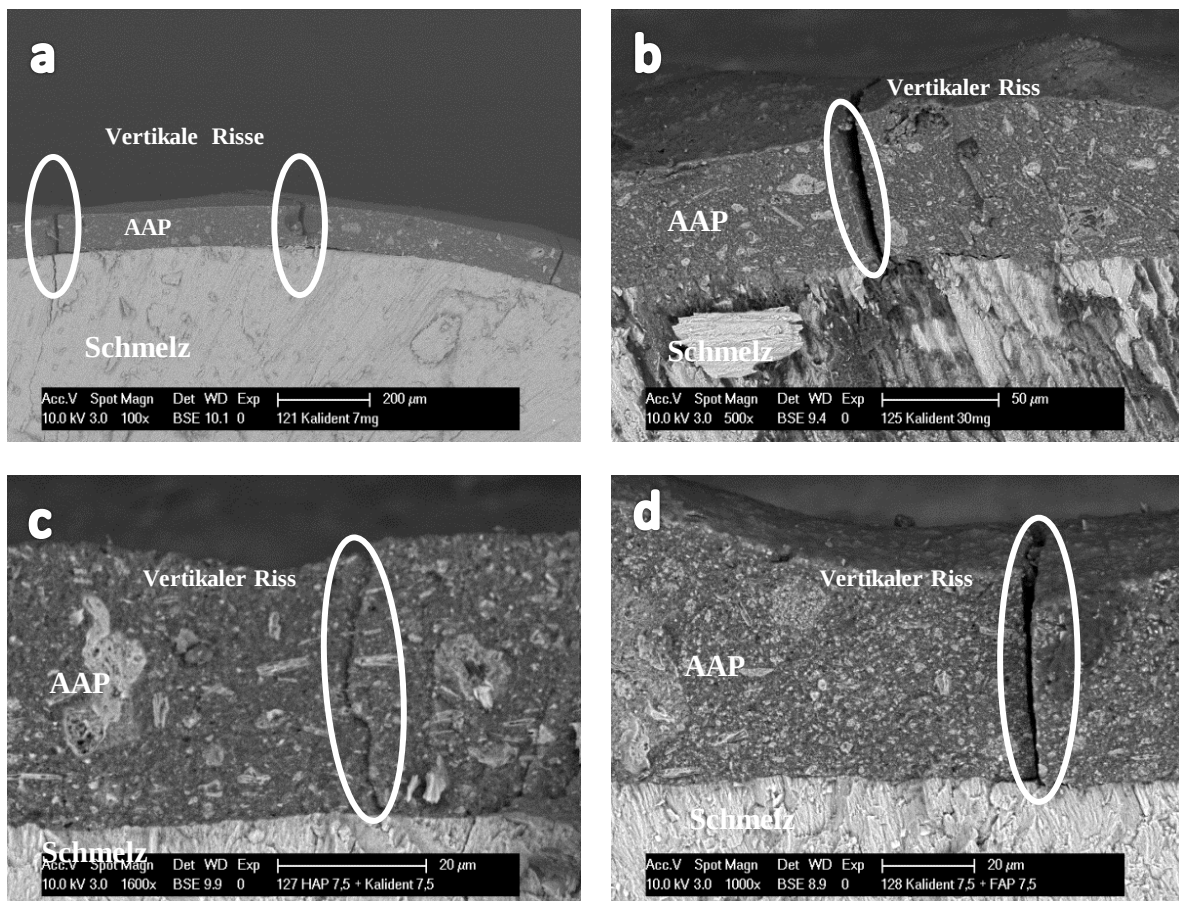


Abb. 4.41 BSE-REM-Aufnahmen nach Thermocycling Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten. a: HAP2 7 mg, b: HAP2 30 mg, c: HAP1/HAP2 15 mg, d: FAP1/HAP2 15 mg. Originalvergrößerungen 100fach (a), 500fach (b), 1 000fach (c und d).

Sowohl die Oberflächen (Abb. 4.42a, c und e), als auch der Verbund an den Grenzflächen Schmelz/Adhäsiv-Nanopaste verbleiben intakt (Abb. 4.42b, d und f).

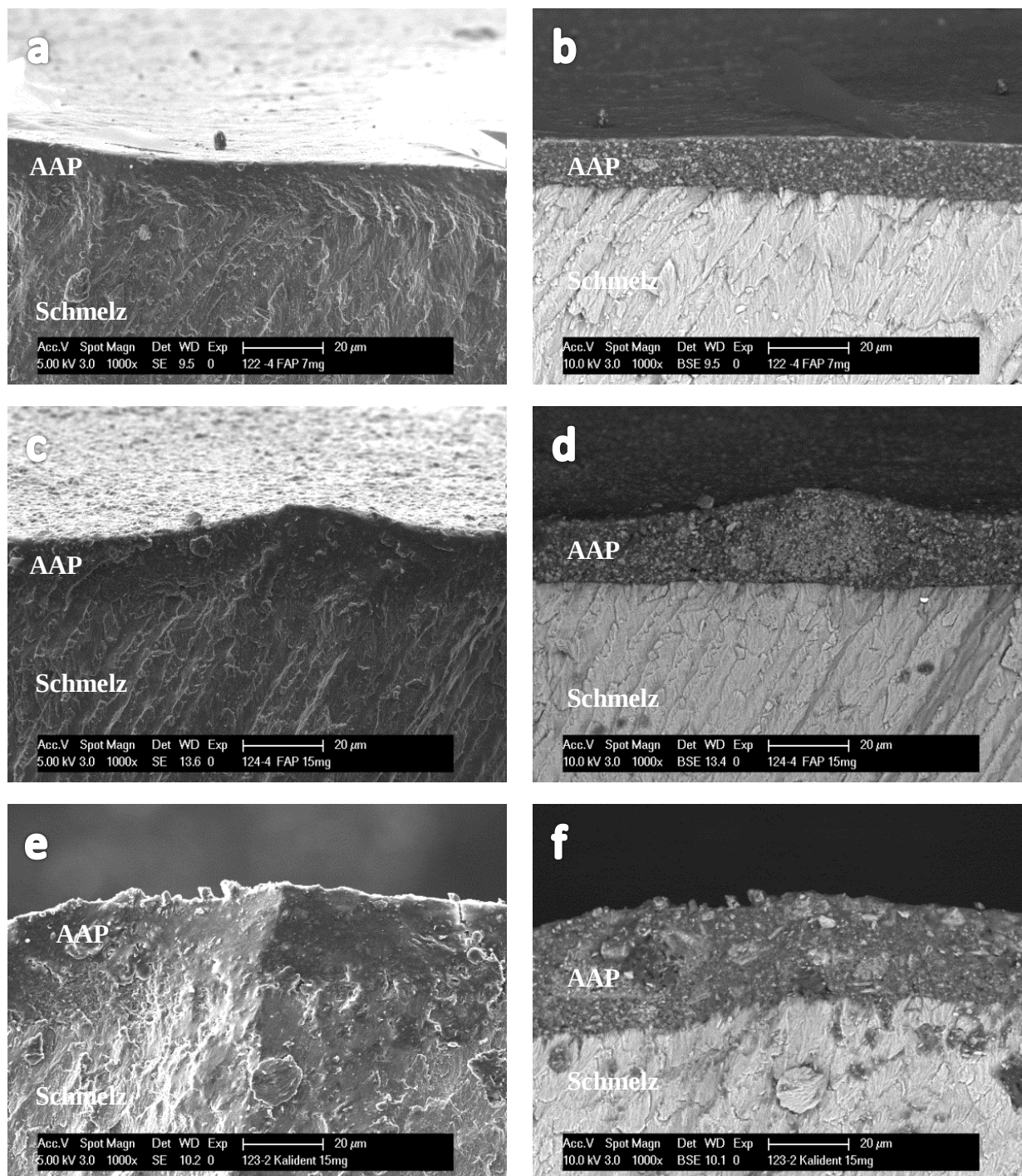


Abb. 4.42 REM-Aufnahmen nach Thermocycling Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten. a: FAP1 7 mg, SE. b: FAP1 7 mg, BSE. c: FAP1 15 mg, SE. d: FAP1 15 mg, BSE.. e: HAP2 15 mg, SE. f: HAP2 15 mg, BSE. Originalvergrößerungen 1 000fach.

Zum Vergleich wurden nur einzelne Resulcin Prüfkörper (Applikation ohne Aqua conservans) einer künstlichen Alterung im Thermocycling Verfahren unterzogen. Die repräsentativen REM-Aufnahmen der mit **15mg und 30 mg FAP1** behandelten Prüfkörper dokumentieren deutlich die getrennte Applikation von Primer-Apatitgemisch und Bond. Die Vertikalrisse (Abb. 4.43b) sind eindeutig in der Primer-Apatitschicht lokalisiert. Die Bondschicht, aber auch der Verbund AAP-Schmelz bleibt intakt. Auffällig ist weiterhin ein ausgeprägter horizontaler kohäsiver Bruch im Schmelz (Abb. 4.43c).

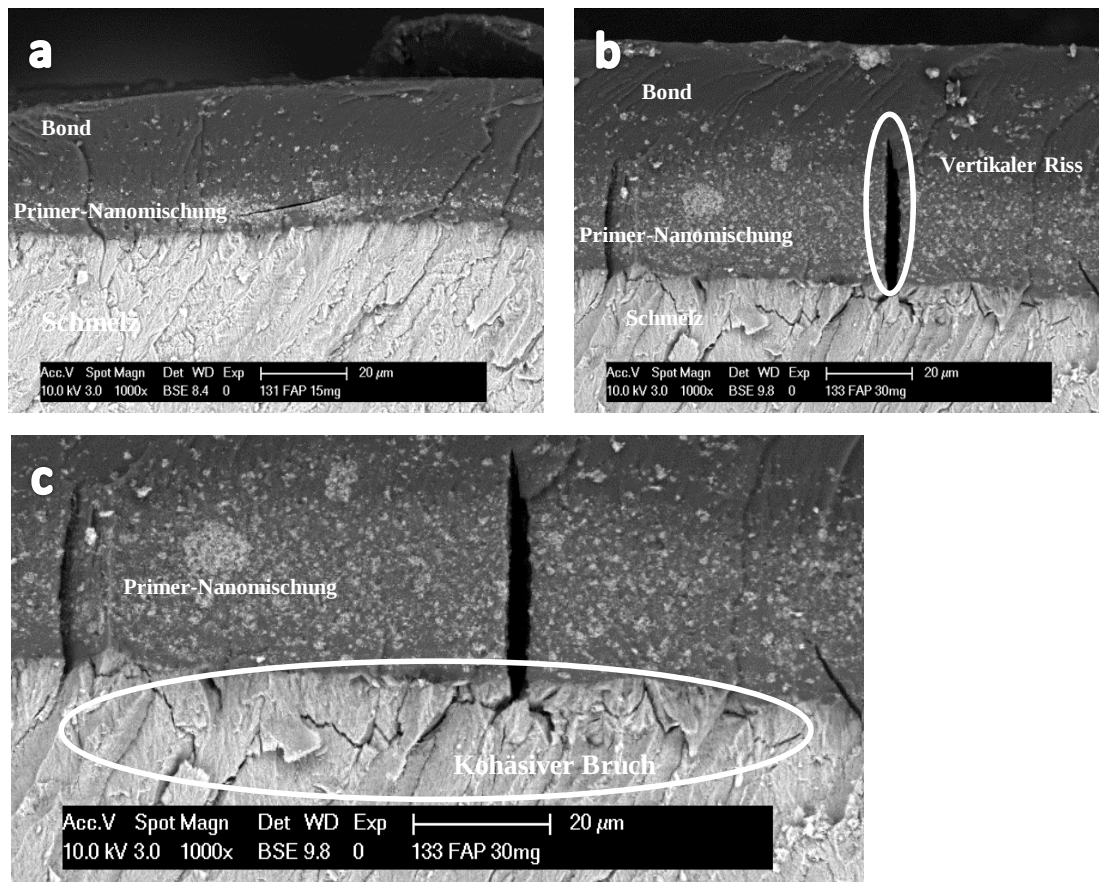


Abb. 4.43 REM-Aufnahmen nach Thermocycling Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten. a: 15 mg FAP1. b und c: 30 mg FAP1. Originalvergrößerungen 1 000fach.

5 Diskussion

5.1 Material und Methode

Schmelzprüfkörper

Zur Gewinnung der Schmelzprüfkörper wurden ausschließlich voll ausgereifte, kariesfreie, humane extrahierte Prämolaren und Molaren, in der Regel Weisheitszähne, verwendet. Die Wurzeloberflächen wurden mechanisch gereinigt und die Zähne anschließend bis zur Herstellung der Prüfkörper in 70% Ethanol gelagert. In einer ersten Versuchsreihe blieb die Schmelzoberfläche unbehandelt. Um Effekte der prismenfreien Oberflächenschicht auszuschließen [Radlanski, 2011], wurden die Schmelzprüfkörper in den weiteren Versuchsreihen poliert und die Oberflächen somit vereinheitlicht. Die Entfernung der aprismatischen Deckschicht macht den Schmelz zugänglicher für die Demineralisation [Meurman und Frank, 1991]. Auch die Markierung der Schmelzoberfläche (in der ersten Versuchsreihe) wurde in den folgenden Versuchsreihen gänzlich aufgegeben. Die Darstellung von Referenzflächen auf jedem Prüfkörper erwies sich als nicht notwendig. Das Anbringen einer Sollbruchstelle auf der Dentinseite und die Möglichkeit, anstelle eines Querschliffes die tiefen Schmelzareale zu betrachten, waren von großer Bedeutung und haben zur Differenzierung der Ergebnisse beigetragen. Die histologische Aufarbeitung als Querschliffpräparat verbietet sich, die morphologischen Oberflächenveränderungen sollten zur Analyse unbehandelt bleiben. Die basal plane Präparation der Prüfkörperunterseiten diente der besseren Fixierung und Untersuchung auf dem Probenhalter für die REM-Untersuchungen. Insgesamt stellten sich die Versuchsreihen als einfaches, reproduzierbares Verfahren zur Anwendung von Apatitmaterialien auf Schmelzoberflächen *in vitro* dar.

Lagermedium

Die Aufbewahrung der Zähne erfolgte bis zur Präparation der Schmelzprüfkörper und Versuchsdurchführung in 70% Ethanol. Nach der Versuchsdurchführung wurden die Prüfkörper trocken und luftdicht gelagert. Die Lagerungsbedingungen von Zahnhartgeweben sind nicht standardisiert, die verwendeten Lösungen variieren. Bei Zähnen gibt es grundsätzlich zwei verschiedene Möglichkeiten der Lagerung. Die Lagerung in wässrigen Lösungen und die trockene Lagerung. In einer Studie wurden die Auswirkungen der wässrigen Medien auf die

mechanischen Eigenschaften und die Oberflächenstruktur der Zähne beurteilt [Grünberg, 2013]. Verglichen wurden eine physiologische NaCl-Lösung, CaCl₂-Lösung, Hanks buffered salt solution, 0,1% Thymol-Lösung und pH-neutraler Speichel nach Fusayama. Als unproblematisch für die Lagerung von Zahnhartgewebe stellten sich die physiologische NaCl-Lösung und der künstliche Speichel nach Fusayama heraus, einen neutralen pH-Wert vorausgesetzt. Die CaCl₂-Lösung, Hanks buffered salt solution und auch die 0,1% Thymol-Lösung führten nach einer Lagerdauer von 50 Tagen zu einer drastischen Reduktion der mechanischen Eigenschaften und auch einer mehr oder minder starken Veränderung der Oberflächenbeschaffenheit der Zahnhartgewebe [Grünberg, 2013]. In einer Studie zum Einfluss der Lagerungszeit auf die Kompositschmelzhaftung wurden in Thymol eingelagerte Zähne verwendet. Dabei wurden Thymol-Lösungen verschiedener Konzentrationen verwendet. Die Autoren fanden zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Verbindung von Komposit an das Zahnmaterial [Williams und Svare, 1958]. Somit existieren in der Literatur widersprüchliche Aussagen über eine Eignung von Thymol-Lösungen als Lagermedium für Zahnschmelz. Da die Lagerung der Zähne über einen längeren Zeitraum zu erfolgen hatte, kam nur eine desinfizierende Lösung in Frage. Zur Desinfektion der Zähne werden vorwiegend chemische Substanzen eingesetzt. Um das Sammeln und auch die Präparation der Schmelzprüfkörper unter hygienischen Gesichtspunkten durchzuführen, spielen das Wirkungsspektrum, die Stabilität und die Wirkungsweise bei der Auswahl eines geeigneten Lagermediums eine entscheidende Rolle [Baumeister, 2011]. Das Wirkungsspektrum von Formalin umfasst Bakterien und Viren, Zellproteine und Nukleinsäuren werden denaturiert. Die limitierenden Faktoren für den Einsatz von Formalin als Lagermedium sind die allergene und kanzerogene Wirkung, der Geruch und der langsame Wirkungseintritt [Rotter und Koller, 2001]. Da auch der pH-Wert des Formalins mit der Zeit abnimmt, wurde es als Lagermedium für Schmelz abgelehnt [Silverstone, 1967]. Das Wirkungsspektrum von 70%igem Ethanol umfasst nicht alle grampositiven Mikroorganismen [Baumeister, 2011]. Für Zahnschmelz ließen sich in der Literatur keine Quellen finden, die einen Einfluss des Alkohols bzw. Formalins auf den Schmelz beschreiben. Obwohl Formalin als Lagermedium für Schmelz geeignet erscheint, kann eine generelle Empfehlung dieses Lagermediums nur bedingt gegeben werden, da eine mögliche anderweitige Verwendung der Dentinanteile der oft mühsam gesammelten Zähne unmöglich wird [Baumeister, 2011].

Demineralisierung

Die Fragestellung der Studie beinhaltet die Schmelzregeneration mit Apatitmaterialien. Dazu war es notwendig, sowohl auf den natürlichen Schmelzoberflächen der ersten Versuchsreihe, als auch auf den polierten Schmelzoberflächen der weiteren Versuchsreihen eine reproduzierbare Methode zur Schaffung von Schmelzmikrodefekten anzuwenden. Für die Erzeugung der künstlichen Schmelzmikrodefekte existiert kein standardisiertes Verfahren. Die in der Literatur beschriebenen Vorgehensweisen greifen zum größten Teil auf die Orthophosphorsäure zurück, allerdings in unterschiedlichen Konzentrationen (17 %, 37 % oder 85 %) und Applikationszeiten (10 s, 30 s oder 60 s) [Li *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012; Xie *et al.*, 2011]. In dieser Studie wurde die der Adhäsivtechnik zugrundeliegende Schmelz-Ätz-Technik genutzt, um Mikrodefekte auf der Schmelzoberfläche zu erzeugen. Die in der Praxis gängigen Ätzgele enthalten Orthophosphorsäure zwischen 30 und 40 Gew.-%. Säurekonzentrationen unter 30% führen zur Ablagerung von schwer löslichem Brushit ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) auf dem Zahnschmelz. Diese Verbindung lässt sich mit Wasserspray schlecht entfernen. Säurekonzentrationen über 40% führen zur raschen Präzipitation von Kalziumphosphatverbindungen. Aber auch beim Ätzen mit 30–40%iger Orthophosphorsäure kommt es zu Kalziumphosphatpräzipitaten, die anschließend sorgfältig weggesprüht werden müssen. Durch den Ätzvorgang resultiert ein mikroretentives Relief an der Schmelzoberfläche bis zu einer Tiefe von 30–50 μm und mit einer Auflösung der Schmelzprismen bzw. der interprismatischen Substanz [Hellwig, 2013]. Zur Konditionierung der Schmelzoberflächen wurde bei den Apatitpasten 17%ige Phosphorsäure verwendet. Auffällig sind besonders die amorphen Auflagen auf den mit der Regenerationspaste R1 (HAP1/pH 1) behandelten Prüfkörpern. Dies deutet auf die Ausfällung von Kalziumphosphatverbindungen durch zu niedrige Phosphorsäurekonzentrationen hin. Die Konditionierung mit den sauren funktionellen Monomeren der Self-Etch Adhäsive der Adhäsiv-Apatitpasten führt dagegen zu einem effektiven Verbund mit der Schmelzoberfläche. Fluoridreicher oder aprismatischer Zahnschmelz lassen sich nicht in gleichem Maß demineralisieren, da aufgrund der veränderten Löslichkeitseigenschaften kein ideales Ätzmuster entsteht [Hellwig, 2013]. Deshalb wurde in der Mehrzahl der Versuchsreihen zur Prüfkörperherstellung auf möglichst impaktierte Weisheitszähne zurückgegriffen und deren oberste prismenfreie Schmelzschicht durch eine Politur abgetragen. Auf eine Demineralisation der Schmelzoberfläche kann in den Studien zur Schmelzregeneration nicht verzichtet werden, da dieser Vorgang der Schaffung von Schmelzmikrodefekten dient. Gleichzeitig zeigten die demineralisierten Prüfkörper in dieser Studie die besseren Ergebnisse.

Schmelz sollte auch unter der Verwendung eines Self-Etch Adhäsivs selektiv vorgeätzt werden, um die mikromechanische Verankerung zu verbessern [Yoshihara *et al.*, 2011].

Materialien

In vergleichbaren Studien kamen die Apatitmaterialien als Nanopasten zum Einsatz. Außer einer nicht näher beschriebenen n-HAP-Suspension, [Li *et al.*, 2008] oder Zahnpasta [Roveri *et al.*, 2008] wurden die Nanopasten durch Hinzufügen einer 17%igen Phosphorsäure [Wang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012] oder einer Kombination aus 85% Phosphorsäure und 35% H₂O₂ hergestellt [Yamagishi *et al.*, 2005; Onuma *et al.*, 2005]. In einer weiteren Studie von 2012 zeigten unterschiedliche pH-Werte von n-FAP-Pasten auffällige Effekte [Wang *et al.*]. Die Apatitpasten-Versuchsreihen in dieser Studie wurden deshalb um diese Variable ergänzt und mit beiden Apatitmaterialien jeweils bei pH 1 und pH 7 durchgeführt. Zur Herstellung der unterschiedlichen pH- Bedingungen wurden 17%ige Phosphorsäure (pH 1) und Aqua purificata (pH 7) verwendet. Aqua purificata, gereinigtes Wasser, entspricht den Reinheitskriterien des Europäischen Arzneibuches. Es wird aus Trinkwasser durch Destillation, unter Verwendung von Ionenaustauschern, durch Umkehrosmose oder anderen geeigneten Methoden hergestellt. Es ist weitgehend frei von Salzen, organischen Stoffen und Mikroorganismen. Gereinigtes Wasser wird unter Bedingungen gelagert und verteilt, die ein Wachstum von Mikroorganismen verhindern [Ph. Eur., 2011]. Beide Flüssigkeiten zeigten sich als völlig unproblematisch in der Herstellung der Nanopasten. Die Applikation der Pasten erfolgte durch einfaches Auftragen mit Hilfe eines Einmalpinsels. Diese einfache Applikationsform wurde auch in den meisten vorhergehenden Studien angewandt [Li *et al.*, 2008; Yamagishi *et al.*, 2005; Onuma *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012].

REM, EDX

Zur Untersuchung von mikro- bis nanomorphologischen Oberflächenstrukturen eignet sich besonders das Rasterelektronenmikroskop. Neben der Betrachtung der morphologischen Merkmale bei sehr hoher Vergrößerung und Tiefenschärfe, können auch analytische Methoden genutzt werden. Zwischen dem Elektronenstrahl und den Atomhüllen der Elemente des zu untersuchenden Materiales kommt es zu Wechselwirkungen. Dabei entsteht unter anderem eine elementtypische Röntgenfluoreszenzstrahlung, die mit einem energie-dispersiven (EDX) Detektorsystem aufgezeichnet und zur Analyse genutzt werden kann. Die Analyse der in der

Probe erzeugten Röntgenstrahlung dient dazu, die Existenz einzelner Elemente nachzuweisen und gegebenenfalls ihre Konzentration zu bestimmen, d. h. eine qualitative und quantitative Analyse durchzuführen. Der besondere Vorteil der Röntgenmikroanalyse gegenüber anderen analytischen Methoden besteht darin, dass die räumliche Verteilung der Elemente innerhalb einer Probe untersucht werden kann [Reimer, 1977]. Nach Durchführung der Versuchsreihen wurden alle Prüfkörper trocken und staubfrei gelagert. So blieben die behandelten Oberflächen kontaminationsfrei erhalten und die Proben konnten in Vorbereitung der REM-Untersuchungen weiter austrocknen. Nach der Fixierung auf einem REM Probenhalter wurden die Prüfkörper in einem Sputter mit einer dünnen Schicht Kohlenstoff (~4 nm) bedampft und im Rasterelektronenmikroskop bei 20-, 1 000-, 5 000-, 10 000- und 20 000facher Vergrößerung untersucht. Die Behandlung und Lagerung der Prüfkörper gewährleistete eine gute Archivierung für eventuelle Nachfolgestudien.

5.2 Ergebnisse Apatitpasten

Die in dieser Studie durchgeführten Versuchsreihen erzeugten auf den Schmelzoberflächen keine Strukturen im Sinne einer echten Schmelzregeneration. Die aus der Behandlung der polierten, bzw. unpolierten Schmelzoberflächen resultierenden morphologischen Strukturveränderungen zeigten als Ergebnis keine Präzipitatschicht mit einer organisierten kristallinen schmelzähnlichen Struktur. Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe, das vollständige Fehlen von Präzipitaten nach Behandlung mit der Mehrfunktionsspritze lassen sogar vermuten zwischen den vorbehandelten humanen Schmelzoberflächen und den Apatitmaterialien kommt es zu keiner echten ionischen Bindung. Bei der chemischen Ionenbindung werden positiv und negativ geladene Ionen in einem Ionenkristall durch elektrostatische Kräfte (Coulomb-Energie) zusammengehalten [Borchardt-Ott *et al.*, 2013]. In der Literatur wurden Versuchsreihen in ähnlicher Weise durchgeführt. Alle Studien mit rein anorganischem Versuchsansatz erzeugen Präzipitatschichten. Die Dimension der Schichten reicht von einigen Nanometern [Li *et al.*, 2008; Roveri *et al.*, 2008] bis in den Mikrometerbereich [Yamagishi *et al.*, 2005; Onuma *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2012]. Dabei wurden als Nanomaterialien entweder Hydroxylapatit [Li *et al.*, 2008], oder Fluorapatit [Yamagishi *et al.*, 2005; Onuma *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012] verwendet. Der direkte Vergleich von Hydroxylapatit und Fluorapatit in dieser Studie bestätigt die Ergebnisse der Literatur, die Applikation beider Apatite auf die Schmelzoberfläche führt dort zu morphologischen Veränderungen annähernd gleichen Ausmaßes im Mikrometerbereich. Allerdings unterscheiden sich die

Hydroxylapatitpräzipitate morphologisch stark von den in der Literatur gefundenen Ergebnissen [Li *et al.*, 2008]. Die in der vorliegenden Studie dokumentierten, ausgeprägten amorphen Strukturen finden sich zum größten Teil auf den mit HAP1/pH1 behandelten Prüfkörpern. Die Ursache könnte in der für die Pastenherstellung zu niedrig gewählten Phosphorsäurekonzentration von 17% liegen, die, wie oben beschrieben, zur Ausfällung von schwerlöslichen Kalziumphosphatverbindungen führt [Hellwig, 2013]. Die Ablagerungen der Fluorapatitpasten ähneln in ihrer Struktur eher kristallinen Formen. Die neutralen Regenerationspasten R2 (HAP1) und R4 (FAP1) zeigen geringfügig bessere Ergebnisse als die sauren Pasten, was auch in der Literatur bestätigt wird [Wang *et al.*, 2012]. Zu den Applikationszeiten der Apatitpasten existieren in der Literatur unterschiedlichste Ansätze, die mit Abstand häufigste Variante beschränkt sich auf einen 15-Minuten Zyklus [Yamagishi *et al.*, 2005; Onuma *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012]. Vergleichende Zykluszeiten oder –häufigkeiten wurden bisher nicht untersucht. Die dreimalige Wiederholung der 15-Minuten Zyklen, oder sogar die Verlängerung der Zyklusdauer auf 30 Minuten zeigten sichtbar größere Mengen an Präzipitaten bei Anwendung aller Regenerationspasten. Aus diesem Grund wurde für die zweite Versuchsreihe ausschließlich die Zyklusdauer von 30 Minuten gewählt. Als weitere Versuchsvariable wurde in der ersten Versuchsreihe bei einem Teil der Prüfkörper auf die in der Literatur beschriebene Konditionierung der Schmelzoberfläche mit Phosphorsäure (hier 17%) verzichtet. In der Literatur wird die Konditionierung der Schmelzoberfläche und damit das Ätzen der Schmelzstruktur als unbedingte Voraussetzung eines Reparaturmechanismus diskutiert [Yamagishi *et al.*, 2005]. Die durch den sauren pH-Wert bedingte Abspaltung von Kalziumphosphatgruppen (Cluster) aus dem natürlichen Schmelz und der weitere Zerfall der Cluster in Kalzium- und Hydroxylionen ermöglichte erst die nahtlose und komplette Adhäsion des Reparaturmaterials auf dem Schmelz [Onuma *et al.*, 2005]. Nur eine einzige vorausgehende Arbeit verzichtete auf eine Konditionierung der Schmelzoberflächen, dokumentierte aber trotzdem neu gebildete Schichtdicken aus Nanohydroxylapatit von 40–50 µm auf den Schmelzoberflächen [Li *et al.*, 2008]. Dieses Ergebnis wird in der aktuellen Studie nicht bestätigt. Auf den demineralisierten, aber nicht konditionierten Schmelzoberflächen lagern sich auffällig weniger Präzipitate ab (Abb. 4.6a). Da für die Notwendigkeit der Demineralisation der natürlichen Schmelzoberfläche vergleichende Studien fehlen, wurden die Schmelzoberflächen bei einem Anteil der Prüfkörper weder demineralisiert noch konditioniert. Das Ergebnis zeigt, dass eine Ablagerung von Präzipitaten ohne vorhergehende Einwirkung eines sauren Mediums nicht möglich ist (Abb. 4.7a und 4.9a). Auch wenn die vorliegende Studie die Bildung von mehr oder weniger auffälligen morphologischen Schmelzoberflächenveränderungen

bestätigt, so differieren die Ergebnisse im Detail erheblich zu den im Schrifttum publizierten Studien. Die relativ invasive Nachbehandlung der Prüfkörper 17–24 der zweiten Versuchsreihe mit einem Wasser/ Druckluftgemisch aus der zahnärztlichen Mehrfunktionsspritze und der damit einhergehende offensichtliche Verlust jeglicher Präzipitatschichten stellt alle zuvor geschilderten Ergebnisse der ersten Versuchsreihe aber auch der publizierten Studien in Frage. Diese Art der Nachbehandlung der Schmelzprüfkörper wurde in der Literatur bisher nicht geschildert. Die gängigen Methoden beschränken sich auf das Abwaschen mit Ethanol [Li *et al.*, 2008] oder Aqua dest. [Wang *et al.*, 2012], die Ultraschallbehandlung [Li *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2012] oder der Nachbehandlung mit einer Zahnputzmaschine [Yamagishi *et al.*, 2005]. Die Behandlung der Präzipitatschichten mit Ultraschall führte zu keinerlei Ablösung der Präzipitate. Die effektive Adsorption des artifiziellen Apatits an der Schmelzoberfläche wird mit der besonders geringen Partikelgröße (20 nm) und deren effizienter Einlagerung zwischen den Schmelzkristalliten der geätzten Oberfläche erklärt [Li *et al.*, 2008]. Einige Autoren verzichteten gänzlich auf eine Nachbehandlung und lassen die Nanopaste schlicht eintrocknen [Onuma *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2009]. Alle Autoren der vergleichenden Studien bestätigten schmelzähnliche Präzipitate in geordneten, hierarchischen Strukturen. Sie verifizierten ihre Ergebnisse durch verschiedene Analyseverfahren, wie die Rasterelektronenmikroskopie [Li *et al.*, 2008; Onuma *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012], Transmissionselektronenmikroskopie [Yamagishi *et al.*, 2005; Roveri *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012], CLSM (confocal laser scanning microscope) [Li *et al.*, 2008; Yamagishi *et al.*, 2005] oder der Rasterkraftmikroskopie [Yamagishi *et al.*, 2005; Onuma *et al.*, 2005]. Die chemische Analyse der neu gebildeten Auflagenschichten wurde mittels XPS (Röntgenphotoelektronenspektroskopie) [Wang *et al.*, 2012] durchgeführt, die Kristallgitteruntersuchungen mit XRD (X-ray diffraction) [Roveri *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2012]. Die in dieser Studie vorliegenden Ergebnisse wurden durch Untersuchungen mit dem Rasterelektronenmikroskop und EDX-Analysen generiert. Zusätzliche Untersuchungsmethoden machen in zukünftigen Studien nur Sinn, wenn es gelingen sollte, eine chemische Bindung zwischen der Schmelzoberfläche und dem Apatitmaterial herzustellen.

Die vorliegende Studie konnte die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse, die Bildung von schmelzähnlichen Präzipitatschichten aus neu geformten Apatitkristallen in einer dem Schmelz ähnlichen geordneten Mikrostruktur [Wang *et al.*, 2009], nicht nachvollziehen. Es besteht die Notwendigkeit weiterführender Versuchsreihen. Die Parameter, die sich in der vorliegenden Studie bewährt haben, sollten beibehalten werden. Dazu gehören die Art der

Prüfkörperherstellung, die verwendeten Apatitmaterialien (hier besonders Fluorapatit), die pH-Bedingungen (pH 1 und pH 7), der Applikationsmodus und der 30-Minuten-Zyklus. In der Nachbehandlung sollte zusätzlich die Ultraschallbehandlung als Variable eingesetzt werden. Offen ist die Frage nach der Demineralisation. Bisher konnte in keiner Studie geklärt werden, ob eine Demineralisation in Kombination mit der Konditionierung erforderlich ist, da die Demineralisation in den *in-vitro* Studien nur zur Erzeugung künstlicher Schmelzmikrodefekte dient. Die Prüfkörper 17–24 zeigen völlig ausreichende Ätzmuster allein durch die Konditionierung der Schmelzoberflächen. Andererseits zeigten alle demineralisierten und konditionierten Schmelzoberflächen im Vergleich zu den nur konditionierten Schmelzoberflächen bessere Ergebnisse, also mehr Präzipitate. Und schließlich ist zu bedenken, dass die Anwendung der stark sauren Materialien im Mund problematisch ist.

Der Versuchsaufbau konnte die komplexe Situation im Mund nicht vollständig darstellen. So blieben Speichелеffekte, Puffer- und Verdünnungseffekte und das Vorhandensein eines initial oralen Biofilms unberücksichtigt. Da die Pellikel eine wichtige Rolle bei der Prävention von erosiven Substanzverlusten spielt, kann auch *in-vivo* nicht auf eine schmelzkonditionierende Vorbehandlung verzichtet werden. Eine *in-vivo* Studie müsste auf diverse Parameter Rücksicht nehmen, die eine klinische Anwendung gewährleisten würden. Für den Einsatz von stark sauren Materialien (Konditionierungsflüssigkeiten, Regenerationspasten) müssten geeignete Schutzmaßnahmen für Gingiva und Mukosa ergriffen werden, wie z.B. die Kofferdamtechnik. Und es sollte eine geeignete Applikationstechnik entwickelt werden, die eine längere Applikationsdauer der Regenerationspasten garantieren könnten. Dabei wäre in Anlehnung an Bleachingtechniken eventuell an ein In-Office-Verfahren oder eine Applikation über eine Schiene zu denken.

5.3 Ergebnisse Adhäsiv-Apatitpasten

Die funktionellen Monomere der Self-Etch Adhäsive erfüllen verschiedene Funktionen. Sie erzeugen aufgrund ihrer Azidität Ätzmuster auf den Zahnhartsubstanzen, sie verbessern die Penetration der Monomere [Van Landuyt *et al.*, 2007] und sie verleihen den Self-Etch Adhäsiven ein hohes Potential an chemischen Wechselwirkungen mit den Zahnhartsubstanzen [Van Landuyt, Yoshida *et al.*, 2008]. Besonders 10-MDP zeigt das signifikant größte Bindungspotential zu synthetischem HAP [Yoshida *et al.*, 2001 und 2004; Fukegawa *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2010]. Mit der in dieser Studie vorgestellten neuartigen Kombination aus dem MDP-

haltigen (und auch in geringer Menge HEMA-haltigen) Self-Etch Adhäsiv Clearfil Tri S Bond Plus und artifiziellen Apatitmaterialien gelingt es, Schichten zu generieren, die eine dem natürlichen Schmelz ähnliche mikromorphologische Struktur aufweisen. Die durchschnittliche Schichtdicke beträgt 30 µm. Besonders eindrucksvoll präsentieren sich die mit 7 mg und 15 mg HAP1, 7 mg und 15 mg HAP2, 15 mg FAP1 und den Apatitmischungen 15 mg HAP1/HAP2 und 15 mg HAP1/FAP1 behandelten Prüfkörper. Die Apatitmaterialien liegen eingebettet in der Matrix und bilden einen dichten, spaltfreien Verbund zur Schmelzoberfläche. Die ungewöhnlich gute Chemisorption an das Hydroxylapatit der Schmelzoberfläche wurde in zahlreichen Studien nachgewiesen. Das grundlegende Prinzip der chemischen Bindung zwischen Hydroxylapatit und MDP wird durch das von Yoshida *et al.* [2001] entwickelte AD-Konzept erklärt. Die reaktive Phosphatgruppe des funktionellen Monomers MDP reagiert in einer hydrolytisch stabilen Ionenbindung mit dem Kalzium des natürlichen Hydroxylapatits zu einem stabilen Kalzium-Phosphat-Salz. Zusammen mit zwei MDP-Molekülen bilden die Kalzium-Phosphat-Salze eine hydrophobe Nanoschicht [Fukeyawa *et al.*, 2006]. Gleichzeitig polymerisiert das Kalzium-Phosphat-Salz mit den Monomeren [Van Meerbeek *et al.*, 2011]. Um auch die zusätzliche mikromechanische Verankerung des MDP's zu verbessern, sollte die Schmelzoberfläche selektiv vorgeätzt werden [Yoshihara *et al.*, 2011]. Ein Nachweis einer typischen mikromechanischen Verankerung sind sogenannte „tags“ = Verzäpfungen [Hannig *et al.*, 2002], wie sie an den mit 15 mg HAP1/FAP1 und 15 mg FAP1/FAP2 behandelten Prüfkörpern sichtbar werden (BSE-REM-Aufnahmen). In dieser Studie wurden alle Schmelzprüfkörper zur Schaffung von Schmelzmikrodefekten mit 35%iger Phosphorsäure vorbehandelt. Aber im Gegensatz zu der Yoshihara Studie [2011] zeigten auch einzelne nicht demineralisierte Prüfkörper einen spaltfreien Verbund zwischen der Adhäsiv-Apatitpaste und der Schmelzoberfläche (15 mg HAP1/HAP2 und 15 mg HAP2/FAP2). Diverse BSE-REM-Aufnahmen (wie 15 mg HAP1, 15 mg HAP2 15 mg FAP1) zeigten zusätzlich, dass die Apatitmaterialien völlig unbeschädigt von der Säureeinwirkung, zum Teil sehr gleichförmig, zum Teil aber auch sehr ungeordnet, als anorganische Füllkörper verbleiben. Möglicherweise bildet das saure Monomer an den artifiziellen Apatitpartikeln ebenso stabile Kalzium-Monomer-Salze, wie sie von dem Hydroxylapatit der natürlichen Schmelzoberfläche bekannt sind [Yoshida *et al.*, 2001]. Es entsteht ein guter Verbund an allen denkbaren Grenzflächen: Schmelz-HAP mit dem Adhäsiv, artifizielles HAP mit Schmelz-HAP, artifizielles HAP mit dem Adhäsiv. Da artifizielles Apatit im Überschuss vorliegt, werden relativ schnell alle Bindungskapazitäten des Adhäsivs erschöpft, die Säure damit neutralisiert und die Apatitpartikel bleiben physikalisch als Gerüst erhalten. Der geringe (vom Hersteller nicht genauer

deklarierte) Anteil an HEMA im Clearfil Tri S Bond Plus verbessert aufgrund seiner hydrophilen Eigenschaften die Benetzungseigenschaften des Adhäsivs [Moszner *et al.*, 2012] und damit die Haftfestigkeit [Nakaoki *et al.*, 2000]. Studien belegen, dass nur eine kleine Menge an HEMA, 10%, die Bindungswirksamkeit verbessert [Van Landuyt *et al.*, 2008]. In höheren Konzentrationen beeinflusst HEMA die chemische Wechselwirkung zwischen Hydroxylapatit und MDP signifikant, indem es die Bildung der hydrophilen Nanoschicht inhibiert [Yoshida *et al.*, 2012]. Die mögliche Reduzierung des HEMA ist sicherlich auch seiner zytotoxischen und genotoxischen Aktivität geschuldet [Schweikl *et al.*, 2006], auch wenn die Freisetzung radikaler Monomere aus polymerisierten Materialien eher als gering eingestuft wird [Kaga *et al.*, 2001]. Das vergleichsweise größere toxische Potential von HEMA ist zweifellos auf sein niedriges Molekulargewicht zurückzuführen und erklärt damit auch die schnelle Diffusion durch das Dentin [Wiegand *et al.*, 2006]. Bei der Verwendung von HEMA-Adhäsiven auf Schmelz, wie in dieser Studie, beschränkt sich der toxikologische Aspekt somit allein auf die Freisetzung des Monomers aus der polymerisierten Matrix.

Zum Vergleich wurde eine weitere Versuchsreihe mit dem kommerziell erhältlichen Self-Etch Adhäsiv Resulcin AquaPrime+MonoBond durchgeführt, dessen Primer ausschließlich HEMA-Ester der Phosphorsäure als funktionelle Monomere enthält. Auch die HEMA-Ester der Phosphorsäure können gleichzeitig als saure Monomere das Hydroxylapatit lösen und über eine reaktive Phosphatgruppe an ihm chemisch anbinden [Fu *et al.*, 2005]. Über die starke Säurewirkung des Self-Etch Adhäsives (pH = 0.7) erklärt sich die zusätzliche mikromechanische Verankerung mit Resin-„tags“ [Hannig *et al.*, 2002]. Aufgrund des niedrigen Molekulargewichtes senkt HEMA die Viskosität des Adhäsivs und es resultieren dünnere Schichten [Biernat *et al.*, 2005]. Auch diese Studie bestätigt die im Gegensatz zu den MDP-Apatitpasten geringeren Schichtdicken mit den Resulcin AquaPrime+MonoBond-Apatitpasten. Der Verbund zur Schmelzoberfläche zeigt schlechtere Resultate als die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse [Hannig *et al.*, 1999 und 2002; Fu *et al.*, 2005]. Eine auffällige Verbesserung des Adhäsiv-Schmelzverbundes zeigte sich erst bei den Prüfkörpern, die ohne den Zusatz von Aqua conservans behandelt wurden. Der AquaPrimer in Kombination mit dem artifiziellen Apatit führte zu einer ausgeprägten Chemisorption an das Apatit der natürlichen Schmelzoberfläche. Die Mischung des AquaPrimers aus zwei HEMA-Phosphorsäureestern bietet mit seinen reaktiven Phosphatgruppen, $(\text{PO}_4)^{3-}$, einen stabilen chemischen Verbund zu den Kalziumionen des natürlichen Apatits, aber auch des artifiziellen Apatits. Eine zusätzliche Säurefunktion scheint für diesen Prozess nicht notwendig zu sein.

Entgegen der Herstellerempfehlung zur Verwendung als Self-Etch Adhäsiv verschlechtert das Aqua conservans in der Adhäsiv-Apatitpaste eher die chemische Bindung zur Schmelzoberfläche. Eine mögliche Ursache könnte in der starken Verdünnung der Säure liegen, die die Ätzwirkung am Schmelz nachträglich beeinflusst. Allerdings ist positiv zu bemerken, dass die ohne Aqua conservans hergestellten Adhäsiv-Apatitpasten, trotz der im Vergleich zu Clearfil geringeren Schichtdicken, die thermischen Wechselbelastungen unbeschadet überstanden haben (15 mg FAP1 Prüfkörper).

Die Applikation der beiden kommerziellen Self-Etch Adhäsive in Kombination mit den Apatitmaterialien unterschied sich deutlich voneinander. In Abhängigkeit von ihrer unterschiedlichen Viskosität und der Anzahl der Arbeitsschritte und damit der Applikationsdauer zeigte sich das Clearfil Tri S Bond Plus eindeutig im Vorteil. Resulcin AquaPrime+MonoBond enthält als Lösungsmittel ausschließlich Wasser. Auch mit großen Mengen an Apatitmaterial (30 mg) blieb die Mischung niedrigviskös, die Primermatrix des Aqua Prime bot keinerlei Standfestigkeit auf der Schmelzoberfläche, was die geringeren Schichtdicken (etwa die Hälfte der mit Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitpasten erreichten Schichtdicken) erklärt. Die langen Wartezeiten bis zur vollständigen Verdunstung des Monomers, bzw. des Wassers reichten von 2-24 Stunden, um eine vollständige Polymerisation des MonoBonds zu garantieren. Ein weiterer Nachteil ist die Zwei-Schritt-Applikation, also die getrennte Applikation des Primers und des Adhäsivs (MonoBond). Die Applikationszeiten des getesteten All-in-one Self-Etch Adhäsivs Clearfil Tri S Bond Plus beträgt für die nach den Herstellerangaben vorgeschriebenen Arbeitsschritte, ohne die Zugabe des Apatits, 44 s [Van Landuyt *et al.*, 2009]. Das Untermischen der Apatitmaterialien verlängerte die Applikationszeit auf 54 s. Durch das wesentlich schnellere Verdunsten des Ethanol-haltigen Adhäsivs kam es zu keiner Verzögerung der Polymerisation. Das wesentlich höher visköse Clearfil Tri S Bond Plus bildete homogene Adhäsiv-Apatitpasten, wie die Verteilungsmuster des Apatits in der Matrix des Adhäsives (BSE-REM-Aufnahmen) zeigten. Die hohe Standfestigkeit der Clearfil-Apatitpasten sorgte für Schichtdicken, die die Schmelzmikrodefekte ausfüllten.

Da Zahnschmelz das am stärksten mineralisierte und härteste Gewebe im menschlichen Organismus ist, ist auch die Mikrohärte der generierten Schichten ein wichtiger Parameter in dieser Studie. Ausgehend von einem Wert von 387.12 HV (Mittelwert mit Standardabweichung von ± 17.83) einer polierten Schmelzoberfläche erreichen die getesteten Clearfil-Apatitpasten nur ungefähr 10% der Mikrohärte der polierten Schmelzoberfläche. Ausgehend allerdings von der Mikrohärte des mit dem puren Clearfil Tri S Bond Plus behandelten Prüf-

körpers (13.71 ± 0.49), haben sich die Mikrohärte-Werte der Clearfil-Apatitpasten verdoppelt. Der größte Teil der Studien testet sowohl für die experimentellen MDP-haltigen Lösungen [Li *et al.*, 2010, Yoshihara *et al.*, 2011] als auch für die experimentellen HEMA-Lösungen [Hannig *et al.*, 1999, Van Landuyt *et al.*, 2008, Zhang *et al.*, 2013] bevorzugt die Scherbindungskraft an den Zahnhartsubstanzen. Allerdings wurden die Adhäsive bisher auch nicht in oberster Lage als Präzipitatschicht auf die Schmelzoberfläche aufgelagert und somit in der klinischen Anwendung den chemischen und physikalischen Bedingungen der Mundhöhle ausgesetzt. Die Hauptaufgabe für die weitere Forschung liegt sicher in der Verbesserung der Mikrohärte-Werte der Adhäsiv-Apatitpasten.

Um den Einfluss von pH-Wert Änderungen, wie sie in der Mundhöhle auftreten können, zu untersuchen, wurden die Adhäsiv-Apatitschichten einer 5minütigen Säuretoleranzprüfung mit Phosphorsäure unterzogen. Makroskopisch blieb die Oberfläche unversehrt, erst bei einer 10000fachen Vergrößerung offenbarten die REM-Aufnahmen einzelne Kristallitwaschungen. Die Konditionierung der Adhäsiv-Apatitschichten mit 35%iger Phosphorsäure über einen so kurzen Zeitraum von 5 min reicht nicht an die in der Literatur eingesetzten Versuchsbedingungen heran, wie eine NaCl-Lösung bei pH 4.5 über 2 Tage [Li *et al.*, 2008]. Dennoch zeigten sich die Clearfil Tri S Bond Plus-Apatitschichten säureresistenter als die ursprüngliche Schmelzoberfläche.

Thermocycling simuliert, *in vitro*, die thermischen Änderungen, die in der Mundhöhle auftreten können. Somit gilt die dynamische Thermowechselastprüfung als ein mögliches Verfahren zur Alterung von zahnärztlichen Materialien. Die ISO-Norm TR 11450 von 1994 empfahl noch 500 Zyklen in Wasser zwischen 5° C und 55° C [ISO, 1994]. Allerdings zeigt die Literatur, dass diese geringe Anzahl an Zyklen nicht ausreicht, um einen Alterungseffekt zu imitieren. Wenn es täglich zu 20-50 thermischen Wechselbelastungen in der Mundhöhle kommt, dann liegt die jährliche Belastung bei etwa 10 000 Zyklen [Gale *et al.*, 1999]. Die für diese Studie gewählte Zyklenanzahl von 2500 entspricht einem Zeitraum von drei Monaten. Beide Adhäsiv-Apatitpasten überstanden das Thermocycling-Verfahren ausgesprochen unbeschadet. Ein Teil der Prüfkörper zeigt vertikale Frakturen ausschließlich in der Adhäsiv-Apatitpaste: Clearfil-HAP2–7 mg und 30 mg, Clearfil-HAP1/HAP2–15 mg, Resulcin-FAP1 15 mg und 30 mg. Der horizontale Verbund, die Grenzfläche zwischen den Adhäsiv-Apatitpasten und der Schmelzoberfläche blieb intakt. Die Prüfkörper, die mit Clearfil-FAP1–15 mg und 30 mg und Clearfil-HAP2–15 mg behandelt wurden, präsentierten komplett unversehrte Oberflächen und auch Grenzflächen zum Schmelz. Für die künstlichen Alterungseffek-

te durch Thermocycling werden zwei Mechanismen diskutiert. Das warme Wasser kann zu einer Hydrolyse führen, so wie die unterschiedlichen thermischen Kontraktions- und Expansionskoeffizienten der beteiligten Materialien zu einem Kontraktions-/Expansions-Stress führen kann [Munck *et al.*, 2005]. Die in dieser Studie erstmalig miteinander kombinierten Materialien zeigen an der Grenzfläche Adhäsiv-Apatitpaste-Schmelz keinerlei Degradation nach Thermocycling. Die Ergebnisse der Clearfil-Apatitpasten bekräftigen die schon in früheren Studien bestätigte Hydrolyseresistenz des MDP's, verbunden mit einer geringen Auflösungsrate der Kalzium-Phosphat-Salze [Yoshida *et al.*, 2004].

Mit den in dieser Studie durchgeführten Untersuchungen zur Schmelzregeneration mit einfachen Apatitpasten lassen sich die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse nur bedingt nachvollziehen. Die nur partiell auf den Schmelzoberflächen erzeugten Präzipitatschichten zeigten keine schmelzähnlichen Strukturen, sondern unorganisierte, heterogene Auflagerungen ohne einen physikalischen oder chemischen Verbund zum natürlichen Schmelz.

Die in dieser Studie erstmalig aufgezeigte Kombination aus Self-Etch Adhäsiven und Apatitmaterialien erzeugte dagegen stabile Präzipitatschichten mit einer großen mikromorphologischen Ähnlichkeit zum natürlichen Schmelz und einem engen physikalisch-chemischen Verbund der Adhäsiv-Apatitpasten zur Schmelzoberfläche. Eine weitere Forschung mit den Adhäsiv-Apatitpasten zur Schmelzregeneration erscheint vielversprechend.

6 Literaturverzeichnis

Bagramian RA, Garcia-Godoy F, Volpe AR: The global increase in dental caries – a pending public health crisis. *Am J Dent* 2009; 22(1): 3-8

Baumeister, JP: Mikroradiografische Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Lagerungsmedien und der Politur auf die In-vitro-De- und Remineralisation von bovinem und humanem Schmelz. Dissertation Medizinische Fakultät Charite – Universitätsmedizin Berlin, 2011

Biernat M, Rokicki G: Oxygen inhibition of photopolymerization processes and methods of its suppression. *Polymer* 2005; 50: 633-645

Borchert-Ott W, Sowa H: Kristallographie: Eine Einführung für Naturwissenschaftler. Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2013

Boyde A: The structure of developing mamalian dental enamel. In Stack MV, Fearnhead RW, Tooth enamel I. Bristol: Wright 1965; p 163, 92

Brunton PA, Davies RPW, Burke JL, Smith A, Aggeli A: Treatment of early caries lesions using biomimetic self-assembling peptides – a clinical safety trial. *British Dental Journal* 2013; 215:E6

Buchalla W: Histologisches und klinisches Erscheinungsbild der Karies. In Meyer-Lückel *et al.*, Karies. Thieme Verlag Stuttgart, 2012: 42-69

Buonocore MG: A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* 1955; 34: 849-853

Brudevold F, Aasenden R, Bakhos Y. A preliminary study of posteruptive maturation of teeth in situ. *Caries Res* 1982; 16: 243-248

Busch S: Regeneration of human tooth enamel. *Angew Chem Int Ed* 2004; 43: 1428-1431

Busch S, Schwarz U, Kniep R: Chemical and structural investigations of biomimetically grown fluorapatite-gelatin composite aggregates. *Adv Funct Mater* 2003; 13: 189-198

Cao Y, Mei ML, Li QL, Lo ECM, Chu CH: Agarose hydrogel biomimetic mineralization model for the regeneration of enamel prismlike tissue. *ACS Appl Mater Interfaces* 2014; 6(1): 410-420

Chen L, Liang K, Li J, Wu D, Zhou X, Li J: Regeneration of biomimetic hydroxyapatite on etched human enamel by anionic PAMAM template in vitro. *Arch Oral Biol* 2013; 58: 975-980

Chung HY, Huang KC: Effects of peptide concentration on remineralization of eroded enamel. *J Mechan Behav Biomed Mater* 2013; 28: 213-221

Chung HY, Cheng CL: Microstructure and nanomechanical properties of enamel remineralized with asparagine-serine-serine peptide. *Mater Sci Eng* 2013; C33: 969-973

Chung HY, Li CC, Hsu CC: Characterization of the effects of 3DSS peptide on remineralized enamel in artificial saliva. *J Mechan Behav Biomed Mater* 2012; 6: 74-79

Clarkson B und Czajka-Jakubowska: Zukünftige Trends in der Kariesforschung, in Meyer-Lückel *et al.*, Karies. Thieme Verlag, Stuttgart, 2012: 353-359

Dean C: Review: Progress in understanding hominoid dental development. *J Anat* 2000; 197: 77-101

Deutsch D, Catalano-Sherman J, Dafni L, David S, Palmon A: Enamel matrix proteins and ameloblast biology. *Connect Tissue Res* 1995; 32(1-4): 97-107

Deutsch D, Pe'er E: Development of enamel in human fetal teeth. *J dent Res* 1982; 61: 1543-1551

Eggertsson H: Fissurenversiegelung. In Meyer-Lückel *et al.*, Karies. Thieme Verlag Stuttgart, 2012: 249-263

Ekstrand KR und Zero DT: Die Ökologie der Mundhöhle. In Meyer-Lückel *et al.*, Karies. Thieme Verlag Stuttgart, 2012: 4-21

Eliades GC, Capotu AA, Vougiouklakis GJ: Composition, wetting properties and bond strength with dentin of 6 new dentin adhesives. *Dent Mater* 1985; 1: 170-176

Elliott JC: Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. Amsterdam, Elsevier, 1994.

Fan Y, Sun Z, Moradian-Oldak J: Controlled remineralization of enamel in the presence of amelogenin and fluoride. *Biomaterials* 2009; 30: 478-483

Fan Y, Wen ZT, Liao S, Lallier T, Hagan JL, Twomley JT, Zhang JF, Sun Z, Xu X: Novel amelogenin-releasing hydrogel for remineralization of enamel artificial caries. *J Bioact Compat Polym* 2012; 27(6): 585-603

Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP, Sarte P, Lau EC, Diekwisch T, et. al.: Self-assembly of a recombinant amelogenin protein generates supramolecular structures. *J Struct Biol* 1994; 112(2): 103-109

Frankenberger R, Krämer N, Petschelt A: Technique sensivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Operative Dentistry* 2000; 25: 324-330

Frankenberger R, Blunck U: Adhäsive. In Frankenberger R, Adhäsive Zahnheilkunde; Deutscher Zahnärzte Verlag Köln, 2013: 1-33

Frankenberger R, Heidemann D, Staehle HJ, Hellwig E, Blunck U, Hickel R: Neue Begriffe in der restaurativen Zahnerhaltung. *Dtsch Zahnärztl Z* 2014; 69(12): 722-734

Friedhofen J: Synthese von POPAM/PAMAM-Hybrid-Dendrimeren und eine (Kaskaden-) Nomenklatur. Dissertation Uni Bonn; Mathem. -Naturw. Fakultät 2006

Fu B, Sun X, Quian W, Shen, Y, Chen R, Hannig M: Evidence of chemical bonding to hydroxyapatite by phosphoric esters. *Biomaterials* 2005; 26: 5104-5110

Fukegawa D, Hayakawa S, Yoshida Y, Suzuki K, Osaka A, Van Meerbeek B: Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. *J Dent Res* 2006; 85(10): 941-944

Fusuyama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M: Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res* 1979; 58(4): 1364-1370

Gale MS, Darvell BW: Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent* 1999; 27(2): 89-99

Gillings B, Bounocore M: An investigation of enamel thickness in human lower incisor teeth. J Dent Res 1961; 40: 105-119

Goossens A: Contact allergic reactions on the eyes and eyelids. Bull Soc Belge Ophthalmol 2004; 11-17

Guentsch A, Busch S, Seidler K, Kraft U, Nietzsche S, Preshwa PM, Chromik JN, Glockmann E, Jandt KD, Sigusch BW: Biomimetic mineralization: Effects of human enamel in vivo. Adv Engin Mater 2010; 12: B571-B576

Gruenberg, C: Einfluss der Lagermedien auf die mechanischen Eigenschaften von dentalen Hartgeweben. Dissertation Uni Halle-Wittenberg, 2013

Habelitz S, DenBesten PK, Marshall SJ, Marshall GW, Li W: Self-assembly and effect on crystal growth of the leucine-rich amelogenin peptide. Eur J oral Sci 2006; 114 Suppl 1: 315-319; discussion 27-9,82

Hannig M, Bock H, Bott B, Hoth-Hannig W: Inter-crystallite nanoretention of self-etching adhesives at enamel imaged by transmission electron microscopy. Eur J Oral Sci 2002; 110: 464-470

Hannig M, Bott B, Emmermann A: Randschlussverhalten von Klasse-II-Kompositfüllungen nach Schmelzkonditionierung mit selbstätzenden Primern. Dtsch Zahnärztl Z 1999; 54: 133-136

Hannig M, Hannig C: Nanomaterials in preventive dentistry. Nature Nanotech 2010; 5: 565-569

Hannig M, Hannig, C: Nanotechnology and its role in caries therapy. Adv Dent Res 2012; 24: 53-57

Hannig M, Hannig C: Möglichkeiten und Grenzen der Schmelzregeneration–eine aktuelle Übersicht. Dtsch Zahnärztl Z 2014; 69 (3): 131-142

Hannig M, Reinhardt KJ, Bott B: Self-Etching primer versus phosphoric acid: an alternative concept for composite-to-enamel bonding. Oper Dent 1999; 24: 172-180

Hellwig E, Klimek J, Attin T: Einführung in die Zahnerhaltung. Deutscher Zahnärzte Verlag 2013

Helmcke JG: Bau und Struktur der Zahnhartsubstanzen. Dtsch Zahnärztl Z 1960; 15: 55-68

Hsu CC, Chung HY, Yang JM, Shi W, Wu B: Influence of 8DSS peptide on nano-mechanical behavior of human enamel. J Dent Res 2011; 90(1): 88-92

Hu JC, Chun YH, Al Hazzazzi T, Simmer JP: Enamel formation and amelogenesis imperfecta. Cells Tissues Organs 2007; 186(1): 78-85

Hu JC, Yamakoshi F, Krebsbach PH, Simmer JP: Proteomics and genetics of dental enamel. Cells Tissues Organs 2005; 181(3-4): 219-231

Huang SB, Gao SS, Yu HY: Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. Biomedical Mater 2009; 4(3): 034104

ISO – International Organization for Standardization: ISO TR 11405. Dental materials-guidance on testing of adhesion to tooth structure 1994.

Kaga M, Noda M, Ferracane JL, Nakamura W, Oguchi H, Sano H: The in vitro cytotoxicity of eluates from dentin bonding resins and their effect on tyrosine phosphorylation of L929 cells. Dent Mater 2001; 17(4): 333-339

Kazuki A, Oaki Y, Ohtsuki C, Imai H: Fabrication of self-standing films consisting of enamel-like oriented nanorods using artificial peptide. Cryst Eng Comm, 2015; 17:5551

Kay MI, Young RA, Posner AS: Crystal structure of hydroxyapatite. Nature, 1964; 204: 1050-1052

Kettler N, Splieth C: Erfahrungen, Probleme und Einschätzungen niedergelassener Zahnärzte bei der Behandlung jüngerer Kinder – Ergebnisse einer bundesweiten Befragungsstudie. IDZ Information Nr.1/2013, Köln 2013

Kirkham J, Firth A, Vernals D, Boden N, Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Aggeli A: Self-assembling peptide scaffolds promote enamel remineralization. J Dent Res 2007; 86(5): 426-430

Krejci I, Besek M, Lutz F: Clinical and SEM study of Tetric resin composite in posterior teeth: 12 months results. Am J Dent 1994; 7(1): 27-30

KZBV: Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung, Jahrbuch 2013; Ausgaben für zahnärztliche Behandlung

Li L, Pan H, Tao J, Xu X, Mao C, Gu X, Tang R: Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. J Mater Chem 2008; 18(34): 4079-4084

Li L, Mao C, Wang J, Xu X, Pan H, Deng Y, Gu X, Tang R: Bio-inspired enamel repair via glu-directed assembly of apatite nanoparticles: an approach to biomaterials with optimal characteristics. Adv Mater 2011; 23: 4695-4701

Li QL, Ning TY, Cao Y, Zhang W, Mei ML, Chu CH: A novel self-assembled oligopeptide amphiphile for biomimetic mineralization of enamel. BMC Biotechnology 2014; 14:32

Ludwig,T: Rasterelektronenmikroskop, Uni Heidelberg; www.rzuser.uni-heidelberg.de/~hb6/labor/rem/REM-kurzes-Scriptum.pdf

Meurman JH, Frank RM: Progression and surface ultrastructure of in vitro erosive lesions in human and bovine enamel. Caries Res 1991; 25(2): 81-87

Meyer-Lückel H und Paris S: Kariesinfiltration. In Meyer-Lückel *et al.*, Karies. Thieme Verlag Stuttgart, 2012: 270-284

Micheelis W, Schiffner U: Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). Institut der Deutschen Zahnärzte (IDZ) im Auftrag von Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztlicher Bundesvereinigung, 2006

Miller RA: Laboratory and clinical evaluation of a self-etching primer. J Clin Orthod 2001; 35(1): 42-45

Moradian-Oldak J: Amelogenins: assembly, processing and control of crystal morphology. Matrix Biol. 2001; 20(5-6): 293-305

Moradian-Oldak J, Bouropoulos N, Wang L, Gharakhanian N: Analysis of self-assembly and apatite binding properties of amelogenin proteins lacking the hydrophilic C-terminal. *Matrix Biol* 2002; 21(2): 197-205

Morrison RT, Boyd RN: Lehrbuch der organischen Chemie. Verlag Chemie, 1977

Moszner N, Hirt T: New polymer-chemical developments in clinical dental polymer materials: enamel-dentin adhesives and restorative composites. *J Polym Sci* 2012; 50(21): 4369-4402

Moszner N, Salz U, Zimmermann J: Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. *Dent Mater* 2005; 21(10): 895-910

Müller F, Zeitz C, Mantz H, Ehses KH, Soldera F, Schmauch J, Hannig M, Hübner S, Jacobs K: Elemental depth profiling of fluoridated hydroxyapatite: saving your dentition by the skin of your teeth? *Langmuir* 2010; 26 (24): 18750-18759

Munck JD, Van Landuyt K, Coutinho E, Poitevin A, Peumans M, Lambrechts, Van Meerbeek: Micro-tensile bond strength of adhesives bonded to classes-I cavity-bottom dentin after thermo-cycling. *Dent Mater* 2005; 21(11): 999-1007

Nakabayashi N, Watanabe A, Gendusa NJ: Dentin adhesion of “modified” 4-META/MMA-TBB resin: function of HEMA. *Dent Mater* 1992; 8(4): 259-264

Nakaoki Y, Nikaido T, Pereira PN, Inokoshi S, Tagami J: Dimensional changes of demineralized dentin treated with HEMA primers. *Dent Mater* 2000; 16(6): 441-446

Odian G: Principles of polymerization. Wiley & Sons 2004

Onuma K, Yamagishi K, Oyane A: Nucleation and growth of hydroxyapatite nanocrystals for nondestructive repair of early caries lesions. *J Cryst Growth* 2005; 282: 199-207

Paris S, Ekstrand KR, Meyer-Lückel H: Von der Diagnostik zur Therapie. In Meyer-Lückel *et al.*, Karies. Thieme Verlag Stuttgart, 2012: 146-159

Pashley DH: The effects of acid etching on the pulpodentin complex. *Oper Dent* 1992; 17: 229-242

Pharmacopoea Europaea (Ph. Eur.): Europäisches Arzneibuch; 7. Ausgabe, Grundwerk 2011

Radlanski RJ: Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie. Quintessenz Verlag, 2011

Reimer L, Pfefferkorn: Rasterelektronenmikroskopie. Springer Verlag, 2. Auflage, 1977

Reingruber H: Rasterelektronenmikroskopie, Vorbereitungsunterlagen zur Praktikumsübung. Forschungsinstitut für Elektronenmikroskopie (FELMI); www.uni-ulm.de/physchem-praktikum/media/literatur/Rasterelektronenmikroskop.pdf

Robinson C, Briggs HD, Atkinson OJ, Weatherell JA: Chemical changes during formation and maturation of human deciduous enamel. Arch oral Biol 1981; 26: 1027-1033

Robinson C, Weatherell JA, Hallsworth AS: Distribution of magnesium in mature human enamel. Caries Res 1981; 15: 70-77

Robinson C, Yamamoto K, Connell SD, Kirkham J, Nakagaki H, Smith AD: The effects of fluoride on the nanostructure and surface pK of enamel crystals: an atomic force microscopy study of human and rat enamel. Eur J Oral Sci 2006; 114 Suppl 1:99-104

Rönnholm E: The amelogenesis of human teeth as revealed by electron microscopy. II: The development of the enamel crystallites. J ultrastruct Res 1962; 6:249

Rotter M, Koller W: Desinfektion In: Kramer A, Heeg O: Krankenhaus und Praxishygiene. Urban & Fischer, München 2001: 219-231

Roveri N, Battistella E, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, Lelli M, Palazzo B, Rimondini L: Synthetic biomimetic carbonate-hydroxyapatite nanocrystals for enamel remineralization. Adv Mater Res 2008; 47-50: 821-824

Ruan Q, Zhang Y, Yang X, Nutt S, Moradian-Oldak J: Amelogenin-chitosan matrix promotes assembly of an enamel-like layer with a dense interface. Acta Biomater 2013; 9(7): 7289-7297

Sandberg E, Bergenholtz G, Eklund C, Dahlgren UI: HEMA bound to self-protein promotes auto-antibody production in mice. J Dent Res 2002; 81: 633-636

Sasaki T: Morphology and function of maturation ameloblasts in kitten tooth germs. J Anat 1984; 138: 333

Schumacher GH, Schmidt H, Börnig H, Richter W: Anatomie und Biochemie der Zähne. VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1990

Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G: Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. J Dent Res 2006; 85(10): 870-877

Shellis P: Ätiologie und Pathogenese der Karies. In Meyer-Lückel *et al.*, Karies. Thieme Verlag Stuttgart, 2012: 22-41

Simmer JP, Hu JC: Expression, structure and function of enamel proteinases. Connect Tissue Res 2002; 43(2-3): 441-449

Siverstone LM: Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries-like lesions. Caries Res 1967; 1: 260–274

Steiniger B, Schwarzbach H, Stachniss V: Mikroskopische Anatomie der Zähne und des Parodonts. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2010

Swarup JS, Rao A: Enamel surface remineralization: using synthetic nanohydroxyapatite. Contemp Clin Dent 2012; 3 (4): 433-436

Stetter A: Rasterelektronenmikroskopie Teil I, Februar 2004; www.physik.uni-regensburg.de/forschung/schwarz/Mikroskopie/03-REM.pdf

Suga S: Progressive mineralization pattern of developing enamel during the maturation stage. J Dent Res 1982; 61(10): 1532

Tanaka H, Yasukawa A, Kandori K, Ishikawa T: Modification of calcium hydroxyapatite using alkyl phosphates. Langmuir 1997; 13(4): 821-826

Ten Cate AR: Oral Histology. Development, Structure and Function. St. Louis: Mosby; 1998: 5th ed.

Tomes J: On the development of the enamel. Quart J microsc Sci 1856; 4: 213-221

Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM: Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent* 2011; 39: 430-437

Van Landuyt KL, De Munck J, Snauwaert J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, et al.: Monomer-solvent phase separation in one-step self-etch adhesives. *J Dent Res* 2005; 84(2): 183-188

Van Landuyt KL, Mine A, De Munck J, Jaecques S, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B: Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. *J Adhes Dent* 2009; 11(3): 175-190.

Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al.: Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials* 2007; 28: 3757-3785

Van Landuyt KL, Snauwaert J, Peumans M, De Munck J, Lambrechts P, Van Meerbeek B: The role of HEMA in one-step self-etch adhesives. *Dent Mater* 2008; 24: 1412-1419

Van Landuyt KL, Yoshida Y, Hirata I, Snauwaert J, De Munck J, Okazaki M, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B: Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesives performance. *J Dent Res* 2008; 87(8): 757-761

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts O, Vanherle G: Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003; 28(3): 215-235

Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J: Adhesion to enamel and dentin in Summit J, Robbins J, Hilton T, Schwartz R: *Fundamentals of Operativ Dentistry*, third edition Illinois. Quintessence Publishing; 2006: 183-260

Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL: State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 2011; 27(1): 17-28

Van Meerbeek B, Yoshida Y: Grundlagen der Adhäsivtechnik. In Meyer-Lückel *et al.*, *Karies*. Thieme Verlag Stuttgart, 2012: 231-248

- Wakita M, Kobayashi S:** The three-dimensional structure of Tomes' processes and the development of the microstructural organization of tooth enamel. In Suga S, Mechanisms of tooth enamel formation; Berlin, Quintessenz, 1983: p 165
- Wang C, Zhang Y, Wei S:** Effects of different pH conditions on enamel erosion repair by nano fluorapatite pastes. J Nanosci Nanotechnol 2012; 12(9): 7346-7353
- Wang X, Xia C, Zhang Z, Deng X, Wei S, Zheng G, Chen H:** Direct growth of human enamel-like calcium phosphate microstructures on human tooth. J Nanosci Nanotechnol 2009; 9(2): 1361-1364
- Waters NE:** Evidence for regarding enamel as an ion exchange membrane. In Fearnhead RW, Staxk MV, Tooth enamel II. Bristol: Wright 1971: 166
- Wiegand A, Caspar C, Becker K, Werner C, Attin T:** In-vitro-Untersuchung zur Zytotoxizität von Self-Etch-Adhäsivsystemen. Schweiz Monatsschr Zahnmed 2006; 116: 614-621
- Williams VD, Svare CW:** The effect of five-year storage prior to bonding on enamel/composite bond strength. J Dent Res 1958; 64: 115-122
- Willigeroth SF, Beneke K, Hannig M, Zimehl R:** Preparation strategies for phosphate-based mineral biomaterials. Progr Colloid Polym Sci 2002; 121: 1-6
- Wolf HF, Rateitschak KH:** Parodontologie. Georg Thieme Verlag 2012; Regenerative Methoden: 351
- Wu D, Yang J, Li J, Chen L, Tang B, Chen X, Wu W:** Hydroxyapatite-anchored dendrimer for in situ remineralization of human tooth enamel. Biomaterials 2013; 34: 5036-5047
- Xie R, Feng Z, Li S, Xu B:** EDTA-assisted self-assembly of fluoride-substituted hydroxyapatite coating on enamel substrate. Cryst Growth Design 2011; 11: 5206-5214
- Yamagishi K, Onuma K, Suzuki T, Okada F, Tagami J, Otsuki M, Senawangse P:** Synthetic enamel for rapid tooth repair. Nature 2005; 433: 819
- Yin Y, Yun S, Fang J, Chen H:** Chemical regeneration of human tooth enamel under near-physiological conditions. Chem Commun 2009; 39: 5892-5894

Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Yoshioka M, Snauwaert J, Abe Y, *et al.*
Adhesion to and decalcification of hydroxyapatite by carboxylic acid. J Dent Res 2001; 80:
1565-1569

**Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S,
Takawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B:** Comparative study on adhesive
performance of functional monomers. J Dent Res 2004; 83(6): 454-458

**Yoshihara K, Yoshida Y, Nagaoka N, Fukegawa D, Hayakawa S, Mine A, Nakamura M,
Minagi S, Osaka A, Suzuki K, Van Meerbeek B:** Nano-controlled molecular interaction at
adhesive interfaces for hard tissue reconstruction. Acta Biomater 2010; 6(9): 3573-3582

**Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, Van Landuyt L,
Osaka A, Suzuki K, Minagi S, Van Meerbeek B:** Nanolayering of phosphoric acid ester
monomer on enamel and dentin. Acta Biomater 2011; 7: 3187-3195

Zhang J, Jiang D, Zhang J, Lian Q, Huang Z: Synthesis of dental enamel-like
hydroxyapatite through solution mediated solide-state conversion. Langmuir 2010; 26: 2989-
2994

Zimehl R, Willigeroth SF, Hannig M, Frahm H: Nano-sized fluorapatite particles by
controlled precipitation from heterogeneous systems. Progr Colloid Polym Sci 2004; 129:
110-118

7 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Matthias Hannig für die Überlassung des interessanten Promotionsthemas, für die anregenden Diskussionen, seine unermüdliche Unterstützung und immer konstruktive Kritik.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Stefan Rupf für seine engagierte Unterstützung und so manchen wertvollen akademischen Rat. Seine zielgerichteten Ratschläge waren immer sehr produktiv.

Herrn Norbert Pütz danke ich für die Einweisung und Betreuung am Rasterelektronenmikroskop, oft schon zu früher Morgenstunde. Die vielen gemeinsamen Stunden im Labor waren eine spannende und erfolgreiche Zeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Freundin und Kollegin Dr. Vera Schröder für ihr unermüdliches Engagement bei der Beschaffung des Probenmaterials und ihr immer wieder aufmunterndes Interesse an dieser Arbeit.

Ein aufrichtiger Dank gilt meinem Praxisteam, meinen Mädels. Sie haben mir immer wohlwollend, manchmal mitfühlend zur Seite gestanden und mir den Rücken frei gehalten.

Ich danke von ganzem Herzen meiner Familie und meinen Freundinnen Manu, Andrea und Michaela für ihre seelische und moralische Zuwendung in dieser aufreibenden Zeit.

8 Lebenslauf

9 Anhang

9.1 Abkürzungsverzeichnis

AD-Konzept	Adhäsion-Dekalzifikation-Konzept
ALN-PAMAM-COOH	Carboxyliertes Poly (amid/amin)-alendronat
AAP	Adhäsiv-Apatitpasten
BSE	Backscattered electrons
CHA	Karbonathaltiges Hydroxylapatit
DMFT	Decayed, missed, filled teeth; Kariesindex
DSS Peptid	Aspartat-Serin-Serin Peptid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FAP	Fluorapatit
Glu	Glutaminsäure
HAP	Hydroxylapatit
HEDTA	Hydroxy-EDTA
HEMA	2-Hydroxyethylmethacrylat
HV	Härteprüfung nach Vickers
IDZ	Institut der Deutschen Zahnärzte
KF	Kaliumfluorid
KHN	Knoop hardness number
KZBV	Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung
10-MDP	10-Methacryloyloxydecyl-Dihydrogenphosphat
4-MET	4-Methacryloyloxyethyl-Trimellitic-Säure
MF	Mehrfunktionsspritze
NSS Peptid	Asparagin-Serin-Serin Peptid
PAMAM Dendrimer	Poly(amid/amin) Dendrimer

Phenyl-P	2-Methacryloyloxyethyl-Phenyl-Hydrogenphosphat
REM	Rasterelektronenmikroskop
SBF	Simulated body fluid
SE	Sekundärelektronen
TEM	Transmissionselektronenmikroskop
wt. %	Massenprozentanteil (engl. wt. %)
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy
XRD	X-ray diffraction

9.2 Materialliste

Analysewaage Sartorius AG-Germany CP 1245-ACE	Sartorius AG, Göttingen Deutschland
Aqua purificata	Apotheke, Heringen, Deutschland
Arrow Traxx	R-dental, Hamburg, Deutschland
Beerendonk Schiebelehre	Keydent, ADS, Vaterstetten, Deutschland
bluephase (G2)	Ivovlar Vivadent AG, FL-9494 Schaan, Liechtenstein
bluephase meter	Ivovlar Vivadent AG, FL-9494 Schaan, Liechtenstein
Canon EOS 1100D	Canon, Taiwan
Cleanic Prophy Paste	without fluoride, KerrHawe AS, Bioggio, Switzerland
Clearfil Tri S Bond Plus	Kuraray Noritake Dental Inc., 1621 Sakazu, Kurashiki, Okayama 710-0801, Yapan
Dappenglas	Alfred Becht, Offenburg, Deutschland
Dappenglasständer	Alfred Becht, Offenburg, Deutschland
Diamant Zylinder	Nr.6847.314.016, Komet, Lemgo, Deutschland
Diamant Konus	Nr.S6850.314.016, Komet, Lemgo, Deutschland
Diamant Kugel	Nr.6801.314.012, Komet, Lemgo, Deutschland
Duramin 5 Mikrohärteprüfgerät (Vickershärte)	Struers GmbH, 2750 Ballerup, Dänemark
Einmalskalpell	Cutfix Nr.11,15, B. Braun, Melsungen, Deutschland
Einweg-Pasteurpipetten	graduiert, LPDE, steril, 2,2 ml, Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Ethanol 70%	Apotheke, Heringen, Deutschland
Hakenscaler	HF B5 SH6/7, Hu Friedy, Tuttlingen, Deutschland

Hartmetall Finierer	Nr.H375R.314.016, Komet, Lemgo, Deutschland
Hartmetall Rosenbohrer	Nr.H1SM.204.012/014, Komet, Lemgo, Deutschland
Hawe Wedge Positioner	KerrHawe AS, Bioggio, Switzerland
Hawe Micro-Brush	Pinselansätze, KerrHawe AS, Bioggio, Switzerland
Imprint 4 Penta Heavy	3M, Neuss, Deutschland
INTRACompact 25 LHC	KAVO Dental, Biberach, Deutschland
INTRACompact 0767 LHC	KAVO Dental, Biberach, Deutschland
INTRAMatic Lux2 20LN	KAVO Dental, Biberach, Deutschland
INTRAMatic 10L	KAVO Dental, Biberach, Deutschland
Kalident Nano 1 (n-HAP)	UNI Klinik Saarland, Homburg, Deutschland
Lineal	SAM, Gauting, Deutschland
Makroobjektiv EF 100 mm f/2.8L Makro IS USM	Canon, Japan
Makro-Ringblitz MR-14EX II	Canon, Japan
Microbrush.Plus size fine	Microbrush, USA
Miniatur ZR-Bürsten	Nylon, M+W, Büdingen, Deutschland
HAP 1	Kalichem, Brescia, Italien
HAP 2	Kalichem, Brescia, Italien
FAP 1	S&C Polymer, Elmshorn, Deutschland
FAP 2	S&C Polymer, Elmshorn, Deutschland
Phosphorsäure 17%	Apotheke des Universitätsklinikums Saarland, Homburg, Deutschland
Poliergerät Buehler Phoenix 3000	41 Waukegan Road Lake Bluff, Illinois 60044, USA
Resulcin Aqua Prime + MonoBond	Merz Dental GmbH, 24321 Lütjenburg, Deutschland

Scaler	HF K4 SGF 21, Hu Friedy, Tuttlingen, Deutschland
Scaler Sichel 6A	KAVO Dental, Biberach, Deutschland
Scharfer Löffel	HF CL 85-T4, Hu Friedy, Tuttlingen, Deutschland
SONiflex quick 2008L	KAVO Dental, Biberach, Deutschland
Staedtler Lumocolor	Staedtler Mars, Nürnberg Deutschland
Super Snap Polierscheiben	SHOFU Dental GmbH, Ratingen, Deutschland
Thermocycler Willytec V 2.8	SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen-Westerham, Deutschland
Timer und Stoppuhr	TFA Dostmann, Wertheim, Deutschland
Trennscheibe	Nr. 7818.104.080, Komet, Lemgo, Deutschland
Trennscheibe	Nr. 945 B 104.100, Komet, Lemgo, Deutschland
Ultra-Etch, 35% H₃PO₄	Ultradent Products, Utah, USA