

Aus der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof. Dr. M. Hannig

In-situ-Untersuchung zu den tubulusokkludierenden Eigenschaften verschiedener Präparate zur Behandlung von Dentinhypersensibilitäten

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2018

vorgelegt von:

Gerrit Josef Lefering

geb. am: 30.05.1991 in Ahaus

Tag der Promotion:

Dekan: Prof. Dr. M.D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Hannig

2. Berichterstatter:

Widmung

Ich widme diese Arbeit meinen Eltern.

Inhaltsverzeichnis

Inhalt

1	Zusammenfassung	1
1.1	Deutsche Zusammenfassung	1
1.2	Abstract.....	2
2	Einleitung	3
2.1	Das Dentin	3
2.2	Dentinhypersensibilitäten	4
2.3	Ansätze zur Behandlung von Dentinhypersensibilitäten.....	5
2.4	Fragestellung	6
3	Material und Methode	9
3.1	Probanden	9
3.2	Materialien.....	9
3.2.1	Prüfkörper aus Rinderdentin	9
3.2.2	Prüfkörpertrageschienen.....	10
3.2.3	Montage der Prüfkörper und genereller Ablauf der Versuche	11
3.2.4	Vorbereitung für die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)	12
3.2.5	Präparate.....	13
3.3	Aufbau der Studie und der einzelnen Versuchsreihen.....	15
4	Ergebnisse	18
4.1	Kontrollen.....	18
4.1.1	Hauptversuche	18
4.1.2	Bruchversuche	20
4.1.3	Erosions- und Widerstandsversuche	20
4.1.4	TEM	21
4.2	Elmex sensitive.....	22

4.2.1	Hauptversuche	22
4.2.2	Bruchversuche	24
4.2.3	Erosions- und Widerstandsversuche	25
4.2.4	TEM	26
4.3	Biorepair Plus	27
4.3.1	Hauptversuche	27
4.3.2	Bruchansicht	29
4.3.3	Erosions- und Widerstandsversuche	30
4.3.4	TEM	31
4.4	Teethmate Desensitizer	32
4.4.1	Hauptversuche	32
4.4.2	Bruchansicht	34
4.4.3	Erosions- und Widerstandsversuche	35
4.4.4	TEM	36
4.5	GC MI Paste Plus	38
4.5.1	Hauptversuche	38
4.5.2	Bruchansicht	39
4.5.3	Erosions- und Widerstandsversuche	40
4.5.4	TEM	41
4.6	Stomysens	43
4.6.1	Hauptversuche	43
4.6.2	Bruchansicht	44
4.6.3	Erosions- und Widerstandsversuche	45
4.6.4	TEM	46
4.7	HAp Budenheim	47
4.7.1	Hauptversuche	47
4.7.2	Bruchansicht	49
4.7.3	Erosions- und Widerstandsversuche	50

4.7.4	TEM	51
4.8	HAp Kalident.....	53
4.8.1	Hauptversuche	53
4.8.2	Bruchansicht.....	55
4.8.3	Erosions- und Widerstandsversuche	56
4.8.4	TEM	57
5	Diskussion	60
5.1	Material und Methode	60
5.1.1	Prüfkörper.....	60
5.1.2	Prüfkörpertrageschienen.....	60
5.1.3	Versuchsbedingungen	61
5.1.4	Die elektronenmikroskopische Analyse der Prüfkörper	62
5.2	Ergebnisse.....	63
5.2.1	Hauptversuche	63
5.2.2	EDX-Analysen	64
5.2.3	Bruchversuche	64
5.2.4	Erosions- und Widerstandsversuche	64
5.2.5	Transmissionselektronenmikroskopie.....	65
5.2.6	6h-Biofilm	66
5.2.7	Zusammenfassung.....	66
5.2.8	Vergleichbare Studien/Alleinstellungsmerkmal dieser Studie.....	66
5.3	Konklusion.....	67
6	Literaturverzeichnis.....	68
7	Danksagung.....	72

1 Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Dentinhypersensibilitäten sind definiert als Schmerz, ausgehend von freiliegendem Dentin, der meistens durch thermische, chemische, taktile oder osmotische Reize ausgelöst wird. Dieser Schmerz ist typischerweise kurz, beißend, mit plötzlichem Beginn und von der Dauer identisch mit der Zeit des Einwirkens des auslösenden Reizes. Die Behandlung der Dentinhypersensibilitäten nimmt im zahnärztlichen Alltag mehr und mehr an Bedeutung zu, und eine erfolgreiche Linderung gestaltet sich oft schwierig.

Ziel dieser Studie war es, in-situ die tubulusokkludierenden Eigenschaften verschiedener Produkte zu untersuchen und zu vergleichen. Die Produkte waren sowohl kommerziell vertriebene sowie auch experimentelle, nicht auf dem Markt erhältliche Präparate.

Im Rahmen der In-situ-Versuche wurden diese Produkte auf geätzte Dentinprüfkörper aufgetragen und für 6 Stunden mittels Prüfkörpertrageschienen in der Mundhöhle exponiert. Anschließend wurden die Prüfkörper unter einem Rasterelektronenmikroskop analysiert und untersucht, ob die durch das Ätzen geöffneten Dentintubuli durch die Produkte verschlossen wurden. Zusätzlich wurden Bruchpräparate hergestellt, um die Tiefe der eingedrungenen Wirksubstanzen zu untersuchen. Des Weiteren wurden Prüfkörper nochmals geätzt bzw. einem Ultraschallbad ausgesetzt, um die Widerstandsfähigkeit der Ablagerungen zu untersuchen. Abschließend wurden Prüfkörper jedes Produktes auch im Transmissionselektronenmikroskop analysiert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass alle getesteten Produkte unter den gewählten In-situ-Versuchsbedingungen eine tubulusverschließende Wirkung hatten. Besonders hervorzuheben sind jedoch die experimentellen Produkte, die als Wirkstoff Hydroxylapatit enthalten. In allen Versuchsreihen mit diesen experimentellen Präparaten waren nahezu alle Tubuli verschlossen. Es konnte ein tieferes Eindringen in die Tubuli und auch eine höhere Widerstandsfähigkeit der abgelagerten Partikel festgestellt werden, im Vergleich zu den kommerziell verfügbaren Produkten. Die Analyse mit dem Transmissionselektronenmikroskop zeigte sogar eine kristallartige Anlagerung von Apatitpartikeln an das geätzte Dentin, was eine initiale Remineralisierung bedeuten könnte.

Insgesamt betrachtet zeigen die vorliegenden Resultate, dass sich mit Hydroxylapatit-haltigen Präparaten offene Dentintubuli auch unter In-situ-Bedingungen belastungsstabil verschließen lassen.

1.2 Abstract

Dentine hypersensitivity is defined as pain originating from exposed dentine, which is usually triggered by thermal, chemical, tactile, or osmotic stimuli. The pain is typically short, biting, with a sudden onset and of duration identical to the time of onset of the triggering stimulus. The treatment of dentine hypersensitivity is becoming more and more important in everyday dental practice, and successful relief is often difficult to achieve.

The aim of this study was to investigate and compare the tubulus occluding properties of different products under in situ conditions. Commercial as well as experimental products which were not available on the market were tested.

As part of the in-situ experiments, these products were applied to etched dentine specimens and exposed for 6 hours in the oral cavity using acrylic splints. Subsequently, the specimens were analyzed by scanning electron microscopy to examine whether the dentinal tubules opened by the etching were sealed by the products. Fractured samples were prepared to examine the depth of the penetrated active substances. Furthermore, specimens were etched again or subjected to an ultrasonic bath to assess the resistance of the deposits. Finally, specimens of each product were analyzed by transmission electron microscopy.

In summary, all tested products had a tubulus occluding effect under the selected in-situ test conditions. However, the experimental products containing hydroxyapatite as an active ingredient deserve special attention. In all test series with apatite particles almost all of the tubules were closed. In comparison to the commercially available products a deeper penetration into the tubules and a higher resistance of the deposited apatite particles were also found. The analysis by transmission electron microscopy even revealed a crystal-like deposition of the apatite particles on the etched dentin, which could indicate an initial remineralization.

In conclusion, the present results demonstrate that open dentinal tubules can be effectively closed by hydroxyapatite-containing products even under in situ conditions.

2 Einleitung

In den letzten Jahrzehnten gab es in Deutschland einen stetigen Rückgang des Kariesbefalls, vor allem unter Jugendlichen, aber auch in der gesamten Bevölkerung (Bundesvereinigung, 2005). Gründe hierfür sind die etablierte Präventionsarbeit der letzten Jahrzehnte und ein verbessertes Bewusstsein für die eigene Mundhygiene (Brauckhoff et al., 2009). Anhand der Abrechnungsstatistiken der Kassenzahnärztlichen Bundesvereinigung wird jedoch deutlich, dass ein anderes pathologisches Phänomen zunehmend an Bedeutung gewinnt, die Dentinhypersensibilitäten (DHS). Laut dieser Abrechnungsstatistiken wurden bei 10 bis 15% der Patienten therapeutische Maßnahmen zur Behandlung von Dentinhypersensibilitäten vorgenommen (Bundesvereinigung, 2016).

2.1 Das Dentin

Das Dentin repräsentiert den größten Anteil des menschlichen Zahnes. Es teilt sich in einen anorganischen, mineralischen Anteil, der 70% ausmacht, und in einen organischen Anteil von 20% auf. Zusätzlich enthält das Dentin 10% Wasser. Der anorganische Anteil besteht wie beim Zahnschmelz aus Hydroxylapatit. Die umgebende Matrix setzt sich zusammen aus Kollagenfasern (hauptsächlich Typ I, geringe Anteile Typ III und V), Anteilen von Lipiden sowie nichtkollagenen Matrixproteinen. Dentin wird von Odontoblasten gebildet. Diese Zellen entstehen aus dem Ektomesenchym. Die Odontoblasten bilden während der Zahnentwicklung kontinuierlich Dentin und lagern es in Schichten ab. Dabei „wandern“ sie von der Schmelz-Dentin-Grenze in Richtung Pulpakavum. Jeder Odontoblast trägt einen Fortsatz (Tomes Faser). Dieser ist durch die gesamte Dicke des Dentins zurückzuverfolgen. Dort, wo diese Tomes Fasern verlaufen, kann kein Dentin gebildet werden. So entstehen die Dentintubuli. Zwischen den einzelnen Dentintubuli zeigen sich histologisch zahlreiche Querverbindungen, und es gibt etliche Seitenkanälchen. Die Dentinkanälchen weisen untereinander einen Abstand von ca. 7 µm auf und haben einen Durchmesser von ca. 0,5- 3,2 µm. Im pulpanahen Dentin zeigen sich größere Durchmesser als zum Schmelz hin. Die Tubuli enthalten neben dem Odontoblastenfortsatz noch eine als Dentinliquor bezeichnete gelartige Gewebsflüssigkeit. Zusätzlich ziehen in 40% der Dentintubuli im Höckerbereich afferente, freie Nervenendigungen ein, die ihren Ursprung am Raschkow-Nervenplexus haben (Radlanski, 2011).

2.2 Dentinhypersensibilitäten

Erstmals beschrieben wurden Dentinhypersensibilitäten von Blum 1530 (Blum, 1530).

Dentinhypersensibilitäten sind definiert als Schmerz, ausgehend von freiliegendem Dentin, der meistens durch thermische, chemische, taktile oder osmotische Reize ausgelöst wird und keinem anderen pathologischen Befund am Zahn zugeordnet werden kann. Dieser Schmerz ist typischerweise kurz, beißend, mit plötzlichem Beginn und von der Dauer identisch mit der Zeit des Einwirkens des auslösenden Reizes (West et al., 2013).

Für das Vorhandensein von freiliegendem Dentin gibt es zwei unterschiedliche Ätiologien. Zum einen der Verlust von Zahnschmelz im Bereich der Zahnkrone durch Erosionen (Demineralisierung der Zähne ohne Beteiligung von Mikroorganismen), Attritionen (Verlust durch Zahn zu Zahn Kontakte) und/oder Abrasionen (mechanische Beanspruchung, Bruxismus). Zum anderen kann es im Bereich der Wurzel zu freiliegendem Dentin kommen. Der Grund hierfür sind hauptsächlich parodontale Pathologien, die zu Zahnfleischrückgang und Rezessionen führen, was primär zu freiliegendem Wurzelzement führt. Entstehende Defekte im Zement haben dann freiliegendes Dentin zur Folge (Donwell & Addy, 1983). Es ist jedoch zu betonen, dass das Auftreten von freiliegendem Dentin nicht zwingend zu Überempfindlichkeitsreaktionen und Schmerzen am betroffenen Zahn führt. Wann, warum und wodurch diese Bereiche hypersensibel werden, ist nicht endgültig entschlüsselt. Wahrscheinlich sind verschiedene Faktoren ausschlaggebend, wie das Alter des Individuums, die Expositionsrate des Dentins sowie Anzahl und Durchmesser der Dentintubuli (Donwell & Addy, 1983).

Über den genauen Schmerzmechanismus bei Dentinhypersensibilitäten gab es in der Vergangenheit viele unterschiedliche Theorien. Die meisten dieser Hypothesen wurden mit dem Fortschritt der Technik widerlegt, wie zum Beispiel „Innervation des Dentins“ oder „der Odontoblasten Umwandlungsmechanismus“ (Addy, 2002). Die „Hydrodynamische Theorie“ von Brännström ist bis heute die Theorie mit der größten Akzeptanz. Durch verschiedene Experimente zeigte Brännström einen Zusammenhang zwischen Flüssigkeitsverschiebungen in den Dentintubuli und der Wahrnehmung eines Schmerzreizes. Somit ist anzunehmen, dass durch den Dentinliquor die verschiedenen Reize an die Pulpa weitergegeben werden (Brännström, 1966). Diese Theorie untermauert ebenfalls die These, dass freiliegende Dentintubuli für die Entstehung von Dentinhypersensibilitäten verantwortlich sind. Genauer betrachtet erhöhen die meisten schmerzinduzierenden Reize einen nach außen gerichteten Flüssigkeitsstrom innerhalb der Dentintubuli. Dadurch entstehende Scherkräfte werden durch Mechanorezeptoren am Ende der Tubuli erfasst. Diese wiederum aktivieren die intradental

gelegenen $A\delta$ -Nervenfasern an der Pulpa-Dentin Grenze, wodurch Schmerzen erzeugt werden. Folglich sind die tatsächlich einwirkenden und schmerzerzeugenden Reize nach innen und außen gerichtete Flüssigkeitsverschiebungen innerhalb der Dentintubuli (Mantzourani & Sharma, 2013). Verschiedene In-vivo-Studien zeigten eine proportionale Abhängigkeit zwischen der Reaktion der Pulpanerven und der Strömungsgeschwindigkeit der Tubulusflüssigkeit (Matthews & Vongsavan, 1994; Viera & Santiago, 2009). Des Weiteren wurde festgestellt, dass Kältereize einen Flüssigkeitsstrom von der Pulpa weg auslösen und damit eine stärkere Reaktion am Nerv verursachen als Wärmereize, die einen Strom zur Pulpa hin verursachen (Matthews & Vongsavan, 1994). Dies bekräftigt die These, dass Kälte der stärkste Stimulus für Schmerzen bei Dentinhypersensibilitäten ist (Irwin & McCusker, 1997).

2.3 Ansätze zur Behandlung von Dentinhypersensibilitäten

Die Behandlung von Dentinhypersensibilitäten hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. In jedem Falle ist zu erwähnen, dass die Behandlung immer individuell dem Patienten angepasst sein sollte und sehr unterschiedlich sein kann. Mit Augenmerk auf die Behandlungsmethode sowie den Wirkmechanismus lassen sich die Präparate zur Behandlung von Dentinhypersensibilitäten in drei Gruppen unterteilen: Behandlung mit antiinflammatorischer Wirkung, Präparate mit tubulusokkludierenden Eigenschaften sowie Substanzen, welche die Erregungsweiterleitung der intradentalen Nervenendigungen beeinflussen (Corona et al., 2003).

Eine in den letzten Jahren neu entwickelte Maßnahme bei diesem Phänomen ist die Lasertherapie. Die zur Behandlung der DHS verwendeten Dentallaser lassen sich in zwei Gruppen einteilen: Den mittleren Ausgangsleistungslaser und die Low-Level Laser (Corona et al., 2003). Es wird davon ausgegangen, dass die einwirkende Laserstrahlung eine antiinflammatorische, vaskularisierende, analgetische und für die Gewebeheilung stimulierende Wirkung hat (Gerschmann et al., 1994). Die erfolgreiche Behandlung von DHS durch Lasertherapie wurde durch zahlreiche Studien belegt, wie zum Beispiel durch Rosa und Kollegen (Rosa et al., 2016).

Substanzen, die Einfluss auf die Erregbarkeit der intradentalen Nervenendigungen nehmen, enthalten meistens Kaliumionen aus Nitrat-, Chlorid- oder Citratsalzen. Diese Kaliumionen sollen für eine geringere Erregbarkeit sorgen (Parkinson et al., 2017). Genauer gesagt wirkt eine nach innen gerichtete Diffusion der Kaliumionen dem nach außen gerichteten Fluss der Tubulusflüssigkeit entgegen und verringert somit dessen Auswirkungen an den Mechanorezeptoren (Vongsavan & Matthews, 1992).

Die dritte Methode wirkt als logische Schlussfolgerung der Hydrodynamischen Theorie und der Annahme, dass offene Dentinkanäle die Ursache der Dentinhypersensibilitäten sind. Ziel ist es hier, die Dentinkanälchen durch Ablagerungen physikalisch zu verschließen und somit die Flüssigkeitsbewegungen in den Tubuli zu dämpfen, wodurch das Potential an den Mechanorezeptoren verringert werden soll (Addy & Smith, 2010). In ihrer Art und Weise bzw. den Wirkungskomponenten, wie die Kanälchen verschlossen werden, unterscheiden sich die Produkte wiederum. Grob unterteilen lassen sich die Präparate aufgrund ihrer Inhalte, auf welchen ihre Wirkungen basieren. Arnold et al. (2015) unterteilten diese Produkte in folgende Hauptgruppen: 1. Strontium (Chloride und Azetate), 2. Zinnfluoride, 3. Calcium-Natrium-Phosphosilicate, 4. Oxalate, 5. Fluoride, 6. Arginin und Calciumcarbonate und 7. Nanopartikel mit verschiedenen Funktionskomponenten (Arnold et al., 2015). Für alle Inhaltsstoffe konnte in verschiedenen Studien eine positive Beeinflussung der DHS bewiesen werden (Arnold et al., 2015).

In dieser Dissertation liegt das Augenmerk ebenfalls auf der zuletzt beschriebenen Gruppe von Präparaten zur Behandlung der DHS, mit besonderem Fokus auf Produkten, die durch verschiedene Nanopartikel eine Tubulusokklusion herbeiführen sollen. Die Wirksamkeit dieser in den letzten Jahren neu entwickelten Präparate wurde bereits durch einige klinische Studien bestätigt. Sowohl Gopinath und Kollegen als auch de Oliveira und Kollegen konnten für verschiedene Produkte dieser Art eine schmerzlindernde Wirkung am Patienten nachweisen. In beiden Studien galt dies in besonderem Maße für Präparate, die Nanohydroxylapatite-Partikel enthalten haben (Gopinath et al., 2015; de Oliveira et al., 2016).

2.4 Fragestellung

Zum Thema Dentinhypersensibilitäten gibt es zahlreiche Studien und Untersuchungen. Diese lassen sich meistens unterteilen in a) klinische Studien am Patienten oder b) In-vitro-Studien. Beide Arten haben dabei ihre Vor- und Nachteile. Bei klinischen Studien am Patienten ist sicherlich der größte Vorteil, dass die Studie unter „Realbedingungen“ stattfindet. Es sind Patienten mit tatsächlichen DHS, die untersucht werden. Genau hier besteht aber wiederum ein großer Nachteil. Die Wahrnehmung eines Reizes und der dadurch ausgelöste Schmerz wird von den Individuen sehr unterschiedlich wahrgenommen (Grath, 1994; Coghill et al., 2003). Des Weiteren ist zu beachten, dass der wahrgenommene Schmerz von Patienten oft falsch zugeordnet wird und nur vermeintlich einer DHS entspricht (Mantzourani & Sharma, 2013). Diese und weitere auf das Individuum zurückzuführende Punkte sind der Grund für die hohe Variabilität der Resultate und eine oft geringe Reproduzierbarkeit.

In-vitro-Studien dagegen haben eine sehr gute Reproduzierbarkeit und keine variierenden Konstanten aufgrund der einzelnen Individualitäten. Der Nachteil wiederum ist, dass die Versuche nicht unter Mundhöhlenbedingungen stattfinden und somit die Effekte teilweise von der Realität abweichen.

Ziel dieser Dissertationsarbeit war es, die Vorteile beider Methoden miteinander zu verbinden. Es sollte eine Methode geschaffen werden, bei der die Produkte unter Mundhöhlenbedingungen getestet werden und dennoch gut reproduzierbare sowie vergleichbare Ergebnisse entstehen.

Im Prinzip ist diese Studie eine Weiterentwicklung von In-vitro-Untersuchungen, wie zum Beispiel 2015 durchgeführt von Chen und Kollegen oder ebenfalls 2015 von Farooq und Kollegen. Beide verfolgten eine vergleichbare Grundidee: Eine mikroskopische Kontrolle, inwieweit die verschiedenen Präparate die Dentintubuli verschließen (Chen et al., 2015) (Farooq et al., 2015). Hinzugefügt wurde in der vorliegenden Dissertation jedoch der Faktor, dieses unter Mundhöhlenbedingungen, d.h. in situ, zu gestalten.

Eine dieser Arbeit ähnliche Untersuchung wurde 2016 von Kulal und Kollegen unter In-vitro-Bedingungen durchgeführt. Sie verglichen die tubulusverschließenden Fähigkeiten von jeweils einem Nano-Hydroxylapatit, Novamin und Proargin Präparat. Es wurde ebenfalls mit Dentinprüfkörpern gearbeitet und die Auswertung erfolgte mittels Elektronenmikroskopie. Auch hier zeigten alle drei Präparate gute Resultate, wobei wiederum das Hydroxylapatit die besten Ergebnisse erzielen konnte und 98,1% der Tubuli verschlossen hat (Kulal et al., 2016). Im Gegensatz zu der von Kulal et al. (2016) durchgeführten Untersuchung war es in dieser Arbeit nicht nur das Ziel, Präparate mit unterschiedlichen Wirkungsweisen zu vergleichen, sondern auch verschiedene Produkte mit ähnlichen Wirkungskomponenten gegenüberzustellen. Da sowohl in den oben erwähnten klinischen Studien von de Oliveira et al. (2016) und Gopinath et al. (2015) als auch in dem In-vitro-Versuch von Kulal et al. (2016) die Präparate mit Nanohydroxylapatit die besten Ergebnisse erzielen konnten, war es hier Ziel, sowohl unterschiedliche als auch ähnliche Produkte miteinander zu vergleichen. Deshalb sind in der Auswahl der Präparate mehrere Produkte mit dem Hauptbestandteil Hydroxylapatit vertreten.

Gewählt wurde im Rahmen der vorliegenden In-situ-Studie eine intraorale Tragezeit von sechs Stunden, dies entspricht ungefähr dem Abstand zwischen dem täglichen Zähneputzen. Durch den Verzicht auf Speisen und Getränke (außer stilles Wasser) bleiben die Ergebnisse beider Probanden reproduzierbarer und sind besser zu vergleichen. Die normalen täglichen

Einwirkungen durch Säuren etc. wurden ähnlich wie in den beiden oben genannten Untersuchungen im Labor simuliert.

Zusammenfassend lässt sich die Fragestellung dieser Dissertation wie folgt formulieren: Wie verhalten sich unterschiedliche Präparate zur Behandlung von Dentinhypersensibilitäten im Hinblick auf ihre tubulusokkludierenden Eigenschaften unter Mundhöhlenbedingungen?

3 Material und Methode

3.1 Probanden

Die zwei Probanden dieser In-situ-Studie befanden sich zur Zeit der Studie im Alter zwischen 24 und 30 Jahren. Ihre Anamnese war unauffällig und beide wurden folglich als „gesund“ eingestuft. Von beiden wurden bis dato keine Medikamente mit Einfluss auf den Speichelfluss bzw. die Mundflora im Allgemeinen eingenommen. Beide Probanden waren vollbezahnt und hatten ein suffizient konservierend versorgtes Gebiss ohne parodontologische Auffälligkeiten, d.h. Taschentiefen unter 3 mm. Kariöse Defekte oder Entzündungen des marginalen Parodonts lagen bei keinem der Probanden vor. Ebenfalls zeigte keiner der Probanden eine erhöhte Neigung zur Bildung von Plaque oder Zahnstein. Während des Tragens der Schienen wurde auf Essen verzichtet und lediglich stilles Wasser getrunken.

Das positive Votum der Ethik-Kommission der Ärztekammer des Saarlandes zur Durchführung dieser In-situ-Studie lag vor (238/03;2016).

3.2 Materialien

3.2.1 Prüfkörper aus Rinderdentin

Die Prüfkörper wurden aus bovinen Unterkieferfrontzähnen der zweiten Dentition hergestellt. Nach Extraktion wurden die Zähne kontinuierlich in einer 0,1% Thymollösung bei 4 °C im Kühlschrank gelagert. Mittels Säge wurden zuerst die Wurzel abgetrennt und der Zahn in der Frontalebene geteilt, dann wiederum die Inzisalfläche sowie die Approximalflächen abgetrennt. Anschließend konnte der Zahn in mehrere kleine Rohlinge unterteilt werden (siehe Sägeschema). An der Schleifmaschine (Bühler, Phoenix 3000) wurden die Rohlinge in ihre endgültige Form geschliffen und poliert (Körnung 2500). Fertige Prüfkörper hatten eine rechteckige Form und waren ca. 3,5 mm breit, 6 mm lang und 1,5 mm dick. Auf der Unterseite wurde eine minimale Schicht Schmelz belassen. Die Prüfkörper wurden ebenfalls in einer 0,1% Thymollösung im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt. Vor der Verwendung wurden diese noch einmal mit der Körnung 25000 nachpoliert und anschließend nach folgendem Schema gereinigt: 30 s NaOCl 3%, unter fließendem destilliertem Wasser gespült bis geruchlos, 2 min Ultraschallbad in eiskaltem Wasser, 15 min Isopropylalkohol 70%, 2x mit sterilem Wasser (Braun) gespült. Die gereinigten Proben wurden bei 4 °C mind. 6 Stunden und maximal 3 Tage in sterilem Wasser (Braun) gelagert.

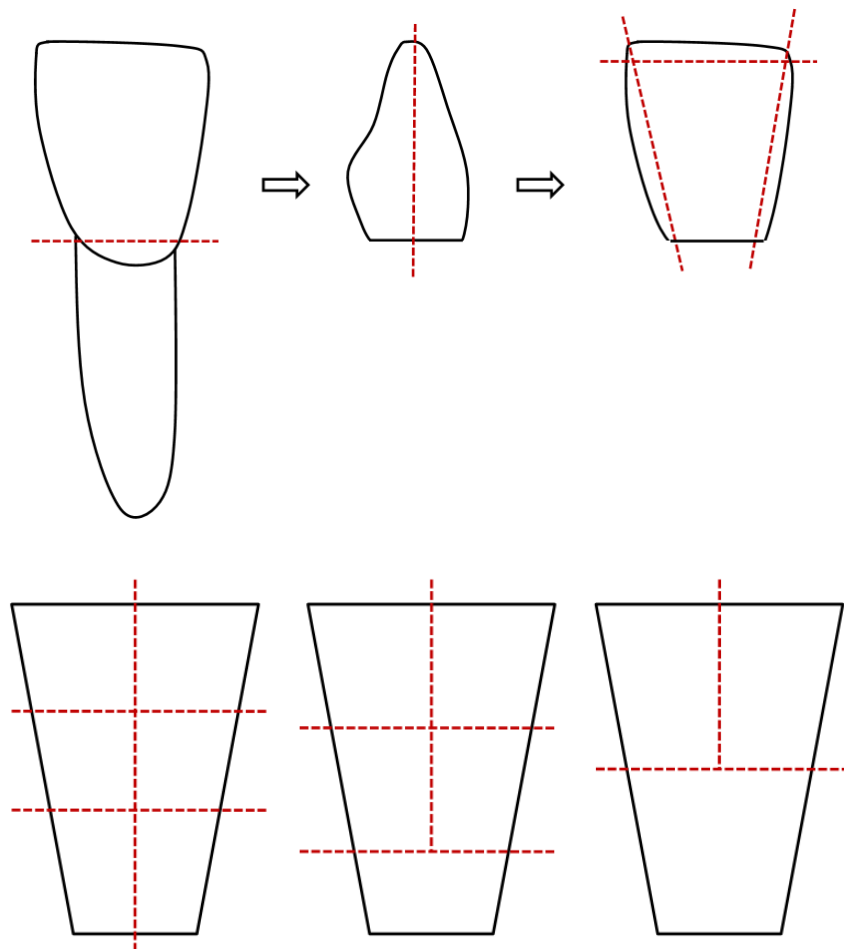


Abbildung 1: Sägeschema für die bovinen Unterkieferfrontzähne in der Prüfkörperherstellung.

3.2.2 Prüfkörpertrageschienen

Die Oberkiefer der Probanden wurden mit Aligant (Bluepint X-creme, Dentsply Sirona) abgeformt, und anhand der Abformungen wurden aus Superhartgips Modelle hergestellt. Mit Hilfe des Tiefziehverfahrens wurden aus Duran (Scheu GmbH) Miniplastschienen hergestellt. Diese Schienen hatten jeweils im ersten und zweiten Quadranten eine Ausdehnung vom dens caninus bis zum zweiten dens molare sowie den Processus alveolaris umfassend und eine Dicke von 1 mm. Dadurch konnte eine ausreichende Stabilität gewährleistet werden. Bukkal wurden die Schienen perforiert, um eine Retentionsfläche für das President (Fa. Coltene) zu schaffen, mit dem die Prüfkörper aus Rinderdentin an den Schienen fixiert wurden.

3.2.3 Montage der Prüfkörper und genereller Ablauf der Versuche

Vor Gebrauch wurden die Trageschienen für 10 min in 70% Propanol desinfiziert. Die im Kühlschrank in 0,1% Thymollösung gelagerten Dentinprüfkörper wurden vor Applikation auf den Schienen wie oben beschrieben gereinigt.

Anschließend wurde jeder Prüfkörper für 30 s mit 37,5% Phosphorsäure (Gel Etchant der Fa Kerr) angeätzt, damit davon ausgegangen werden konnte, dass die Dentintubuli vollständig geöffnet sind. Die Phosphorsäure wurde mit einer mit 15 ml sterilem Wasser (Braun) gefüllten Spritze abgespült. Befestigt wurden die Prüfkörper mit President (Fa Coltene) an der perforierten, bukkalen Fläche der Schienen. In jeder Versuchsreihe wurden im II. Quadranten zwei Prüfkörper (regio 25, 26, 27) montiert und im I. Quadranten einer (regio 16). Nach Montage der Prüfkörper an den Minioplastschienen wurden diese mit Wasser leicht angefeuchtet und für 3 min im Mund des Probanden appliziert, um eine Anpassung an die Temperatur in der Mundhöhle zu erlangen. Nach Ablauf dieser Zeit wurden diese wieder herausgenommen und die zu untersuchenden Präparate entsprechend der Herstellervorgabe aufgetragen. Das Testpräparat wurde jeweils nur auf die beiden Dentinkörper im II. Quadranten appliziert, der Prüfkörper im I. Quadranten war die Kontrollprobe, auf der keine Applikation stattgefunden hat. Die Prüfkörper mussten anschließend für 6 h in der Mundhöhle verweilen. Während des Tragens der Schienen wurden die Nahrungsaufnahme und das Trinken unterlassen, lediglich stilles Wasser wurde konsumiert. Einmalig war es den Probanden gestattet, die Schienen für die Dauer einer Stunde aus der Mundhöhle zu entnehmen und in einem Hygrophor zu lagern, um ein Mittagessen zu konsumieren. Es sollte auf außergewöhnliche Speisen verzichtet werden und der Mund nach Abschluss der Nahrungsaufnahme mehrfach mit Wasser durchgespült werden. Anschließend mussten die Probanden nochmals eine halbe Stunde warten, bis die Schienen wieder in die Mundhöhle eingebracht werden konnten. Nach Ablauf der 6 h wurden die Schienen aus der Mundhöhle herausgenommen und die Prüfkörper mit einer Pinzette aus dem President herausgelöst. Dann erfolgte zuerst das Abspülen der Prüfkörper (Druckspüler der Fa. Bürke) mit sterilem Wasser und anschließend wurden sie zum Lufttrocknen in einer Wellplatte unter dem Laborabzug platziert. Die getrockneten Prüfkörper wurden anschließend auf Aluminiumprobenteller aufgeklebt und mit Kohle gesputtert. Anschließend erfolgte die Aufnahme der Bilder mit einem Rasterelektronenmikroskop der FA FEI/Phillips (Eindhoven, Niederlande) vom Typ XL30 ESEM-FEG.

3.2.4 Vorbereitung für die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die Prüfkörper wurden ebenfalls sorgfältig mit sterilem Wasser gespült. Dann wurden sie nach folgendem Schema vorbereitet:

1. Fixierung: Die Prüfkörper wurden für 1 h in die Fixierlösung gelegt. Diese Lösung besteht aus 1% Glutaraldehyd (aus 25%iger Lösung von SERVA), 1% Paraformaldehyd (aus 32%iger Lösung von Sienceservice) und 0,1 M Cacodylat-Puffer. Nach Ablauf der Stunde wurden die Prüfkörper jeweils 4-mal für 10 min mit 1 ml Cacodylat-Puffer gespült. In einem Mikroreaktionsgefäß, in dem ebenfalls 1 ml Cacodylat-Puffer enthalten ist, wurden sie dann im Kühlschrank bei ca. 4 °C bis zur Osmierung gelagert.
2. Osmierung: Die Proben wurden 2 h mit Osmiumtetroxid in 2% Phosphatpuffer gelagert. Nach der Osmierung erfolgte wiederum eine 4-mal fünfminütige Spülung mit Phosphatpuffer.
3. Entwässerung der Proben: Bevor die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe durchgeführt wurde, mussten die Prüfkörper zuvor für 10 min in destilliertem Wasser lagern. Die aufsteigende Alkoholreihe setzte sich zusammen aus folgenden Entwässerungsschritten: 2 mal 10 min in 50% Ethanol (Emprove. Merck, Darmstadt), 2 mal 10 min in 70% Ethanol, 2 mal 10 min in 90% Ethanol, 1 mal 10 min in 100% Ethanol und schließlich noch einmal 20 min in 100% Ethanol im Rollrandgläschen mit geschlossenem Deckel.
4. Einbettung: Zuerst werden die Prüfkörper noch 2 mal für 20 min in Propylenoxid (Propylenoxid, Serva, Heidelberg) gelagert, anschließend erfolgte das Überführen in ein 1:1 Gemisch aus Propylenoxid und Araldit CY 212 (Agar Scientific, Stanstead, UK). Hier zogen die Proben für 24 h durch. Dann kamen die Prüfkörper in eine zweite Mischung aus Araldit CY 212 und 2-Dodeceny succinic acid anhydride und blieben wiederum für 24 h im Araldit. Am dritten Tag erfolgte die Einbettung ebenfalls in einer Mischung der gleichen Zusammensetzung. Die Aushärtung erfolgte für 48 h im Brutschrank (WTC Binder, Tuttlingen) bei 65 °C. Nach der Aushärtung wurden die Prüfkörper mit Hilfe von Nassschleifpapier (SiC Grinding paper for metallography wet or dry, Bühler Technologies, Ratingen) der Körnung 800 und 4000 zugeschleift.
5. Herstellung der Ultradünnschnitte: Mit Hilfe eines Ultramikrotoms (Ultracut E, Leica, D-Benzheim) und eines Diamantmessers (Diatom 45°, Leica, D-Benzheim) wurden die Proben in Ultradünnschnitte (50 nm) geschnitten. Diese Schnitte wurden auf Pioloform-F beschichtete Kupferlochblenden aufgebracht. Durch Uranylacetat (Uranyl

Acetate Dihydrate, Ted Pella Inc., Reddig) und Bleicitrat (Merk, Darmstadt) erfolgte die Kontrastierung der Schnitte.

Die transmissionselektronenmikroskopischen Analysen erfolgten an einem FEI Tecnai G2 12 BioTwin Transmissionselektronenmikroskop (FEI, Eindhoven, Niederlande) bei bis zu 30.000 facher Vergrößerung.

3.2.5 Präparate

Im folgendem werden die unterschiedlichen Produkte, deren tubulusokkludierende Wirkung untersucht wurde, kurz vorgestellt und erläutert.

Elmex® Sensitive Professional™ (CP GABA GmbH, Hamburg, Deutschland)

Elmex® Sensitive Professional™ mit Pro-Argin® Formel ist eine Zahnpasta zur täglichen Anwendung. Der Hersteller gibt an, dass die Zahnpasta für eine sofortige Schmerzlinderung mit dem Finger auf die betroffene Stelle aufgetragen und sanft einmassiert werden soll. Zur Wirkungsweise macht der Hersteller lediglich folgende Angaben: „elmex® Sensitive Professional™ mit Pro-Argin® Technologie verschließt Kanälchen, die zum Zahnnerv führen und blockiert auf diese Weise den Schmerz“ (Anon., 2016 a). Die Inhaltsstoffe werden wie folgt beziffert: „Calcium Carbonate, Aqua, Sorbitol, Arginine, Sodium Lauryl Sulfate, Aroma, Sodium Monofluorophosphate, Cellulose Gum, Sodium Bicarbonate, Tetrasodium Pyrophosphate, Sodium Saccharin, Benzyl Alcohol, Xanthan Gum, Limonene, CI 77891“ Stand: 04.01.2016 (Anon., 2016 a). In dieser Studie wurde die Zahnpasta außerhalb des Mundes direkt mit einem Mikrobrush auf dem Prüfkörper appliziert und für 2 min einmassiert. Anschließend wurde die Schiene samt Prüfkörper wieder in die Mundhöhle eingebracht.

Biorepair® Plus (Dr. Kurt Wolf GmbH & Co. KG, Bielefeld, Deutschland)

Biorepair® Plus ist ebenfalls eine Zahnpasta für den täglichen Gebrauch. Der Hersteller spricht von „künstlichem Zahnschmelz“, der den Zähnen beim Putzen angelagert werden soll. Dieser „künstliche Zahnschmelz“ wird näher erläutert als „Reines Hydroxylapatit im Komplex mit Zink-Carbonat ohne organische Nebenbestandteile“ und soll Defekte am Zahn wieder verschließen (Anon., 2016 b). Zu den Inhaltsstoffen werden folgende Angaben gemacht: „Aqua, Zinc Hydroxyapatite, Glycerin, Sorbitol, Hydrated Silica, Silica, Cocamidopropyl Betaine, Cellulose Gum, Aroma, Lactoferrin, Sodium Myristoyl Sarcosinate, Sodium Methyl Cocoyl Taurate, Hamamelis Virginiana Leaf Extract, Spirulina Platensis

Extract, Calendula Officinalis Flower Extract, Zinc PCA, Sodium Hyaluronate, Tocopheryl Acetate, Retinyl Palmitate, Sodium Saccharin, Phenoxyethanol, Benzyl Alcohol, Sodium Benzoate, Potassium Sorbate, Limonene, CI 77891.“ (Anon., 2016 c). Die Anwendung der Zahnpasta in dieser Studie entsprach der oben erläuterten Anwendung der elmex® Sensitive Professional Zahnpasta.

GC MI Paste Plus (GC Europe N.V., Leuven, Belgien)

Die GC MI Paste Plus ist eine wasserbasierte Creme, jedoch keine Zahnpasta zur täglichen Reinigung der Zähne. Sie wird nach dem Zähneputzen appliziert. Ihr Wirksystem wird als Recaldent™ bezeichnet und stellt einen CPP-ACPF Komplex (Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Flouride) dar. Dieser CPP-ACPF Komplex soll bioverfügbares Calcium, Phosphat und Fluorid an die Zähne abgeben (Anon., 2016 d). Zusätzlich enthält die GC MI Paste Plus 900ppm einer patentierten Fluoridform. Die Applikation der Paste entspricht der zuvor erläuterten Vorgehensweise bei den Zahnpasten Elmex® sensitive und Biorepair® Plus. Die Inhaltsangabe auf der Verpackung lautet wie folgt: „Pure water, Glycerol, CPP-ACP, D-sorbitol, CMC-Na, Propylene glycol, Silicon dioxide, Titanium dioxide, Xylitol, Phosphoric acid, Sodium fluoride, Flavoring, Sodium saccharin, Ethyl p-hydroxybenzoate, Propyl p-hydroxybenzoate, Butyl p-hydroxybenzoate.“

Teethmate™ Desensitizer (Kuraray Europe GmbH, Hattersheim am Main, Deutschland)

Der Teethmate™ Desensitizer wird als zwei Komponenten System geliefert, das zuvor vom Behandler angemischt werden muss. Diese zwei Komponenten sind ein weißes Calcium-Phosphat-Pulver sowie eine wässrige Anmischflüssigkeit. Dieses Produkt soll die Bildung von Hydroxylapatit anregen. Der Hersteller gibt an, dass dies durch genau „die richtige Menge von Kalzium und Phosphaten, den richtigen pH-Wert und die besondere Kuraray Dental-Technologie“ gelingt (Anon., 2016 e). Das neu gebildete Hydroxylapatit soll die Dentintubuli auf natürliche Art verschließen und für eine Minderung der Dentinhypersensibilitäten sorgen. Zu den genauen Inhalten liegen keine weiteren Angaben vor.

Die Anwendung dieses Produktes wurde entsprechend der Herstellervorgabe gestaltet: Zuerst wurden Pulver und Flüssigkeit miteinander vermischt (mindestens 15 sec) und anschließend auf die Prüfkörper mit einem Mikrobrush aufgetragen. Nach 2 min Einwirken wurden die Prüfkörper vorsichtig abgespült und wieder im Mund appliziert.

Stomysens (Coswell, Borsa, Italien)

Das Produkt Stomysens ist eine Art Lack, der auf den Zahn aufgetragen wird. Er enthält Partikel auf Zink-Carbonat-Hydroxylapatit-Basis und das Wirksystem wird als microRepair® bezeichnet. Es soll den Zahnschmelz remineralisieren und somit die Hypersensibilitäten mindern (Anon., 2016 f). Die im Beipackzettel aufgeführten Inhaltsstoffe sind: „Aqua, Alcohol Denat., Zinc PCA, Zinc Hydroxylapatite, PVM/MA Copolymer, Lactoferrin, Sodium Myristoyl Sarcosinate, Sodium Methyl Cocoyl Taurate, Sodium Benzoate, Benzyl Alcohol, Phenoxyethanol“. Stomysens wurde in dieser Studie mit einem Einwegpinsel, ebenfalls außerhalb des Mundes, auf die Prüfkörper aufgetragen. Anschließend wurden die Schienen wieder im Mund appliziert.

HAp Kalident (Kalichem Italia Srl, Rezzato BS, Italien)

HAp Kalident ist ein experimentelles Produkt, das in Pulverform geliefert wird. Es muss mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:1 zu einer Art „weißem Brei“ angemischt werden und wird dann ebenfalls mit einem Mikrobrush aufgetragen. Die Applikationszeit betrug hier ebenfalls 2 min.

Der Hersteller gibt an, dass es sich zu 100% aus Hydroxylapatit in Pulverform handelt. Es soll die natürliche Remineralisierung des Speichels unterstützen. Des Weiteren wird angegeben, dass durch die physiologische Wirkung der Hydroxyl-Phosphat-Mikropartikel Mikrolöcher im Zahnschmelz verschlossen werden (Anon., 2016 g).

HAp Budenheim (Chemische Fabrik Budenheim, Budenheim, Deutschland)

HAp Budenheim liegt ebenfalls als experimentelles Produkt in Pulverform vor, und die Zubereitung und Verarbeitung entsprach der des Kalident. Als Inhaltsstoff wird fein vermahlene Apatit (0,1-0,3 µm, Tricalcium-Phosphat) angegeben.

3.3 Aufbau der Studie und der einzelnen Versuchsreihen

Die Studie gliederte sich in die erste Hauptversuchsphase und in anschließend durchgeführte Zusatzversuche, auf der Basis der Ergebnisse der Hauptversuche. Abschließend wurde noch eine von den zuvor durchgeführten Versuchen unabhängige Versuchsreihe zur transmissions-elektronenmikroskopischen Untersuchung der Dentinprüfkörper durchgeführt.

1. Hauptversuche
2. Bruchversuche
3. Erosions- und Widerstandsversuche a) und b)
4. Transmissionselektronenmikroskopische Analysen

1. Hauptversuche

In der zuerst durchgeführten Versuchsphase trugen beide Probanden Dentinproben, die mit allen sieben vorgestellten Produkten behandelt worden waren. Die Vorgehensweise entsprach der bereits unter „Montage der Prüfkörper und allgemeiner Versuchsaufbau“ beschriebenen Prozedur. Folglich ergab ein getestetes Produkt für jeden Probanden 3 Dentinprüfkörper:

1. links vorne (mit Applikation des Produktes)
2. links hinten (mit Applikation des Produktes)
3. rechts (Kontrollprobe ohne Applikation)

Alle Prüfkörper wurden mit Kohle gesputtert (dieser Vorgang wurde vor jedem Mikroskopieren durchgeführt und wird folgend nicht mehr im Einzelnen erwähnt) und anschließend unter dem Rasterelektronenmikroskop (REM) mikroskopiert. Für alle Prüfkörper wurden Bilder in den Vergrößerungen 25, 500, 1000, 5000, 10000 und 20000-fach hergestellt, um den „Verschluss“ der Dentintubuli zu begutachten. Anschließend wurde noch eine EDX Analyse des in den Dentinkanälchen befindlichen Materials durchgeführt.

2. Bruchversuche

In dieser Versuchsreihe wurde jeweils die erste Probe (entspricht links vorne) überschlägig in der Mitte gebrochen. Des Weiteren wurde die Kontrollprobe des ersten Probanden ebenfalls gebrochen, um eine ausreichende Vergleichbarkeit zu garantieren. Dafür wurde der Prüfkörper zwischen zwei zahnärztlichen Flachspitzzangen eingeklemmt und diese jeweils in entgegengesetzte Richtungen rotiert. Eines der Bruchstücke wurde anschließend so auf die REM-Teller angebracht, dass senkrecht auf die Bruchkante mikroskopiert werden konnte. Bei dieser Versuchsreihe wurden für jeden Prüfkörper mit dem REM Bilder in den Vergrößerungen 50, 500, 1000, 5000, 10000 und 20000-fach erstellt. Auch die EDX-Analyse wurde erneut durchgeführt. Diese Versuchsreihe sollte Aufschluss darüber geben, ob und wie weit die Produkte in die Dentintubuli eindringen.

3. Erosions- und Widerstandsversuche

- a) Jeweils bei der zweiten Probe (links hinten) des Probanden A wurde eine Ecke des Prüfkörper für 30 sec mit 36% Phosphorsäure angeätzt. Am REM wurde nun die entsprechende Ecke aufgesucht und ca. in der Mitte der geätzten Fläche mikroskopiert. Es wurden Bilder in den Vergrößerungen 25, 500, 1000, 5000, 10000 und 20000-fach angefertigt.
- b) In dieser Phase wurden dieselben Proben aus a) für zwei Minuten ins Ultraschallbad gegeben. Anschließend wurden REM-Bilder ebenfalls in denselben Vergrößerungen aufgenommen.

Diese Versuchsreihe sollte die Widerstandsfähigkeit der Produkte untersuchen, da sie in der ersten Hauptphase durch den Verzicht von Speisen und Getränken keinen „im Alltag üblichen Einflüssen“ ausgesetzt waren. Das Ätzen ist ungefähr gleichzusetzen mit dem Genuss eines säurehaltigen Getränks und die Ultraschalleinwirkung ist zu vergleichen mit der Einwirkung einer ultraschallbetriebenen Zahnbürste.

4. Transmissionselektronenmikroskopische Analyse

Diese Versuchsreihe sollte noch einmal einen anderen Betrachtungswinkel der Produkte zeigen und auch weiteren Aufschluss über das Eindringen in die Dentintubuli geben.

Das Trageschema wurde in dieser Phase etwas verändert: Die Proben wurden ausschließlich von Proband A getragen. Des Weiteren wurden jeweils zwei Produkte gleichzeitig in der Mundhöhle getestet. Der Proband trug jeweils links zwei Prüfkörper, auf die dasselbe Produkt appliziert wurde, und rechts zwei, auf die ein anderes Produkt aufgetragen wurde. Auf Kontrollproben wurde an dieser Stelle weitestgehend verzichtet, da zuvor keinerlei Auswirkungen auf diese festgestellt wurden. Lediglich zwei Kontrollprüfkörper wurden hier aufgrund der ungeraden Produktanzahl verwendet.

4 Ergebnisse

Die Darstellung der Ergebnisse richtet sich nicht nach den unterschiedlichen Versuchsreihen, sondern entspricht primär den einzelnen Produkten. Folglich werden für jedes Produkt einzeln die Ergebnisse aller Versuche sowie beider Probanden vorgestellt. Aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit werden jedoch zuerst die Bilder der Kontrollprüfkörper dargestellt, auf die keine tubulusokkludierenden Präparate aufgetragen wurden.

4.1 Kontrollen

4.1.1 Hauptversuche

Die Ergebnisse der Kontrollproben stellten sich bei allen Präparaten sowie bei beiden Probanden nach der sechsständigen intraoralen Exposition ausnahmslos sehr ähnlich dar. Zu sehen sind die angeschnittenen Dentintubuli (in den folgenden Abbildungen mit „T“ markiert), umgeben von angeätztem Dentin (folgend mit „GD“ markiert). Alle Tubuli erscheinen geöffnet und ohne Einlagerungen. Lediglich vereinzelt sind bakterielle Ablagerungen zu erkennen (Abb. 2 und Abb. 3). Auch die in Abb. 4 aufgeführte EDX Analyse zeigte ein zu erwartendes Elementprofil des Dentins. Der hohe Kohlenstoffwert war auf das Sputtern mit Kohle zurückzuführen.

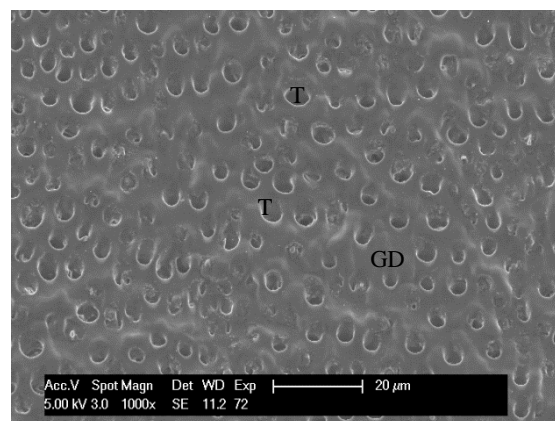


Abbildung 2: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition ohne Applikation eines tubulusokkludierenden Präparates (Kontrolle, Vergrößerung 1000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin.

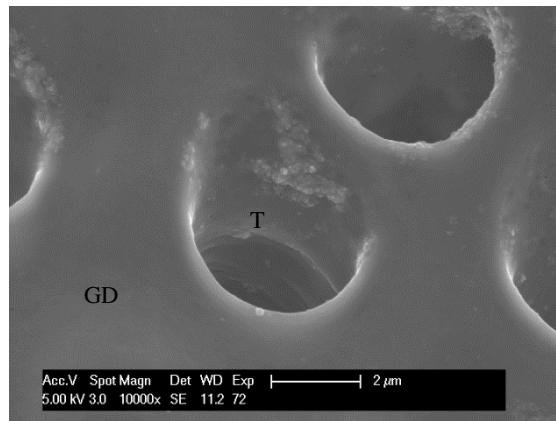


Abbildung 3: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition ohne Applikation eines tubulusokkludierenden Präparates (Kontrolle, Vergrößerung 10000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin.

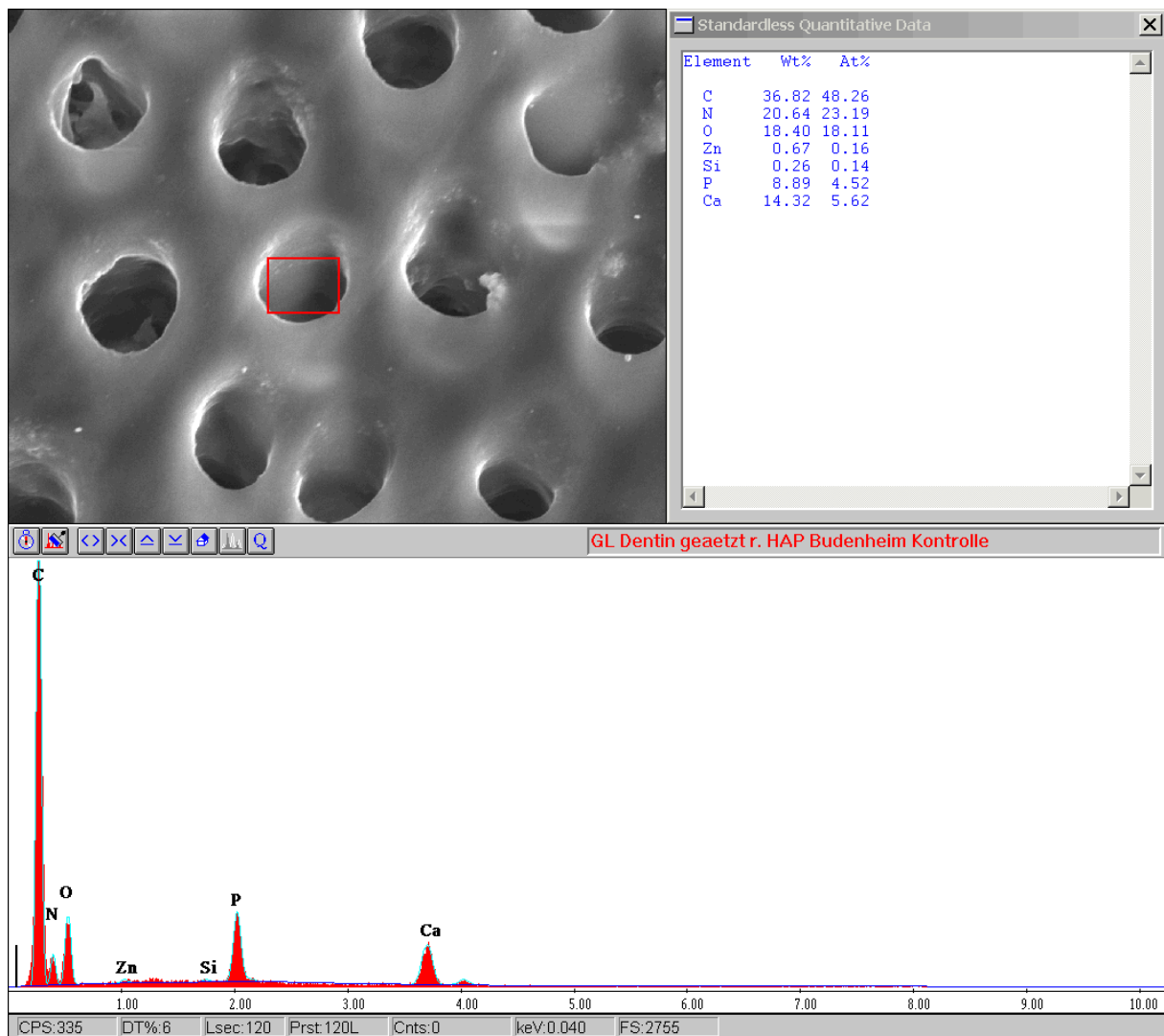


Abbildung 4: EDX-Analyse der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition ohne Applikation eines tubulusokkludierenden Präparates (EDX Kontrolle).

4.1.2 Bruchversuche

Auch in der Bruchansicht waren bei den Kontrollproben keine Einlagerung oder der Verschluss der Dentinkanäle ersichtlich. Lediglich eine dünne Plaqueauflagerung (siehe Pfeil), von weniger als $1\mu\text{m}$, war zu erkennen (Abb. 5).

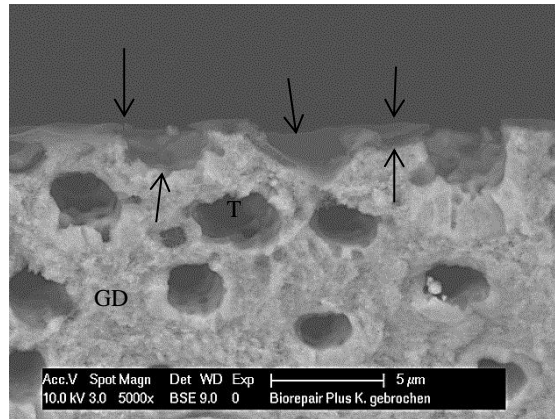


Abbildung 5: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition ohne Applikation eines tubulusokkludierenden Präparates (Kontrolle, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf eine dünne Pellikelschicht.

4.1.3 Erosions- und Widerstandsversuche

Auf die Widerstandsversuche wurde bei den Kontrollprüfkörpern verzichtet, da wie oben erläutert, keine Einlagerungen vorhanden waren und somit keine beurteilbaren Ergebnisse entstanden wären.

4.1.4 TEM

Abb. 6 und Abb. 7 zeigen die TEM-Bilder der Kontrollprüfkörper. Deutlich erkennbar ist das geätzte Dentin, welches hauptsächlich aus den Kollagenfibrillen besteht. Die Ätzschrift war 9-17 μm tief. Auf Abb. 6 zeigt sich links auf diesem Dentin eine Biofilmbablagerung -Pellikel- (siehe Pfeile) mit einer Dicke von bis zu 1700 nm. In Abb. 7 sind drei Dentintubuli zu sehen. Diese wurden längs angeschnitten mit ihrer Öffnung nach links. Es wird deutlich, dass diese weder verschlossen, noch mit Partikeln gefüllt waren.

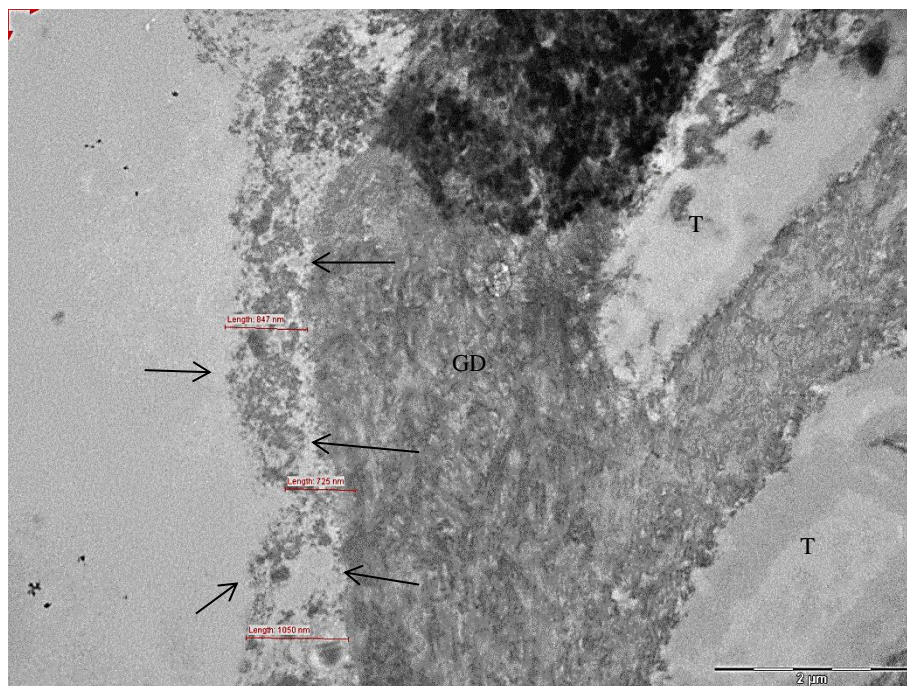


Abbildung 6: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition ohne Applikation eines tubulusokkludierenden Präparates (TEM Kontrolle, Vergrößerung 9300-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf Biofilmbablagerungen.

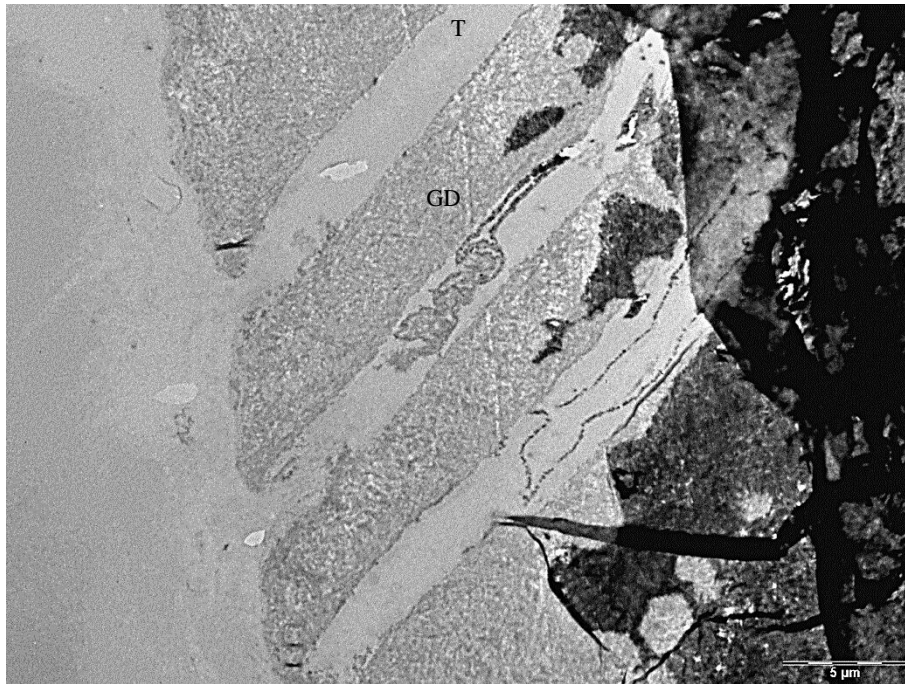


Abbildung 7: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsstündiger intraoraler Exposition ohne Applikation eines tubulusokkludierenden Präparates (TEM Kontrolle, Vergrößerung 2900-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin.

4.2 Elmex sensitive

4.2.1 Hauptversuche

Das Produkt zeigte in den Hauptversuchen deutliche Ablagerungen auf allen Prüfkörpern, auf die es aufgetragen wurde (Abb. 8). Fast in jedem Tubulus waren Einlagerungen zu finden (siehe Pfeile). Die Tubuli waren teils deutlich gefüllt (Abb. 9). Ein kompletter Verschluss der Dentinkanälchen blieb jedoch überwiegend aus. Auch auf der sonstigen Dentineoberfläche waren Ablagerungen ersichtlich. Vereinzelt sind Ablagerungen von Bakterien zu erkennen gewesen (Abb. 9). Die in Abb. 10 aufgeführte EDX-Analyse zeigte einen hohen Calcium-Wert der eingelagerten Moleküle.

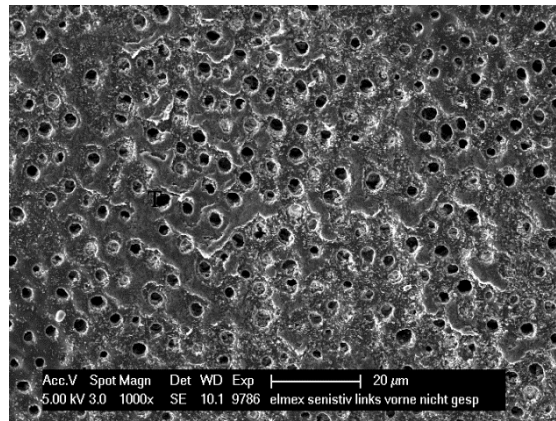


Abbildung 8: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Elmex Sensitive (Elmex Sensitive, Vergrößerung 1000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus.

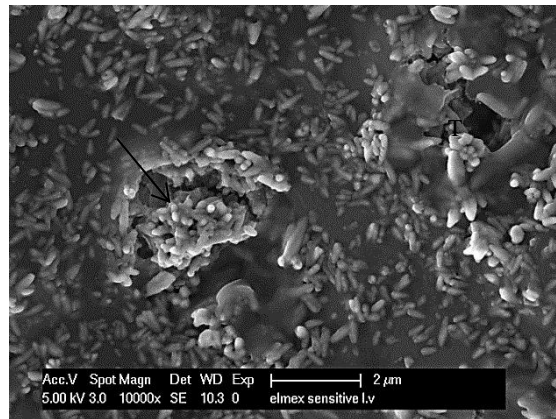


Abbildung 9: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Elmex Sensitive (Elmex Sensitive, Vergrößerung 10000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, der Pfeil zeigt auf Einlagerungen im Tubulus.

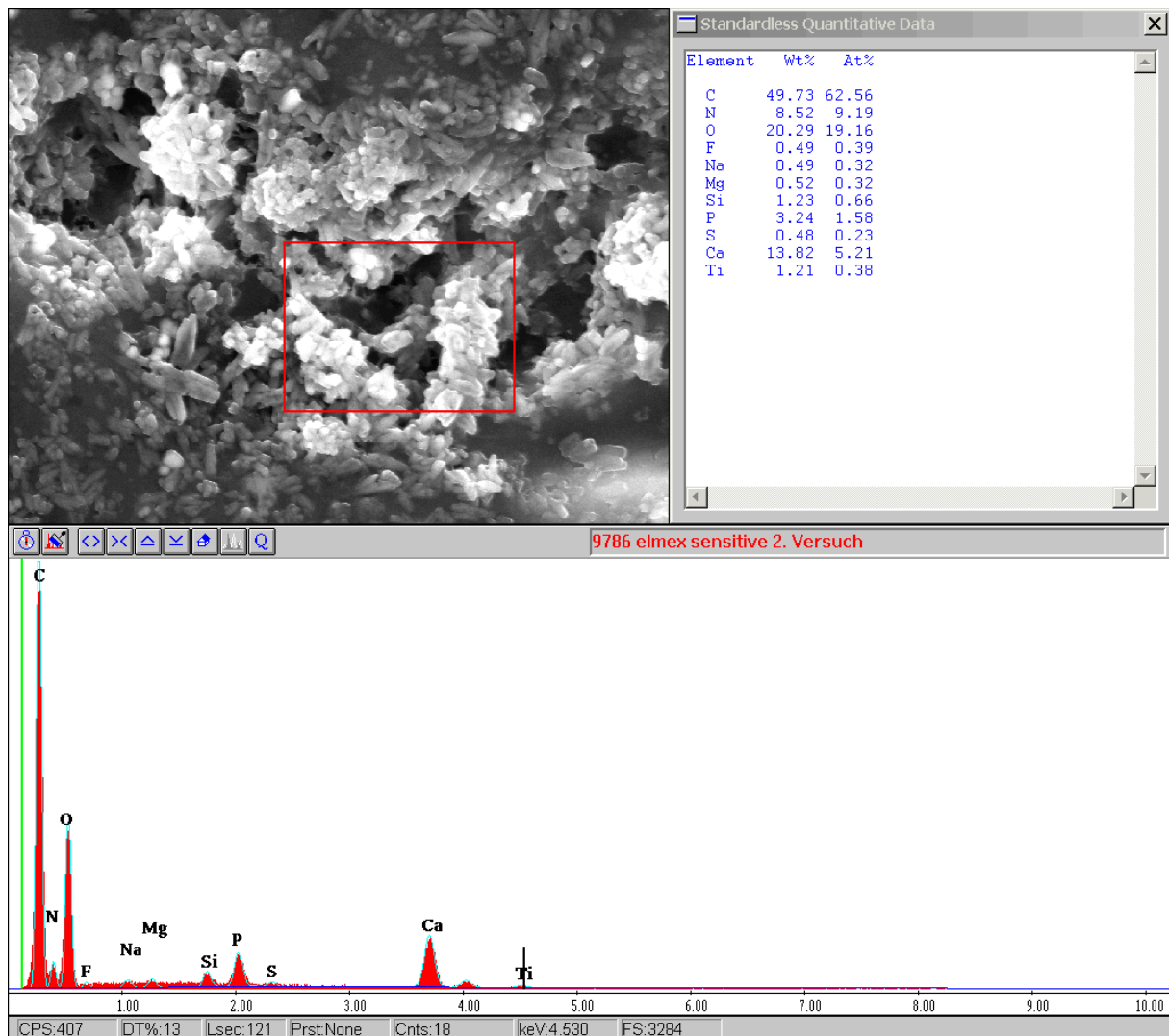


Abbildung 10: EDX-Analyse der in den Dentintubuli eingelagerten Partikel nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Elmex Sensitive (EDX Elmex sensitive).

4.2.2 Bruchversuche

Die Bruchansicht zeigte eine dünne ($< 1 \mu\text{m}$) Schicht auf dem Prüfkörper (siehe Pfeil). Wie auf Abb. 11 deutlich zu sehen, wurden durch diese Schicht die Dentintubuli verschlossen. Ein Eindringen in die Tiefe der Tubuli war nicht vorhanden.

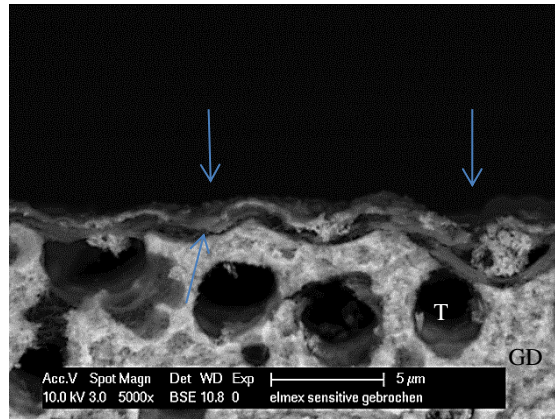


Abbildung 11: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Elmex Sensitive (Elmex Sensitive Bruchansicht, Vergrößerung 5000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen eine dünne Deckschicht, wodurch der Tubulus verschlossen wird.

4.2.3 Erosions- und Widerstandsversuche

Nach der Ätzung fiel eine deutliche Verminderung der Ablagerungen auf der intertubulären Prüfkörperoberfläche auf. Die Einlagerungen in den Tubuli erschienen vermindert, aber stets noch vorhanden (siehe Pfeile Abb. 12) (Abb. 12).

Das Ultraschallbad zeigte im Bereich des intertubulären Dentins eine geringere Auswirkung als das Ätzen, jedoch eine deutlich stärkere Wirkung auf die Einlagerungen in den Tubuli. Die Dentinkanälchen stellten sich ohne Einlagerungen dar und waren nicht mehr verschlossen (Abb. 13).

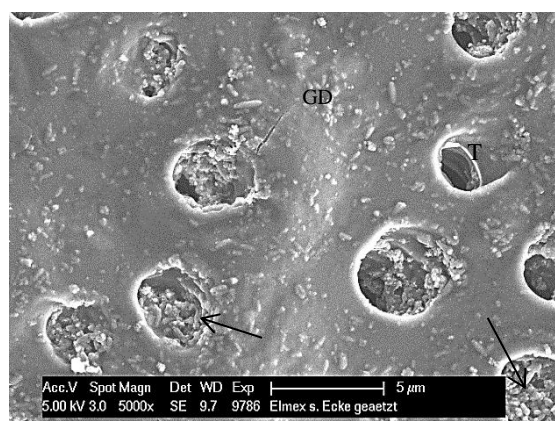


Abbildung 12: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Elmex Sensitive nach Behandlung mit 36% Phosphorsäure für 30 s (Elmex Sensitive nach Ätzung, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf Einlagerungen in den Tubuli.

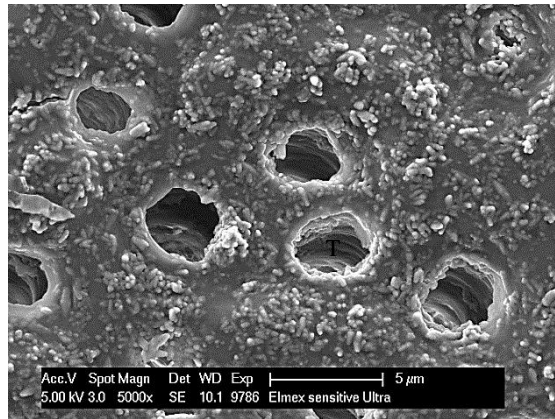


Abbildung 13: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Elmex Sensitive nach Behandlung im Ultraschallbad für 2 min (Elmex Sensitive nach Ultraschall, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus.

4.2.4 TEM

Auf den TEM-Bildern der Dentinprüfkörper nach Applikation des Produktes Elmex Sensitive waren in den Dentintubuli keine Ablagerungen des Präparates zu finden. Wie in Abb. 14 ersichtlich, stellten sich die, in diesem Falle quer angeschnittenen Tubuli, ohne Füllung dar. Vereinzelt, wie in Abb. 15 zu sehen, waren Tubuli mit Biofilm-Pellikel gefüllt (siehe Pfeil). Dieser erreichte eine Dicke von bis zu 1500 nm.

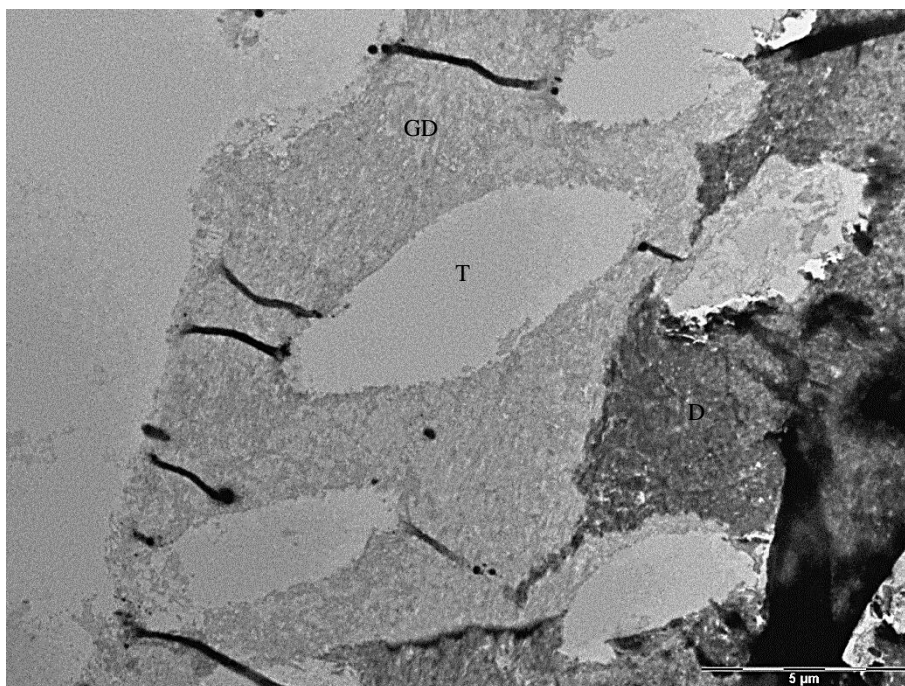


Abbildung 14: TEM-Aufnahme der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Elmex Sensitive (TEM Elmex Sensitive, Vergrößerung 6800-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, D = Dentin.

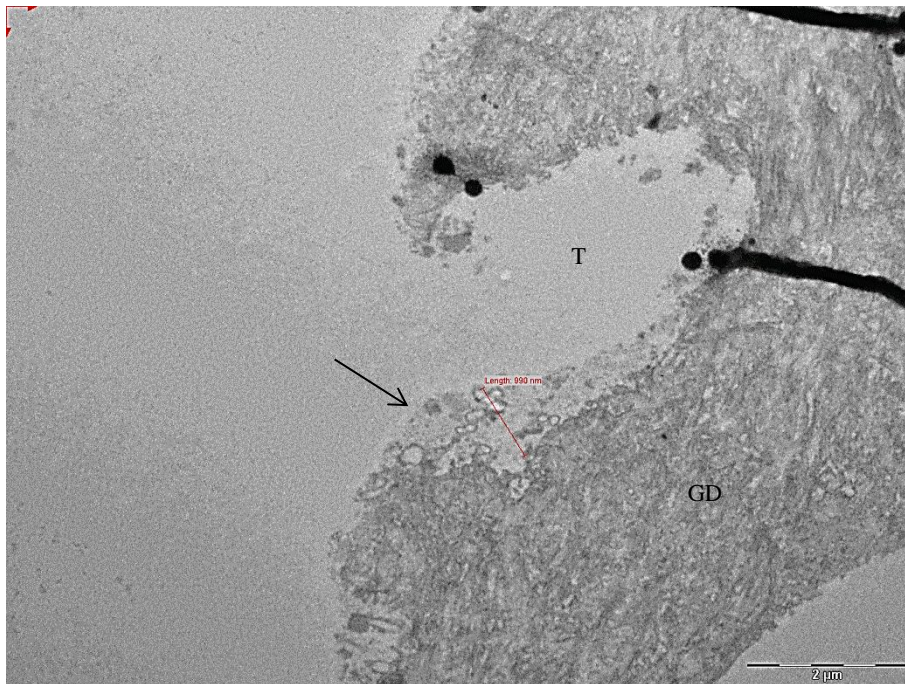


Abbildung 15: TEM-Aufnahme der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Elmex Sensitive (TEM Elmex Sensitive, Vergrößerung 17000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf eine Biofilmaablagerung im Tubulus.

4.3 Biorepair Plus

4.3.1 Hauptversuche

Die Dentintubuli zeigten nach den Hauptversuchen ausnahmslos eine deutliche Füllung und waren teilweise sogar komplett verschlossen (siehe Pfeile). Eine Ablagerung auf der intertubulären Oberfläche der Proben war nicht vorhanden (Abb. 16 und Abb. 17).

Abbildung 18 zeigt die EDX-Analyse der eingelagerten Partikel, wobei ein hoher Anteil an Calcium und Silizium hervorstach.

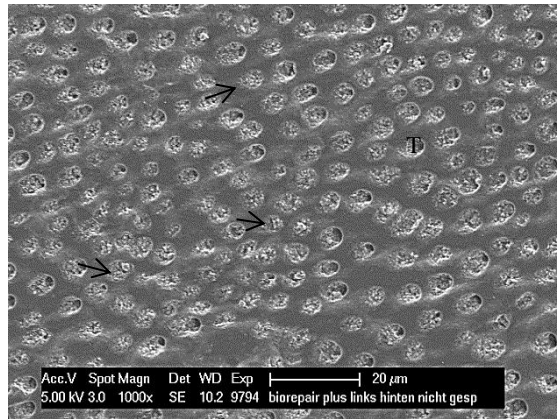


Abbildung 16: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Biorepair Plus (Biorepair Plus, Vergrößerung 1000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf durch das Produkt verschlossene Tubuli.

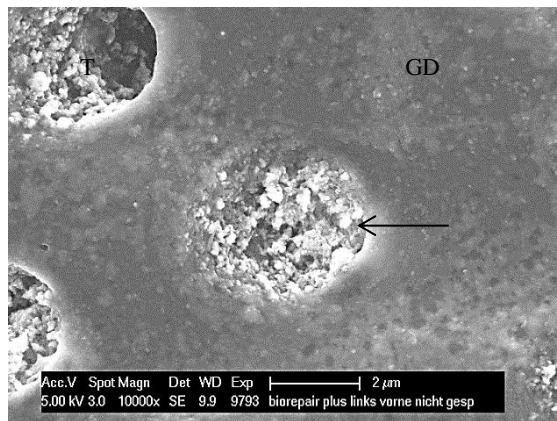


Abbildung 17: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Biorepair Plus (Biorepair Plus, Vergrößerung 10000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf einen durch massive Einlagerungen verschlossenen Tubulus.

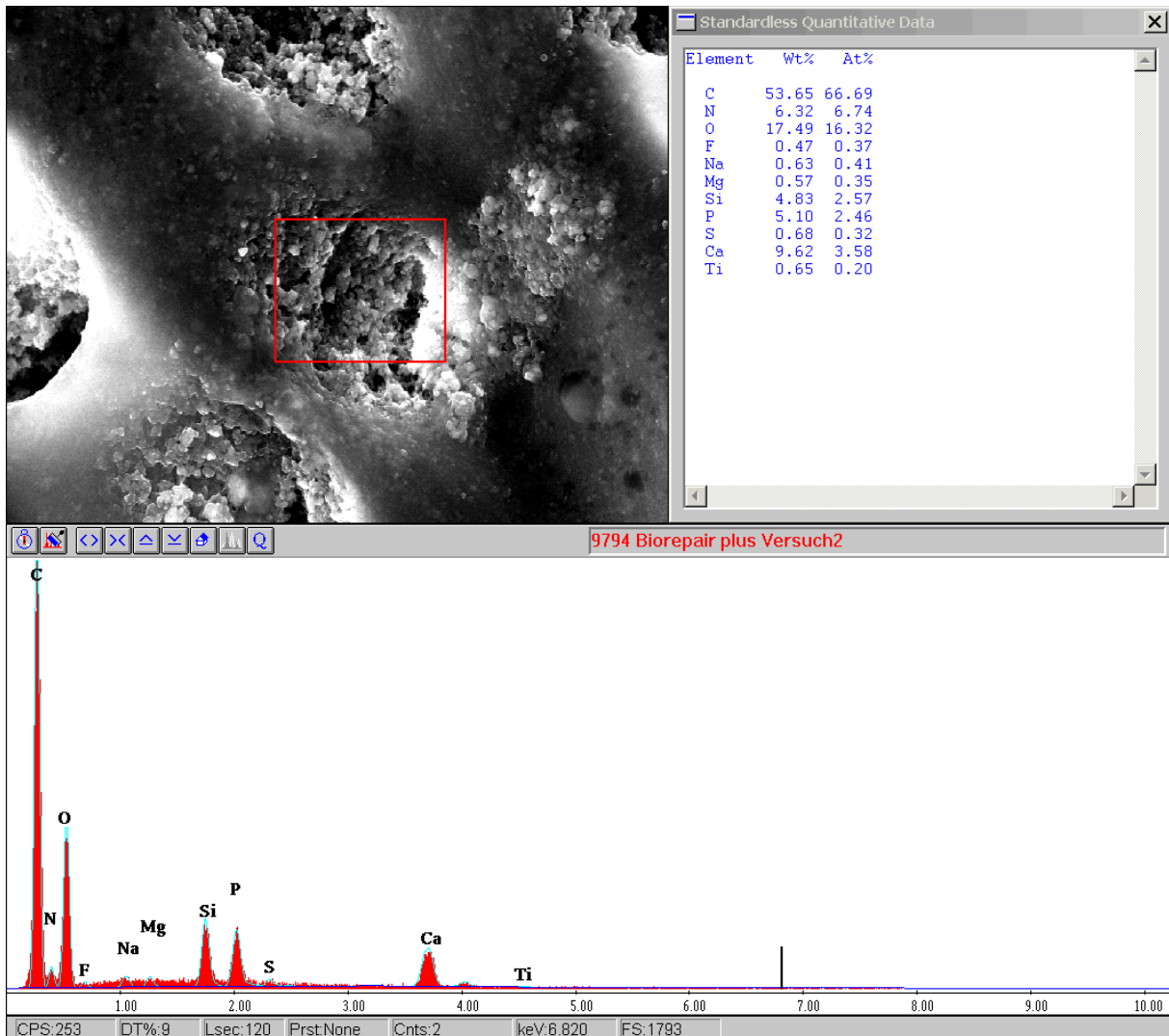


Abbildung 18: EDX-Analyse der in den Dentintubuli eingelagerten Patrikel nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Biorepair Plus (EDX Biorepair Plus).

4.3.2 Bruchansicht

Auch hier zeigte sich die Auflagerung einer Deckschicht (ca. 1 μm) (siehe Pfeil). Die Dentinkanälchen wurden in diesem Präparat längs getroffen. Eine tiefere Einlagerung in die Kanäle war nicht vorhanden, die angeschnittenen Tubuli wurden jedoch vollständig verschlossen (Abb. 19).

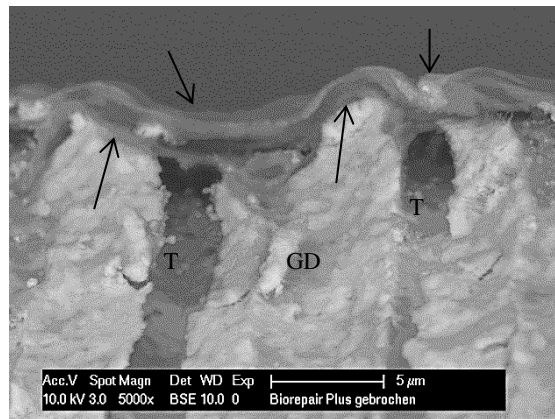


Abbildung 19: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Biorepair Plus (Biorepair Plus Bruchansicht, Vergrößerung 5000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf die entstandene Deckschicht.

4.3.3 Erosions- und Widerstandsversuche

Die Phosphorsäureätzung zeigte wieder eine deutliche Einwirkung auf die Oberfläche des Prüfkörpers. Jegliche intertubulären Auflagerungen waren verschwunden. Im Gegensatz dazu stehen die Einlagerungen in den Tubuli. Hier war kaum eine Veränderung erkennbar. Viele Tubuli wiesen auch nach der Ätzung starke Einlagerungen auf und waren oftmals sogar komplett verschlossen (siehe Pfeile) (Abb. 20).

Nach der Ultraschallbehandlung dieser Prüfkörper zeigte sich eine Verringerung der eingelagerten Substanzen. In allen Tubuli waren Reste der Einlagerungen vorhanden, jedoch nur noch sehr spärlich und ein kompletter Verschluss lag nur noch sehr vereinzelt vor (Abb. 21).

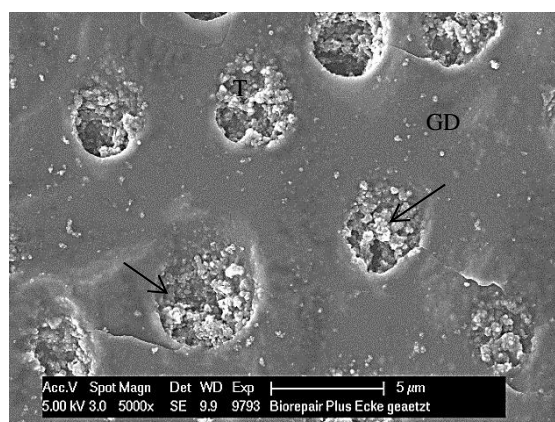


Abbildung 20: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Biorepair Plus nach Behandlung mit 36% Phosphorsäure für 30 s (Biorepair Plus nach Ätzung, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf verschlossene Dentintubuli.

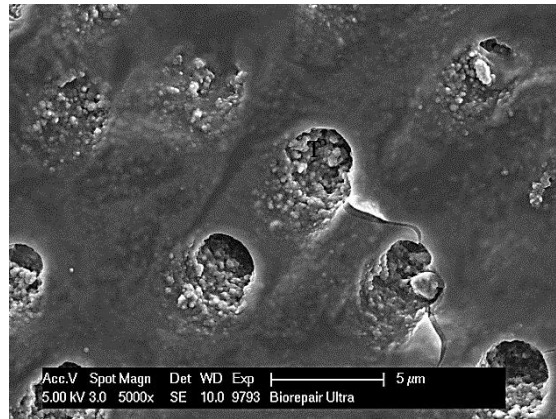


Abbildung 21: Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Biorepair Plus nach Behandlung im Ultraschallbad für 2 min (Biorepair Plus nach Ultraschall, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus.

4.3.4 TEM

Die TEM-Bilder dieses Produktes zeigten bei 90% aller angeschnittenen Dentinkanälchen Einlagerungen und waren zum Teil komplett durch diese verschlossen. Abb. 22 zeigt einen Dentintubulus im Querschnitt (links) und einen weiteren teilweise angeschnitten (rechts). In beiden waren deutliche kristalline Ablagerungen erkennbar (siehe Pfeile). Auch die Vergrößerung in Abb. 23 verdeutlicht dieses. Am Rand der Tubuli waren, im Vergleich zum angeätzten Dentin, deutlich dunklere kristalline Anlagerungen zu sehen. Der Biofilm auf der Dentineoberfläche war bis zu 190 nm dick.

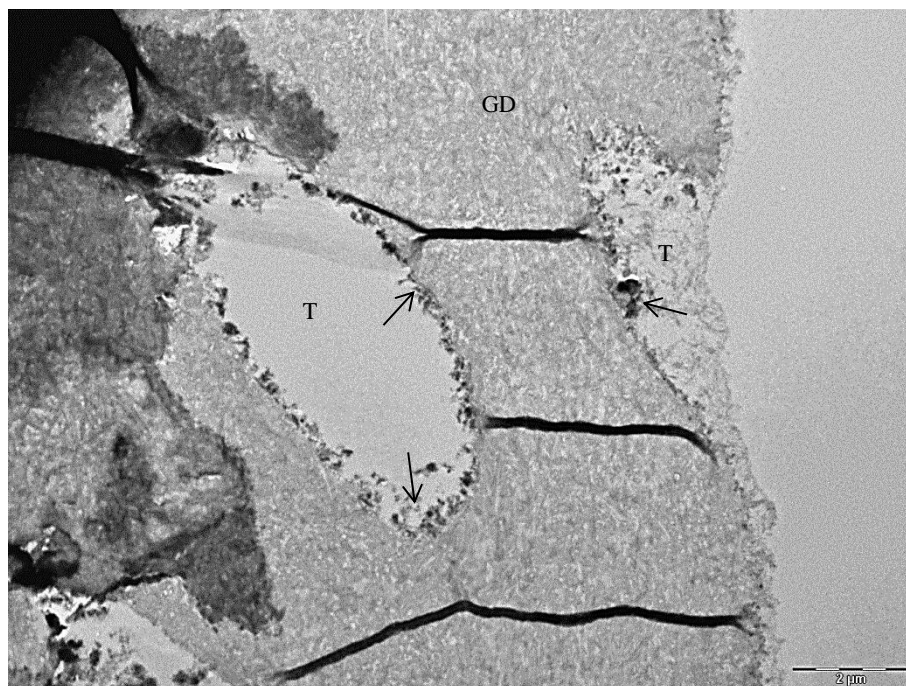


Abbildung 22: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Biorepair Plus (TEM Biorepair Plus, Vergrößerung 6800-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf kristalline Ablagerungen in den Tubuli.

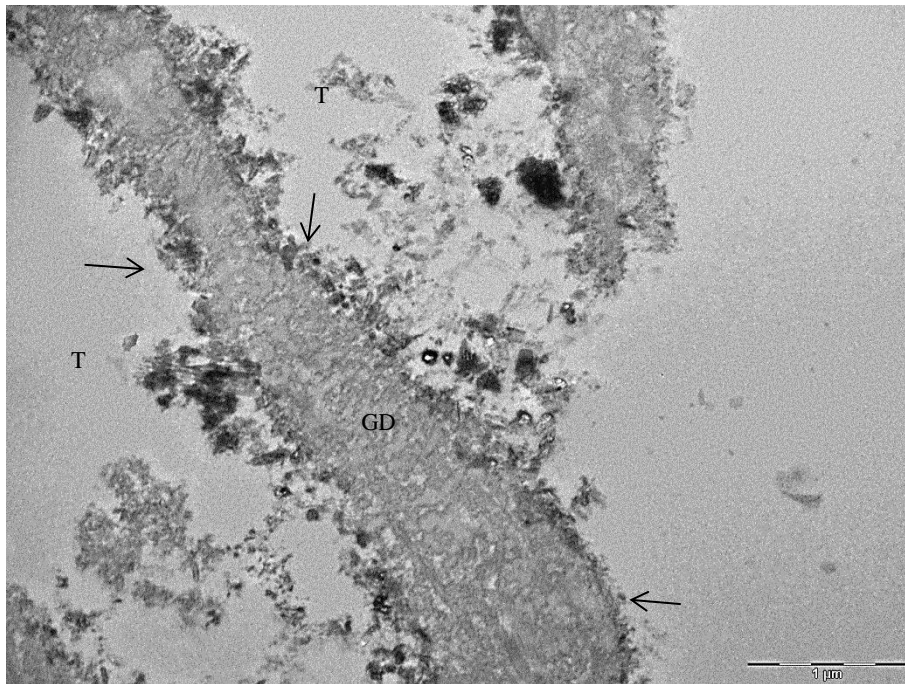


Abbildung 23: TEM-Aufnahme der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Biorepair Plus (TEM Biorepair Plus, Vergrößerung 18500-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf kristalline Ablagerungen in den Tubuli.

4.4 Teethmate Desensitizer

4.4.1 Hauptversuche

Der Teethmate Desensitizer zeigte bei beiden Probanden einen guten Verschluss der Dentinkanälchen. Auswirkungen auf die intertubuläre Dentinoberfläche waren nicht ersichtlich. Die Tubuli waren größtenteils massiv mit Einlagerungen gefüllt, bis hin zum totalen Verschluss (siehe Pfeile). Nicht gefüllte Kanäle waren eine seltene Ausnahme. Auffällig waren die Adhärenz einzelner Bakterien beim Probanden 2, vor allem in den Bereichen, wo zuvor Einlagerungen stattgefunden hatten (Abb. 24 und Abb. 25).

Die Elementanalyse der intratubulären Partikel ergab einen hohen Phosphor und Calcium Anteil (Abb. 26).

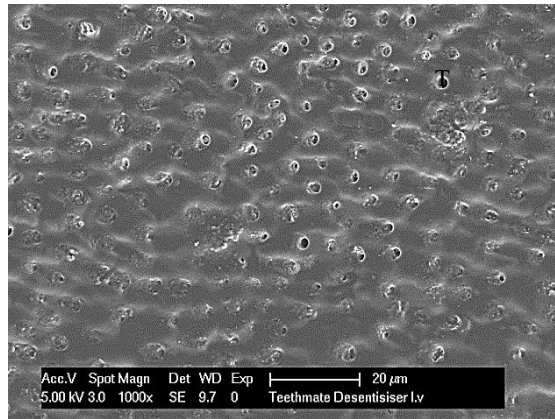


Abbildung 24: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Teethmate Desensitizer (Teethmate Desensitizer, Vergrößerung 1000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus.

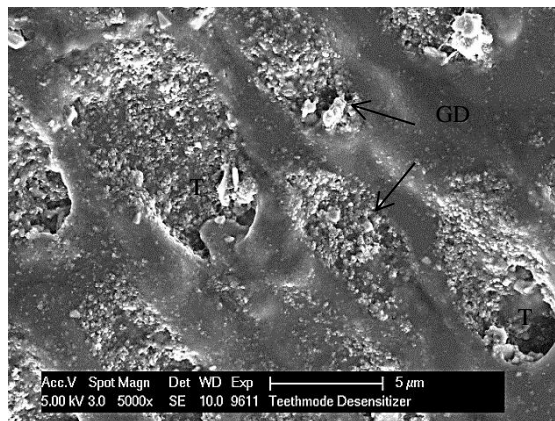


Abbildung 25: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Teethmate Desensitizer (Teethmate Desensitizer, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf durch Einlagerungen verschlossene Tubuli.

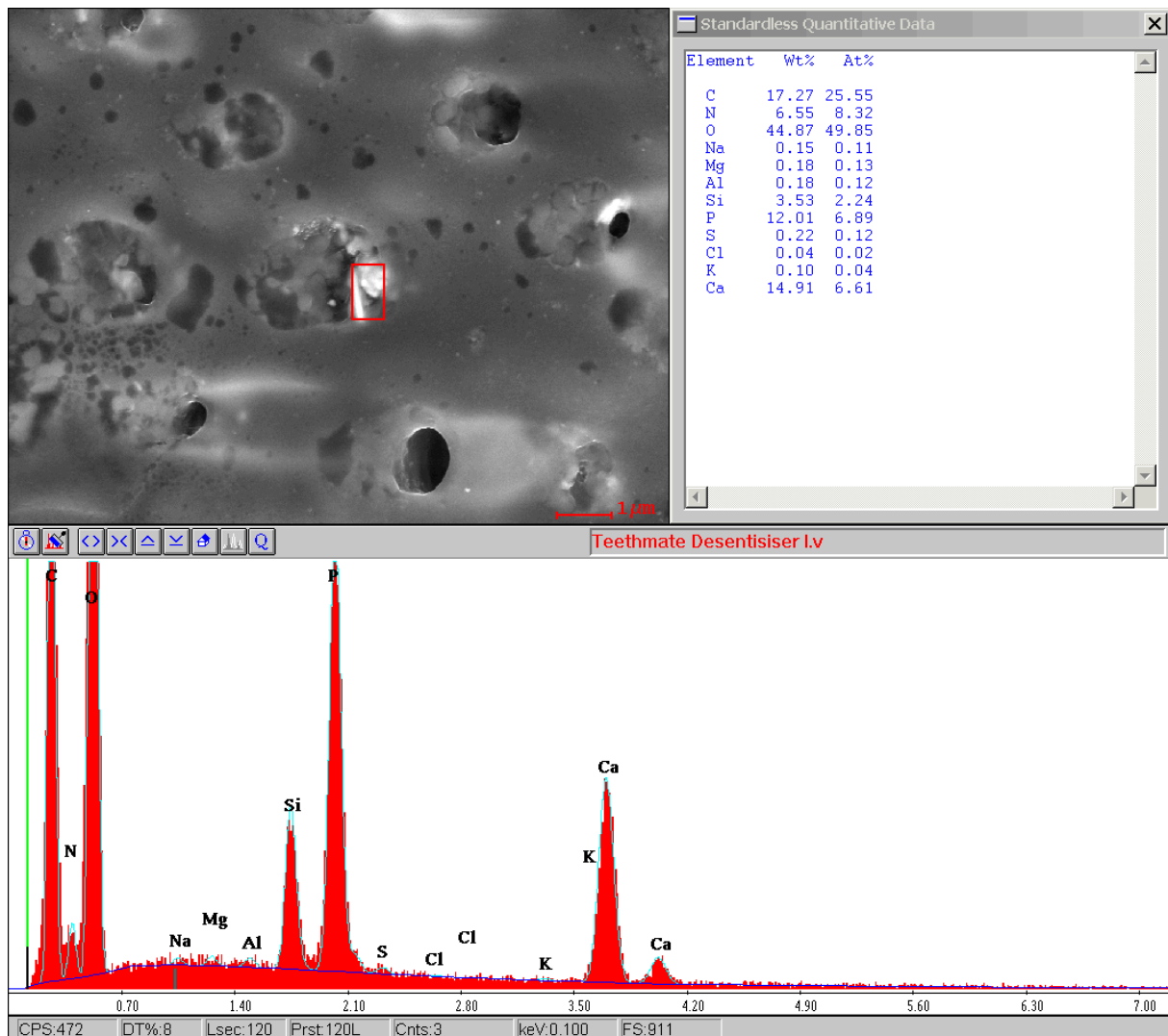


Abbildung 26: EDX-Analyse der in den Dentintubuli eingelagerten Partikel nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Teethmate Desensitizer (EDX Teethmate Desensitizer).

4.4.2 Bruchansicht

Die Bruchpräparate zeigten eine durchgängige Deckschicht auf den Prüfkörpern. Abb. 27 zeigt, dass die Tubuli verschlossen waren (siehe Pfeile). Ein tieferes Eindringen in die Tubuli war bei diesem Produkt nicht die Regel, aber vereinzelt auf den Bildern zu erkennen (Abb. 28 Pfeil).

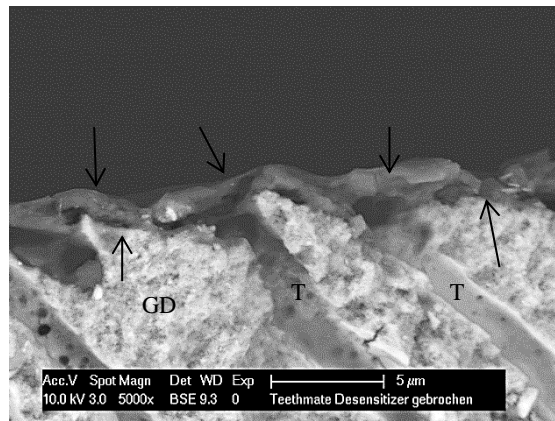


Abbildung 27: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Teethmate Desensitizer (Bruchansicht Teethmate Desensitizer, Vergrößerung 5000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf die durch das Produkt gebildete Deckschicht.

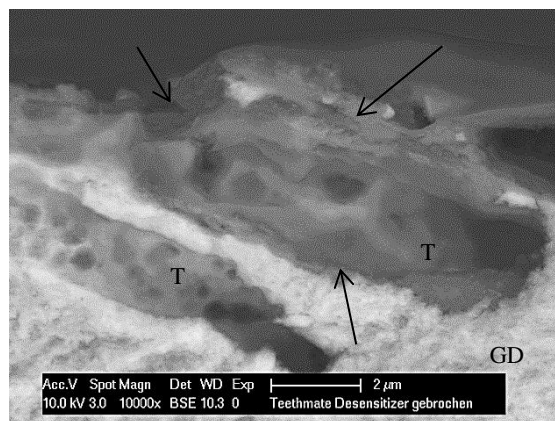


Abbildung 28: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Teethmate Desensitizer (Bruchansicht Teethmate Desensitizer, Vergrößerung 10000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf die Einlagerungen, die auch bis in die Tiefe des Tubulus reichen.

4.4.3 Erosions- und Widerstandsversuche

Nach der Phosphorsäurebehandlung dieser Präparate zeigte sich eine deutliche Veränderung. Aus den zuvor meist verschlossenen Tubuli war ein Großteil der Einlagerungen herausgelöst, sodass viele Kanälchen in Abb. 28 offen erschienen. Restablagerungen sind jedoch weiterhin vorhanden (siehe Pfeile) (Abb. 29).

Komplett anders stellte sich dies nach dem Ultraschallbad dar. Hier waren keine gravierenden Veränderungen ersichtlich und die Kanälchen weiterhin fast komplett gefüllt und verschlossen (siehe Pfeile) (Abb. 30).

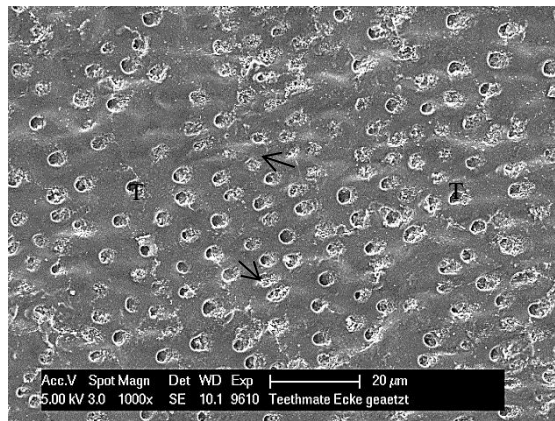


Abbildung 29: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Teethmate Desensitizer nach Behandlung mit 36% Phosphorsäure für 30 s (Teethmate Desensitizer nach Ätzung, Vergrößerung 1000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf Dentinkanälchen mit Restablagerungen.

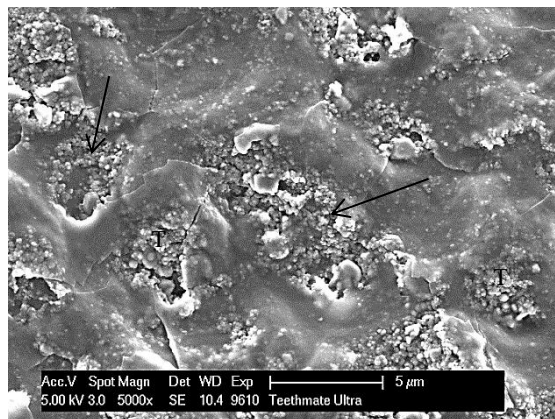


Abbildung 30: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Teethmate Desensitizer nach Behandlung im Ultraschallbad für 2 min (Teethmate Desensitizer nach Ultraschall, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf durch Einlagerungen verschlossene Tubuli.

4.4.4 TEM

Die Schnitte dieses Präparates zeigten längs angeschnittene Dentinkanälchen. Diese Kanälchen wiesen kaum Einlagerungen auf. Abb. 31 und Abb. 32 zeigen jedoch, dass ein Großteil der Tubuli verschlossen war. Wie hier zu sehen, geschah dies aber nicht durch eine Füllung der Kanäle, sondern durch ein Abdecken des Lumens in Form einer Brückenbildung (siehe Pfeile). Die verschließende Schicht war dabei weniger als 1 µm dick. Biofilm-Pellikel waren kaum sichtbar.

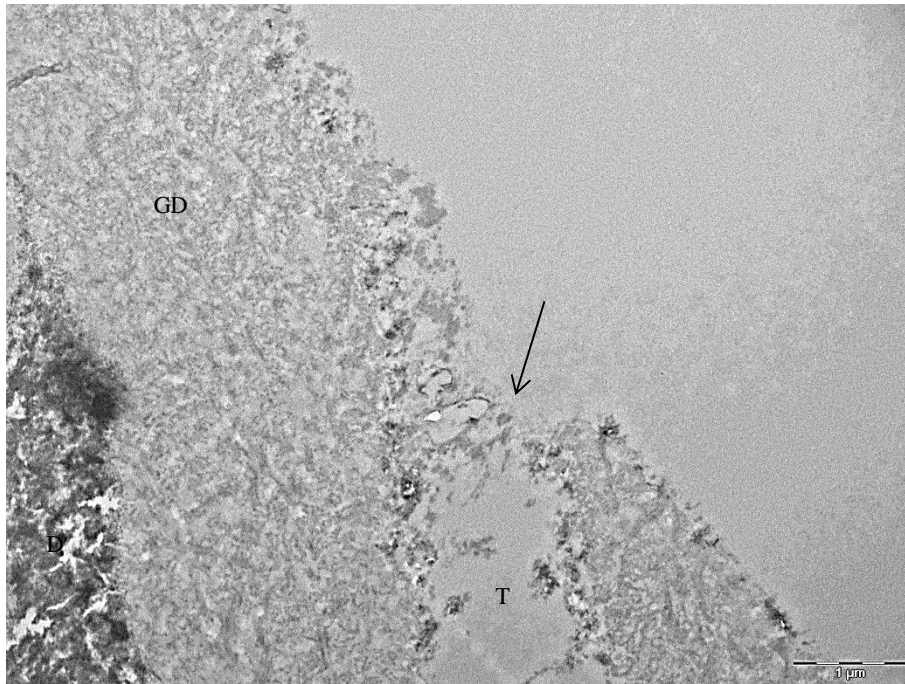


Abbildung 31: TEM-Aufnahme der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Teethmate Desensitizer (TEM Teethmate Desensitizer, Vergrößerung 13000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf einen durch Brückenbildung verschlossenen Tubuls.

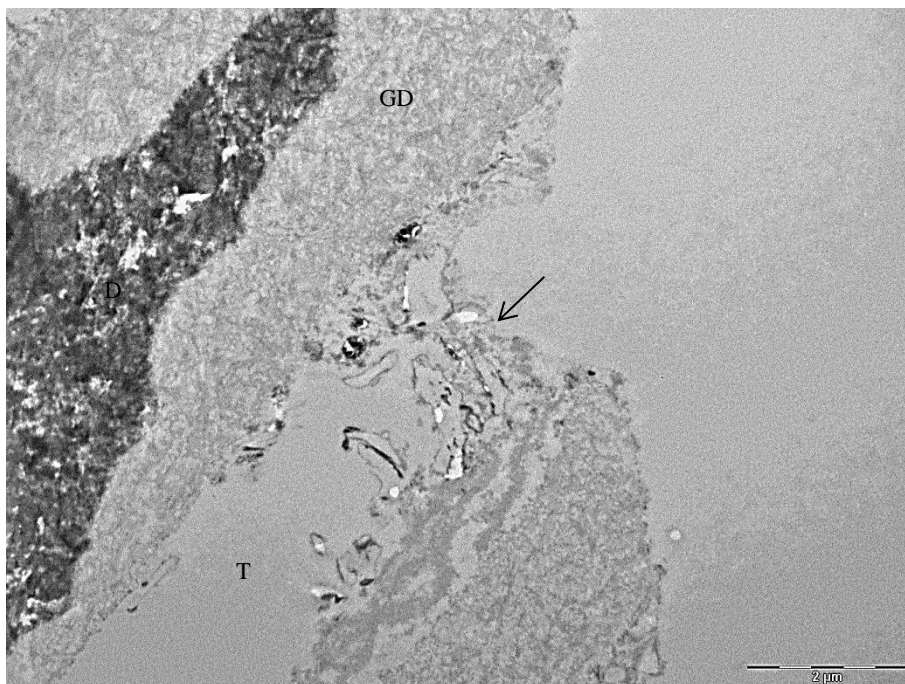


Abbildung 32: TEM-Aufnahme der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Teethmate Desensitizer (TEM Teethmate Desensitizer, Vergrößerung 9300-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf einen durch Brückenbildung verschlossenen Tubuls.

4.5 GC MI Paste Plus

4.5.1 Hauptversuche

In Abb. 33 wird deutlich, dass die Mehrzahl der Dentintubuli, nach der Behandlung mit der GC MI Paste Plus, nicht verschlossen waren. Lediglich vereinzelt waren Tubuli massiv gefüllt oder verschlossen (siehe Pfeile) (Abb. 33). Eine geringe Ablagerung war jedoch in allen Kanälen deutlich. Auf der intertubulären Dentinoberfläche erschienen keine Auflagerungen. Bei beiden Probanden waren Ansammlungen von Bakterien im Bereich der Tubuli zu erkennen (Abb. 34).

Die EDX-Analyse hat bei diesem Produkt keinen Aussagenwert, da keine intratubulären Partikel untersucht werden konnten. Die Elementanalyse entspricht der des Kontrollprüfkörpers (Abb. 35).

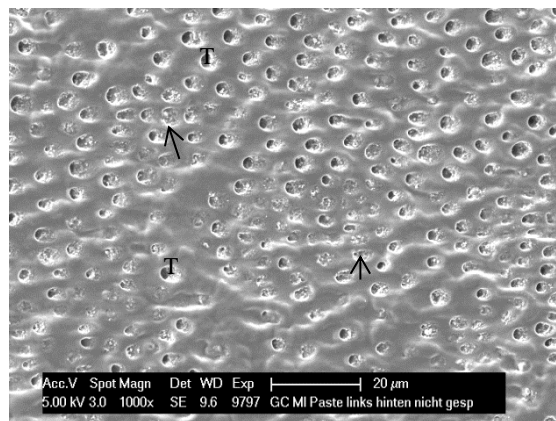


Abbildung 33: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes GC MI Paste (GC MI Paste, Vergrößerung 1000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf durch Einlagerungen verschlossene Tubuli.

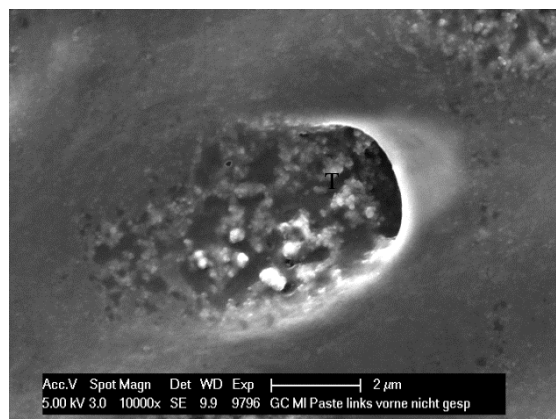


Abbildung 34: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes GC MI Paste (GC MI Paste, Vergrößerung 10000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus.

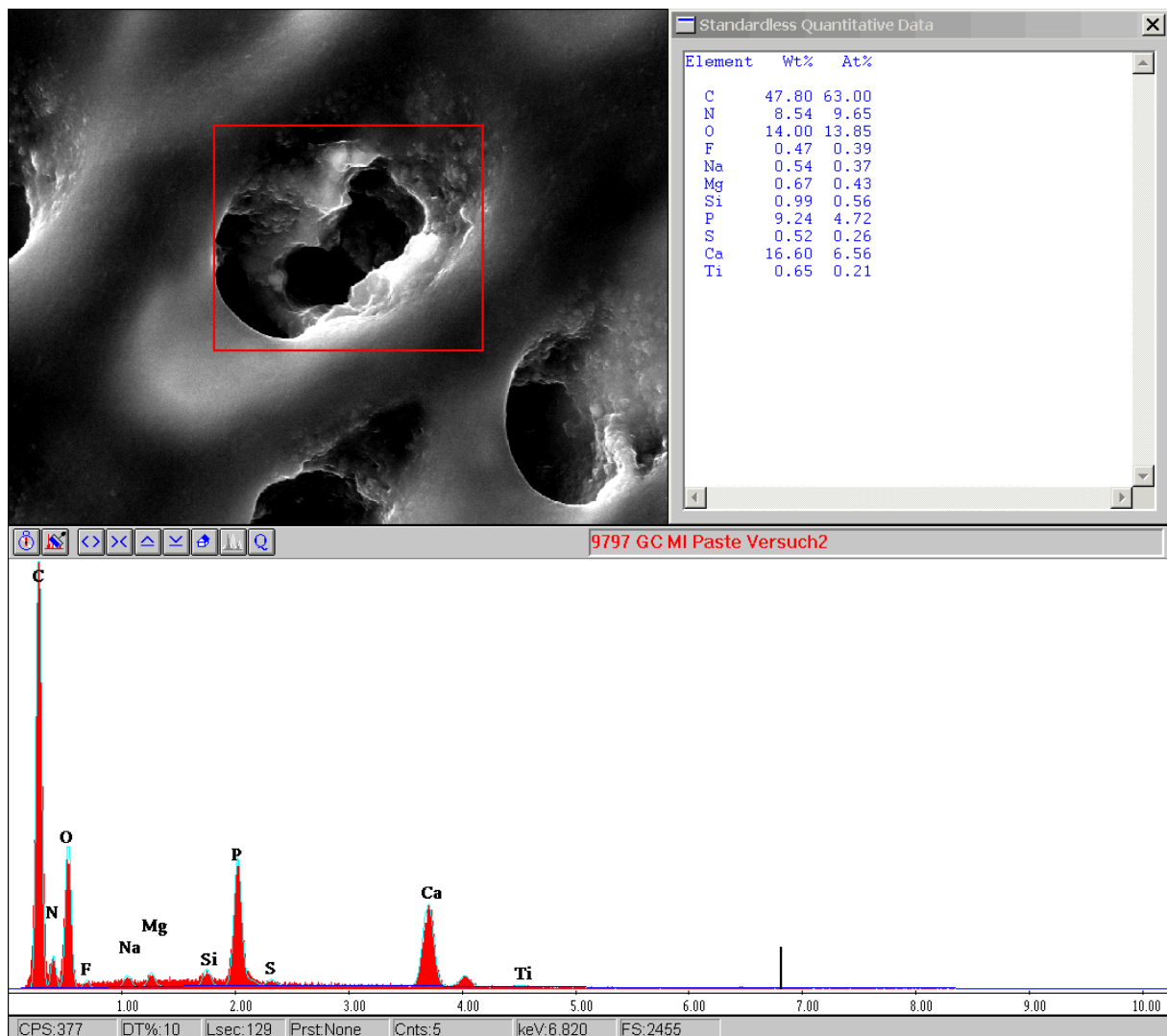


Abbildung 35: EDX-Analyse der in den Dentintubuli eingelagerten Partikel nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes GC MI Paste (EDX GC MI Paste Plus).

4.5.2 Bruchansicht

Die Bruchansicht dieser Proben zeigte eine filmartige Auflagerung auf den Prüfkörpern (siehe Pfeile), wodurch die Kanäle größtenteils verschlossen erscheinen (Abb. 36). In Abb. 37 wird deutlich, dass vereinzelt eine tiefere Einlagerung in die Kanäle stattgefunden hatte (siehe Pfeile).

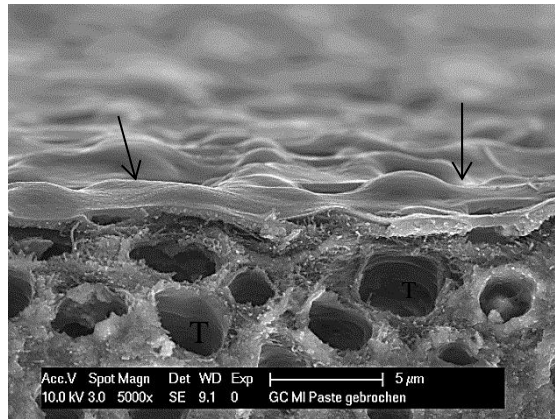


Abbildung 36: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes GC MI Paste (Bruchansicht GC MI Paste, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf die durch das Produkt entstandene Deckschicht.

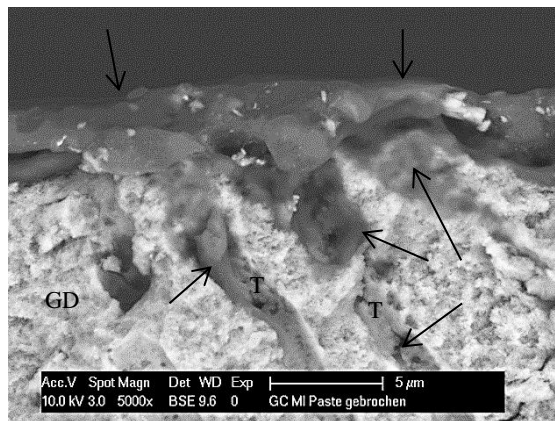


Abbildung 37: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes GC MI Paste (Bruchansicht GC MI Paste, Vergrößerung 5000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf die Einlagerungen in den Tubuli.

4.5.3 Erosions- und Widerstandsversuche

Nach der Bearbeitung mit der Phosphorsäure zeigte sich ein erstaunliches Bild. Die Kanäle erschienen verschlossener als vor der Behandlung. Eine filmartige Schicht verdeckt und verschließt die Kanäle (Abb. 38). Auch die Ultraschallbehandlung zeigte keine signifikanten Auswirkungen auf die Proben (Abb. 39). Die vorhandenen Einlagerungen waren nicht verringert.

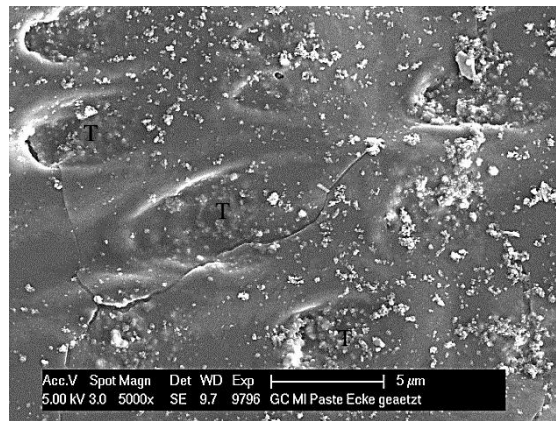


Abbildung 38: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes GC MI Paste nach Behandlung mit 36% Phosphorsäure für 30 s (GC MI Paste nach Ätzung, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus.

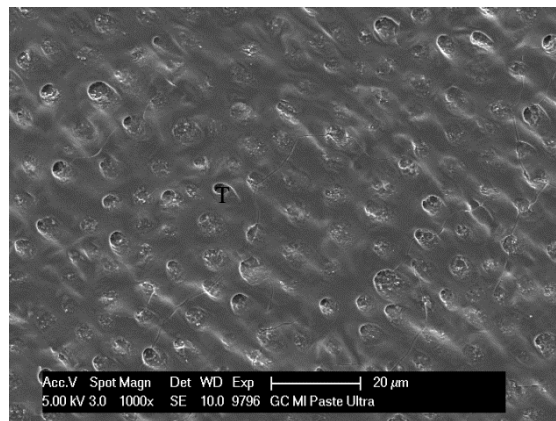


Abbildung 39: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes GC MI Paste nach Behandlung im Ultraschallbad für 2 min (GC MI Paste nach Ultraschall, Vergrößerung 1000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus.

4.5.4 TEM

Die TEM-Bilder der GC MI Paste zeigten kaum Einlagerungen des Produktes in den Dentinkanälchen. Abb. 40 zeigt mehrere längs getroffene Tubuli. Deutlich zu sehen ist das nach rechts hin offene Tubuluslumen. So stellte sich der Großteil der vorhandenen Tubuli dar. Nur vereinzelt waren, wie auf Abb. 41 zu sehen, Tubuli durch Ablagerungen verschlossen (siehe Pfeil). Der Biofilm auf der Dentinoberfläche war bis zu 800 nm dick. Teilweise waren Bakterien in den angeschnittenen Dentintubuli sichtbar.

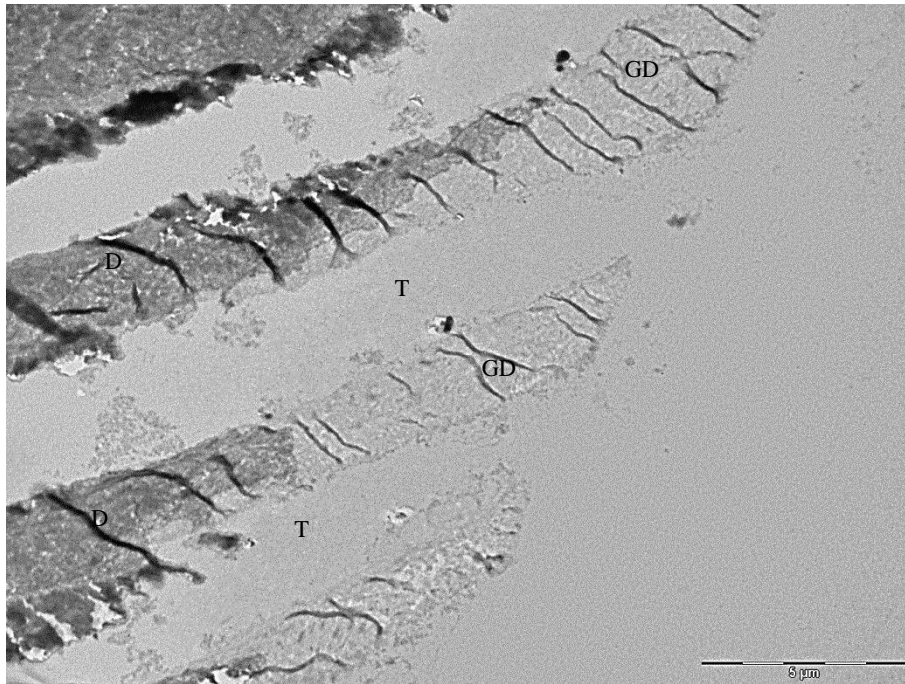


Abbildung 40: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsstündiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes GC MI Paste (TEM GC MI Paste, Vergrößerung 4800-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, D = Dentin, GD = geätztes Dentin.

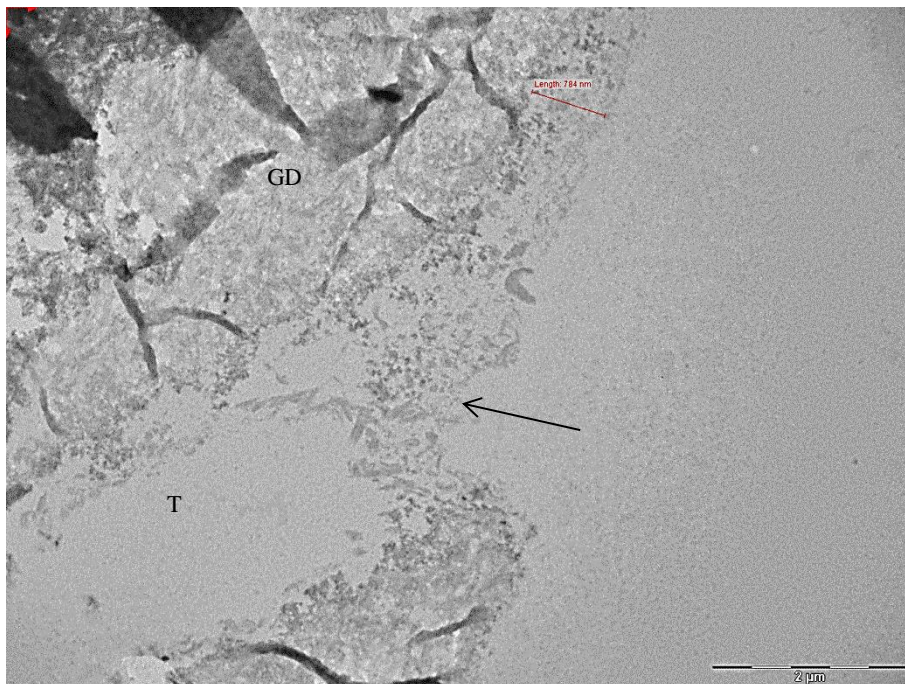


Abbildung 41: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsstündiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes GC MI Paste (TEM GC MI Paste, Vergrößerung 11000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf einen durch Brückenbildung verschlossenen Tubulus.

4.6 Stomysens

4.6.1 Hauptversuche

Abb. 42 zeigt, dass nach der Behandlung mit Stomysens der Großteil der Kanäle nicht verschlossen war. In der Abbildung 42 erscheinen fast alle Kanäle offen. Nur vereinzelt waren Tubuli massiv gefüllt oder verschlossen (siehe Pfeile) (Abb. 43). Einlagerungen waren jedoch in allen Tubuli vorhanden. Auflagerungen auf der übrigen Dentinoberfläche existierten nicht. Die Elementanalyse der eingelagerten Partikel ergab wiederum einen sehr hohen Calcium- (25,45%) und Phosphat- (13,91%) Anteil (Abb. 44).

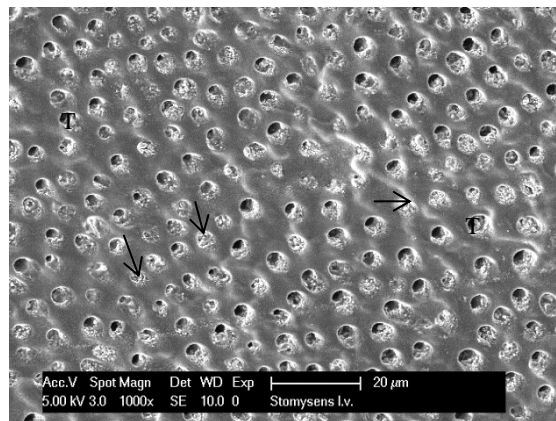


Abbildung 42: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Stomysens (Stomysens, Vergrößerung 1000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf durch Einlagerungen verschlossene Tubuli.

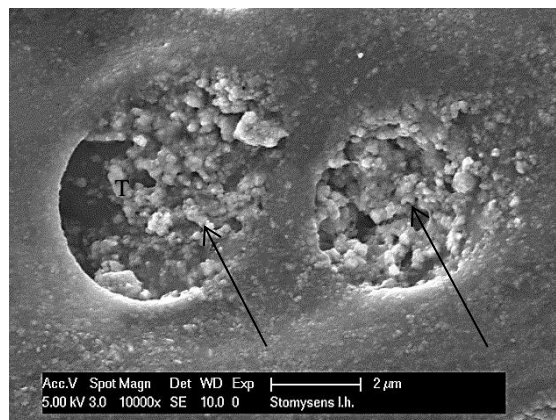


Abbildung 43: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Stomysens (Stomysens, Vergrößerung 10000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf durch Einlagerungen verschlossene Tubuli.

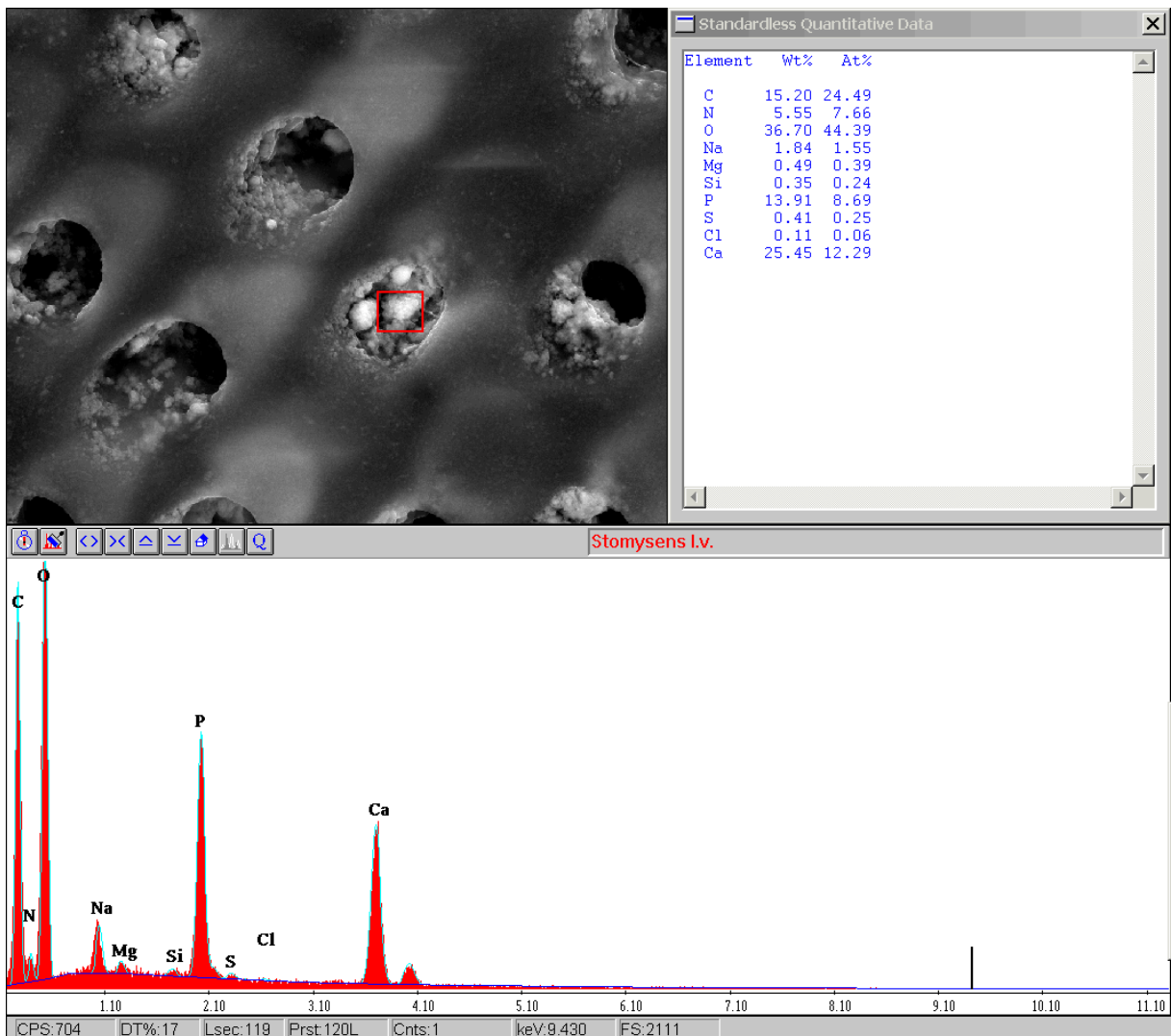


Abbildung 44: EDX-Analyse der in den Dentintubuli eingelagerten Partikel nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Stomysens (EDX Stomysens).

4.6.2 Bruchansicht

Die Bruchansicht zeigte eine gleichmäßige, durchgehende Auflagerung auf den Prüfkörpern. Diese Schicht verdeckte die offenen Dentinkanälchen (siehe Pfeile). Wiederholt waren Dentintubuli zu erkennen, bei denen eine tiefere Einlagerung festzustellen war (Abb. 45).

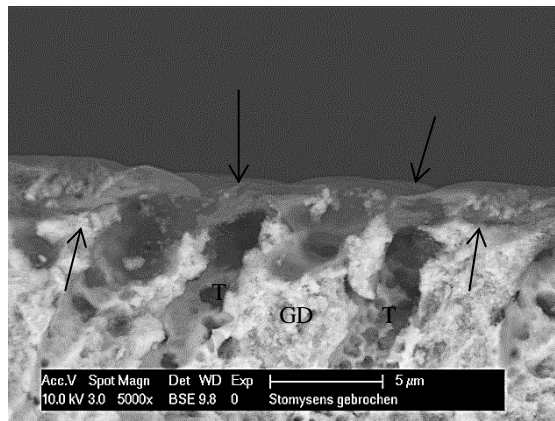


Abbildung 45: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Stomysens (Bruchansicht Stomysens, Vergrößerung 5000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf die durch das Produkt entstandene Deckschicht.

4.6.3 Erosions- und Widerstandsversuche

Das Ätzen mit Phosphorsäure zeigte eine starke Verminderung der Einlagerungen in den Tubuli. Wie auf Abbildung 45 zu erkennen, waren nur noch wenige Restpartikel in die Kanäle eingelagert (siehe Pfeile).

Ein ähnliches Bild ergab sich nach dem Ultraschallbad. Auch hier waren in den Tubuli nur noch vereinzelte Reste der Ablagerungen zu finden (Abb. 46).

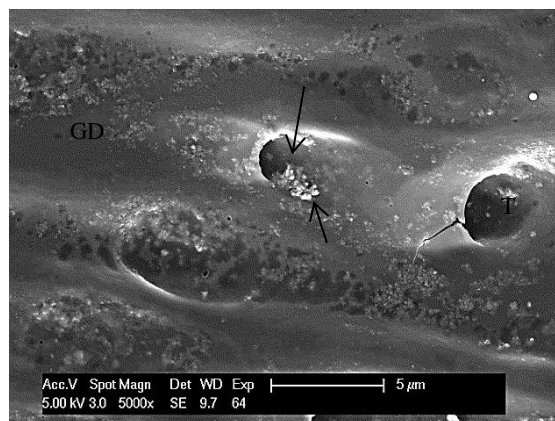


Abbildung 46: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Stomysens nach Behandlung mit 36% Phosphorsäure für 30 s (Stomysens nach Ätzung, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf einen Tubulus mit wenigen Restpartikeln.

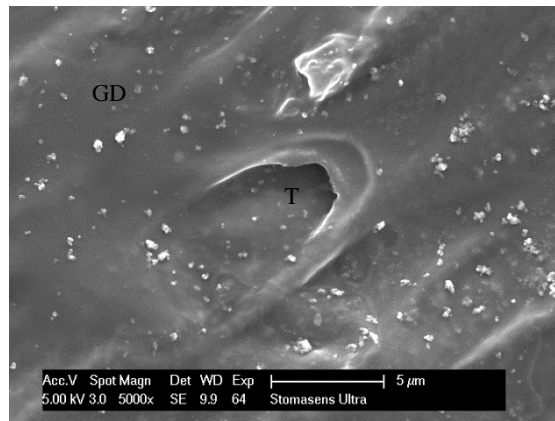


Abbildung 47: Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Stomysens nach Behandlung im Ultraschallbad für 2 min (Stomysens nach Ultraschall, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin.

4.6.4 TEM

Die Analyse der TEM-Bilder ergab, dass die meisten angeschnittenen Dentinkanälchen mit Anlagerungen ausgekleidet waren (siehe Pfeile), ein Verschluss jedoch nicht stattgefunden hat. Dies wird auf Abb. 48 deutlich. Abb. 49 zeigt weiterhin, dass auch vereinzelt Tubuli in der Tiefe noch mit Auskleidungen versehen waren. Die quer angeschnittenen Tubuli wiesen Auskleidungen auf. Das Ausmaß variierte jedoch stark. Tubuli mit einer ähnlichen ausgeprägten Anlagerung wie in Abb. 49 (mittlerer Tubulus) waren nur vereinzelt zu finden.

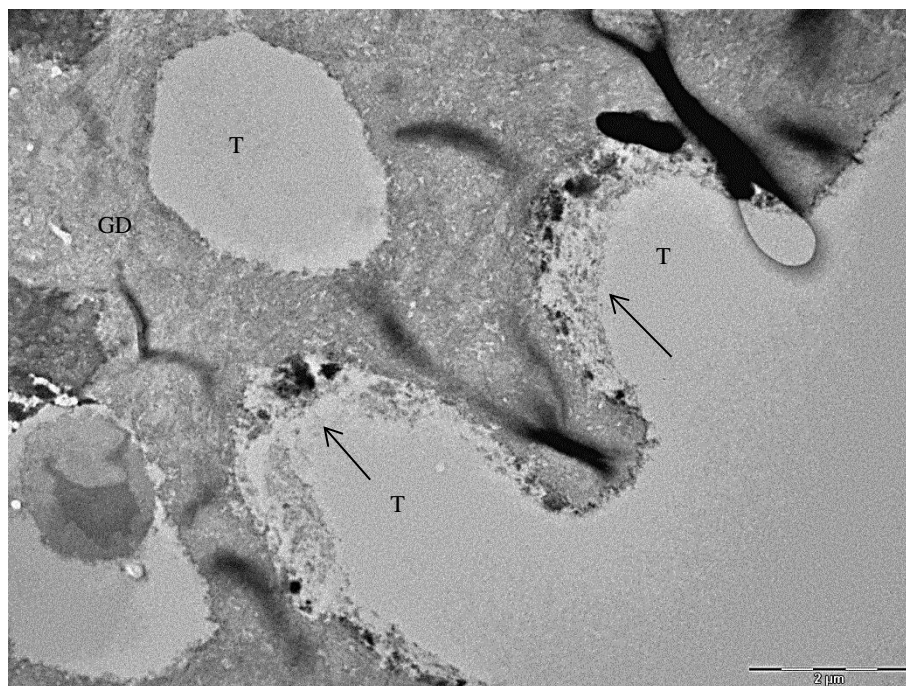


Abbildung 48: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Stomysens (TEM Stomysens, Vergrößerung 6800-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf Anlagerungen in den Dentinkanälchen.

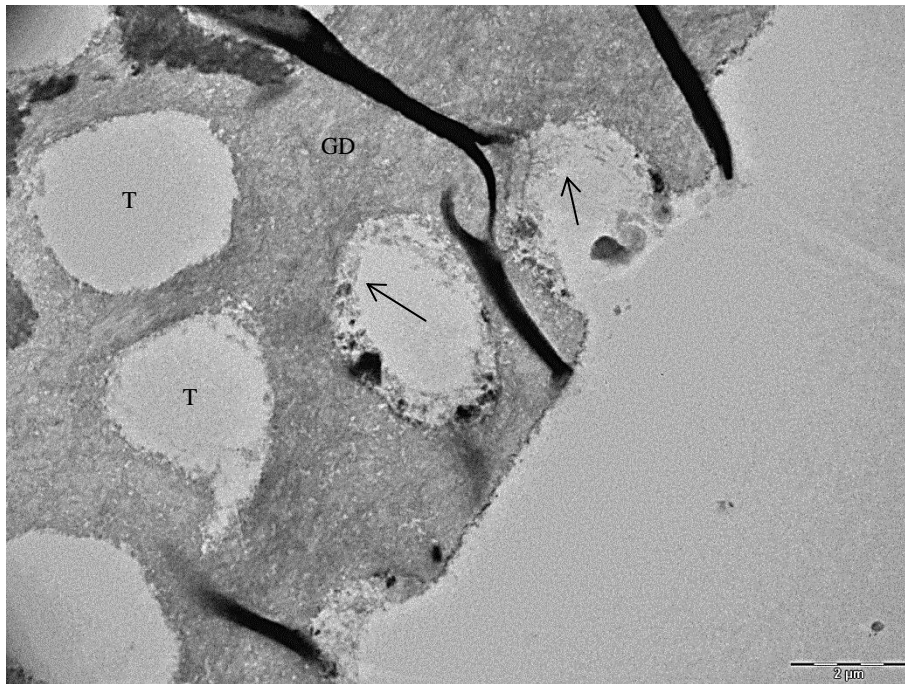


Abbildung 49: TEM-Aufnahme der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes Stomysens (TEM Stomysens, Vergrößerung 9300-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf Anlagerungen in den Dentinkanälchen.

4.7 HAp Budenheim

4.7.1 Hauptversuche

Die Bilder dieses Präparates zeigten bei beiden Probanden und bei nahezu allen Tubuli eine massive Füllung und meistens auch einen totalen Verschluss (siehe Pfeile). Auch auf der Dentinoberfläche waren deutliche Auflagerungen zu erkennen (Abb. 50 und Abb. 51). Abb. 51 zeigt noch einmal die massive Füllung der Kanäle, wobei die einzelnen Partikel auch sehr gut zu erkennen sind.

Die Elementanalyse der intratubulären Partikel zeigte einen Calciumanteil von 23,07% und einen Phosphatanteil von 10,09% (Abb. 52).

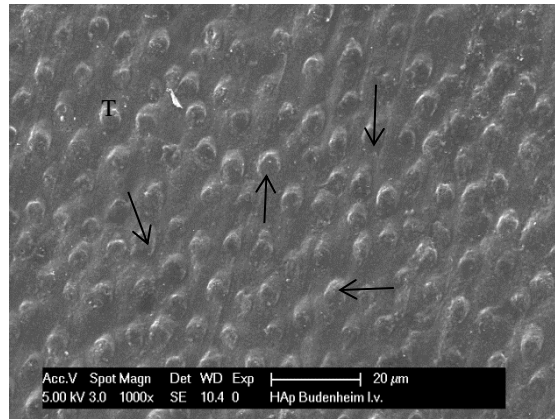


Abbildung 50: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Budenheim (HAp Budenheim, Vergrößerung 1000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf durch Einlagerungen verschlossene Tubuli.

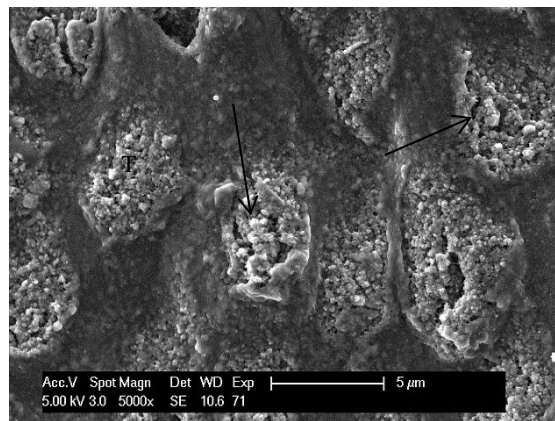


Abbildung 51: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Budenheim (HAp Budenheim, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf durch Einlagerungen verschlossene Tubuli.

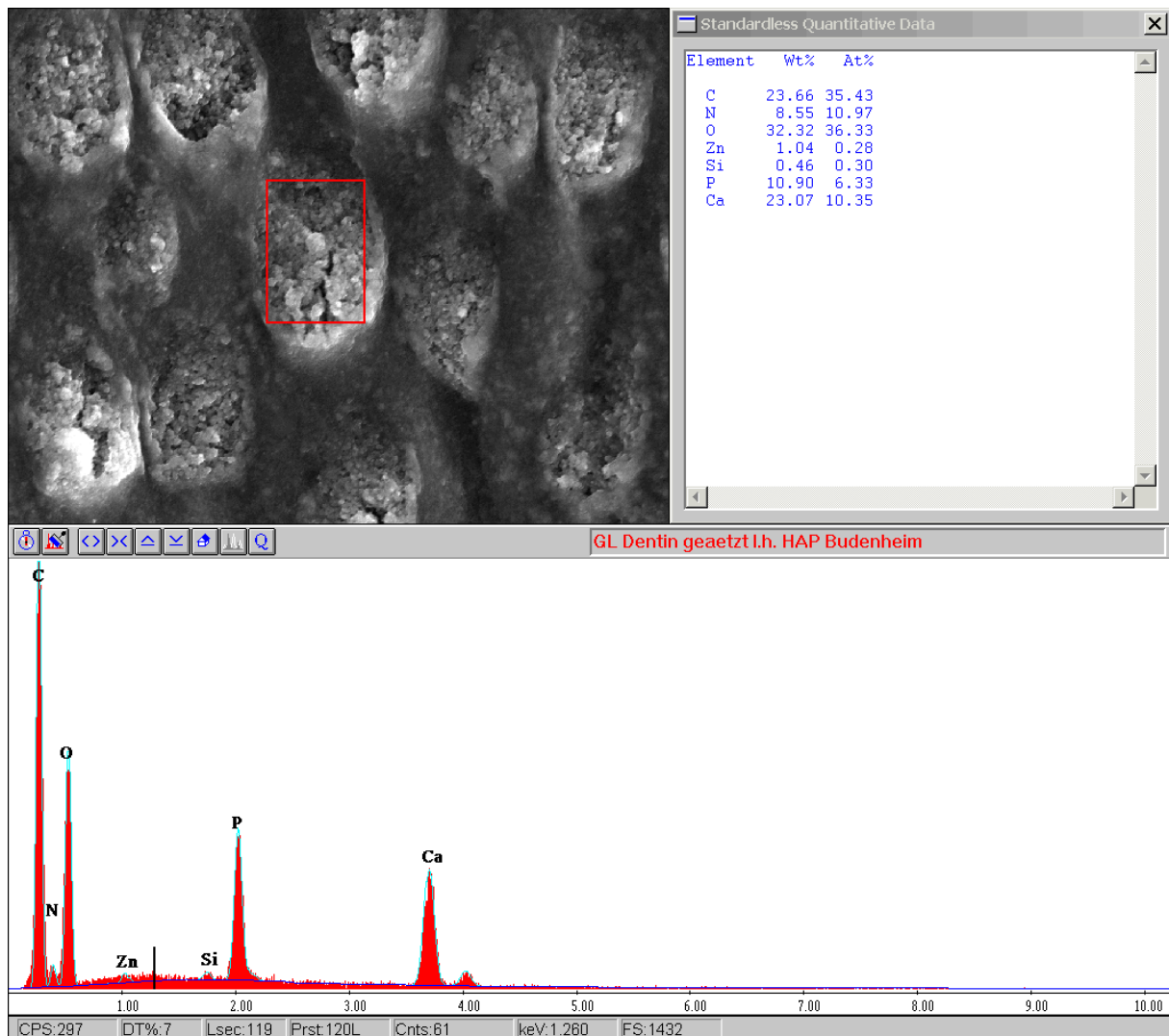


Abbildung 52: EDX-Analyse der in den Dentintubuli eingelagerten Partikel nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAP Budenheim (EDX HAP Budenheim).

4.7.2 Bruchansicht

Auch in der Bruchansicht zeigte sich bei diesem Produkt eine massive Auf- und Einlagerung. Auf der Abb. 53 ist zum einen die dicke Auflagerungsschicht zu erkennen, die etwa 4 μm beträgt, und zum anderen wird das tiefe Eindringen in das Innere der Tubuli deutlich (siehe Pfeile). Die Partikel des Präparates sind teilweise mehr als 5 μm in die Kanäle eingedrungen.

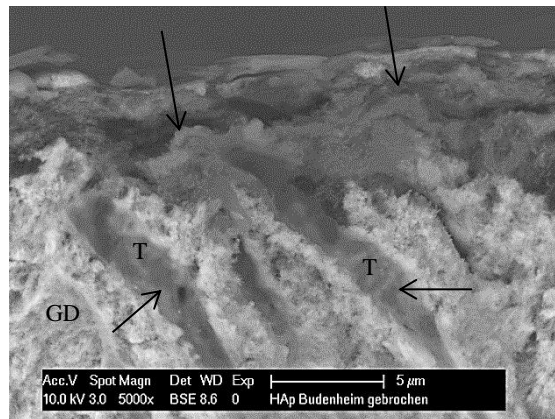


Abbildung 53: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Budenheim (Bruchansicht HAp Budenheim, Vergrößerung 5000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf die massiven Einlagerungen in den Kanälen.

4.7.3 Erosions- und Widerstandsversuche

Nach dem Ätzen zeigten diese Proben eine geringe Verminderung der Einlagerungen. Dennoch wiesen alle Tubuli weiterhin eine massive Füllung auf, mit deutlich zu erkennenden Partikeln (Abb. 54).

Auch nach der Ultraschallbehandlung war das Bild ähnlich. Eine geringe Verminderung der intratubulären Partikel wurde deutlich, dennoch waren alle Kanäle stark gefüllt (Abb. 55).

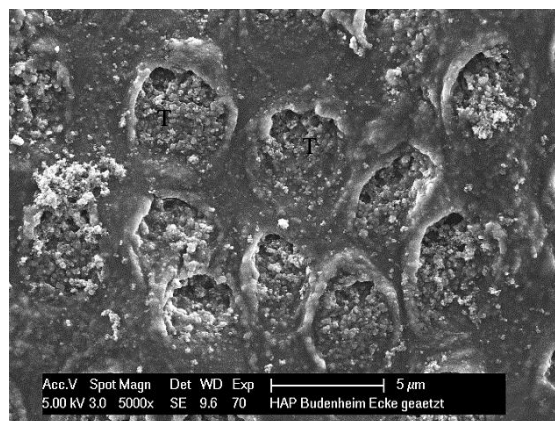


Abbildung 54: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Budenheim nach Behandlung mit 36% Phosphorsäure für 30 s (HAp Budenheim nach Ätzung, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus.

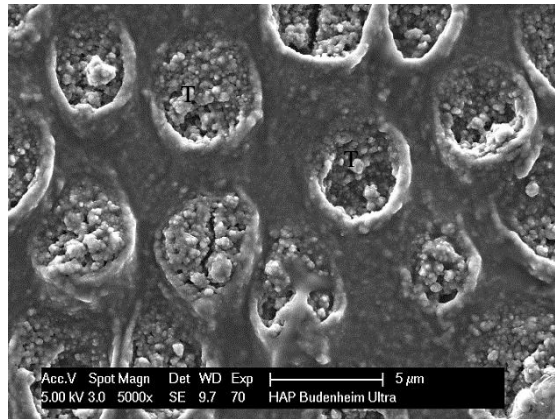


Abbildung 55: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Budenheim nach Behandlung im Ultraschallbad für 2 min (HAp Budenheim nach Ultraschall, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus.

4.7.4 TEM

Die Auswertung der TEM-Bilder dieser Proben zeigte, dass alle angeschnittenen Dentinkanälchen vollständig verschlossen waren. Des Weiteren waren die meisten Tubuli nicht nur verschlossen, sondern auch massiv gefüllt (Abb. 56 und Abb. 57). Auffällig war auch, dass eine Ablagerung nicht nur in den Tubuli stattgefunden hatte, sondern auch in der Oberfläche des geätzten Dentins (siehe Pfeile). Abb. 56 und Abb. 57 zeigen, dass sich unterhalb des Biofilms, der eine Dicke von ca. 700 nm aufwies, deutliche Anlagerungen befanden. Diese stellten sich im Bild deutlich dunkler dar. Die stäbchenartige, kristalline Erscheinung dieser Partikel wird in Abb. 58 deutlich (siehe Pfeile).

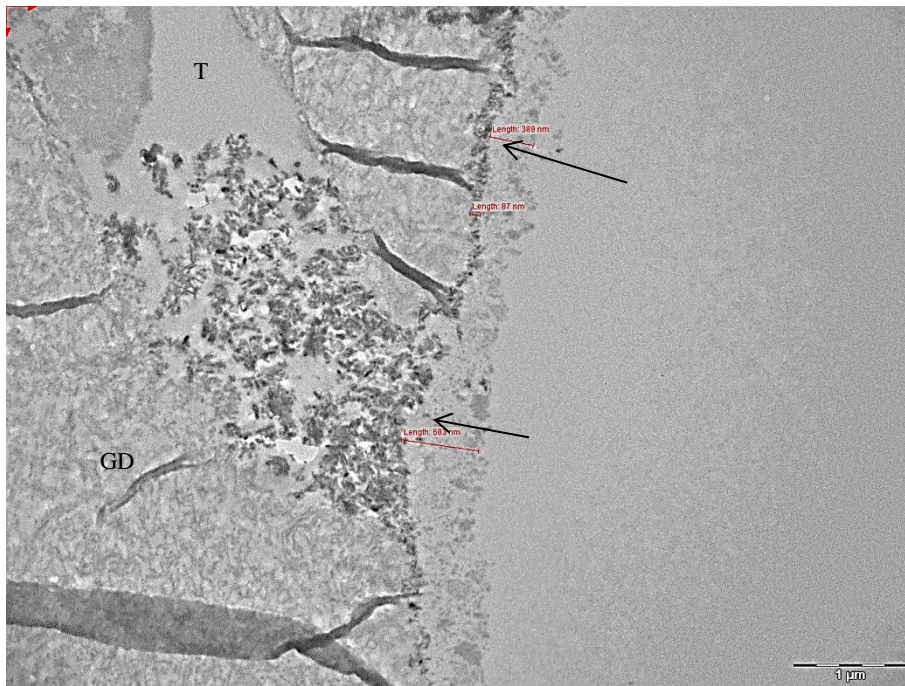


Abbildung 56: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Budenheim (TEM HAp Budenheim, Vergrößerung 13000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf kristalline Anlagerungen des HAp Budenheims.

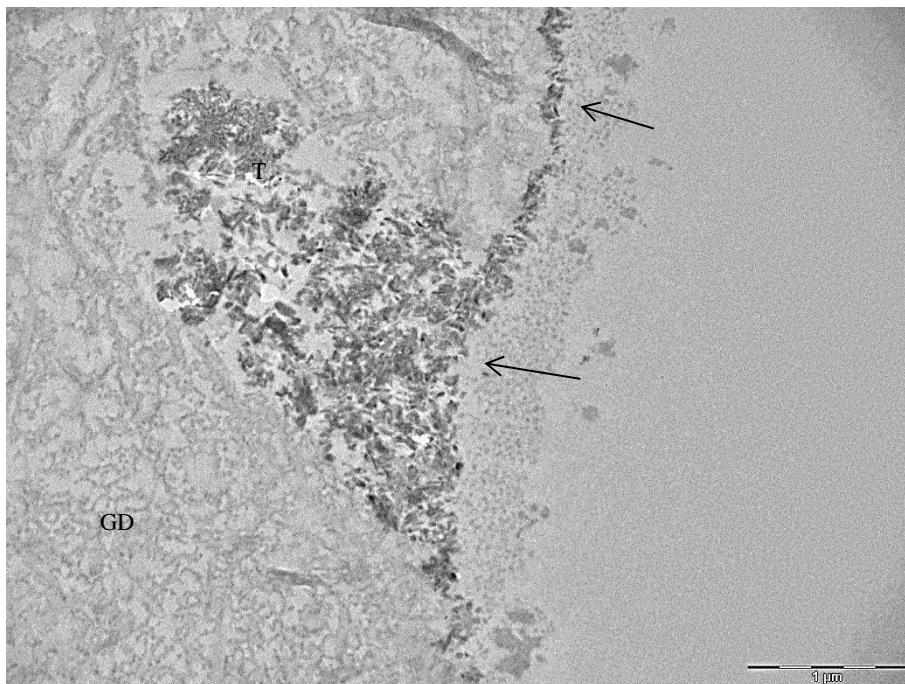


Abbildung 57: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Budenheim (TEM HAp Budenheim, Vergrößerung 18500-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf kristalline Anlagerungen des HAp Budenheims.

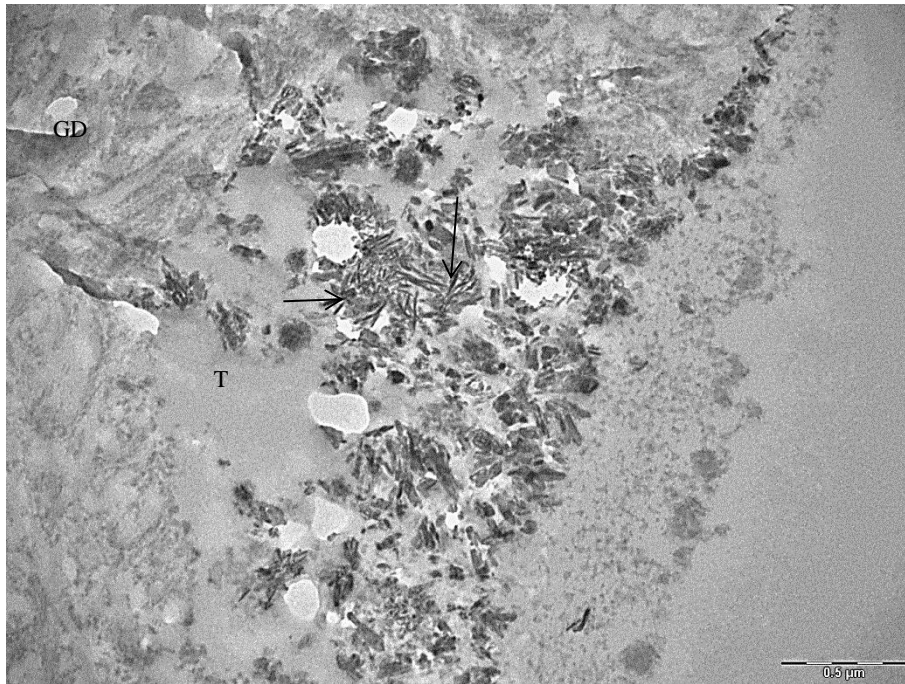


Abbildung 58: TEM-Aufnahme der Dentinoberfläche nach sechsstündiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Budenheim (TEM HAp Budenheim, Vergrößerung 30000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf kristalline Anlagerungen des HAp Budenheim.

4.8 HAp Kalident

4.8.1 Hauptversuche

Die Bilder bei diesem Präparat zeigten deutliche Einlagerungen in fast allen Tubuli. Abb. 59 und Abb. 60 zeigen, dass die Kanäle massiv gefüllt sind (siehe Pfeile) und nahezu alle dieser auch komplett verschlossen waren. Auch eine Ablagerung auf der Dentinoberfläche wurde deutlich. Vereinzelt sind adhärenente Bakterien zu erkennen.

Mittels der Elementanalyse der eingelagerten Partikel konnten ein Calciumgehalt von 30,39% und ein Phosphatanteil von 15,08% bestimmt werden (Abb. 61).

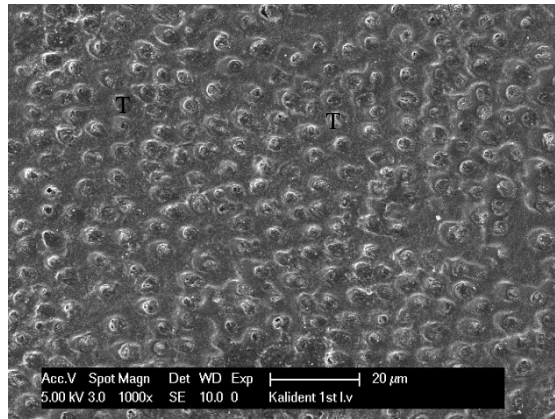


Abbildung 59: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Kalident (Kalident, Vergrößerung 1000-fach, Proband 2), T = angeschnittener Tubulus.

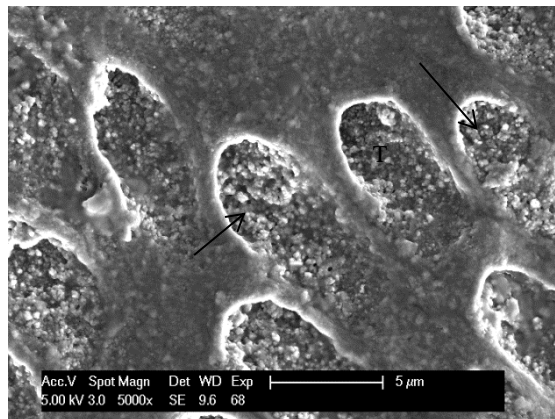


Abbildung 60: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Kalident (Kalident, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf durch Einlagerungen verschlossene Tubuli.

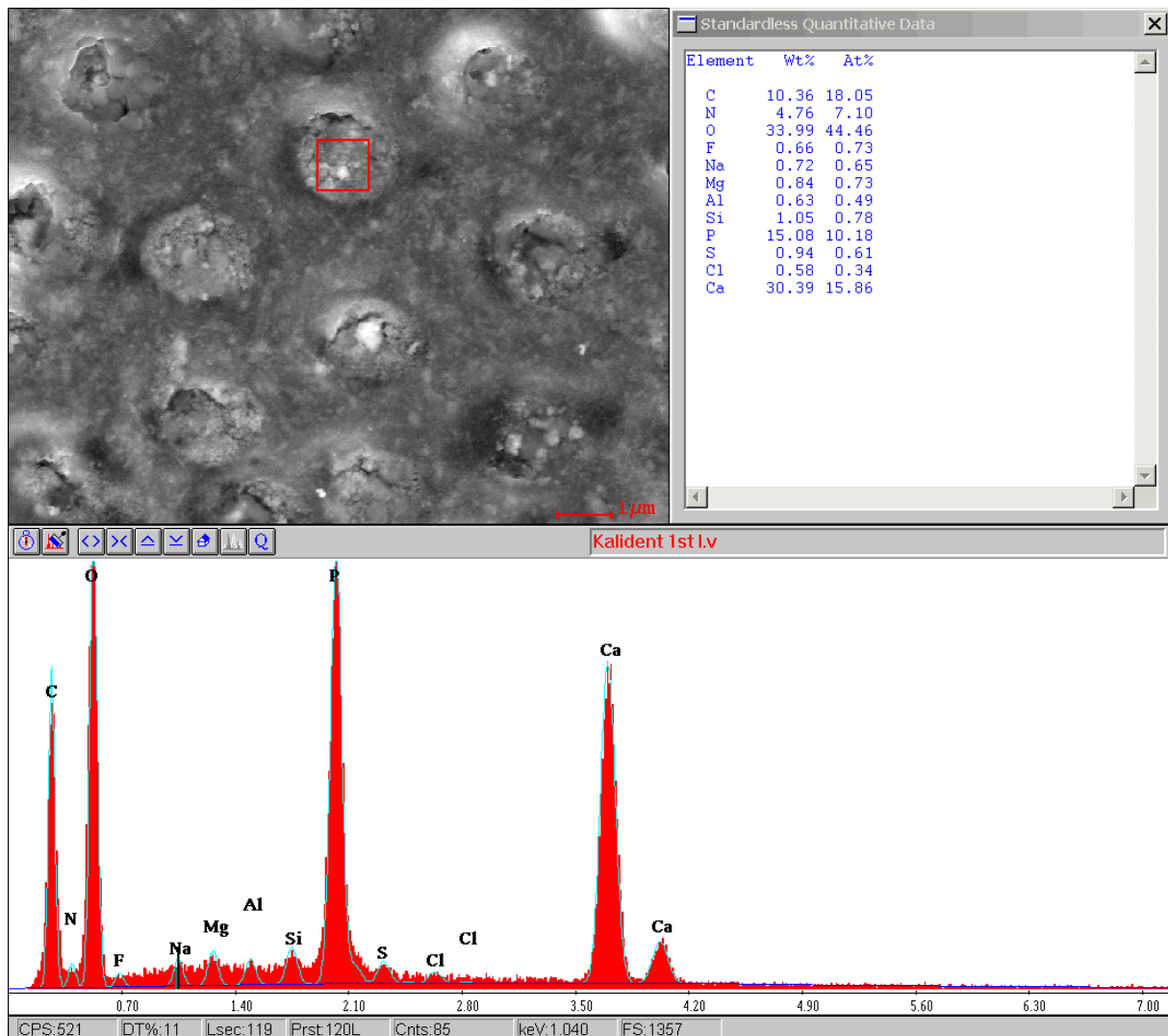


Abbildung 61: EDX-Analyse der in den Dentintubuli eingelagerten Partikel nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Kalident (EDX Kalident).

4.8.2 Bruchansicht

Die Bruchansicht zeigt, dass sich auch hier eine Deckschicht aufgelagert hatte, durch welche ein Verschluss der Tubuli erfolgt ist (siehe Pfeile) (Abb. 62). Des Weiteren wird deutlich, dass die Einlagerung auch in den Tubulus hinein erfolgte. Abb. 62 zeigt einen Tubulus, der auch in der Tiefe mit dem Präparat gefüllt war.

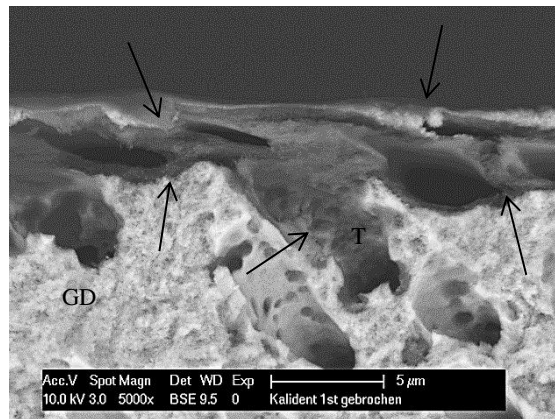


Abbildung 62: Bruchpräparat der Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Kalident (Bruchansicht Kalident, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, die Pfeile zeigen auf die durch das Produkt entstandene Deckschicht.

4.8.3 Erosions- und Widerstandsversuche

Sowohl nach der Ätzung, als auch nach der Ultraschallbehandlung zeigte sich beim HAp Kalident eine deutliche Verminderung der Einlagerungen (Abb. 63 und Abb. 64). Abb. 63 zeigt den Prüfkörper nach der Behandlung mit Phosphorsäure. Die zuvor massiv gefüllten Tubuli erschienen offen und nur noch mit wenigen Restpartikeln gefüllt (siehe Pfeile). Auch nach dem Ultraschallbad war das Ergebnis ähnlich. Zwar waren alle Tubuli noch mit Einlagerungen behaftet, (siehe Pfeile) diese waren jedoch deutlich vermindert und nur noch vereinzelte Kanäle waren komplett verschlossen (Abb. 64).

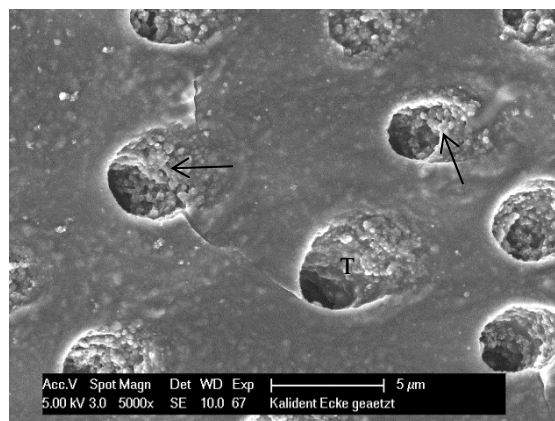


Abbildung 63: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Kalident nach Behandlung mit 36% Phosphorsäure für 30 s (Kalident nach Ätzung, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf verbliebende Einlagerungen in die Tubuli.

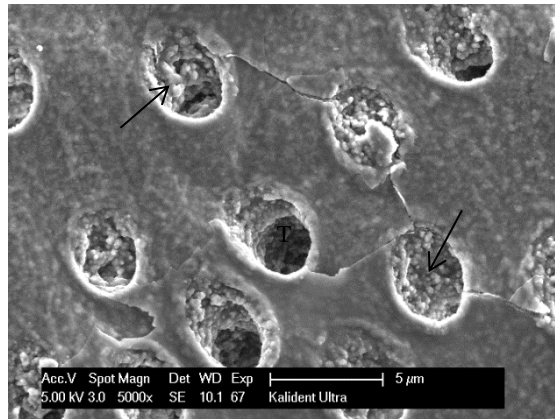


Abbildung 64: Dentinoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Kalident nach Behandlung im Ultraschallbad für 2 min (Kalident nach Ultraschall, Vergrößerung 5000-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, die Pfeile zeigen auf verbliebende Einlagerungen in die Tubuli.

4.8.4 TEM

Die Ergebnisse der TEM-Bilder dieses Produktes sind ähnlich denen des HAp Budenheim, jedoch im Ausmaß der An- und Auflagerungen etwas geringer. Abb. 65 zeigt, dass alle angeschnittenen Kanälchen auch hier vollständig verschlossen waren (siehe Pfeile). Jedoch wird auch deutlich, dass die Menge der Einlagerungen geringer war, als beim HAp Budenheim. Dies wird durch Abb. 66 noch einmal bestätigt. Des Weiteren lag eine ähnliche Anlagerung an der Dentinoberfläche vor. Sie ist deutlich unterhalb des Biofilms als dunklere Linie zu erkennen (Abb. 67). Der kristalline Aufbau ähnelte demjenigen nach Anwendung vom HAp Kalident. Die Dicke dieser Anlagerung betrug ca. 120-130 nm.

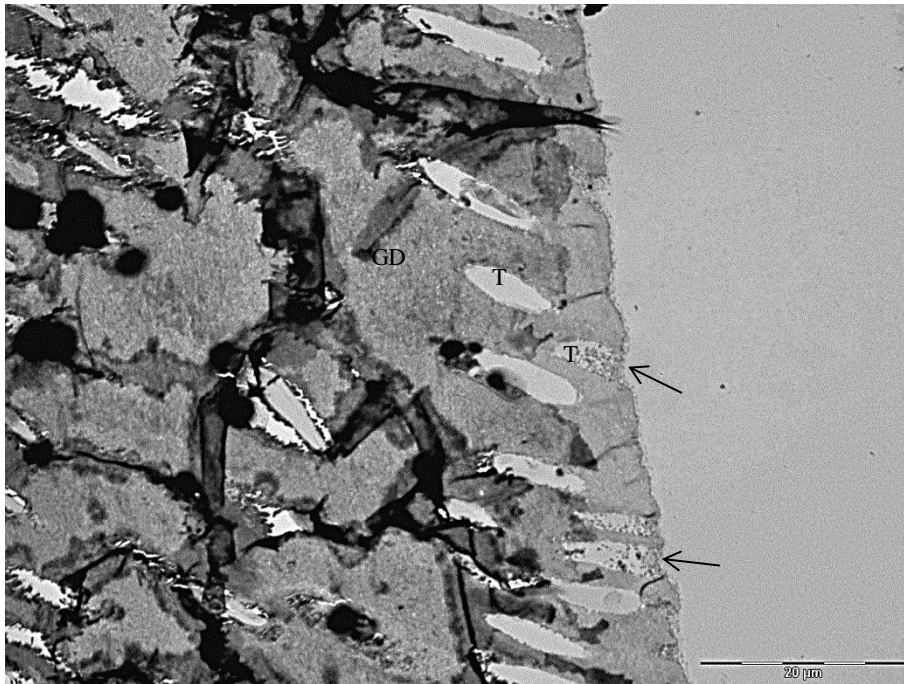


Abbildung 65: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Kalident (TEM Kalident, Vergrößerung 1200-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf kristalline Anlagerungen des HAp Kalidents.

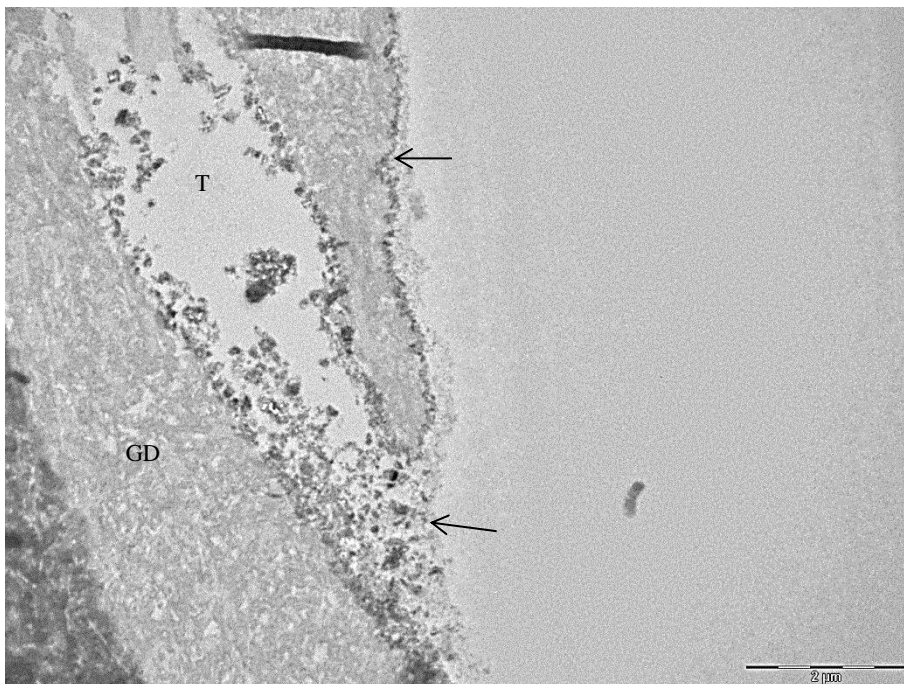


Abbildung 66: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Kalident (TEM Kalident, Vergrößerung 9300-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf kristalline Anlagerungen des HAp Kalidents.

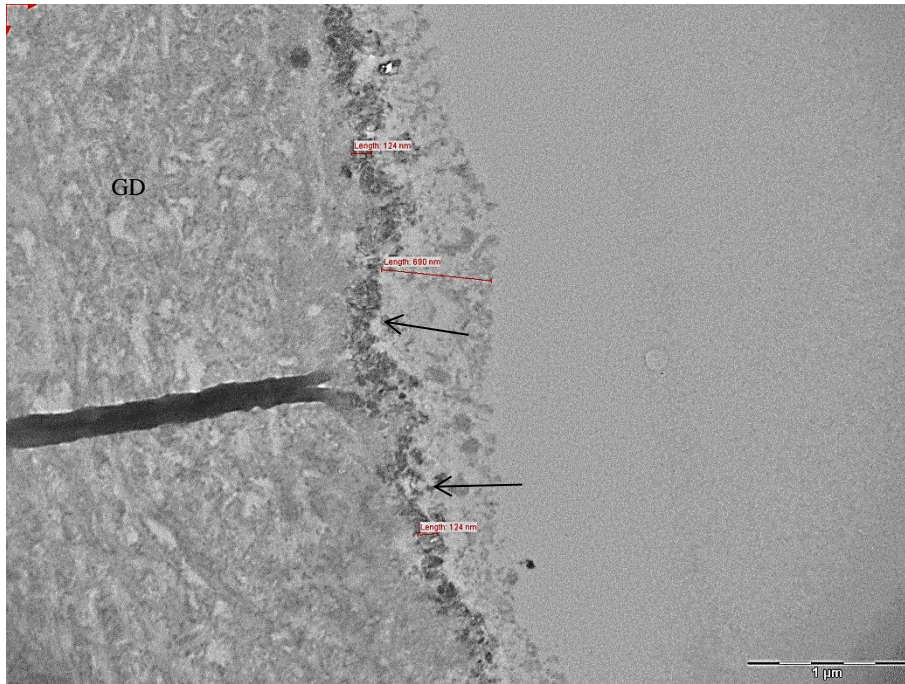


Abbildung 67: TEM-Aufnahme der Dentineoberfläche nach sechsständiger intraoraler Exposition mit vorheriger Applikation des Produktes HAp Kalident (TEM Kalident, Vergrößerung 18500-fach, Proband 1), T = angeschnittener Tubulus, GD = geätztes Dentin, der Pfeil zeigt auf kristalline Anlagerungen des HAp Kalidents.

5 Diskussion

5.1 Material und Methode

In den nun folgenden Unterpunkten wird die Methodik dieser Studie diskutiert.

5.1.1 Prüfkörper

In der vorliegenden Studie über das tubulusokkludierende Potenzial verschiedener Präparate zur Linderung von Dentinhypersensibilitäten wurden Prüfkörper aus Rinderdentin als Ersatz für humanes Dentin verwendet. Ausschlaggebend hierfür war die große Übereinstimmung in Aufbau und Struktur von menschlichem Dentin mit Rinderdentin sowie die Rarität von Humandentin (Hannig et al., 2004). Weitere Vorteile der Rinderzähne sind die Größe, im Hinblick auf eine einfachere Verarbeitung und Handhabung beim Herstellen der Prüfkörper, sowie die Standardisierbarkeit und Reproduzierbarkeit. Ebenfalls ein positiver Aspekt ist die geringere Variabilität der verwendeten Zähne in Bezug auf Alter, Ernährung und Umwelt (Tam et al., 2017).

Auch zuvor wurden Prüfkörper aus Rinderdentin in Studien zu Dentinhypersensibilitäten erfolgreich verwendet (Rosa et al., 2016).

Ein nicht abzustreitender Nachteil ist sicherlich, dass in In-vitro-Studien häufig Prüfkörper aus Humandentin verwendet wurden (Farooq et al., 2015; Wang et al., 2015; Jia et al., 2014). Dadurch wird die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Ergebnisse in gewissem Maße eingeschränkt.

5.1.2 Prüfkörpertrageschienen

Die Miniplastschienen, die in dieser Studie verwendet wurden, sind ein kostengünstiges sowie unkompliziertes Verfahren, um Dentinprüfkörper in reproduzierbarer Position in der Mundhöhle zu exponieren. Schon in der Vergangenheit hat sich dieses Verfahren in zahlreichen In-situ-Studien bewährt (Tinanoff et al., 1976; Hannig, 1997).

Ihre minimalistische Gestaltung, lediglich die Zahnkrone und teilweise den proc. alveolaris bedeckend, ermöglichte eine ungehinderte Salivation der Speicheldrüsen, was eine unabdingbare Voraussetzung für diese Untersuchung war. Des Weiteren ist durch die exakte Reproduzierbarkeit der Prüfkörperposition gewährleistet, dass Scherkräfte und andere Einflüsse, zum Beispiel durch die Wangenschleimhaut, in gleichem Maße auf die untersuchte

Oberfläche der Prüfkörper eingewirkt haben und die Ergebnisse somit ohne Einschränkung zu vergleichen waren.

Die Montage der Prüfkörper an den Schienen mittels des Abformmaterials President ermöglicht eine sichere Befestigung ohne jedoch die Prüfkörperoberfläche zu kontaminieren. Ein unkompliziertes und einfaches Herauslösen war trotz der hohen Festigkeit gewährleistet. Ebenfalls ein großer Vorteil der Minioplastschienen ist die mehrfache Anwendungsmöglichkeit (Tinanoff et al., 1976; Hannig, 1997). Für jeden Probanden mussten nur einmal Schienen hergestellt werden, die dann für jede Versuchsreihe verwendet werden konnten.

Während der Tragezeit von 6 Stunden war es den Probanden einmalig gestattet, die Minioplastschienen für eine Stunde aus der Mundhöhle zu entnehmen, um Nahrung zu sich zu nehmen. Dies war nur möglich, da die Schienen ein einfaches Ein- und Ausgliedern ermöglichen, ohne dabei die Prüfkörperoberfläche zu kontaminieren.

Zusammenfassend sind die verwendeten Minioplastschienen ein optimales System, um Prüfkörper kostengünstig, reproduzierbar und sicher in der Mundhöhle zu platzieren.

5.1.3 Versuchsbedingungen

Jede Versuchsreihe lief nach demselben exakt definierten Muster ab, um vergleichbare und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen. Es wurden immer 3 Prüfkörper gleichzeitig appliziert: Im ersten Quadranten ein Prüfkörper buccal regio Zahn 16 und zwei Prüfkörper im zweiten Quadranten buccal auf Höhle des zweiten Prämolaren sowie des ersten Molaren. Die bei jeder Versuchsreihe identische Position sollte gewährleisten, dass die Oberfläche aller Prüfkörper in gleichem Maße durch Scherkräfte der Wangenschleimhaut und Zunge sowie durch die Speichelexposition beeinflusst werden (Hannig, 1997). Desweiteren bestand für die Tragedauer von sechs Stunden eine Nahrungskarenz, und es durfte ausschließlich stilles Wasser getrunken werden. Dadurch wurde eine Beeinflussung der Prüfkörper, zum Beispiel durch saure Nahrung oder Getränke, verhindert und eine gute Vergleichbarkeit gewährleistet. Es war jedoch allen Probanden erlaubt, die Trageschienen einmalig für die Dauer von einer Stunde in einem Hygrophor zu lagern, um ein Mittagessen zu sich zu nehmen. Um auch hier die Beeinflussung möglichst gering zu halten, wurde auf außergewöhnliche Speisen verzichtet, der Mund nach der Nahrungsaufnahme mehrmals mit Wasser kräftig durchgespült und danach nochmals eine halbe Stunde gewartet, damit die Mundflora sich wieder normalisiert.

Damit auch die Speichelsekretion und -zusammensetzung bei jeder Versuchsreihe vergleichbar waren, wurde das Einsetzen der Schienen morgens zwischen 8 und 9 Uhr vorgenommen (Morge et al., 1989). Zuvor wurde mit einer handelsüblichen, fluoridhaltigen Zahnpasta geputzt und anschließend eine halbe Stunde gewartet, bis die Schienen eingesetzt wurden.

5.1.4 Die elektronenmikroskopische Analyse der Prüfkörper

In der Studie wurde sowohl das Rasterelektronenmikroskop als auch das Transmissionselektronenmikroskop für die Analyse der Prüfkörper verwendet.

Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung stellt das Standardverfahren dar, um Prüfkörper im Zusammenhang mit Studien über Dentinhypersensibilitäten zu analysieren. Es ermöglicht sowohl eine Betrachtung des gesamten Prüfkörpers, als auch Detailaufnahmen bis zu einer Vergrößerung von 20000. Somit war es möglich, die Anzahl der verschlossenen Dentintubuli insgesamt zu analysieren, als auch einzelne Kanälchen und die Art und Weise des Verschlusses im Detail zu betrachten. Ein weiterer Vorteil der Rasterelektronenmikroskopie war, dass die Prüfkörper nur in einem geringen Maße vor dem Mikroskopieren präpariert werden mussten und die Auswertung zeitnah erfolgen konnte. Eine Vielzahl von Studien zu diesem Thema bestätigen die erfolgreiche Analyse mittels des Rasterelektronenmikroskops (Rosa et al., 2016; Wang et al., 2015; Jia et al., 2014; Farooq et al., 2015; Taha et al., 2015; Suge et al., 2008; Lee et al., 2005). Durch diese große Anzahl von Untersuchungen, in denen ebenfalls mittels Rasterelektronenmikroskop analysiert wurde, ergaben sich sehr gute Vergleichsmöglichkeiten der Ergebnisse.

Im zweiten Abschnitt dieser Studie wurde das Transmissionselektronenmikroskop zur Auswertung der Prüfkörper herangezogen. Ziel dieser Methode war es herauszufinden, wie weit die Produkte in die Tubuli hineingelangen und wo genau die Ablagerungen stattgefunden haben. Des Weiteren konnte so auch die Struktur ein- und abgelagerter Partikel besser untersucht werden. Vergleichbare Studien, bei denen eine Auswertung durch das Transmissionselektronenmikroskop stattgefunden hat, wurden bis dato nicht publiziert. Somit konnten die Ergebnisse nicht mit früheren Studien verglichen werden.

Ein Nachteil dieser Methode ist sicherlich, dass nur ein geringer Abschnitt des Prüfkörpers analysiert wurde. Dafür ist die Vergrößerung im Gegensatz zum REM um ein Vielfaches höher.

Zusammenfassend betrachtet haben sich die beiden unterschiedlichen mikroskopischen Herangehensweisen gut ergänzt und für jedes Produkt ein umfassendes mikromorphologisches Ergebnis aus verschiedenen Blickwinkeln hervorgebracht.

5.2 Ergebnisse

Die Diskussion der Ergebnisse orientiert sich in der Darstellung an den einzelnen Teilversuchen. Abschließend werden die Produkte insgesamt verglichen und im Kontext zu den Ergebnissen anderer Studien bewertet.

5.2.1 Hauptversuche

Die Analyse der Ergebnisse in den Hauptversuchen zeigt, dass alle Produkte in die Dentintubuli eingelagert wurden. Das Ausmaß der Einlagerungen und das Potenzial, die Kanäle tatsächlich zu verschließen, stellten sich jedoch sehr unterschiedlich dar. Gemessen an der Anzahl der verschlossenen Tubuli und dem Ausmaß der Ablagerungen lassen sich die Produkte in 3 Gruppen unterteilen.

Die Produkte der Gruppe 1 zeigten die geringste Auswirkung auf die offenen Kanäle. Hierzu zählen Elmex sensitive, Stomysens und die GC MI Paste Plus. Es waren zwar in fast allen Tubuli Ablagerungen vorhanden, ein vollständiger Verschluss blieb jedoch überwiegend aus. Weniger als 10% der Tubuli auf allen Prüfkörpern waren vollständig verschlossen. Mit der hydrodynamischen Theorie als Grundlage lässt sich daraus schließen, dass diese Produkte lediglich eine geringe Linderung einer vorhandenen Dentinhypersensibilität bewirken würden (Brännström, 1966).

Verglichen zu Gruppe 1 war bei den Produkten der Gruppe 2 eine deutliche Steigerung zu erkennen. Die Prüfkörper, auf denen Teethmate Desensitizer oder Biorepair Plus appliziert wurden, zeigten überwiegend massiv gefüllte Tubuli. Mehr als 50% aller Kanäle waren komplett gefüllt und verschlossen. Deshalb ist anzunehmen, dass nach Verwendung dieser Produkte zwar keine vollständige Eliminierung der Schmerzen eintritt, jedoch eine deutliche Verbesserung.

Wirklich überzeugen, im Hinblick auf ihre Potenz die Tubuli zu verschließen, konnten die Produkte HAp Budenheim und HAp Kalident. Diese bilden die Gruppe 3. Über 90% aller Dentinkanälchen sind verschlossen, nahezu alle Tubuli wiesen eine massive Füllung auf. Beide Produkte haben das Ziel, die Kanäle zu verschließen, erfüllt. Wiederum auf die Theorie

von Brännström übertragen, müssten diese experimentellen Produkte eine deutliche Verbesserung der Dentinhypersensibilitäten bewirken.

5.2.2 EDX-Analysen

Die EDX-Analysen zeigten kontinuierlich das zu erwartende Elementprofil des Dentins. Alle untersuchten eingelagerten Partikel wiesen einen hohen Calcium und Phosphat Anteil auf. Der auffällig hohe Kohlenstoffanteil ist auf das vor dem Mikroskopieren absolvierte Sputtern mit Kohle zurückzuführen.

Insgesamt konnte durch die EDX-Analysen bestätigt werden, dass es sich bei den Einlagerungen um das jeweils applizierte Produkt handelt und nicht um absorbierte Biomoleküle aus dem Speichel. Insbesondere in den Versuchsreihen mit den experimentellen Hydroxylapatit-Produkten bestätigen die EDX-Analysen eindrucksvoll, dass der Verschluss der Tubuli durch Apatitpartikel erfolgt ist.

5.2.3 Bruchversuche

In dieser Versuchsreihe zeigten die Ergebnisse der einzelnen Produkte größere Übereinstimmungen. Jedes Bruchpräparat wies eine Deckschicht auf dem Prüfkörper sowie den Dentintubuli auf. Diese Deckschicht war durchschnittlich ca. 1 µm dick. Ein tieferes Eindringen in die Tubuli trat vereinzelt auf, bildete aber eine Ausnahme.

Aus diesem Gesamtbild herauszunehmen sind jedoch wieder die experimentellen Präparate HAp Budenheim und HAp Kalident. Auch in dieser Versuchsreihe waren sie den anderen Produkten überlegen. Die Deckschicht betrug bis zu 4 µm, und auch ein tieferes Eindringen in die Kanäle war häufig festzustellen.

Somit lässt sich zusammenfassen, dass zwar alle Produkte in dieser Versuchsreihe ein zufriedenstellendes Ergebnis erzielen konnten, die Produkte HAp Budenheim und HAp Kalident jedoch deutlich überlegen waren und die besten Ergebnisse erzielen konnten. Somit wurden die Erkenntnisse der Hauptversuche bestätigt.

5.2.4 Erosions- und Widerstandsversuche

Diese Versuchsreihe ergab große Unterschiede zwischen den einzelnen Produkten, weshalb an dieser Stelle nur auf besonders markante Erkenntnisse eingegangen wird.

Die beiden zuvor dominierenden Produkte HAp Budenheim und HAp Kalident wiesen nach diesen Versuchen zum ersten Mal deutliche Unterschiede auf. Sowohl das Ätzen als auch das Ultraschallbad verringerten die Einlagerungen des HAp Kalidents in deutlichem Maße, ähnlich wie bei den übrigen Produkten. Anders stellte sich dies beim HAp Budenheim dar. Ätzen und Ultraschallbad zeigten kaum Auswirkungen auf die Einlagerungen in den Tubuli, sodass nur wenige Partikel herausgelöst wurden. Entsprechend lässt sich ableiten, dass die Partikel des HAp Budenheim deutlich widerstandsfähiger in die Kanäle eingelagert werden und über ein größeres Adhäsionspotenzial verfügen. Würde man dies auf die Klinik übertragen, müsste die Wirkung des HAp Budenheim deutlich länger anhalten als die der anderen Produkte.

5.2.5 Transmissionselektronenmikroskopie

Die Ergebnisse der Transmissionselektronenmikroskopie haben zum größten Teil die REM-Resultate aus den vorherigen Versuchen bestätigt und dennoch völlig neue Erkenntnisse geliefert.

Elmex sensitive, die GC MI Paste Plus und auch Stomysens zeigten auch hier keine massiven Einlagerungen, Anlagerungen oder den Verschluss der Tubuli. Die TEM-Ergebnisse bestätigten somit die Erkenntnisse aus den anderen Versuchen und belassen Zweifel an der Wirkfähigkeit der drei genannten Produkte.

Der Teethmate Desensitizer bestätigt „seinen Platz“ im Mittelfeld der Produktpalette. Die Kanäle waren verschlossen, tiefer angeschnittene Tubuli wiesen jedoch keine Füllung auf. Folglich ist davon auszugehen, dass dieses Produkt die versprochene Wirkung gegen die Dentinhypersensibilitäten erzielt, jedoch keine vollständige Linderung bewirkt und dieses nur sehr temporär, da die Auflagerungen vergleichsweise weniger stabil waren.

Wiederum am besten zeigten sich die Produkte HAp Kalident und HAp Budenheim. Nahezu alle Kanäle waren gefüllt, verschlossen und auch tiefliegende Bereiche waren ausgekleidet. Besonders interessant waren jedoch die Struktur als auch die Art und Weise der Anlagerung der Partikel aus diesen experimentellen Produkten. Es wird deutlich, dass eine Einlagerung der kristallinen Hydroxylpartikel in das durch die Ätzung freigelegte Kollagenfibrillennetzwerk des Dentins stattgefunden hat. Über die gesamte Prüfkörperoberfläche lässt sich diese Anlagerung und Integration der Partikel in die

Oberfläche erkennen. Somit könnte man aufgrund der dauerhaften Einlagerung vielleicht sogar von einer gewissen „Remineralisation“ des geätzten Dentins ausgehen.

Die TEM Bilder des Produktes Biorepair Plus zeigten ähnliche kristalline An- und Einlagerung. Aufbau und Erscheinung der Partikel sowie Art und Weise der Einlagerungen sind im Ansatz gleich, jedoch von weitaus geringerem Ausmaß.

5.2.6 6h-Biofilm

Biofilmablagerungen waren sowohl auf den REM-Bildern sowie auch den Bildern des TEM deutlich zu erkennen. Zwischen beiden Probanden fielen zwar individuelle Unterschiede auf, dennoch entsprechen beide Ergebnisse der durchschnittlichen Biofilmbildung. Auch Morphologie und Pellikelstruktur waren übereinstimmend mit den in anderen In-situ-Studien gezeigten Biofilmablagerungen auf Dentin (Jung et al., 2010; Al-Ahmad et al., 2009)

5.2.7 Zusammenfassung

Insgesamt wird diese In-situ-Studie von zwei Produkten dominiert, wobei eines im Detail immer noch ein Stück weit mehr überzeugen konnte. HAp Kalident und HAp Budenheim sind beides Produkte auf Hydroxylapatitbasis und sowohl von ihren Bestandteilen als auch von der Anwendung her sehr ähnlich. Sie konnten über die gesamte Studie gesehen in allen Teilversuchen überzeugen und waren den übrigen Produkten überlegen. Die Ergebnisse dieser beiden Produkte waren stets ähnlich, sowohl im Ausmaß, als auch in der Art und Weise. Jedoch zeigte sich auch, dass das HAp Budenheim stets dem Kalident noch überlegen war.

Überträgt man diese Ergebnisse auf die Klinik, muss man davon ausgehen, dass beide Präparate eine deutliche Linderung der Dentinhypersensibilitäten bewirken und eine dauerhafte Abhilfe schaffen könnten. Die Tatsache, dass diese beiden Präparate nicht nur die Tubuli oberflächlich verschließen, sondern dass sogar eine Anlagerung der Hydroxylpartikel stattgefunden hat, ist sehr beeindruckend und zeigt, dass in gewissem Umfang ein Ersatz von verlorengangener Zahnhartsubstanz tatsächlich möglich scheint.

5.2.8 Vergleichbare Studien/Alleinstellungsmerkmal dieser Studie

In-Situ-Untersuchungen zu den Tubulusokkludierenden Eigenschaften verschiedener Präparate gab es zum Zeitpunkt des Verfassens dieser Dissertation nicht. Die Studien bestanden entweder aus In-vivo-Versuchen oder es waren klinische Studien. Wie bereits in

der Einleitung erwähnt, war es Ziel dieser Studie, wichtige Aspekte beider Versuchsarten zu kombinieren. So wurden die Versuche unter Mundhöhlenbedingungen durchgeführt, und dennoch sind die Ergebnisse vergleichbar und reproduzierbar.

Die Anzahl ähnlich aufgebauter Studien ist gering, die Ergebnisse sind aber vergleichbar.

So zeigt die in-vitro-Studie von Farooq und Kollegen in der Konsequenz sehr ähnliche Ergebnisse (Farooq et al., 2015). Auch hier zeigen alle getesteten Produkte das Potenzial, die Dentintubuli zu verschließen. Im Detail konnten aber auch hier die Produkte auf Basis von Hydroxylapatit am meisten überzeugen und wiesen die besten Ergebnisse auf.

Die Untersuchung von Gopinath und Kollegen unterscheidet sich zwar im Aufbau und Durchführung deutlich von dieser Studie, bestätigt aber diese Ergebnisse in der klinischen Anwendung. Denn auch hier zeigte das Produkt auf Basis von Hydroxylapatit gute Ergebnisse, und eine Linderung der Dentinhypersensibilitäten konnte klinisch bestätigt werden (Gopinath et al., 2015).

Auch de Oliveira und Kollegen konnten mit ihrer Studie einen positiven klinischen Effekt von Zahnpasten mit Hydroxylapatit bestätigen (de Oliveira et al., 2016).

5.3 Konklusion

Diese In-situ-Studie zur Untersuchung der tubulusokkludierenden Eigenschaften einzelner Präparate zeigt, dass grundsätzlich alle getesteten Produkte diese besitzen. Die Art und Weise sowie das Ausmaß des Tubulusverschlusses sind jedoch sehr unterschiedlich. Wie auch in anderen Studien zeigten die beiden experimentellen Produkte auf Hydroxylapatitbasis die besten Eigenschaften und können bereits zum heutigen Zeitpunkt sehr gute Ergebnisse erzielen, obwohl diese Produkte erst am Anfang ihrer Entwicklung stehen. Folglich scheinen diese Produkte „ein Schritt in die richtige Richtung“ zu sein und könnten zukünftig eine große Bedeutung in der Behandlung von Dentinhypersensibilitäten einnehmen.

6 Literaturverzeichnis

- Addy, M., 2002. Dentine hypersensitivity: New perspectives on an old problem. *IDJ*, Issue 52, pp. 367-375.
- Addy, M. & Smith, S., 2010. Dentin hypersensitivity: an overview on which to base tubuleocclusion as a management concept. *J Clin Dent*, Issue 21, pp. 25-30.
- Al-Ahmad, A., Follo, M., Selzer, A.-C., Hellwig, E., Hannig, M. & Hannig, C., 2009. Bacterial colonization of enamel in situ investigated using fluorescence in situ hybridization. *J Med Microbiol.*, Issue 10, pp. 1359-1366.
- Anon., 2016 a. *Elmex Produkte.* [Online]
Available at: <http://www.elmex.de/app/elmex/Sensitive/DE/products/elmex-sensitive-professional-toothpaste.cwsp>
- Anon., 2016 b. *Biorepair: Wirkweise.* [Online]
Available at: <http://www.bio-repair.com/de/wirkweise/>
- Anon., 2016 c. *Biorepair: Produkte, Biorepair Plus.* [Online]
Available at: <http://www.bio-repair.com/de/produkte/biorepair-zahncreme-plus.html>
- Anon., 2016 d. *Packungsbeilage GC MI Paste Plus.* s.l.:s.n.
- Anon., 2016 e. *Kuraray Noritake Dental Inc..* [Online]
Available at: <http://www.kuraraynoritake.eu/au/teethmate-desensitizer.html>
- Anon., 2016 f. *Beipackzettel: Stomysens.* s.l.:s.n.
- Anon., 2016 g. *Kalichem: products.* [Online]
Available at: http://www.kalichem.it/prodotti_new_en.php
- Arnold, W., Prange, M. & Naumova, E., 2015. Effectiveness of various toothpastes on dentine tubule occlusion. *J Dent*, Issue 43, pp. 440-449.
- Blum, 1530. *German anonymos. Artzney buch wider Allerbi. Krancheyton und Gebrechen der Tzeen.* s.l.:s.n.
- Brännström, M., 1966. *Sensitivity of dentine*, Stockholm: s.n.
- Brauckhoff, Holtfreter, Bernhardt, Splieth, Biffa & Saß, 2009. *Bundesbericht Mundgesundheitsstudie*, Berlin: Robert Koch-Institut.
- Bundesvereinigung, I. d. D. Z. i. A. v. B. u. K., 2005. Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie.
- Bundesvereinigung, K., 2016. *KZBV-Jahrbuch 2016*, Köln: s.n.

- Chen, C., Parolia, A., Pau, A. & de Moraes Porto, I. C., 2015. Comparative evaluation of the effectiveness of desensitizing agents in dentine tubule occlusion using scanning electron microscopy. *Aust Dent J*, Issue 60, pp. 65-72.
- Coghill, R., MC Haffie, J. & Yen, Y., 2003. Neuronal correlats of interindividual differenes in the subjective experience of pain. *Proc Natl Acad Sci USA*, Issue 100, pp. 8538-8542.
- Corona, S., Nascimento, T., Catirse, A., Lizarelli, R., Dinelli, W. & Palma-Dipp, R., 2003. Clinical evaluation of low-level laser therapy and flouride varnish for treating cervical dentinal hypersensitivity. *J Oral Rehabil.*, Issue 30, pp. 1183-1193.
- de Oliveira, D. W. D., de Oliveira, E. S., Mota, Pereira, Bastos, Gloria, Goncavales & Flecha, 2016. Effectiveness of Three Desensitizing Dentifrices on Cervical Dentin Hypersensitivity: A Pilot Clinical Trail. *J Int Acad Periodontol*, Issue 2, pp. 57-65.
- Donwell, P. & Addy, M. ., 1983. Dentine hypersensitivity-a review. Aetiology, symptoms and theories of pain production. *J Clin Periodontol*, Issue 10, pp. 341-350.
- Farooq, I., Moheet, I. A. & AlShwaimi, E., 2015. In vitro dentin tubule occlusion and remineralization competence of various toothpastes. *Arch Oral Biol.*, Issue 60, pp. 1246-1253.
- Gerschmann, J., Ruben, J. & Gebart-Eaglemont, 1994. Low level laser therapy for dentinal tooth hypersensitivity. *Aust Dent. J.*, Issue 39, pp. 353-357.
- Gopinath, N. M., John, J., Nagappan, N., Prabhu, S. & Senthil Kumar, E., 2015. Evaluation of Dentifrice Containing Nano-hydroxyapatite for Dentinal Hypersensitivity: A Randomized Controlled Trail. *J int Oral Health*, 7(8), pp. 118-122.
- Grath, M., 1994. Psychological aspects of pain perception. *Arch Oral Biol.*, Issue 39, pp. 55-62.
- Hannig, M., 1997. Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials. *Eur J Oral Sci*, Issue 105, pp. 422-433.
- Hannig, M., Fiebiger, M., Güntzer, M., Döbert, A., Zimehl, R. & Nekrashevych, Y., 2004. Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch Oral Biol* , Issue 49, pp. 903-910.
- Irwin, C. & McCuster, P., 1997. Prevalence of dentine hypersensitivity in a general dental population. *J Ir Dent Assoc.*, Issue 43, pp. 7-9.
- Jia, R., Lu, Y., Yang, C.-w., Luo, X. & Han, Y., 2014. Effect of generation 4.0 polyamidoamine dendrimer on mineralization of demineralized dentinal tubules in vitro. *Arch Oral Biol.*, Issue 59, pp. 1085-1093.

- Jung, D. J., Al-Ahmad, A., Follo, M., Spitzmueller, B., Hoth-Hannig, W., Hannig, M. & Hannig, C., 2010. Visualization of initial bacterial colonization on dentine and enamelum in situ. *J Microbiol Methods*, Issue 81, pp. 166-174.
- Kulal, R., Jayanti, I., Sambashivaiah, S. & Bilchodmath, S., 2016. An In-vitro Comparison of Nano Hydroxyapatite, Novamin and Proargin Desensitizing Toothpastes. *J Clin Diagn Res.*, Issue 10, pp. 51-54.
- Lee, B., Chang, C., Chen, W., Lan, W. & Lin, C., 2005. In vitro study of dentin hypersensitivity treated by Nd:YAP laser and bioglass. *Dent Mater*, 21(6), pp. 511-519.
- Mantzourani, M. & Sharma, D., 2013. Dentine sensitivity: Past, present and future. *J Dent*, Issue 41, pp. 3-17.
- Matthews, B. & Vongsavan, N., 1994. Interactions between neural and hydrodynamic mechanisms in dentine and pulp. *Archs oral Biol.*, Issue 39, pp. 87-95.
- Morge, S., Adamczak, E. & Linden, L. A., 1989. Variation in human salivary pellicle formation on biomaterials during the day. *Archs oral Biol.*, Issue 8, pp. 669-674.
- Parkinson, C., Constantin, P., Goyal, C. & Hall, C., 2017. An exploratory clinical trail to evaluate the efficacy of experimental dentifrice formulation in the relief of dentine hypersensitivity. *J Dent*, Issue 56, pp. 39-44.
- Radlanski, R., 2011. *Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie*. s.l.:Quintessenz Verlag GmbH.
- Rosa, Calazans, Nogueira, Lancellotti, Goncalves & Geraldo-Martins, 2016. Effects of different desensitizing treatments on root dentin permeability. *Braz Oral Res*, October, Issue 30, p. 111.
- Suge, T., Kawasaki, A., Ishikawa, K., Matsuo, T. & Ebiso, S., 2008. Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion. *Dent Mater*, Issue 24, pp. 192-198.
- Taha, S., Han, H., Chang, S.-R., Sovadinova, I., Kuroda, K., Langford, R. & Clarkson, B., 2015. Nano/micro flourhydroxyapatite crystal pastes in the treatment of dentin hypersensitivity: an in vitro study. *Clin Oral Invest*, Issue 19, pp. 1921-1930.
- Tam, L. E., Kim, N. & De Souza, G. M., 2017. Effect of tooth whitening strips on fatigue resistance and flexural strenght of bovine dentin in vitro. *Plos one*, Issue 12.
- Tinanoff, N., Glick, P. L. & Weber, D. F., 1976. Ultrastructure of Organic Films on the Enamel Surface. *Caries Research*, Issue 10, pp. 19-32.
- Viera, A. & Santiago, S., 2009. Management of dentinal hypersensitivity. *Gen Dent*, Issue 57, pp. 120-126.

Vongsavan, N. & Matthews, B., 1992. Fluid flow through cat dentine in vivo. *Archs oral Biol.*, Issue 37, pp. 175-185.

Wang, T., Yang, S., Wang, L. & Feng, H., 2015. Use of Poly (Amidoamine) Dendrimer for Dentinal Tubule Occlusion: A Preliminary Study. *Plos one*, Issue 10.

West, N., A.Lussi, Seong, J. & Hellwig, 2013. Dentin hypersensitivity: pain mechanisms and aetiology of exposed cervical dentin. *Clin Oral Investig*, Issue 17, pp. 9-19.

7 Danksagung

Mein Dank für die stetige Begleitung und hilfreiche Unterstützung bei der Erstellung meiner Dissertation gilt in besonderem Maße Herrn Prof. Dr. Matthias Hannig.

Des Weiteren möchte ich mich bei der gesamten Arbeitsgruppe Hannig für die Unterstützung bei der Versuchsdurchführung bedanken. Besonderer Dank gilt Herrn Norbert Pütz für die gemeinsame Durchführung der mikroskopischen Analysen.

Abschließend möchte ich meiner Familie danken, insbesondere meinen Eltern. Ohne ihre Unterstützung und ohne ihren ständigen Rückhalt wäre das Studium der Zahnmedizin für mich nicht möglich gewesen.

Die vorliegende Studie erfolgte mit Unterstützung durch die DFG (SFB 1027).