

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

***In-vitro*-Untersuchung von Adhäsivapatitpasten im Verbund zum Dentin**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2023

vorgelegt von

Louisa Barth

geb. am: 01.10.1993 in Nürnberg

Tag der Promotion: 25.04.2023

Dekan: Prof. Dr. M.D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Hannig

2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Karl

Meiner Familie in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | ZUSAMMENFASSUNG..... | 1 |
| 1.1 | Deutsche Zusammenfassung | 1 |
| 1.2 | Abstract..... | 2 |
| 2 | EINLEITUNG..... | 4 |
| 2.1 | Die Zahnhartsubstanz Dentin | 4 |
| 2.2 | Adhäsive | 7 |
| 2.3 | Zahnhartsubstanzdefekte | 15 |
| 2.4 | Zahnhartsubstanzregeneration..... | 16 |
| 2.5 | Bioaktive Materialien zur Dentinregeneration | 18 |
| 2.6 | Adhäsivapatitpasten in der Literatur | 28 |
| 2.7 | Ziel der Arbeit | 30 |
| 3 | MATERIAL UND METHODEN..... | 31 |
| 3.1 | Material..... | 31 |
| 3.1.1 | Apatite | 31 |
| 3.1.2 | Adhäsive..... | 31 |
| 3.1.3 | Prüfkörperherstellung..... | 32 |
| 3.2 | Methoden..... | 33 |
| 3.2.1 | Bezeichnung der Adhäsivapatitpasten | 33 |
| 3.2.2 | Applikation der Adhäsivapatitpasten | 34 |
| 3.2.3 | Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung (REM) & Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) | 37 |
| 3.2.4 | Thermocycling | 37 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.2.5 | Säuretoleranztest | 38 |
| 3.3 | Versuchsreihen | 38 |
| 3.3.1 | Versuchsreihe 1 | 38 |
| 3.3.2 | Versuchsreihe 2 | 38 |
| 3.3.3 | Versuchsreihe 3 | 39 |
| 3.3.4 | Versuchsreihe 4 | 39 |
| 4 | ERGEBNISSE | 40 |
| 4.1 | Versuchsreihe 1: Kombination aller Adhäsive und Apatitpulver..... | 40 |
| 4.2 | Versuchsreihe 2: geändertes Versuchsprotokoll für Clearfil Universal Bond Quick und 7-tägige Nasslagerung der Proben | 52 |
| 4.3 | Versuchsreihe 3: Scotchbond Universal nach 3-monatiger Nasslagerung..... | 62 |
| 4.4 | Versuchsreihe 4: Prüfkörper nach Thermocycling und Säuretoleranztest | 65 |
| 4.5 | Ergebnisse der EDX-Analysen..... | 82 |
| 4.5.1 | Nachweis von Apatitmaterial | 82 |
| 4.5.2 | Auswirkungen des Säuretoleranztests..... | 85 |
| 5 | DISKUSSION..... | 89 |
| 5.1 | Material und Methoden | 89 |
| 5.1.1 | Prüfkörperherstellung..... | 89 |
| 5.1.2 | Auswahl der Materialien | 91 |
| 5.1.3 | Analyseverfahren | 96 |
| 5.2 | Ergebnisse..... | 98 |
| 5.2.1 | Versuchsreihe 1: Kombination aller Adhäsive und Apatitpulver | 98 |
| 5.2.2 | Versuchsreihe 2: geändertes Versuchsprotokoll für Clearfil Universal Bond Quick und 7-tägige Nasslagerung der Proben | 101 |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|------------|
| 5.2.3 | Versuchsreihe 3: Scotchbond Universal nach 3-monatiger Nasslagerung..... | 103 |
| 5.2.4 | Versuchsreihe 4: Prüfkörper nach Thermocycling und Säuretoleranztest..... | 104 |
| 5.3 | Schlussfolgerung | 109 |
| 6 | LITERATURVERZEICHNIS..... | 111 |
| 7 | DANKSAGUNG | 136 |
| 8 | LEBENS LAUF..... | 137 |
| 9 | ANHANG..... | 138 |
| 9.1 | Abkürzungsverzeichnis | 138 |
| 9.2 | Materialliste..... | 141 |

1 Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Zum adäquaten Ersatz verlorengegangenen Minerals der Zahnhartsubstanzen Schmelz und Dentin entwickelte die Forschung zahlreiche Methoden und Materialien, die die Wiederherstellung der Funktion und der Integrität des betroffenen Gewebes in hohem Maße erfüllen können. Die anfängliche Idee, aus Universaladhäsiven und Hydroxylapatitpulvern applizierbare Pasten zur einfachen Schmelzregeneration herzustellen (Seidel 2016), wurde in einer *in vitro* Studie aus dem Jahr 2021 bezüglich der Auswahl der Materialien, der Zusammensetzung der Pasten sowie der Vorbehandlung der Schmelzprüfkörper mit vielversprechenden Ergebnissen weitergeführt (Hennrich 2021). Ziel der vorliegenden *in vitro* Untersuchung war die Weiterentwicklung der Adhäsivapatitpasten (AAP) am Substrat Dentin mit rasterelektronenmikroskopischer Beurteilung der entstehenden Verbundzone sowie der Inkorporation der AAP in die Dentintubuli und darüber hinaus die Prüfung der Widerstandsfähigkeit aller beteiligten Strukturen gegenüber äußeren Einflüssen. Aus vier Universaladhäsiven und drei Apatitpulvern, darunter zwei Hydroxylapatite und ein Fluorapatit, wurden zwölf Kombinationen von Adhäsivapatitpasten in mehreren Versuchsreihen auf zuvor mit Phosphorsäure geätzte Dentinprüfkörper aufgetragen und lichtpolymerisiert. Die vier Kombinationen mit den überzeugendsten Verbundeigenschaften wurden darüber hinaus einer künstlichen Alterung in 3.000 Zyklen Thermocycling sowie einem Säuretoleranztest unterzogen und die Auswirkungen im Rasterelektronenmikroskop sowie mittels EDX-Analysen beurteilt. Die Prüfkörper unter Verwendung des Adhäsivsystems Clearfil Universal Bond Quick zeigten von Beginn an durchweg adhäsives Verbundversagen zwischen AAP und Dentin, was sich auch nach Änderung der Vorbehandlung der Dentinprüfkörper innerhalb des Versuchsprotokolls hinsichtlich verkürzter oder ausbleibender Ätzung nicht vermeiden ließ. Für alle übrigen Kombinationen konnte ein stabiler Verbund zum Dentin generiert werden, der auch nach Wasserlagerung nicht beeinträchtigt erschien. Vier Kombinationen aus den Universaladhäsiven Adhese Universal und OptiBond eXTRa Universal mit den drei Apatitpulvern zeigten die überzeugendsten Eigenschaften hinsichtlich homogener AAP-Auflagerungen, die über eine stabile Hybridzone im Sinne einer mikromechanischen Verankerung einen innigen Verbund zum Dentin erzielen konnten. Dem Thermocycling-Verfahren zur Simulation der künstlichen Alterung dentaler Strukturen und Materialien konnten alle Kombinationen weitestgehend standhalten, nach Säureexposition zeigten sich materialabhängige Unterschiede in der Ausprägung des Herauslösen von

Pastenbestandteilen, wobei die Größe der Apatitpartikel und ihre homogene Einbindung in die Matrix des Adhäsivs eine entscheidende Rolle spielen.

Die Weiterentwicklung der AAP brachte neue und entscheidende Erkenntnisse auf dem Weg zu einem potenziellen klinischen Einsatz am Substrat Dentin. Mögliche Anwendungsgebiete der Pasten könnten dabei die Okklusion freiliegender Dentintubuli im Rahmen der Therapie von Dentinhypersensibilitäten oder aber die Versiegelung erosiver Zahnhartsubstanzschäden darstellen. Weitere Untersuchungen zur Haftfestigkeit und die Simulation in der Mundhöhle vorherrschender Bedingungen sind hierfür unerlässlich.

1.2 Abstract

Research has developed numerous methods and materials for the adequate replacement of lost minerals of the dental hard tissues enamel and dentin, which can fulfill the restoration of the function and integrity of the affected tissue to a high degree. The initial idea of producing applicable pastes from universal adhesives and hydroxyapatite powders for easy enamel regeneration (Seidel 2016) has been taken further in an *in vitro* study from 2021 regarding the selection of materials, composition of pastes, and pretreatment of enamel test specimens with promising results. (Hennrich 2021). The aim of the present *in vitro* study was the further development of the adhesive apatite pastes (AAP) on the substrate dentin with scanning electron microscopic evaluation of the resulting bonding zone as well as the incorporation of the AAP into the dentin tubules and, furthermore, the testing of the resistance of all structures involved to external influences. From four universal adhesives and three apatite powders, including two hydroxyapatites and one fluorapatite, twelve combinations of adhesive apatite pastes were applied to dentin test specimens previously etched with phosphoric acid and light-cured in several test series. The four combinations with the most convincing bonding properties were also subjected to artificial aging in 3.000 cycles of thermocycling and an acid tolerance test, and the effects were evaluated by scanning electron microscopy and EDX analyses. The test specimens using the adhesive system Clearfil Universal Bond Quick consistently showed adhesive bond failures between AAP and dentin from the beginning, which could not be avoided even after changing the pretreatment of the dentin test specimens within the test protocol in terms of shortened or absent etching. For all other combinations, a stable bond to the dentin could be generated, which did not appear to be impaired even after water storage. Four combinations of the universal adhesives Adhese Universal and OptiBond eXTRa Universal with the three apatite powders showed the most convincing properties with regard to homogeneous AAP deposits, which were

able to achieve a close bond to the dentin via a stable hybrid zone in the sense of micromechanical anchorage. All combinations were able to withstand the thermocycling procedure for simulating artificial aging of dental structures and materials to a large extent. After exposure to acid, material-dependent differences were observed in the degree of detachment of paste components, with the size of the apatite particles and their homogeneous integration into the matrix of the adhesive playing a decisive role.

The further development of the AAP brought new and decisive insights on the way to a potential clinical application on the substrate dentin. Conceivable fields of application of the pastes could be the occlusion of exposed dentinal tubules as part of the therapy of dentin hypersensitivity or the sealing of areas with erosive tooth wear. Further studies on bond strength and a simulation of the prevailing conditions in the oral cavity are essential for this.

2 Einleitung

2.1 Die Zahnhartsubstanz Dentin

Den Hauptteil des mineralisierten Zahngewebes bildet sowohl in der ersten als auch in der zweiten Dentition das Dentin. Im Gegensatz zum Schmelz ist das Dentin ein vitales, weniger stark mineralisiertes Gewebe, welches durch den Erhalt der Dentin bildenden Odontoblasten auch nach Abschluss der Zahnentwicklung die Funktion der zeitlebens fortlaufenden Nachbildung behält (Hellwig *et al.* 2013). Die Entwicklung der Zähne beginnt bereits im zweiten Embryonalmonat mit der Ausbildung der Zahnleiste durch Verdickung der Epithelzellen ektodermalen Ursprungs und Einwandern derselben in das Mesenchym. Innerhalb dieser Zahnleiste bilden sich durch mitotische Aktivität der Epithelzellen Zahnknospen, welche zu glockenförmigen Schmelzorganen heranreifen und den mesenchymalen Anteil, die Zahnpapille (später die Pulpa) umschließen. Die Epithelzellen differenzieren sich in ein äußeres und ein inneres Schmelzepithel, aus welchem die Schmelzmatrix bildenden Ameloblasten hervorgehen. Aus der Zahnpapille direkt unterhalb der Zellen des inneren Schmelzepithels entwickeln sich die Odontoblasten und beginnen Prädentin zu bilden, welches die sezernierenden Ameloblasten zur Bildung der Schmelzmatrix stimuliert. Das Prädentin besteht hauptsächlich aus sezernierten und zusammengelagerten Kollagenfibrillen vom Typ I, welche durch Ablagerung von Apatitkristallen mineralisiert werden (Junqueira und Carneiro 1996).

CHEMISCHE STRUKTUR

Die chemische Struktur des Dentins setzt sich aus 70 Gew.% anorganischem, mineralisiertem und 20 Gew.% organischem Material sowie 10 Gew.% Wasser zusammen (Hellwig *et al.* 2013). Dabei besteht der anorganische Teil, entsprechend der Zusammensetzung von Zahnschmelz, Zahnzement und Knochen zum Großteil aus in kristalliner Form vorliegendem Phosphat und Calcium. Dieses bildet auch im Dentin sogenannte Hydroxylapatitkristalle ($\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$), welche mit einer angegebenen Länge von 20 nm, einer Breite von 18-20 nm und einer Dicke von 3,5 nm jedoch deutlich kleiner als solche im Schmelz sind und darüber hinaus nicht in Prismenform, sondern mit einer plättchenförmigen Kristallmorphologie mehr oder weniger ungeordnet im Dentin vorliegen (Hellwig *et al.* 2013). Der organische Anteil des Dentins wiederum besteht zu 90% aus Kollagen, davon der Hauptteil aus Typ I-Kollagen, welches von den Odontoblasten gebildet und sezerniert wird. In die so entstehende strukturelle Matrix aus Kollagen können die Hydroxylapatitkristalle eingelagert werden. Die übrigen

10% der organischen Matrix bilden die nichtkollagenen Moleküle, auch NCPs (Non Collagenous Proteins) genannt, wiederum zu unterteilen in phosphorylierte [Amelogenin, Proteolipide, SIBLINGS (small integrin-binding ligand n-linked glycoproteins)] und nichtphosphorylierte Matrixproteine [Osteocalcin, SLRPs (small leucin-rich proteoglycans), Wachstumsfaktoren, Enzyme] (Linde und Goldberg 1993, Suzuki *et al.* 2016, Hellwig *et al.* 2013). Zwei für das Dentin einzigartige und der Gruppe der SIBLINGS zugehörige Proteine sind das DSP (dentin sialoprotein) und das DPP (dentin phosphoprotein or phosphophoryn), welche unter anderem wichtige Rollen bei der Initiation sowie der Ausprägung der Mineralisation spielen (Butler 1998).

HISTOLOGISCHE STRUKTUR

Die Bildung der extrazellulären Matrix des Dentins erfolgt durch die aus Mesenchymzellen differenzierten Odontoblasten, welche auch nach Abschluss der Zahnentwicklung mit ihren in den Dentintubuli befindlichen Odontoblastenfortsätzen für die fortlaufende physiologische Unterhaltung des Dentins verantwortlich sind (Hellwig *et al.* 2013). Während die Odontoblastenzellkörper direkt an der Grenze zur Pulpa liegen, reichen ihre Fortsätze in unterschiedlicher Anzahl und unterschiedlichem Durchmesser über die Dentintubuli in die Peripherie bis einerseits zur Schmelz-Dentin- und andererseits zur Dentin-Zement-Grenze (Schroeder 1999). Dabei verlaufen die Tubuli im koronalen Bereich s-förmig, im apikalen Bereich nahezu geradlinig (Hellwig *et al.* 2013). Die Angaben zur Anzahl der Dentintubuli variieren in der Literatur, wobei eindeutige Unterschiede bezüglich der Dichte und des Durchmessers der Dentintubuli in Abhängigkeit von deren Lokalisation beobachtet worden sind. Ausgehend von der Dentin-Schmelz-Grenze mit einem Durchmesser von ca. 0,8 μm (Eick *et al.* 1997) und einer Anzahl von etwa $1,9 \times 10^6$ Tubuli pro cm^2 (Garberoglio und Brännström 1976) konvergieren die Tubuli in Richtung Pulpa und haben mit einem Durchmesser von ca. 3,0 μm (Eick *et al.* 1997) und einer Dichte von ca. $4,5 \times 10^6$ Tubuli pro cm^2 (Garberoglio und Brännström 1976) pulpanah deutlich mehr Anteil an der Gesamtquerschnittsfläche des Dentins. In einer Studie konnte außerdem gezeigt werden, dass die erläuterten Unterschiede bezüglich der Anzahl der Dentintubuli von der Peripherie zum pulpanahen Dentin hin koronal deutlicher ausgeprägt sind als im Bereich der Wurzel (Mjör und Nordahl 1996). Weitere Untersuchungen zielten darauf ab, den Zusammenhang zwischen der Anzahl der Dentintubuli eines bestimmten Bereichs und der daraus resultierenden Widerstandsfähigkeit – gemessen an der Zugfestigkeit – darzustellen. Es konnte festgestellt werden, dass eine höhere Dichte an Tubuli, wie sie im koronalen Drittel der

Wurzel vorliegt, mit signifikant geringeren Werten der Zugfestigkeit einhergehen, während dem mittelapikalen Drittel der Wurzel durch eine signifikant geringere Anzahl an Tubuli höhere Widerstandsfähigkeit zugeschrieben werden kann (Mannocci 2004). Die in die Tubuli eingebetteten Odontoblastenfortsätze sind vom Dentinliquor umgeben, einer Flüssigkeit, welche als Ultrafiltrat der interstitiellen Flüssigkeit verstanden werden kann (Coffey *et al.* 1970) und einem konstanten, auswärts gerichteten Druck von ca. 25-30 mmHg unterliegt (Terkla *et al.* 1987). Diese anatomischen Gegebenheiten können über die hydrodynamische Theorie von Brännström die Dentinhypersensibilität als Reaktion auf chemische, thermische oder osmotische Reize erklären. Über die myelinisierten A δ -Schmerzfasern werden auf einen der oben genannten Reize hin Flüssigkeitsbewegungen innerhalb der Dentintubuli detektiert und weitergeleitet (Brännström 1963). Durch das Vorliegen dieser Tubuli in lokalisationsabhängig variierender Anzahl und unterschiedlichem Durchmesser ergibt sich für das Dentin im Vergleich zum Schmelz eine gesteigerte Permeabilität, welche von der Peripherie auf die Pulpa zulaufend proportional mit Anzahl und Durchmesser der Tubuli zunimmt.

VERSCHIEDENE DENTINARTEN

Das Dentin lässt sich in verschiedene Zonen einteilen. Den an der Pulpa-Dentin-Grenze palisadenartig angeordneten Odontoblasten-Zellkörpern, entstanden durch Reifung aus den Prä-Odontoblasten mesenchymaler Herkunft (Junqueira und Carneiro 1996), schließt sich zunächst das noch nicht vollständig ausgereifte, hypomineralisierte Prädentin an. In die Peripherie gerichtet folgt das hinter der Mineralisationsfront gelegene Zwischendentin, eine erste Zone der Mineralisation (Hellwig *et al.* 2013). In die von den Odontoblasten sezernierte Extrazellulärmatrix werden hier die aus Calciumphosphat bestehenden Apatitkristalle eingelagert (Goldberg *et al.* 2011). Das Zwischendentin wiederum wird umgeben vom zirkumpulpalen Dentin, die äußere Schicht bis zur Schmelz-Dentin-Grenze bildet das weniger stark mineralisierte Manteldentin, welches von ausgeprägten Verzweigungen der dort in ihrer Anzahl reduzierten Dentintubuli durchzogen wird (Hellwig *et al.* 2013) und eine Schichtdicke von 15-30 μ m aufweist (Goldberg *et al.* 2011). Die geringere Mineralisation dieser äußeren Zone ermöglicht die Aufnahme und Minimierung auftretender Spannungen während physiologischer Belastung der Zähne im Sinne einer strukturellen Anpassung (Wang und Weiner 1997). Im Bereich des zirkumpulpalen Dentins lagert den Dentinkanälchen das dicht mineralisierte, homogene peritubuläre Dentin auf. Durch Apposition bei zunehmendem Alter oder als Reaktion auf äußere Reize wird das Lumen der Dentinkanälchen durch diese Art des Dentins eingeengt. Den Zwischenraum zwischen den einzelnen Tubuli füllt das kollagenfaserreiche intertubuläre

Dentin aus (Hellwig *et al.* 2013). Das Dentin, welches während der gesamten prä- und postnatalen Zahnentwicklung durch sezernierende Aktivität der Odontoblasten entsteht, wird als **Primärdentin** bezeichnet. Sobald die Zähne in funktionellen, antagonistischen Kontakt treten, erfolgt die Bildung des sogenannten **Sekundärdentins**, jedoch in deutlich geringerem Maße (Goldberg *et al.* 2011). Als Reaktion auf äußere Reize wie Karies, Attrition bzw. Abrasion, Erosion oder aber iatrogene Schäden im Sinne eines Präparationstraumas wird als eine Art Abwehrbarriere **Tertiär-** oder **Reizdentin** gebildet (Schaffner *et al.* 2016). Auch die Freisetzung bestimmter Bestandteile von Füllungsmaterialien, wie freie Monomere, können die Bildung von Tertiärdentin als pathophysiologische Reaktion initiieren (Goldberg *et al.* 2011).

2.2 Adhäsive

Die über Jahre hinweg einer enormen Entwicklung unterliegende Adhäsivtechnologie hat die modernen Konzepte der restaurativen Zahnheilkunde hervorgebracht und konzentriert sich, zur Schonung von Zahnhartsubstanz, auf den Ansatz einer konservierenden Kavitätengestaltung und das Erzielen ästhetisch und funktionell hochwertiger Restaurationen.

HISTORISCHE ENTWICKLUNG

Im Jahr 1955 legte Buonocore den Grundstein der heutigen Adhäsivtechnik an Zahnhartsubstanzen, indem er die damalige Idee, Metalloberflächen durch Behandlung mit Phosphorsäure einer besseren Haftung zugänglich zu machen, für die entsprechende Oberflächenbehandlung am Schmelz nutzte (Buonocore 1955). Studien in darauffolgenden Jahren kamen, unter Nachahmung der im Mund vorliegenden feuchten Bedingungen, schnell zu dem Ergebnis, dass die Adhäsion am Dentin im Vergleich zu jener am Schmelz bedeutend schwieriger zu realisieren ist (Buonocore *et al.* 1956). Einzig das von Hagger entwickelte und im Jahr 1951 patentierte, auf dem sauren Monomer GPDM (Glycerophosphat Dimethacrylat) basierende ‚Sevriton Cavity Seal‘ (Söderholm 2007) schien zum Zeitpunkt des damaligen Kenntnisstandes akzeptable Haftwerte zu erzielen (Buonocore *et al.* 1956). Buonocore bediente sich auch bei späteren Untersuchungen mit Quigley dem Monomer GPDM und machte die dort vorliegenden Phosphatgruppen für den Verbund mit Bestandteilen im Dentin verantwortlich (Buonocore und Quigley 1958). Diese beschriebenen Phosphatbindungen waren allerdings nicht von gewünschter dauerhafter Natur. Darüber hinaus wurde in Folgeuntersuchungen die heute allgegenwärtige Problematik der hohen Polymerisationsschrumpfung dieser hochviskösen Füllmaterialien entdeckt und als nicht vereinbar mit den Ansprüchen an eine Haftung am

Dentin erkannt (McLean 1996). Auch das von Masuhara *et al.* 1962 entwickelte und von der Firma Kulzer (Wehrheim, Deutschland) unter dem Namen Palkav® vorgestellte Produkt, basierend auf den Bestandteilen Methylmethacrylat (MMA) und Tri-n-Butylboran (TBB), konnte im Hinblick auf die vermutete chemische Verbindung zum Kollagen des Dentins nicht überzeugen (Masuhara *et al.* 1962). R. L. Bowen entwickelte in den frühen 60er Jahren das oberflächenaktive Co-Monomer NPG-GMA (N-phenylglycine glycidyl methacrylate), welches über seine polaren Gruppen Chelate mit den Calciumionen des im Dentin befindlichen Hydroxylapatits bilden konnte und so in der Lage war, auch am hydrophilen Dentin eine deutlich verbesserte Haftung von selbsthärtenden Methacrylatharzen zu erzielen (Bowen 1965).

Die Gemeinsamkeit dieser anfänglichen Adhäsivsysteme, die heute auch als **Erste Generation** der Dentinbondingsysteme bezeichnet werden, war eine Infiltration ausschließlich in die nicht hydrolysestabile Schmierschicht des Dentins (smear layer; zur genauen Erläuterung siehe Abschnitt *Adhäsion am Dentin*). Diese Schmierschicht wiederum wies zum Dentin selbst keine ausreichende Haftung auf, was ausschlaggebend dafür war, dass die Adhäsivsysteme der ersten Generation nie einen klinischen Erfolg erzielen konnten (Frankenberger und Blunck 2013).

Weitere Entwicklungen etablierten die **Zweite Generation** der Adhäsivsysteme, welche auf dem Ansatz basierten, über Methacrylat-Phosphatester den vorhandenen smear layer zu modifizieren und wie oben beschrieben mit den Calciumionen im Dentin zu interagieren (Causton 1984). Es fanden Untersuchungen zur Vorbehandlung des Dentins mit Gemischen aus unterschiedlichen Konzentrationen an HEMA und Glutaraldehyd statt, bei denen man annahm, dass eine chemische Bindung von Molekülen des HEMA an das Kollagenetzwerk des Dentins stattfindet, woran wiederum der Restauraionskunststoff copolymerisieren kann (Munksgaard und Asmussen 1984). Da es aber auch hier zu keiner Entfernung des smear layers und somit zu keiner Dentinkonditionierung kam, genügten die erzielten Haftwerte nicht den klinischen Ansprüchen (Frankenberger und Blunck 2013).

Im Jahr 1979 veröffentlichte Fusayama seine Untersuchung zur Steigerung der Haftkraft am Dentin und postulierte erstmals neben der bekannten Phosphorsäure-Ätztechnik am Schmelz eine entsprechende Ätzung mit Phosphorsäure am Dentin (Fusayama *et al.* 1979). Dieses neue Vorgehen brachte in Zusammenarbeit mit der Firma Kuraray 1978 das auf dem funktionellen Monomer Phenyl-P basierende erste Total-Etch-Adhäsivsystem Clearfil™ Bond System F hervor. Auf internationaler Ebene erhielt die Dentin-Phosphorsäureätzung wegen Bedenken bezüglich möglicher Pulpaschädigung zunächst jedoch keinen Einzug in die Behandlungspraxis (Van Meerbeek und Yoshida 2012).

Erst Ende der 1980er Jahre wurde mit Entwicklung der ersten Mehrflaschen-Adhäsivsysteme der **Dritten Generation** die Vorbehandlung des Dentins als unverzichtbar angesehen, auch wenn die Ätzung mit 30-40%-iger Phosphorsäure zunächst selektiv am Schmelz erfolgen sollte (Frankenberger und Blunck 2013). Die Vorbehandlung des Dentins unterschied sich je nach Art des Adhäsivsystems, sodass der auf angeschliffenem Dentin haftende smear layer entweder erhalten, modifiziert oder aber vollständig entfernt werden konnte. Aufgrund zu geringer Haftwerte bei reiner Infiltration hydrophiler Monomere in den smear layer zu dessen Stabilisierung, fand die Form des Erhalts des smear layers nicht lange praktische Anwendung. Bei Systemen mit dem Ziel der Modifikation des smear layers kamen milde Säuren (z. B. 4%-ige Maleinsäure) enthaltende, selbstkonditionierende Primer zur Auflösung des smear layers sowie zur oberflächlichen Demineralisation des Dentins zum Einsatz. Sollte eine vollständige Entfernung des smear layers erreicht werden, fand unter anderem die Konditionierung mit Komplexbildnern wie EDTA statt, um eine noch tieferreichende Demineralisation der Dentinoberfläche zu realisieren (Van Meerbeek *et al.* 1992).

Die Problematik der im klinischen Alltag nur schwer zu realisierenden selektiven Schmelzätzung, insbesondere bei der Restauration minimalinvasiver Defekte, führte zur Entstehung der **Vierten Generation**, in welcher die Total-Etch-, bzw. Etch-and-Rinse-Technik zum zentralen Bestandteil wurde (Hellwig *et al.* 2013). Bei Vertretern dieser Generation erfolgt im ersten Schritt ein simultanes Ätzen von Schmelz und Dentin, gefolgt von der Applikation des Primers, welcher hier im Vergleich zur Dritten Generation, ausschließlich die Funktion der amphiphilen Vermittlung zwischen hydrophilem Dentin und hydrophobem Bonding erfüllt, welches im dritten Schritt aufgetragen wird (Frankenberger und Blunck *et al.* 2013).

Dem Wunsch nach weiterer Vereinfachung in der Anwendung wurde mit der Entwicklung von One-Bottle-Adhäsiven in der **Fünften Generation** nachgegangen. In Studien konnten für diese Zwei-Schritt-Systeme in Kombination mit der Total-Etch-Technik bezüglich der marginalen Integrität an Schmelz und Dentin vergleichbare Werte wie bei den Drei-Schritt-Etch-and-Rinse Systemen der vorangehenden Generation gemessen werden (Frankenberger und Tay 2005).

Die Entwicklung der **Sechsten Generation** der Adhäsivsysteme ist bei genauem Betrachten einer nicht zu vernachlässigenden Problematik des Etch-and-Rinse-Ansatzes geschuldet. Das nach Phosphorsäureätzung freigelegte Kollagenetzwerk (zur Erläuterung siehe Abschnitt *Haftung am Dentin*) zeigt eine hohe Anfälligkeit gegenüber Austrocknung und droht bei dieser zu kollabieren. Die adäquate Infiltration des nachfolgend aufgetragenen Primers in das Kollagenfasergeflecht kann infolgedessen eingeschränkt, ein optimaler Verbund zum

eingebrachten Füllungsmaterial somit vermindert sein (Perdigão und Lopes 1999). Um dieser Tatsache entgegenzuwirken, werden in der hier beschriebenen Generation im ersten Schritt sogenannte selbst-ätzende Primer verwendet, welche aufgrund ihres sauren pH-Wertes in der Lage sind, ein entsprechend der Demineralisationstiefe äquivalentes Eindringen der Monomersysteme in die Dentinoberfläche zu ermöglichen. Der Schritt des Absprühens mit Wasser entfällt folglich, der hydrophile Primer infiltriert das Dentin unmittelbar nach dessen Freilegung (Frankenberger und Blunck 2013). Die im Primer enthaltenen Säuren unterscheiden sich in ihrem pH-Wert, wobei ultramilde (pH > 2,5) von milden (pH ca. 2), mittelstarken (pH 1-2) und sehr sauren (pH < 1) Systemen unterschieden werden können. Im zweiten Schritt wird das hydrophobe Adhäsiv aufgetragen und lichtpolymerisiert (Hellwig *et al.* 2013).

Eine weitere Vereinfachung der Anwendung mit erneuter Reduktion der Applikationsschritte erreichen die All-in-One-Adhäsive der **Siebten Generation**, welche die Funktion des Ätzens über die enthaltenen Säuren mit der Funktion des Primers und des Adhäsivs in einer einzigen Flasche vereinen. Finden Monomere Anwendung, welche in saurem Milieu nicht ausreichend hydrolysestabil sind, muss die aufzutragende Flüssigkeit zunächst aus zwei Komponenten angemischt werden, stabilere Monomere können in einer direkt gebrauchsfertigen Lösung enthalten sein (Frankenberger und Blunck 2013). Schnitten die All-in-One-Adhäsive noch vor einigen Jahren in Bezug auf die Haftung am Dentin meist schlechter ab als Systeme im Etch-and-Rinse-Verfahren oder selbstkonditionierende Systeme im Zwei-Schritt-Verfahren (Frankenberger *et al.* 2001, Molla *et al.* 2002), zeigt der aktuelle Stand der Forschung bei der Gegenüberstellung von Total-Etch- und Self-Etch-Adhäsivsystemen – mit wenigen materialabhängigen Ausnahmen (Cardoso *et al.* 2019) – vergleichbare Werte bezüglich der Dentinhaftung (Digole *et al.* 2020, Yamauchi *et al.* 2019).

Die neuesten Adhäsive der **Achten Generation** lassen dem Anwender die Wahl, diese in Kombination mit dem Etch-and-Rinse-Verfahren, im Self-Etch-Verfahren oder auch mit selektiver Schmelzätzung anzuwenden und werden deshalb auch als Universaladhäsive bezeichnet (Van Meerbeek *et al.* 2020). Die vier in vorliegender Untersuchung verwendeten Adhäsive können gemäß dieser Definition allesamt der Kategorie der Universaladhäsive zugeordnet werden.

HAFTMECHANISMUS AM DENTIN

Die traditionellen makromechanischen Retentionstechniken, beispielsweise mit Schaffung von Unterschnitten, sind den adhäsiven Haftmechanismen der modernen minimal-invasiven Zahnheilkunde gewichen und wurden durch das Grundprinzip der mikromechanischen Verankerung abgelöst (Heymann und Bayne 1993). Während am Schmelz nach Ätzung mit 30-40%-iger Phosphorsäure durch Herauslösen der Schmelzprismen (Ätztyp I), bzw. der interprismatischen Substanz (Ätztyp II), ein mikroretentives Relief entsteht, welches in der Lage ist einen hydrophoben, niedrig viskösen Schmelzhaftvermittler aufzunehmen und so einen randspaltfreien Verbund zu einem Kompositmaterial einzugehen, stellt die Adhäsion zum Dentin eine weitaus größere Herausforderung dar (Hellwig *et al.* 2013). Ursächlich für die Komplexität der Dentinhaftung sind vor allem die zwei nachfolgend beschriebenen Phänomene. Die chemische und strukturelle Zusammensetzung, insbesondere die mit Liquor gefüllten Dentintubuli und der nach außen gerichtete Druckgradient dieser intrinsischen Flüssigkeit, lassen das Dentin als vorwiegend hydrophile Substanz erscheinen, an welche ein in seiner chemischen Grundstruktur hydrophobes Komposit fest verankert werden soll (Cardoso *et al.* 2011, Schroeder 1999). Darüber hinaus entsteht bei iatrogener mechanischer Bearbeitung von Zahnoberflächen auf dem Dentin eine sogenannte **Schmierschicht** (engl. **smear layer**), bestehend aus Zelltrümmern, Bakterien (Hellwig *et al.* 2013), Speichel- und Blutbestandteilen, Hydroxylapatitpartikeln und denaturiertem Kollagen (Pashley *et al.* 1988a), welche eine zu überwindende Barriere beim Erreichen eines innigen Kontaktes zum darunter liegenden Dentin darstellt. Der smear layer zeigt eine Schichtstärke von etwa 1-5 µm (Pashley 1984, Tao *et al.* 1988a) und enthält unter anderem eingeschlossene Apatitpartikel in einer Größe von 0,5-15 µm (Eick *et al.* 1970). Durch das Eindringen der Schnittreste in die offenen Dentintubuli entstehen durch Verpfropfung sogenannte **smear plugs**, welche eine Länge von bis zu 40 µm erreichen können (Garg und Garg 2020) und durch das Herabsetzen der Dentinpermeabilität die Penetration von Mikroorganismen erschweren (Vojinović *et al.* 1973), wenngleich sie diese nicht vollständig verhindern können (Bergenholtz 1977). Die Ausprägung des smear layers variiert hinsichtlich seiner Schichtdicke abhängig von der Art der Oberflächenbearbeitung, wobei aus einer Präparation mit groben Diamantschleifern ohne Wasserkühlung die dicksten Schichten resultieren (Brännström *et al.* 1979). Der mit einer Stärke von ca. 1-10 MPa am darunterliegenden Dentin haftende smear layer (Haller 1994) lässt sich weder durch Absprühen mit Wasser, noch durch ein mechanisches Abwischen adäquat entfernen (Brännström 1984). Während man sich in der Ersten und Zweiten Generation der Adhäsivsysteme – zur Erzielung eines dauerhaften Verbunds zum Zahn – eben diese Tatsache zu Nutze machen wollte, musste der smear layer in

weiteren Untersuchungen beim Aufbau einer stabilen Haftung zum kompakten Dentin, primär als ein Hindernis und limitierender Faktor in der Adhäsion betrachtet werden (Lutz *et al.* 1993). Zum Erreichen eines stabilen, dauerhaften Verbundes zwischen Zahnhartsubstanz und Restormaterial stehen unter Berücksichtigung dieser beiden am Dentin vorliegenden Phänomene grundsätzlich zwei Möglichkeiten zur Verfügung. So kann der smear layer einerseits über den **Self-Etch**-Ansatz in diesen Verbund mit einbezogen werden, andererseits kann mit dem Ziel einer vollständigen Entfernung des smear layers das **Etch-and-Rinse**-Verfahren Anwendung finden (Van Meerbeek *et al.* 1994). Beiden Mechanismen gemein und die Grundlage aller aktuellen Adhäsive ist die mikromechanische Verankerung, welche durch einen Austauschprozess organischen Materials der Zahnhartsubstanzen und funktioneller Monomere der Bondingsysteme erreicht wird (Erickson 1989, Van Meerbeek *et al.* 2001).

Der Etch-and-Rinse-Ansatz

Die Besonderheit des Etch-and-Rinse-Ansatzes ist der initiale Ätzvorgang mit meist gelartiger 20-37%-iger Phosphorsäure, welche zunächst auf den Schmelz und nach ca. 15 s auf das Dentin aufgetragen werden sollte, um nach einer Gesamteinwirkzeit von 15-20 s auf dem Dentin für mindestens 15 s mit Wasser abgesprüht zu werden (Hellwig *et al.* 2013). Diese Konditionierung sorgt für die Entfernung des smear layers sowie der in den Tubuluseingängen gelegenen Schmierpfropfen und demineralisiert das Dentin gleichzeitig bis in eine Tiefe von 3-5 μm mit der Konsequenz einer nahezu Hydroxylapatit-freien Zone aus freigelegtem Kollagenetzwerk im intertubulären Dentin (Perdigão *et al.* 1996, Van Meerbeek *et al.* 1992). Durch das Eindringen der Phosphorsäure in die Dentintubuli unterliegt auch das hypermineralisierte peritubuläre Dentin einer Demineralisation, welche durch den höheren Mineralisationsgrad sogar als effektiver beschrieben wird (Frankenberger 2013). Beim anschließenden Trocknen der demineralisierten Oberfläche, welches unter anderem die weißlich-opake Ätzzone im Schmelz sichtbar macht, tritt im Dentin die Problematik der kollabierten Fibrillen des Kollagenetzwerks auf, welche eine suffiziente Penetration von Primer und Adhäsiv nahezu unmöglich macht (Perdigão und Frankenberger 2001). Hieraus ergibt sich ein klinisch notwendiger Arbeitsschritt des Wiederanfeuchtens (re-wetting) der Dentinoberfläche mit Wasser im Sinne der **Wet-/Moist-Bonding-Technik**, um das Kollagen wieder aufzurichten (Tay *et al.* 2003). Um diesen techniksensitiven Schritt zu umgehen, finden Primer mit darin enthaltenen hydrophilen Monomeren, z. B. HEMA (2-Hydroxyethylmethacrylat), gelöst in Ethanol oder Wasser, Anwendung (Cardoso *et al.* 2011). Während HEMA die Reexpansion des Kollagenetzwerks

fördern kann, sorgen die Lösungsmittel für ein Verdrängen des Wassers aus der Dentinoberfläche und bereiten diese für die anschließende Infiltration des hydrophoben Bondings vor (Carvalho *et al.* 2003). Wird dieses *in vivo* lichtpolymerisiert, entsteht eine erstmals von Nakabayashi im Jahr 1992 beschriebene **Hybridschicht**, bestehend aus infiltriertem Kollagenetzwerk und in die Dentintubuli reichenden Kunststoffzapfen, auch als **Resin-Tags** bezeichnet (Nakabayashi *et al.* 1992a). Diese Tag-Bildung scheint Untersuchungen zufolge jedoch nur einen geringen Beitrag zur Dentinhaftung zu leisten (Nakabayashi *et al.* 1991). Kommt es zu einer ungleichen Konditionierungs- und Penetrationstiefe, entstehen Bereiche inadäquater Monomerinfiltration – auch als **Nanoleakage** bezeichnet – welche hauptsächlich für die Degradation des adhäsiven Verbunds verantwortlich gemacht werden (De Munck *et al.* 2005). Den eingesetzten Monomeren ist es bislang nicht möglich, das nach Demineralisation verbliebene Wasser in den extra-, aber vor allem in den intrafibrillären Bereichen der Kollagenmatrix zu verdrängen, um so das Kollagenetzwerk vollständig zu infiltrieren (Breschi *et al.* 2008). Folglich resultieren unweigerlich Bereiche mineralarmer, harzärmer und wasserreicher Kollagenfibrillen, die langfristig zur Schädigung der Grenzflächenintegrität führen (Liu *et al.* 2011a).

Der Self-Etch-Ansatz

Die selbstätzenden Systeme benötigen im Gegensatz zu ihren Pendanten im Etch-and-Rinse-Ansatz keinen initialen Ätzschritt, da die enthaltenen sauren Monomere zu einem simultanen Ätzen und Primern führen und den smear layer lediglich auflösen oder modifizieren, um ihn anschließend samt aller Demineralisationsprodukte in den adhäsiven Verbund mit einzubeziehen. Ein Absprühen mit Wasser entfällt demnach. Die Morphologie der entstandenen Hybridschicht zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der Fähigkeit der sauren Monomere das Dentin zu demineralisieren (Cardoso *et al.* 2011). Während starke Self-Etch-Adhäsive ($\text{pH} \leq 1$) morphologisch ähnliche Oberflächen und Hybridschicht-Dicken erzeugen, wie sie auch bei mit Phosphorsäure geätztem Dentin beobachtet werden, resultieren aus der Behandlung mit milden Self-Etch-Adhäsiven ($\text{pH} \geq 2$) wesentlich schmalere Hybridschichten mit gering ausgebildeten oder gar fehlenden Tags innerhalb der Dentintubuli. Dennoch können auch diese Adhäsive zufriedenstellende Haftfestigkeiten erreichen (Van Meerbeek *et al.* 2003), was zu der Annahme führte, dass die durch fehlende Demineralisation in der Tiefe erhaltenen Hydroxylapatitkristalle um die Kollagenfibrillen für eine chemische Interaktion mit den Monomeren zur Verfügung stehen (Yoshida *et al.* 2004). Yoshida *et al.* (2004) konnten hierbei zeigen, dass das im Jahr

1981 von der Firma Kuraray entwickelte 10-MDP-Monomer (10-Methacryloyloxydecyl-Dihydrogenphosphat) bezüglich des Bindungspotenzials neben 4-MET (4-Methacryloxyethyl-Trimellitic-Säure) und Phenyl-P (2-Methacryloxyethyl-Phenyl-Hydrogenphosphat) die besten Werte aufwies (Yoshida *et al.* 2004). Diese Interaktion zwischen den sauren Monomeren und dem Hydroxylapatit der Zahnhartsubstanz als Austauschprozess wird auch als **Adhäsion-Dekalzifikations-Konzept** (AD-Konzept) bezeichnet und beruht auf einem 2-Phasen-Prinzip (Yoshida *et al.* 2001, Yoshioka *et al.* 2002). Im ersten Schritt gehen die funktionellen Gruppen der Monomere eine chemische Bindung mit dem Calcium des Hydroxylapatits ein, während OH^- und PO_4^{3-} Ionen in Lösung gehen. Die Stabilität der gebildeten Calciumsalze bestimmt im Folgenden, ob es zu einer Adhäsion am HAP und demnach zu einer limitierten Dekalzifikation an der Oberfläche kommt – dies ist z. B. beim hydrolysestabilen Calciumsalz des 10-MDP-Monomers in milden selbstätzenden Adhäsivsystemen der Fall – oder ob die Calciumsalze durch ihre Instabilität zerfallen und an der Oberfläche eine weitere Dekalzifikation bewirken, wie dies z. B. für das in starken selbstätzenden Adhäsivsystemen vorkommende Phenyl-P der Fall ist (Van Meerbeek *et al.* 2011). Durch umfassende Untersuchungsergebnisse konnte gezeigt werden, dass das 10-MDP-Monomer in der Lage ist, mit dem Calcium der Zahnhartsubstanz eine ca. 4 nm dicke Schicht aus stabilen 10-MDP-Calcium Kristallen zu bilden, welche als Ausdruck einer innigen Verbindung dieser beiden Komponenten verstanden werden kann (Fukegawa *et al.* 2006, Yoshihara *et al.* 2010).

Für die beschriebenen Self-Etch-Adhäsive konnten in Studien bezüglich der Adhäsion am Schmelz bei Anwendung des Etch-and-Rinse-Ansatzes bessere Haftwerte verglichen mit der Anwendung des Self-Etch-Ansatzes gezeigt werden, wohingegen die Adhäsion am Dentin in diesen Studien durch eine separate Phosphorsäureätzung nicht verbessert werden konnte (Nagarkar *et al.* 2019, Rosa *et al.* 2015). Durch die Kombination aus mikromechanischer Verankerung und dem Aufbau einer chemischen Bindung zum Hydroxylapatit, wird der Klasse der milden Self-Etch-Adhäsive noch immer eine hohe Zuverlässigkeit für eine dauerhafte Bindung zum Dentin zugeschrieben (Van Meerbeek *et al.* 2020).

2.3 Zahnhartsubstanzdefekte

Karies ist ein durch in der Mundhöhle vorkommende Bakterien verursachter, mehrstufiger Prozess, aus welchem eine kavitierte Läsion mit Mineralverlust im Schmelz bzw. Dentin resultiert (Featherstone 2008). Kariogene Bakterien – v. a. solche der beiden Gruppen Mutans-Streptokokken und Laktobazillen – fermentieren der Mundhöhle zugeführte Kohlenhydrate und produzieren dabei organische Säuren, welche durch das Senken des lokalen pH-Werts nachweislich dazu in der Lage sind, die mineralische Phase von Schmelz und Dentin zu beeinflussen (Loesche 1986). Dabei werden Calcium- und Phosphat-Ionen aus dem Kristallgefüge herausgelöst und das Kollagenetzwerk wird freigelegt, wobei dieser anhaltende Entmineralisationsprozess in der Ausbildung einer Kavität endet (Featherstone 2004).

Die Karies gehört noch immer zu den häufigsten chronischen Erkrankungen und steht in einem Ranking der Weltgesundheitsorganisation (WHO) aus dem Jahr 2003 zu Behandlungskosten chronischer Erkrankungen an vierter Stelle (Petersen 2003). Die Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) zeigt jedoch mit 81,3% kariesfreien Gebissen und einem Kariesindex (DMFT) von 0,5 bei 12-Jährigen einen weiteren Rückgang der Kariesprävalenz über alle sozialen Schichten hinweg (Jordan und Micheelis 2016).

Ebenfalls säurebedingt, jedoch im Gegensatz zur Karies nicht bakterieller Natur, ist das immer mehr an Bedeutung gewinnende Phänomen **erosiver Zahnhartsubstanzschädigung**. Weit verbreitete extrinsische Faktoren dieser erosiven Schäden sind dabei säurehaltige Lebensmittel und Getränke in mittlerweile übermäßigem Konsum (Ramalingam *et al.* 2005). Zu den intrinsischen Faktoren zählen hauptsächlich chronische Magen-Darm-Erkrankungen, wie gastroösophageale Refluxerkrankungen oder Anorexie und Bulimie, welche mit häufigem Erbrechen einhergehen. Einen großen Beitrag der biologischen Faktoren, die den Erosionsprozess beeinflussen, leistet der Speichel mit seinen natürlichen Schutzfunktionen, wie Verdünnung und Ausscheidung erosiver Substanzen, Neutralisieren und Puffern von Säuren sowie Bereitstellen von Calcium und Phosphat (Zero und Lussi 2005). Zudem trägt der Speichel zur Bildung der erworbenen Pellikel bei, welche nachweislich eine schützende Wirkung gegen die saure Demineralisation hat (Hannig und Balz 1999).

2.4 Zahnhartsubstanzregeneration

Verlangte das Konzept von G. V. Black in Generationen von Zahnärzten einen hochinvasiven, operativen Ansatz zur Behandlung kariöser Läsionen (Black 1908), so hat das zunehmend bessere Verständnis über die Komplexität des dentalen Biofilms (Costerton 1995) und die parallele Entwicklung der modernen konservierenden Zahnheilkunde zu einem Strategiewechsel in der zahnärztlichen Therapie geführt. Diese verfolgt nunmehr das primäre Ziel eines präventiven Handelns, d. h. der Entstehung kariöser Läsionen vorzubeugen (Innes *et al.* 2019) und diese im Falle ihres Auftretens mit möglichst minimal-invasiven Eingriffen zu behandeln (Frencken *et al.* 2012).

Betrachtet man die non-invasiven Therapiemöglichkeiten, so ist der Einsatz von Fluoriden als kariespräventive Maßnahme allgegenwärtig. Die zugrundeliegenden Mechanismen basieren unter anderem auf einer Reduktion der Demineralisation. Hierbei sind vor allem die in der Umgebung des Zahns gelösten Fluoridionen relevant, welche durch Adsorption auf der Oberfläche der Apatitkristalle eine schützende Barriere bilden (Ogaard *et al.* 1988). Das zweite Wirkprinzip der Fluoride basiert auf der Förderung der Remineralisation dadurch, dass das Fluorapatit während der Remineralisation bereits im noch leicht sauren pH-Bereich gebildet wird und somit schneller als die übrigen Calciumphosphat-Phasen des Schmelzes zum Prozess der Remineralisation beiträgt (Hellwig *et al.* 2012). Neben den Fluoriden wird auch den Casein-Phosphopeptiden (CPP) in einer Verbindung mit amorphem Calciumphosphat (ACP) antikariogenes Potenzial zugeschrieben. CPP ist dabei in der Lage die amorphe Calciumphosphat-Phase (ACP) an der Zahnoberfläche zu stabilisieren und die betreffenden Ionen (Calcium und Phosphat) bei einem pH-Abfall freizusetzen, um so ein an Mineralien übersättigtes Milieu zu schaffen und die Demineralisation des Zahnschmelzes zu unterdrücken (Reynolds 1998). Darüber hinaus konnte in einem *in situ* Modell gezeigt werden, dass die Kombination von CPP-ACP und Fluorid, verglichen mit reinen CPP-ACP- oder reinen Fluorid-Formulierungen, über einen synergistischen Wirkeffekt einerseits den Einbau von Fluoridionen in die Plaque steigern kann, sowie andererseits beim Aspekt der Remineralisation einer vorhandenen Läsion überlegen ist (Reynolds *et al.* 2008).

In Ergänzung zu diesen präventiven Ansätzen erlangte in der Vergangenheit zudem der Ansatz der Nanotechnologie mit biomimetischen Strategien zum Generieren schmelz- oder dentinähnlicher Strukturen als Grundlage für die Zahnhartsubstanzregeneration zunehmend große Bedeutung (Arifa *et al.* 2019). Die Biomimetik nutzt zum Lösen technischer Fragestellungen Mechanismen der Natur als Vorbild, indem sie deren Prinzipien nachahmt (Mann 2000).

Während biomimetische Ansätze im Bereich der Schmelzregeneration durch den Einsatz von Hydroxylapatit-Partikeln in Nanogröße bereits seit etwa einem Jahrzehnt etabliert sind und ihre Wirksamkeit in Bezug auf die Remineralisation des Schmelzes in einigen *in situ* Studien bestätigt werden konnte (Hannig und Hannig 2012, Najibfard *et al.* 2011), stellt die Remineralisation des Dentins, mit der Wiederherstellung seiner Funktionalität als oberstes Ziel, auch gegenwärtig eine der größten Herausforderungen der modernen Zahnheilkunde dar (Bertassoni *et al.* 2009). Von anfänglichen Untersuchungen, deren Ergebnisse hinsichtlich der Regeneration des Dentins nicht ausreichend überzeugen konnten (Fan *et al.* 2009), über Studien, die interessante und zukunftsorientierte Ansätze liefern (Forsback *et al.* 2004, Ning *et al.* 2012, Reyes-Carmona *et al.* 2009), hat die nanotechnologische Forschung im Speziellen beim Substrat Dentin dennoch große Fortschritte gemacht.

Die Nanotechnologie unterscheidet die beiden Grundprinzipien **top-down** und **bottom-up**. Beim klassischen, ionenbasierten top-down-Konzept der Remineralisation erfolgt die Wiederherstellung verlorengangener Mineralien auf der Basis des Vorhandenseins sogenannter Impfkristallite, welche ein epitaktisches Wachstum auslösen können (Jiang und Liu 2004). In Bereichen fehlender Keimkristalle, wie sie im oberflächlichen Anteil apatitarmen, kariesbefallenen Dentins oder innerhalb der nahezu vollständig demineralisierten Hybridschicht bei Anwendung der Etch-and-Rinse-Adhäsivsysteme vorkommen (Niu *et al.* 2014), bleibt eine solche Remineralisation jedoch aus (Klont und ten Kate 1991). Diese Bereiche stellen demnach eine Limitation top down Ansatzes dar.

Beim bottom-up-Ansatz wird Biomineralisation dadurch erreicht, dass über Gerüststrukturen (Scaffolds, Templates) eine Keimbildung mit anschließendem Wachstum eines Nanomaterials initiiert wird (Silva 2006). Übertragen auf die Remineralisation des Dentins, kann dieser nicht-klassische Kristallisationsweg über folgenden mehrstufigen Prozess beschrieben werden. Calcium- und Phosphat-Ionen assemblieren sich zu sogenannten Pränukleationsclustern, welche in Anwesenheit von NCP-Analoga (Non Collagenous Proteins-Analoga) zu ACP-Nanovorläufern aggregieren und nach Eindringen in die intrafibrillären Zwischenräume des Kollagens zu Apatit heranwachsen (Dey *et al.* 2010). Den NCPs im Dentin wird sowohl bei der Keimbildung als auch beim Wachstum der Apatitkristalle im Biomineralisationsprozess eine wichtige Rolle zugeschrieben (Butler 1995). Gegenstand vieler vergangener und aktueller Forschungsansätze ist demnach die Entwicklung von Analoga, welche die Funktionen der NCPs zur Nachahmung natürlicher Mineralisationsprozesse übernehmen können (Cao *et al.* 2015).

2.5 Bioaktive Materialien zur Dentinregeneration

Die zahnmedizinische Forschung zur Dentinregeneration im Bereich der Nanotechnologie und Biomimetik nutzt eine Vielzahl an Techniken und bioaktiven Materialien, darunter das soeben beschriebene Generieren von NCP-Analoga, Agarose-Hydrogele, Bioaktive Gläser, Calciumphosphat-Nanopartikel, CPP-ACP und Nano-Hydroxylapatitpartikel.

NCP-ANALOGA

Zur Nachahmung der komplexen Morphologie kalzifizierter menschlicher Gewebe einschließlich ihrer Wechselwirkungen zwischen der anorganischen Apatitphase mit der Kollagenmatrix und den NCPs (Linde und Lundgren 1995), wurden in der biomimetischen Forschung zur Remineralisation Polyelektrolyt- und Polyaminsäure-Makromoleküle eingesetzt (Girija *et al.* 2004). Den Forschern einer Studie aus dem Jahr 2008 gelang in einem Versuchsaufbau mit weißem Portlandzement als Quelle für langsam freiwerdende Calciumionen und einer phosphathaltigen Flüssigkeit in Gegenwart der Analoga niedermolekulare Polyacrylsäure sowie Polyvinylphosphonsäure der Nachweis einer intra- sowie interfibrillären Remineralisation von mit Phosphorsäure geätztem Dentin (Tay und Pashley 2008). Auch wenn die Dimensionen und die Anordnung der neu gebildeten Apatitablagerungen denen des darunter liegenden intakten Dentins nahekamen, zeigten die TEM-Untersuchungen (Transmissionselektronenmikroskop), dass das teilweise remineralisierte Dentin im Vergleich zum intakten Dentin weniger mineralreich und weniger gut organisiert war (Tay und Pashley 2008). In Anlehnung an den Gedanken, Bereiche unzureichender Kunststoff-Infiltration im demineralisierten Dentin nach Anwendung der Adhäsivtechnik remineralisieren zu können, um ein frühzeitiges Versagen der Adhäsiv-Dentin-Verbindung zu vermeiden, wurde in einer Studie von Kim *et al.* (2010) mit Einsatz von selbststützenden Adhäsiven und Kompositen an den Ausgangsproben ein ähnlicher Ansatz gewählt. Es konnte gezeigt werden, dass in Abwesenheit biomimetischer Analoga in einem Remineralisationsmedium ausschließlich in teilweise demineralisiertem Kollagen eine Remineralisation stattfand, welche am ehesten über epitaktisches Wachstum vorhandener Keimkristalle zu erklären ist. Hingegen zeigte sich in Anwesenheit der Analoga Polyacrylsäure und Polyvinylphosphonsäure zusätzlich eine intrafibrilläre Ablagerung einer Mineralphase auch in vollständig demineralisierten Kollagenbereichen (Kim *et al.* 2010). Auch Liu *et al.* (2011) kamen bei ihren Untersuchungen zur quantitativen Bewertung der Mineralisation – unterstützt durch den Einsatz der Mikro-Computertomographie – zu entsprechendem Ergebnis (Liu *et al.* 2011b). In einer Studie von Qi *et al.* (2012) wurde das NCP-Analog Polyacrylsäure

mit Natriumtripolyphosphat in Form einer MTA-Formulierung als Trägersystem kombiniert und mittels Untersuchung durch Mikro-Computertomographie ließ sich eine Remineralisation von kariesähnlichem Dentin beobachten (Qi *et al.* 2012). Auch STMP (Sodium-Trimetaphosphat) fungierte in einer Studie von Zhang *et al.* (2012) über eine Phosphorylierung von Kollagen Typ I in einer demineralisierten Dentinmatrix als NCP-Analog und konnte in Kombination mit einer Calciumhydroxid Behandlung auch bei nahezu vollständigem Fehlen von Restkristallen zu einer signifikanten Remineralisation der Dentinoberfläche beitragen, indem es in den Lückenbereichen des phosphorylierten Kollagens die Bildung von Pränukleationsclustern induzierte (Zhang *et al.* 2012).

AGAROSE-HYDROGEL

Auch mit Hilfe zum damaligen Zeitpunkt neuartiger Agarose-Hydrogele ließ sich eine Mineralisation demineralisierter Dentinoberflächen erreichen. In einer Studie von Ning *et al.* (2012) entwickelten die Autoren ein mit Phosphat- und CaCl_2 -Ionen versehenes Agarose-Gel und konnten in ihrem Versuchsaufbau zeigen, dass dieses Gel eine Ablagerung von Hydroxylapatit auf einer demineralisierten Dentinoberfläche induzierte. Erklärt wurde dieses Phänomen dadurch, dass die polyanionischen Agarosemoleküle an die positiv geladenen Kollagenmoleküle des Dentins binden können und so eine Hydrogel-Umgebung für die anschließende Mineralisation bilden, welche durch Diffusion von Calcium- und Phosphat-Ionen in das Agarosegel stattfindet. Obwohl die abgelagerten Kristalle in ihrer Morphologie denen des natürlichen Dentins ähnelten, Dentintubuli verschlossen werden konnten und eine gewisse Bindungsstärke zum Dentin vermutet wurde, konnte in der Studie keine ausreichende Haftkraft der mineralischen Ablagerungen zum Dentin nachgewiesen werden (Ning *et al.* 2012). Da außerdem die geringe Geschwindigkeit einer solchen Remineralisation eine klinische Anwendung uninteressant erscheinen ließ, nutzten die Autoren in einer Studie aus dem Jahr 2014 die Technik der Elektrophorese, um die Hydroxylapatit-Bildung durch schnelleren Ionentransport innerhalb eines CaCl_2 - sowie Na_2HPO_4 -Agarosegels zu beschleunigen (Wu *et al.* 2014). Erstmals gelang hier die Remineralisation einer demineralisierten Dentin-Kollagen-Matrix mit intra- und interfibrillären, dicht gepackten Hydroxylapatit-Partikeln sowie gleichzeitig die Bildung einer prismenartigen Schmelzstruktur (Wu *et al.* 2014). Um die potenziell klinische Anwendung eines solchen Mineralisationssystems im Gegensatz zu oben beschriebenen Studien auch *in vivo* zu testen, führte die gleiche Arbeitsgruppe im Jahr 2017 Untersuchungen mit entsprechendem Agarosegel in einem Tiermodell durch, welche sie zu ähnlichen Ergebnissen führten. Bei klinischer Anwendung wäre hier jedoch das mehrmalige Tragen eines schienenartigen

Trägersystems für mindestens acht Stunden pro Anwendung notwendig (Han *et al.* 2017), was diesen Ansatz wenig praktikabel erscheinen lässt.

BIOAKTIVE GLÄSER

Bioaktive Gläser als eine synthetische Werkstoffklasse zeichnen sich durch die für die medizinische Anwendung wichtigen Eigenschaften Biokompatibilität und Osteokonduktivität aus (Thompson und Hench 1998, Wilson *et al.* 1981). Larry L. Hench entwickelte Ende des Jahres 1969 das bioaktive Glas mit der Bezeichnung 45S5 Bioglass und publizierte im Jahr 1971 den ersten Artikel, der eine Erklärung zur Interaktion dieses Materials mit Knochen lieferte (Hench 2006). Durch Einbringen des bioaktiven Glases in menschliches Gewebe bildet sich über die Freisetzung von Ionen an der Oberfläche eine Hydroxylapatit-Schicht aus, welche anschließend mit der ebenfalls aus Hydroxylapatit aufgebauten Knochensubstanz eine innige chemische Verbindung eingehen kann und so die Knochenregeneration fördert (Lin *et al.* 1994). Durch diese Eigenschaften haben bioaktive Gläser auch im zahnmedizinischen Bereich unter anderem zur Behandlung von Dentinhypersensibilitäten, aber auch bei der Regeneration parodontaler Knochendefekte ihren Einsatz gefunden (Varanasi *et al.* 2011).

Lee *et al.* (2005) konnten in einer *in vitro* Studie zur Behandlung von Dentinhypersensibilitäten mittels einer selbst entwickelten Bioglaspaste eine Okklusion der Dentintubuli bis in eine Tiefe von 60 µm erreichen (Lee *et al.* 2005). Die Autoren einer weiteren Studie synthetisierten mittels der Sol-Gel-Methode ein bioaktives Glas, welches nachweislich die Flüssigkeitsleitfähigkeit im Dentin herabsetzte und die damit verbundene Reduktion der Hypersensibilität auch nach anschließender Oberflächenmanipulation über sieben Tage aufrechterhielt (Mitchell *et al.* 2011). Untersuchungen zur Remineralisationsfähigkeit bioaktiver Glasnanopartikel von Vollenweider *et al.* (2007) zeigten jedoch die Grenzen des Materials dahingehend auf, dass die mechanischen Eigenschaften der untersuchten remineralisierten Dentinproben deutlich unter der Stabilität von natürlichem Dentin lagen. Als Ursache hierfür wurde eine unzureichende Organisation des neu abgelagerten Minerals sowie der fehlende Verbund mit dem durch Vorbehandlung freigelegten Kollagenetzwerk beschrieben (Vollenweider *et al.* 2007).

CALCIUMPHOSPHAT-NANOPARTIKEL

Im Jahr 2011 gelang es Forschern erstmals ein experimentelles Komposit mit ACP-Partikeln in Nanogröße (Durchmesser = 116 nm) zu synthetisieren, welches zum einen Festigkeitswerte nahe denen kommerzieller Komposite erreichte und zum anderen eine bei sinkendem pH-Wert steigende Freisetzung von Calcium- und Phosphat-Ionen aufwies (Xu *et al.* 2011). Hintergrund der Entwicklung eines solchen Materials war das allgegenwärtige Problem der Sekundärkaries im Bereich der Grenzfläche von Zahn zu Restaurationsmaterial, welche als einer der Hauptgründe für den Misserfolg von Adhäsivrestorationen angesehen werden kann. Durch die Größenreduktion der ACP-Partikel in den Nanometer-Bereich konnte die Gesamtoberfläche dieser Calcium- und Phosphat-Ionen freisetzenden Partikel erhöht werden und ihr Füllstoffgehalt zur Erzielung gleichbleibender Ionenfreisetzung geringer gehalten werden. Dies bot mehr Platz für stabile Glasfüllstoffe, welche für die mit handelsüblichen Kompositen vergleichbaren mechanischen Eigenschaften verantwortlich gemacht werden (Xu *et al.* 2011). ACP-gefüllte Komposite früherer Studien mit Partikelgrößen im zweistelligen μm -Bereich konnten hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften, insbesondere der Biegefestigkeit, den Anforderungen an ein Restaurationsmaterial im klinischen Praxisalltag hingegen nicht gerecht werden (Skrtic *et al.* 2000). Um dem Problem der zeitlich begrenzten Ionenfreisetzung solcher Kompositmaterialien (Xu *et al.* 2010) entgegenzuwirken, entwickelten die Autoren Zhang *et al.* 2015 in einer Studie einen sogenannten wieder aufladbaren Calciumphosphat-enthaltenden Haftvermittler, welcher nach Kontakt mit einer Calcium-phosphat-reichen Lösung in der Lage war, über weitere zwei bis drei Wochen kontinuierlich die für eine Remineralisation erforderlichen Ionen abzugeben. Eine Adhäsivformulierung mit einem nACP-Füllstoffgehalt von 30% lieferte hinsichtlich der Dentinhaftung sowie der Calcium- und Phosphat-Ionen-Freisetzung und Wiederaufladung die besten Ergebnisse. Nicht ausreichend erforscht blieb hier jedoch das Remineralisationsverhalten unter *in vivo* pH-Bedingungen und die Entwicklung einer alltags-tauglichen Formulierung als Medium für die Aufladung des Adhäsivs (Zhang *et al.* 2015). Im Gegensatz zu oben Beschriebenem legte eine Studie aus dem Jahr 2017 den Fokus der Untersuchungen auf die Fähigkeit Läsionen im menschlichen Dentin remineralisieren zu können (Weir *et al.* 2017). Für Nanokomposite, welche nACP in Kombination mit mikroskopisch kleinen Tetracalciumphosphat-Partikeln (TTCP) enthielten, konnte in einem Zeitraum von acht Wochen eine Regeneration von verloren gegangenem Mineral in Dentinläsionen im Sinne der top-down-Methode gezeigt werden. Der positive Effekt einer Erhöhung der Ionenfreisetzung durch die zusätzliche Ionenquelle TTCP blieb jedoch wider Erwarten aus. Die Studie verzichtete auf die Kombination des Komposit mit einem Adhäsiv und ließ auch die in der Studie

von Zhang *et al.* (2015) untersuchte Wiederaufladefähigkeit von nACP-Formulierungen aus (Weir *et al.* 2017).

CPP-ACP

Wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben, besitzen die Casein-Phosphopeptide (CPP) als Stabilisatoren für ACP-Nanovorläufer die Fähigkeit zur Remineralisation insbesondere von Schmelzläsionen. Diese CPP-ACP-Komplexe sind in Form der Zahnschutzcreme Tooth Mousse der Firma GC, Japan bereits seit dem Jahr 2002 im Handel erhältlich (Cochrane *et al.* 2010). Die biomimetische Mineralisationsfähigkeit von CPP-ACP innerhalb der Kollagenfibrillen des Dentins und insbesondere die Fähigkeit der intrafibrillären Apatitbildung untersuchten erstmals Cao *et al.* 2013 in einer *in vitro* Studie. Dentinscheiben wurden zur Freilegung des Kollagennetzwerks mit Phosphorsäure geätzt und in der Versuchsgruppe einer anschließenden Phosphorylierung mit Natriumtrimetaphosphat und dem topischen Auftragen einer CPP-ACP-Paste, sowie einem Eintauchen in eine metastabile Calciumphosphat-Remineralisationslösung für zehn Tage unterzogen. Die Ergebnisse der REM (Rasterelektronenmikroskopie) zeigten anschließend die Ausfällung von Nanopartikeln entlang der Kollagenfibrillen und innerhalb der Kollagenmatrix, welche mittels Röntgendiffraktion (XRD) als Hydroxylapatitkristalle identifiziert werden konnten. In den Kontrollgruppen ohne initiale Phosphorylierung oder ohne Auftragen der CPP-ACP-Paste konnte hingegen keine intra- sowie interfibrilläre Kristallbildung festgestellt werden (Cao *et al.* 2013). Die Wissenschaftler einer aktuelleren Studie kombinierten den CPP-ACP Komplex mit Tripolyphosphat (TPP) und konnten auch hier eine inter- sowie intrafibrilläre Remineralisation des Dentins feststellen, welche der reinen CPP-ACP Formulierung hinsichtlich der Okklusion der Dentintubuli sowie der quantitativen Calcium- und Phosphat-Elementanalyse, gemessen mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX), überlegen war. Dennoch zeigen die Ergebnisse der Studie eine für die klinische Anwendung zu geringe Rate der biomimetischen Remineralisation, weshalb es weiterer Forschungen bedarf (Zhou *et al.* 2020).

NANO-HYDROXYLAPATIT (nHAP)

Hydroxylapatit mit der chemischen Formel $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ist eines der biokompatibelsten natürlichen Materialien (Comar *et al.* 2013, Epple 2018) und das in Zähnen und Knochen von Säugetieren am häufigsten vorkommende Mineral. Es bildet mit ca. 97 Gew.% den Hauptbestandteil der mineralischen Phase des Zahnschmelzes und liegt im Dentin zu einem Anteil von

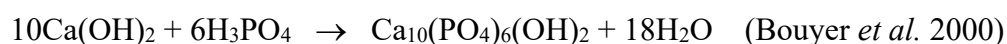
etwa 70 Gew.% vor (Dorozhkin und Epple 2002). Dank seiner chemischen und strukturellen Ähnlichkeit zu natürlichem Hydroxylapatit, wie es in Zähnen und Knochen vorkommt, findet synthetisch hergestelltes Hydroxylapatit in der Biomedizin, z. B. als Knochenersatzmaterial oder zur Beschichtung von Implantaten mit dem Ziel verbesserter Biokompatibilität, bereits breite Anwendung (Bohner *et al.* 2013, Lin *et al.* 2015).

Der Einsatz nanoskaliger Hydroxylapatit-Partikel in der Zahnmedizin gewann in den letzten zwei Jahrzehnten ebenfalls zunehmend an Bedeutung und ist mit Blick auf die non-invasive Zahnheilkunde essenzieller Bestandteil aktueller Forschungen zu zahnmedizinischen Biomaterialien (Fabritius-Vilpoux *et al.* 2019, Pepla *et al.* 2014, Vijayasankari *et al.* 2019). Diese synthetisierten Partikel in Nanogröße weisen eine dem in menschlichen Hartgeweben vorkommenden Hydroxylapatit sehr ähnliche Morphologie und kristallographische Struktur auf (Vandiver *et al.* 2005). Verglichen mit Hydroxylapatit-Kristallen größerer Dimensionen zeichnen sich die nHAP-Partikel durch eine höhere Löslichkeit, eine höhere Oberflächenenergie (Elkassas und Arafa 2017) sowie eine verbesserte Bioaktivität aus (Huang *et al.* 2011). Diese Eigenschaften führten in der Forschung zur Remineralisation initialer Kariesläsionen auf der Schmelzoberfläche bereits zu vielversprechenden Erfolgen (De Carvalho *et al.* 2014, Huang *et al.* 2010, Huang *et al.* 2009, Najibfard *et al.* 2011), wohingegen zum erfolgreichen Einsatz von nHAP auf Dentin deutlich weniger Evidenz vorliegt (Souza *et al.* 2015).

nHAP-Synthese

Die chemische Synthese der nHAP-Partikel kann auf unterschiedliche Art und Weise erfolgen und ist bei biomedizinischer Anwendung den biologisch und geologisch vorkommenden HAP-Quellen vorzuziehen, da diese stets auch Fremdionen enthalten, welche die gewünschten Eigenschaften einer klar definierten Kristallmorphologie und Kristallgröße verschlechtern (Enax und Epple 2018).

Eine der möglichen Synthesarten beschreibt die sogenannte **nasschemische Fällungsreaktion**, wie z. B. die Folgende, von Tagai und Aoki vorgeschlagene und von Bouyer *et al.* beschriebene:



In Abwandlungen der beschriebenen Methode wurde die Reaktion von Calciumnitrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) mit Ammoniumhydroxid ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) nach Jarcho *et al.* vorgeschlagen, wobei die Parameter Zeit und Temperatur die entstehende Korngröße der nHAP-Partikel maßgeblich bestimmen (Jarcho *et al.* 1977). Stäbchenförmige Calciumphosphatkristalle mit einer

Größe von 23x91 nm konnten Yubao *et al.* unter Verwendung von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ und $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ bei Raumtemperatur und pH-Werten zwischen 10 und 12 herstellen (Yubao *et al.* 1994).

Bei der sogenannten **Sol-Gel-Methode** werden definierte Calcium- und Phosphat-Vorläuferkombinationen in einem korrekten molaren Verhältnis von 1,67 auf molekularer Ebene vermischt und einem Sinterungsprozess unterzogen, welcher mit deutlich niedrigeren Temperaturen als ein konventioneller Sinterungsprozess die erwünschten HAP-Kristalle hervorbringt (Ferraz *et al.* 2004). Es wurden unter anderem Calciumdiethoxid ($\text{Ca}(\text{OEt})_2$) und Triethylphosphat ($\text{PO}(\text{OEt})_3$) bei Temperaturen von über 600 °C (Gross *et al.* 1998), Calciumacetat ($\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$) und Triethylphosphat bei 775 °C (Jillavenkatesa und Condrate 1998) und Calciumnitrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) und Phenylchlorphosphit ($\text{C}_6\text{H}_5\text{PCl}_2$) bei 900 °C (Brendel *et al.* 1992) als Ausgangsverbindungen zur Herstellung reiner, kristalliner HAP-Phasen verwendet.

Ein **biomimetischer Ansatz** zur nHAP-Synthese ermöglicht die spontane Keimbildung und das Wachstum nanoskaliger Kristalle mit kontrollierter Morphologie und einem hohen Grad an Phasenreinheit unter Verwendung einer **modifizierten SBF** (simulated body fluid), in welcher Calciumnitrat-Tetrahydrat und Diammoniumhydrogenphosphat-Salze bei 37 °C und pH 7,4 gelöst werden (Tas 2000). Aufgrund kürzerer Prozessdauer haben sich in Anlehnung daran übersättigte Calciumlösungen mit höherer Ionenkonzentration als in SBF etabliert (Ciobanu *et al.* 2009, Li *et al.* 2002), welche in einer Studie von Paz *et al.* (2012) vergleichend zur konventionellen nasschemischen Fällung näher untersucht wurden. Die Kristallgröße zeigte keinen Unterschied zwischen beiden Syntheseverfahren, wohingegen die biomimetische Methode eine höhere Kristallinität des innerhalb von 24 h gewonnenen nHAP hervorbrachte. Bezüglich der Morphologie konnten bei der biomimetischen Fällungsmethode nahezu kugelförmige, bei der nasschemischen Fällungsmethode nadelartige Partikel beobachtet werden (Paz *et al.* 2012).

Aufgrund seiner geringen Löslichkeit, guten Biokompatibilität und verbesserten mechanischen Eigenschaften, rückte auch das fluorsubstituierte Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH},\text{F})_2$) in den Fokus der Forschungen (Okazaki *et al.* 1999). Kim *et al.* zeigten in ihren Untersuchungen eine Erhöhung der Kristallinität des Fluorhydroxylapatits (Kim *et al.* 2005), Bianco *et al.* konnten die Überlegenheit hinsichtlich Bruchzähigkeit, Elastizitätsmodul und Vickershärte bestätigen (Bianco *et al.* 2010).

Studien zum Einsatz von nHAP

Die Forscher einer Studie aus dem Jahr 2010 synthetisierten in einem hydrothermalen Verfahren stäbchenförmige nHAP-Partikel, setzten das so gewonnene Pulver mit Nanostäbchengehalt von 0-5 Gew.% einem experimentellen Ein-Flaschen-Dentin-Adhäsiv zu und untersuchten diese Kombination auf Parameter wie diametrale Zugfestigkeit, Biegefestigkeit, Biegemodul und Aushärtungstiefe (Sadat-Shojai *et al.* 2010). Über eine Messung der Mikroscherhaftung wurde die Haftfestigkeit der experimentellen Adhäsivsysteme an Dentinproben menschlicher Molaren ermittelt. Sowohl die diametrale Zugfestigkeit als auch die Biegefestigkeit zeigten bei einem nHAP-Gehalt von 0,2-0,5 Gew.% einen signifikanten Anstieg, verglichen mit einem handelsüblichen Universaladhäsiv als Kontrollgruppe. Eine signifikante Verbesserung der Haftfestigkeit wurde bei einem Füllstoffgehalt von 0,2 Gew.% detektiert, während sich alle erfassten Parameter bei höheren Füllstoffgehalten deutlich verschlechterten. Die Studie brachte neue Erkenntnisse über das Verhalten von nHAP als Füllstoff in Dentinadhäsiven, untersuchte die Art des Verbunds zum Dentin aber nur in geringem Maße (Sadat-Shojai *et al.* 2010). Auch Leitune *et al.* (2013) konnten für die Einarbeitung verschiedener Konzentrationen von nHAP in ein Adhäsivharz aus BisGMA, TEGDMA, HEMA, CQ (Campherchinon) und EDAB (Ethyl-4-Dimethylaminobenzoat) teilweise verbesserte Eigenschaften hinsichtlich der Mikrohärtigkeit sowie der Mikroscherhaftung und der Degradationsbeständigkeit feststellen und bewerteten eine Zugabe von 2% nHAP zum Adhäsivharz als die beste Kombination (Leitune *et al.* 2013). Eine weitere Forschungsgruppe konzentrierte sich bei einem *in vitro* Versuchsansatz auf die Fragestellung, inwieweit experimentell hergestellte nHAP-Pasten im Vergleich zu kommerziellen CPP-ACP- und Fluorid-Pasten im Rahmen eines pH-Zyklusmodells die Demineralisation von Rinderschmelz- bzw. -dentinproben reduzieren können und kamen zu dem Ergebnis, dass ausschließlich die Fluoridpaste (0,2% NaF) in der Lage war, den Verlust an Schmelz- und Dentinhärte unter der Oberfläche zu reduzieren (Comar *et al.* 2013). Um den scheinbar positiven Effekt von Speichel und Biofilm auf die Interaktion zwischen nHAP und Zahn (Zhang *et al.* 2015) zu berücksichtigen, wurde ein weiterer Versuchsaufbau als *in situ* Studie angelegt, bei welchem eine experimentelle nHAP/Fluorid-Paste mit kommerzieller CPP-ACP-Paste hinsichtlich De- sowie Remineralisation von Schmelz und Dentin untersucht wurde. Im Gegensatz zur Studie von Comar *et al.* (2013) konnte hier nur die nHAP/Fluorid-Paste am Dentin eine signifikante Verringerung des Mineralverlusts im Vergleich zur Kontrollgruppe (Paste ohne aktive Substanzen) erreichen, während die Remineralisation des Dentins im Vergleich zur Kontrollgruppe durch alle Behandlungen in ähnlicher Weise verbessert werden konnte (Souza *et al.* 2015). Elkassas und Haridy (2015) widmeten sich in ihren

Untersuchungen erstmals der Dauerhaftigkeit des Dentinverbunds, indem sie einem universellen Self-Etch-Adhäsiv (Single Bond Universal Adhesive) stäbchenförmige Hydroxylapatit-Nanopartikel der Größe 20-100 nm x 10-20 nm in Konzentrationen von 0,5 bzw. 1 Gew.% beimischten und den Verbund auf Biegefestigkeit, anfängliche Mikroscherhaftung sowie Biegefestigkeit bei Alterung und darüber hinaus den Grad der Umwandlung (DC) untersuchten. Für einen nHAP-Gehalt von 0,5% konnte eine Verbesserung der Biegefestigkeit bei unverändertem Umwandlungsgrad festgestellt werden, wohingegen sich bei einem Gehalt von 1 Gew.% beide Parameter verschlechterten (Elkassas und Haridy 2015). Die Ergebnisse stehen somit im Gegensatz zu denen von Leitune *et al.* (2013) und Sadat-Shojai *et al.* (2010), wofür die Tatsache verantwortlich gemacht wird, dass in diesen Studien ungefüllte, experimentelle Adhäsive in Säure-Ätztechnik verwendet wurden. Hinsichtlich der Dauerhaftigkeit des Verbunds verschlechterten sich die mechanischen Eigenschaften inklusive der Mikroscherhaftung durch hydrolytischen Abbau während des Thermocyclings (Elkassas und Haridy 2015).

Der Grundgedanke hinter der Strategie bioaktive, remineralisierende Nanopartikel in Adhäsivformulierungen aufzunehmen, ist die Remineralisation des freiliegenden Kollagennetzwerks in der Hybridschicht, um dessen Abbau zu verhindern und so die Haltbarkeit des Verbunds zu fördern (Elkassas und Arafa 2017). Eine Studie von Besinis *et al.* (2012) untersuchte über einen Zeitraum von zwölf Wochen das Remineralisationspotenzial von vollständig demineralisiertem Dentin, infiltriert mit Siliciumdioxid oder nHAP-Partikeln, basierend auf den Strategien und Ergebnissen einer ihrer früheren Studien (Besinis *et al.* 2012). Nach der vollständigen Demineralisation mittels Ameisensäure wurden die Proben mit einem experimentellen nHAP (synthetisiert über die Sol-Gel-Methode, mit 5% Natriumhexametaphosphat versehen, in einer 50:50 Lösung aus destilliertem Wasser und Aceton), einem Kontroll-nHAP (kommerziell, in Fällungstechnik synthetisiertes nHAP in destilliertem Wasser) und einer Nano-Silikat-Lösung (nSiO₂) infiltriert, in eine künstliche Speichellösung getaucht und deren Remineralisationsgrad über EDX-Analysen zu bestimmten Zeitpunkten ermittelt. Während die experimentelle nHAP-Lösung – verglichen mit gesunden Dentinproben – als Ausgangswert eine Mineralisation von 55% aufwies, verringerte sich sowohl der Phosphat- als auch der Calciumgehalt nach Eintauchen in die Speichellösung deutlich, während er bei mit Nano-Silikat infiltrierten Proben anstieg. Nano-Silikat gelingt es, die Bindung der in der Speichellösung vorhandenen Calcium- und Phosphat-Ionen an die Kollagenfasern zu verstärken und so als keimbildendes Mineral in einer ansonsten mineralfreien, organischen Matrix zu wirken, wohingegen beide nHAP-Lösungen in der Umgebung einer Speichellösung unfähig waren an die Kollagenfibrillen zu binden (Besinis *et al.* 2014).

Neben den Untersuchungen des Verbunds von nHAP zum Substrat Dentin, widmeten sich einige Forscher auch der Fähigkeit von HAP-Formulierungen, das klinische Bild der Dentinhypersensibilitäten (DH) wirksam zu reduzieren. Im Jahr 2010 zeigte eine erste klinische Studie im Rahmen einer In-Office-Behandlung das desensibilisierende Potenzial von HAP auf überempfindliches Dentin, verglichen mit einer Negativkontrollgruppe ohne Behandlung (Shetty *et al.* 2010). Dem Bedarf nach vergleichenden klinischen Studien mit anderen gängigen Desensibilisierungsmethoden wurden im Jahr 2016 Wang *et al.* mit ihrer randomisierten Studie gerecht, in welcher sie zwei HAP-Formulierungen (Desensibilize Nano-P und experimentelle Home-Care-Paste) mit einer Pro-Relief Paste (Pro-Argin-Technologie) und Duraphat Lack, teilweise als Kombination aus professioneller In-Office-Behandlung und häuslicher Pflege, bezüglich der Reduktion von DH verglichen. Nach dreimonatigem Beobachtungszeitraum konnte zwischen den Anwendungen anhand visueller Analogskala (VAS) und standardisierten Verdunstungsreizen kein signifikanter Unterschied bezüglich der Reduktion der DH festgestellt werden. Desensibilize Nano-P war also in gleichem Maße wie die Pro-Argin-Technologie in der Lage DH zu reduzieren. Es erfolgte allerdings keine Untersuchung des strukturellen Aufbaus der gebildeten Pfropfen in den Dentintubuli mittels REM-Analyse (Wang *et al.* 2016). Auch Vano *et al.* (2018) konnten für eine 2%-ige nHAP-haltige Zahnpasta-Formulierung nach zwei und vier Wochen täglicher Anwendung bezüglich der Kaltluftempfindlichkeit, der Tastsensibilität und der subjektiven Bewertung anhand der VAS eine signifikante Reduktion der DH feststellen. Darüber hinaus wurden für die Testgruppe, im Vergleich zu den Kontrollgruppen mit fluoridhaltiger Zahnpasta und einer Placebo-Gruppe, signifikant niedrigere Werte für die Sensibilität festgestellt – jedoch erfolgte keine Untersuchung der Langzeitwirksamkeit (Vano *et al.* 2018). Verglichen mit einer Zahncreme aus reiner Kieselsäure in der Positivkontrollgruppe, konnte nHAP in 20%-iger Konzentration in Form des Produkts Apadent Pro Dentalcreme ebenfalls eine ähnliche Wirksamkeit hinsichtlich der Reduktion von DH auf Luft- oder Kältereize im Rahmen einer klinischen Studie erzielen (Amaechi *et al.* 2018).

Alle oben genannten Studien zielten in ihren Untersuchungen auf eine Verbesserung der Eigenschaften gängiger Adhäsivsysteme bzw. Composite sowie Zahncreme- oder Pasten-Formulierungen in ihrer herkömmlichen Verwendung ab, während die hier durchgeführte Studie in Anlehnung an beide Vorgängerstudien (Henrich 2021, Seidel 2016) ein noch neuartiges Material für potenzielle Anwendungsgebiete in der Praxis auf seine Eignung hin untersucht.

2.6 Adhäsivapatitpasten in der Literatur

Die Idee Apatitformulierungen mit Adhäsivsystemen zu kombinieren, um so das Regenerationspotenzial von Apatiten auf dem Forschungsgebiet der zahnmedizinischen Nanowissenschaft mit den Eigenschaften der modernen Adhäsivtechnik zu verknüpfen, entstand erstmals in einer *in vitro* Studie aus dem Jahr 2016 (Seidel 2016). Während in der Literatur durchaus bemerkenswerte Ergebnisse zur biomimetischen Schmelzregeneration mit Nanoapatiten in einer Größenordnung von 20-40 nm beschrieben wurden (Li *et al.* 2008), zeigten sich hinsichtlich der hierarchischen Organisation und Ausrichtung der entstehenden Präzipitate eher unorganisierte Auflagerungen auf der Schmelzoberfläche (Hannig und Hannig 2014). In der erwähnten *in vitro* Studie aus dem Jahr 2016 konnten die in der Literatur beschriebenen Schmelzregenerationen mit rein anorganischen Nanomaterialien nicht nachvollzogen werden. Die einfachen Apatitpasten generierten auf der Schmelzoberfläche keine kristallinen, schmelzähnlichen Strukturen und zeigten weder einen chemischen, noch einen mikromechanischen Verbund zum Schmelz. Um einen echten physikalisch-chemischen Verbund zum Schmelz zu generieren, wurden den Apatitpulvern zwei Adhäsivpräparate zugesetzt und die entstandenen Auflagerungen mit großer mikromorphologischer Ähnlichkeit zum Schmelz konnten in den Materialprüfverfahren Thermocycling und Säuretoleranztest überzeugen (Seidel 2016). In einer weiterführenden Studie aus dem Jahr 2021 (Hennrich 2021) wurden diese neuartigen Adhäsivapatitpasten (AAP) hinsichtlich des Einflusses verschiedener Adhäsivsysteme sowie der Auswahl der synthetischen Apatitpulver in ihrer Applikationstechnik weiterentwickelt. In zusätzlichen Materialprüfverfahren, wie Politur und Airscaling, wurde vor allem die Oberflächenmorphologie der entwickelten Pasten genauer untersucht. Darüber hinaus fand neben der Beurteilung des Verbunds zum Schmelz erstmals eine Applikation dieser Pasten auf das Substrat Dentin statt (Hennrich 2021). Für beide verwendeten Hydroxylapatite sowie für das Fluorapatit konnte in Kombination mit vier verschiedenen Universaladhäsiven eine mikromechanische Verankerung in Form eines regelmäßigen Verzäpfungsmusters auf dem Zahnschmelz generiert werden. Die AAP mit dem Apatitpulver von Sigma Aldrich zeigte die homogeneren und in der Schichtstärke gleichmäßigeren Auflagerungen auf dem Schmelz, welche in ihrer Ultrastruktur eine große Ähnlichkeit zur Kristallstruktur des Schmelzes aufwiesen. Die Prüfkörper mit der AAP aus Fluorapatit zeigten eine besonders gute Stabilität nach künstlichem Alterungsprozess in 3.000 Zyklen Thermocycling. Die Oberflächen der AAP-Auflagerungen aller Apatite schienen mit wenigen Ausnahmen weitestgehend resistent gegen Politur und Airscaling zu sein. Bei einem Säuretoleranztest konnten für die Kombinationen des Fluorapatits mit den Adhäsivsystemen Adhese Universal, Clearfil Universal Bond Quick sowie Scotchbond Universal, Auflösungen

der Matrixstruktur bzw. ein Herauslösen der stäbchenförmigen FAP-Partikel festgestellt werden. Auch zum Substrat Dentin konnte in beschriebener Studie für einzelne Kombinationen der beiden Hydroxylapatitpulver mit den Adhäsivsystemen ein spaltfreier Verbund mit Ausbildung einer intermediären Zone, der Hybridzone, nachgewiesen werden (Hennrich 2021).

Lag der Fokus vergangener Forschungen bislang eher auf der Beimengung von Apatiten zu Restaurationsmaterialien, um so deren Eigenschaften und Lebensdauer zu verbessern (Khan und Syed 2019), lieferten die beiden Vorgängerstudien nun entscheidende Erkenntnisse zu eigenständigen, experimentellen Materialien, welche weiterer Untersuchungen bedürfen.

2.7 Ziel der Arbeit

Zielsetzung dieser *in vitro* Untersuchung ist die Weiterentwicklung der aktuell vorliegenden Erkenntnisse zu experimentellen Adhäsivapatitpasten hinsichtlich des Verbunds zum Substrat Dentin. Die Untersuchungen der Pasten in den Vorgängerstudien sollen mit Hinblick auf die entstehenden Hybridzonen und deren Stabilität gegenüber künstlicher Alterung und Säureexposition vertieft werden. Es wird dabei nach Kombinationen aus Apatiten und Adhäsivsystemen gesucht, welche bezüglich der angesprochenen Kriterien die überzeugendsten Ergebnisse und einen stabilen Verbund im Sinne einer mikromechanischen Verankerung zum Dentin liefern können und für zukünftige klinische Untersuchungen von Interesse sind. Der Fokus der Untersuchungen liegt in der visuellen Darstellung der Verbundzone und der Inkorporation der AAP in die Dentinstruktur mittels rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen sowie der quantitativen Analyse der relevanten beteiligten Elemente in den interessanten Bereichen über EDX-Analysen. Zur Beurteilung der Resistenz und Stabilität dieses Verbunds und der strukturellen Integrität der Adhäsivapatitpasten werden an den Prüfkörpern Materialtests, wie das Thermocycling als Simulation des Alterungsprozesses und Säuretoleranztests durchgeführt.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Apatite

In der hier durchgeführten Untersuchung zum Verbundverhalten von Apatiten an humanem Dentin wurden zwei synthetisch hergestellte Nanohydroxylapatit-Pulver sowie ein Fluorapatit-Pulver verwendet. Das **Kalident first** Pulver (Kalichem) zeigt in den vorliegenden rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen ein amorphes Erscheinungsbild und weist im Vergleich zu den anderen Präparaten die größten Partikel auf. Das Pulver von **Sigma Aldrich** (Merck KGaA) stellt sich in seiner Struktur kugelförmig und pseudokristallin dar. Während der Hersteller eine Größe von < 100 nm für die Nanopartikel angibt, zeigen sich in den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der vorliegenden Untersuchung auch deutlich größere Partikel im μm -Bereich. Das **Nanofluorapatit** Pulver von S&C Polymer liegt in stäbchenförmiger Morphologie vor.

3.1.2 Adhäsive

Den oben genannten Apatiten wurden zum Generieren der AAP gemäß unten beschriebener Methodik vier verschiedene selbstätzende Adhäsivsysteme (Tabelle 3.1) beigemischt.

Adhese Universal

Adhese Universal (Ivoclar Vivadent AG) ist ein im Jahr 2014 für den klinischen Gebrauch freigegebenes, lighthärtendes Einkomponenten-Universaladhäsiv, welches in Kombination mit den Ätztechniken Self-Etch, Selektive Schmelzätzung oder Etch-and-Rinse anwendbar ist.

Scotchbond Universal

Beim Scotchbond Universal (3M ESPE AG) handelt es sich ebenfalls um ein mit allen Ätzverfahren kompatibles Ein-Flaschen-Universaladhäsiv.

Clearfil Universal Bond Quick

Das Clearfil Universal Bond Quick stellt das innovativste Bonding des japanischen Unternehmens Kuraray Noritake Dental dar. Das eigens durch Kuraray entwickelte Original-MDP-Monomer bildet heute die Grundlage einer Vielzahl von Universaladhäsiven. Auch dieses Universaladhäsiv kann mit allen Ätzverfahren angewandt werden und vermeidet mit der neuen Rapid Bond Technologie längere Einmassier- oder Wartezeiten.

OptiBond eXTRa Universal

OptiBond eXTRa Universal (Kerr Hawe SA) ist ein universales Zweikomponenten-Adhäsivsystem, bestehend aus einem Primer und einem Adhäsiv, welches mit dem funktionellen Monomer Glycerophosphat Dimethacrylat (GPDM) arbeitet.

Tab. 3.1: verwendete Universaladhäsive mit Angabe von Inhaltsstoffen und pH-Wert gemäß Herstellerangaben.

| Material | Inhaltsstoffe | pH-Wert |
|--|---|---------|
| Adhese Universal (Ivoclar Vivadent) | MDP, 2-Hydroxyethylmethacrylat, Bis-GMA, 1,10-Decandioldimethacrylat, Methacrylat-phosphorsäureester, Campherchinon, 2-Dimethylaminoethylmethacrylat, Ethanol, Wasser | 2,8 |
| Scotchbond Universal (3M ESPE) | MDP, Dimethacrylat-Kunststoffe, Vitrebond Copolymer (methacrylatmodifiziertes Polyalkenoatsäure-Copolymer), Füller, Ethanol, Wasser, Initiatoren, Silan | 2,7 |
| Clearfil Universal Bond Quick (Kuraray) | 10-MDP, Bis-GMA, 2-Hydroxyethylmethacrylat, hydrophile Amidmonomere, kolloidales Siliciumdioxid, Silanhaftvermittler, Natriumfluorid, dl-Campherchinon, Ethanol, Wasser | 2,3 |
| OptiBond eXTRa Universal (Kerr) | 2-Hydroxyethylmethacrylat, Glycerindimethacrylat, GPDM, Trimethylolpropantrimethacrylat, Natriumhexafluorsilicat, Ethanol | 1,6-1,8 |

3.1.3 Prüfkörperherstellung

Die verwendeten Dentinprüfkörper wurden ausschließlich aus karies- und füllungsfreien humanen Frontzähnen und Molaren gewonnen. Im ersten Bearbeitungsschritt erfolgte unter Wasserkühlung durch Abtrennen der Wurzeln und – wenn zum Erreichen ausreichend großer Prüfkörper möglich – durch Halbieren des koronalen Anteils in der Sagittalen die grobe Formgebung der Zähne mittels Diamantscheibe einer Trennschleifmaschine (WOCO 50p, Conrad GmbH). Im Anschluss daran wurden die so gewonnenen oralen und vestibulären Anteile der Zähne mithilfe einer Schleif- und Poliermaschine (Phoenix 3000 Variable Speed Grinder-Polisher, Buehler ITW Test & Measurement GmbH) und Silikonkarbonschleifpapier (Silicon Carbide Grinding Paper, Buehler) unter ständiger Wasserkühlung und einer Umdrehungszahl von 300 rpm

vollständig von Schmelz befreit. Beginnend mit einer Schleifpapier-Körnung von P240 zum primären Abtragen des Schmelzes wurden auf diese Weise Dentinprüfkörper mit einer mittleren Prüfkörperfläche von ca. 3x4 mm und einer Endpolitur aller Flächen mit der Körnung P2500 gewonnen. Dabei wurde eine der Flächen als spätere Applikationsfläche für das Auftragen der Pasten ausgewählt. Um einen vollständigen Abtrag der Schmelzanteile zu gewährleisten und die Oberflächenbeschaffenheit nach Politur zu beurteilen, wurden die Prüfkörper abschließend unter einem Stereomikroskop kontrolliert (Stereomikroskop SMZ 168 Series, Motic Europe). Für das spätere Herstellen von Bruchpräparaten wurde an den Prüfkörpern der Versuchsreihe 1 auf der gegenüberliegenden Seite der später zu untersuchenden Fläche mittels diamantiertem Separierer (Nr. 859.104.010 VPE 5, Komet) und rotem Winkelstück (KaVo Gentle Power, KaVo Dental GmbH) unter Wasserkühlung bei 40.000 rpm eine Bruchkerbe als Sollbruchstelle bis zu einer Tiefe von ca. zwei Drittel der Prüfkörperdicke angelegt. Vor der ersten Bearbeitung, sowie nach abgeschlossener Politur lagerten die Proben in 0,1%-iger Thymol-Lösung (Carl Roth GmbH & Co KG) in Reaktionsgefäßen (0,5 ml) bei 4 °C Umgebungstemperatur im Kühlschrank.

3.2 Methoden

3.2.1 Bezeichnung der Adhäsivapatitpasten

In der vorliegenden Arbeit werden die verwendeten Apatite und Adhäsive wie folgt deklariert:

| | |
|------------|--|
| FAP1 | Nanofluorapatit |
| HAP1 | Nanohydroxylapatit Kalident von Kalichem |
| HAP2 | Nanohydroxylapatit von Sigma Aldrich |
| Adhäsiv A1 | Adhese Universal |
| Adhäsiv A2 | Scotchbond Universal |
| Adhäsiv A3 | Clearfil Universal Bond Quick |
| Adhäsiv A4 | OptiBond eXTRa Universal |

Aus den oben beschriebenen Apatiten und Universaladhäsiven wurden nun folgende zwölf Kombinationen der AAP, gemäß nachfolgend beschriebener Versuchsreihen, auf die Dentinprüfkörper aufgetragen.

| | |
|-----------|---|
| FAP1 + A1 | Nanofluorapatit + Adhese Universal |
| FAP1 + A2 | Nanofluorapatit + Scotchbond Universal |
| FAP1 + A3 | Nanofluorapatit + Clearfil Universal Bond Quick |
| FAP1 + A4 | Nanofluorapatit + OptiBond eXTRa Universal |
| HAP1 + A1 | Nanohydroxylapatit Kalident + Adhese Universal |
| HAP1 + A2 | Nanohydroxylapatit Kalident + Scotchbond Universal |
| HAP1 + A3 | Nanohydroxylapatit Kalident + Clearfil Universal Bond Quick |
| HAP1 + A4 | Nanohydroxylapatit Kalident + OptiBond eXTRa Universal |
| HAP2 + A1 | Nanohydroxylapatit Aldrich + Adhese Universal |
| HAP2 + A2 | Nanohydroxylapatit Aldrich + Scotchbond Universal |
| HAP2 + A3 | Nanohydroxylapatit Aldrich + Clearfil Universal Bond Quick |
| HAP2 + A4 | Nanohydroxylapatit Aldrich + OptiBond eXTRa Universal |

3.2.2 Applikation der Adhäsivapatitpasten

Die in dieser Studie angewandte Art der Applikation der AAP auf die Dentinprüfkörper erfolgte in Anlehnung an das Vorgehen der Vorgängerstudie (Hennrich 2021) und ist schematisch in Abbildung 3.1 verdeutlicht.

Vor der Bearbeitung ihrer Oberflächen wurden alle Dentinprüfkörper zum Beseitigen von Thy-mol-Rückständen gründlich mit Aqua dest. (Rotilabo, Carl Roth GmbH & Co KG) abgespült und anschließend mit Tüchern (Kimtech Science Präzisionstücher, Kimberly-Clark GmbH) getrocknet. Über Mikroapplikatoren (Kerr Hawe GmbH) wurde im nächsten Schritt zum Konditionieren der Dentinoberfläche 37,5%-ige Phosphorsäure (Gel Etchant, Kerr Hawe SA) für 10 s aufgetragen und nach der Einwirkzeit für 20 s mit sterilem Wasser (Ampuwa Fresenius Kabi Deutschland GmbH) aus einer Drucksprühflasche (Bürkle GmbH & Co KG) abgesprüht. Das anschließende Trocknen der Prüfkörper erfolgte schonend über einen Luftstrom (Compressed Gas, Dust-Off, Falcon Safety Products). Zur Herstellung der AAP wurden mit Hilfe einer Feinwaage (Sartorius CP 423 S, Sartorius AG) jeweils 30 mg des jeweiligen Apatitpulvers mit 30 mg des jeweiligen Adhäsivs mit einem Mikropulverspatel (VWR International GmbH) auf einem Anmischblock (Omni Dent GmbH) zügig zu einer zähfließenden, homogenen Masse vermischt und mit einem Mikroapplikator für 10 s auf die vorbehandelte Oberfläche des

Dentinprüfkörpers einmassiert. Zum Erzielen einer möglichst ebenen Oberfläche wurde die aufgetragene Paste mit einem Heidemann-Spatel (PFIHS 26, Hu-Friedy Mfg. Co., LLC.) glattgezogen, für 5 s über einen Luftstrom verpustet und abschließend für 10 s lichtgehärtet. Die Polymerisation erfolgte hierbei mit einer 5 W LED-Polymerisationslampe (Dentsply Smartlite PS, 950 mW/cm², Dentsply DeTrey GmbH). Bei Verwendung des Adhäsivsystems OptiBond eXTRa Universal ging dem Schritt des Applizierens der AAP das Auftragen und Einmassieren des Primers für 20 s mit anschließendem Verblasen für 10 s gemäß den Herstellerangaben voraus. Nach Abschluss dieses Schrittes lagerten die beschichteten Dentinprüfkörper in Versuchsreihe 1 und 4 trocken in Reaktionsgefäßen zwischen, in Versuchsreihe 2 für sieben Tage und in Versuchsreihe 3 für drei Monate in Reaktionsgefäßen in destilliertem Wasser bei Raumtemperatur. Zur Beurteilung einer repräsentativen Grenzfläche zwischen Paste und Dentin wurden für die Analysen im REM Schliffpräparate aus den Dentinprüfkörpern hergestellt. Hierzu wurden jeweils an der im REM zu beurteilenden Grenzfläche mit Hilfe der Schleif- und Poliermaschine ca. 0,5 mm vom Prüfkörper abgetragen und die Fläche anschließend zum Homogenisieren der Oberfläche mit einer Schleifpapier-Körnung von P4000 final poliert. Hiervon ausgenommen sind, wie unten ausführlicher beschrieben, die Prüfkörper aus Versuchsreihe 2, bei welchen die Grenzflächen von Bruchpräparaten analysiert wurden.

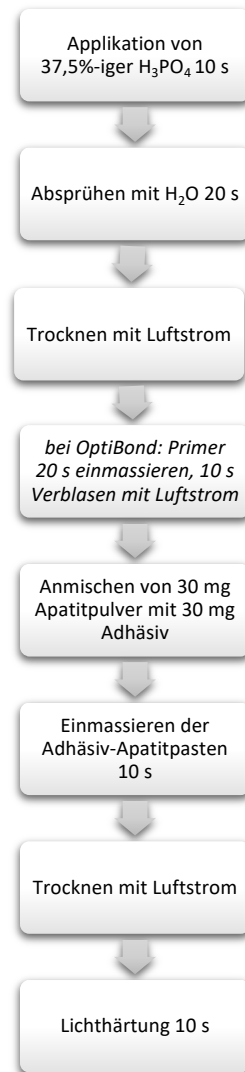


Abb. 3.1 Flussdiagramm zum Auftragen der Adhäsivapatitpasten auf die Dentinprüfkörper

3.2.3 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung (REM) & Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)

Die mit den Adhäsivapatitpasten beschichteten Dentinprüfkörper wurden zur ersten Beurteilung der Verbundfläche zwischen Paste und Dentin rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen sowie EDX-Analysen unterzogen. Über selbstklebende Kohlepad (EM-TEC CT12, Micro to Nano) wurden die Proben, unter numerischer Kennzeichnung, auf speziellen Probetellern fixiert und zum Generieren einer ausreichenden Leitfähigkeit unter Vakuum mit Kohlenstoff beschichtet (Sputtercoater Model SCD 030, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar). Bei einer angelegten Spannung von 5 kV wurden die Proben bei Vergrößerungen von 25- bis 20.000fach in den drei Modi SE, BSE und MIX beurteilt. Sowohl für die applizierten Pasten als auch für die Dentinstruktur und für die relevanten Grenzbereiche wurden EDX-Analysen durchgeführt. Die Energiedispersive Röntgenspektroskopie (engl.: *energy dispersive X-ray spectroscopy*; EDX) kann über das Detektieren elementspezifischer, elektromagnetischer Strahlung, welche beim Auftreffen eines Elektronenstrahls auf die Probe durch Elektronenverschiebungen entsteht, eine chemische Analyse zur Elementzusammensetzung von Oberflächen hervorbringen. Hierdurch konnten die in den Probenanteilen vorkommenden Elemente qualitativ und quantitativ hinsichtlich ihres Massenprozentanteils (Wt%) beurteilt werden (Reimer und Pfefferkorn 1973).

3.2.4 Thermocycling

Das in der zahnmedizinischen Forschung vielfach eingesetzte Thermocycling-Verfahren dient der Simulation eines Alterungsprozesses natürlicher Strukturen sowie dentaler Materialien in der Mundhöhle und hat sich als Standardverfahren zur Simulation thermischer Wechselbelastungen etabliert.

Je fünf Prüfkörper ausgewählter Kombinationen (FAP1 + A1, FAP1 + A4, HAP1 + A4, HAP2 + A4) wurden im Thermocycler (Willytec Thermocycler V 2.8, SD Mechatronik GmbH) 3.000 Zyklen thermischer Wechselbelastung in Bädern aus destilliertem Wasser ausgesetzt. Die Proben verblieben dabei während jedes Zyklus 30 s im Kaltbad bei 5 °C und 30 s im Warmbad bei 55 °C mit einer Abtropfzeit von 5 s zwischen jedem Bad. Anschließend wurden die Prüfkörper erneut trocken in Reaktionsgefäßen bei Raumtemperatur zwischengelagert und anschließend im Rasterelektronenmikroskop auf Auswirkungen des Thermocycling untersucht.

3.2.5 Säuretoleranztest

An den Prüfkörpern oben beschriebener Kombinationen wurde im Anschluss an das Thermocycling-Verfahren ein Säuretoleranztest durchgeführt. Hierfür wurde jeweils die Hälfte der für die Betrachtung im REM anpolierten Grenzfläche zwischen Adhäsivapatitpaste und Dentin für 30 s 37,5%-iger Phosphorsäure (Gel Etchant, Kerr Hawe SA) ausgesetzt. Nach der Einwirkzeit wurde die Säure für 30 s mit sterilem Wasser (Ampuwa Fresenius Kabi Deutschland GmbH) mittels Drucksprühflasche (Bürkle GmbH & Co KG) abgesprüht und die Prüfkörper wurden für eine erneute rasterelektronenmikroskopische Betrachtung getrocknet und wie in Abschnitt 3.2.3 beschrieben, vorbereitet. Um Klinik nähere Bedingungen zu schaffen, wurde in einem zweiten Versuchsteil an weiteren Prüfkörpern ein Säuretoleranztest an einer zahnmedizinischen Einheit durchgeführt. Dabei wurde die Zeit der Säureexposition an jeweils einer Hälfte einer anpolierten Grenzfläche auf 60 s erhöht. Das Absprühen der Säure erfolgte analog für 60 s mit der Multifunktionsspritze, mit welcher die Prüfkörper anschließend über einen Luftstrom außerdem getrocknet wurden.

3.3 Versuchsreihen

3.3.1 Versuchsreihe 1

In Versuchsreihe 1 wurden auf zwölf Dentinprüfkörper alle zwölf möglichen Kombinationen aus den beiden Hydroxylapatitpulvern, dem Fluorapatitpulver und den vier Universaladhäsiven wie oben beschrieben aufgetragen und die Prüfkörper in Reaktionsgefäßen trocken bei Raumtemperatur zwischengelagert. Es folgte dann eine rasterelektronenmikroskopische Analyse sowie eine EDX-Analyse von Prüfkörpern aller Kombinationen (n=12). Alle im REM beurteilten Prüfkörper mit dem Adhäsiv Adhese Universal wurden aufgrund beobachteter Quellphänomene im Bereich der Verbundzone für eine erneute Betrachtung im REM an der zu beurteilenden Grenzfläche mit der Körnung P4000 neu angeschliffen.

3.3.2 Versuchsreihe 2

In Versuchsreihe 2 wurden für alle Apatitpulver in Kombination mit den Adhäsiven Adhese Universal, Scotchbond Universal und Optibond eXTRa Universal erneut Prüfkörper nach bekanntem Schema hergestellt. Für das Adhäsiv Clearfil Universal Bond Quick wurde das Versuchsprotokoll in dieser Versuchsreihe hingegen abgeändert. Die Adhäsivapatitpasten wurden

auf drei Prüfkörper aufgetragen, welche zuvor nur 2 s mit Phosphorsäure geätzt wurden sowie auf drei ungeätzte Bruchflächen von Dentinprüfkörpern. Hierzu wurde ein Dentinprüfkörper mit Ausgangsgröße mithilfe von zwei Zangen an der zuvor angelegten Sollbruchstelle in zwei Bruchstücke geteilt. Die Prüfkörper lagerten anschließend für sieben Tage in Reaktionsgefäßen in destilliertem Wasser bei Raumtemperatur zwischen und wurden zur Betrachtung im REM nach der Entnahme an der zu betrachtenden Fläche mit Schleifpapier der Körnung P4000 angeschliffen.

3.3.3 Versuchsreihe 3

In Versuchsreihe 3 wurde das Adhäsiv Scotchbond Universal gemäß bekanntem Protokoll mit allen Apatitpulvern kombiniert, auf Dentinprüfkörper aufgetragen und die Proben nach drei Monaten Nasslagerung in Reaktionsgefäßen rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen unterzogen.

3.3.4 Versuchsreihe 4

Nach Aufarbeitung aller bisher erstellten REM-Bilder wurden für die Kombinationen FAP1 + A1, FAP1 + A4, HAP1 + A4, HAP2 + A4 gemäß bekanntem Versuchsprotokoll aus Abbildung 3.1 jeweils fünf neue Prüfkörper (n=20) für eine anschließende Untersuchung im Thermocycling hergestellt und hierfür bei Raumtemperatur trocken in Reaktionsgefäßen zwischengelagert. An je einem Prüfkörper jeder Kombination wurde nach dem Thermocycling auf einer Grenzfläche von AAP zu Dentin der Säuretoleranztest mit 37,5%-iger Phosphorsäure durchgeführt. Die Prüfkörper wurden nach beiden Verfahren im REM beurteilt. An je zwei weiteren Prüfkörpern der oben genannten Kombinationen wurde der Säuretoleranztest an einer zahnmedizinischen Einheit mit Multifunktionsspritze durchgeführt. Anschließend erfolgte wiederum eine Betrachtung der Prüfkörper im REM.

4 Ergebnisse

4.1 Versuchsreihe 1: Kombination aller Adhäsive und Apatitpulver

Diese erste Versuchsreihe zeigt den Verbund aller zwölf Kombinationen der Adhäsivapatitpasten zur phosphorsäure-konditionierten Dentinoberfläche und untersucht rasterelektronenmikroskopisch die Grenzfläche von Schliffpräparaten.

Die aufgetragenen Pasten erzeugten überwiegend homogene und in ihrer Schichtstärke konstante Auflagerungen auf der Dentinoberfläche. Innerhalb der Pasten zeigen sich die eingelagerten Apatitpartikel unterschiedlicher Größe und Morphologie. Bei neun von zwölf Kombinationen lässt sich am Übergang von Paste zu Dentin eine intakte Hybridschicht als Ausdruck einer Zone aus infiltriertem Kollagennetzwerk und in die Dentintubuli reichender Zapfen darstellen. Bei höheren Vergrößerungen (Abbildungen 4.1, 4.4, 4.8, 4.12 und 4.13) wird sichtbar, dass sich auch die Apatitpartikel in diese Verbundzone einlagern. Bei Verwendung des Adhäsivsystems Adhese Universal erscheinen die entstandenen Verbundzonen auf den ersten REM-Aufnahmen aufgequollen. Die Abbildungen 4.13 - 4.15 zeigen dieselben Prüfkörper nach erneutem Anschleifen der Grenzfläche mit SiC-Schleifpapier der Körnung P4000. Bei diesen Aufnahmen kann das beschriebene Aufquellen der Hybridzone nicht mehr beobachtet werden. Die AAP mit dem Adhäsivsystem OptiBond eXTRa Universal, welches zweizeitig aufgetragen wurde, zeigen im Allgemeinen Hybridzonen größerer Schichtstärke, welche auf den REM-Aufnahmen dunkler erscheinen. Auf den Abbildungen 4.2, 4.5, 4.6 und 4.14 stellen sich einige AAP-gefüllte Dentintubuli im Querschnitt dar, in welchen die Tags mit großer Menge an Füllmaterial nahezu spaltfrei an den Wänden der Tubuli anliegen. Für das Adhäsivsystem Clearfil Universal Bond Quick kann für alle drei Apatite ein Verbundversagen im Sinne einer vollständigen Ablösung der aufgetragenen Paste oberhalb der Hybridzone, ein sogenanntes adhäsives Verbundversagen, festgestellt werden (Abbildungen 4.3, 4.7 und 4.11).

Die folgenden REM-Aufnahmen zeigen Adhäsivapatitpasten unter Verwendung des Nanofluorapatits von S&C Polymer. Die stäbchenförmigen FAP-Partikel weisen innerhalb der Paste eine besonders homogene Verteilung auf und liegen dicht gepackt in der Matrix des jeweiligen Adhäsivsystems, was sich besonders auf Abbildung 4.2 gut darstellt.

FAP 1 + Adhese Universal

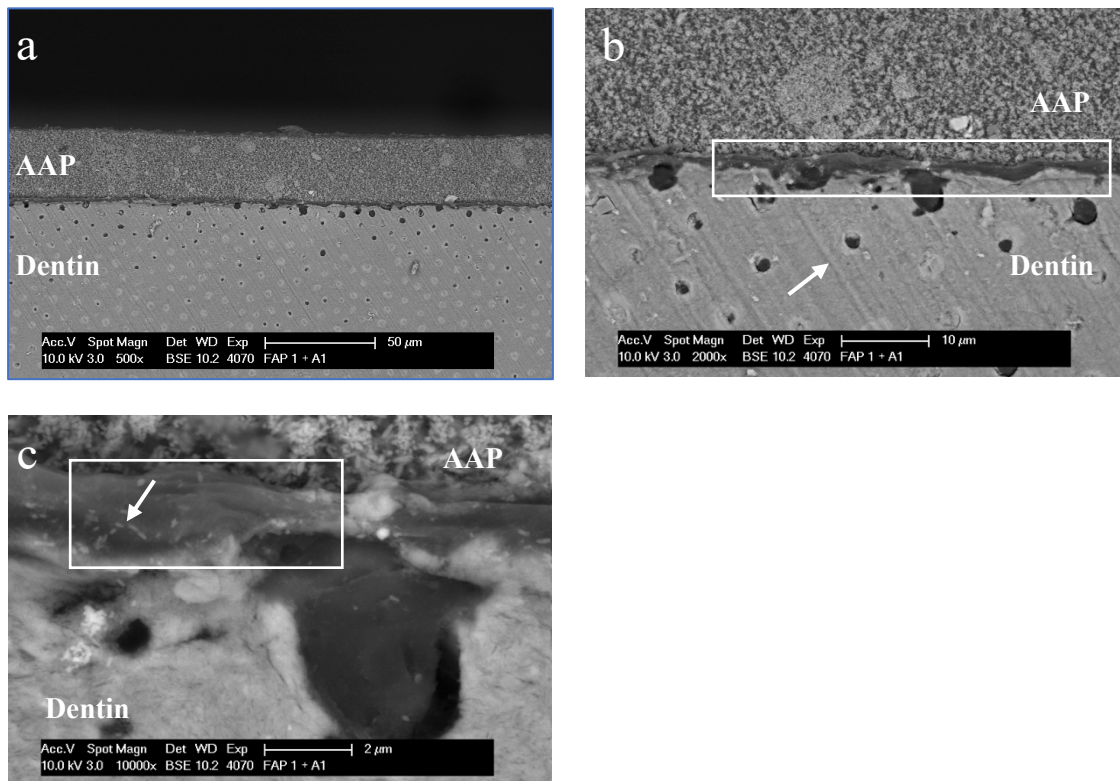


Abb. 4.1: REM BSE Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + Adhese Universal. a) Es ist eine homogene, gleichmäßig hohe AAP-Schicht mit darunterliegender schmaler Hybridzone auf dem Dentin sichtbar. b) und c) Bei höheren Vergrößerungen wird das Quellphänomen im Bereich der Hybridzone sichtbar, der Bereich scheint aus der Bildfläche, bzw. der angeschliffenen Grenzfläche hervorzutreten (Kästen). Bei 10.000facher Vergrößerung zeigen sich in die Hybridzone eingelagerte, stäbchenförmige FAP-Partikel (Pfeil). In b) sind innerhalb des Dentins feine, schräg verlaufende Linien zu erkennen (Pfeil), welche als Ausdruck von Schleif- und Politurvorgängen am Prüfkörper angesehen werden können. Originalvergrößerungen: 500fach (a), 2.000fach (b), 10.000fach (c)

FAP 1 + Scotchbond Universal

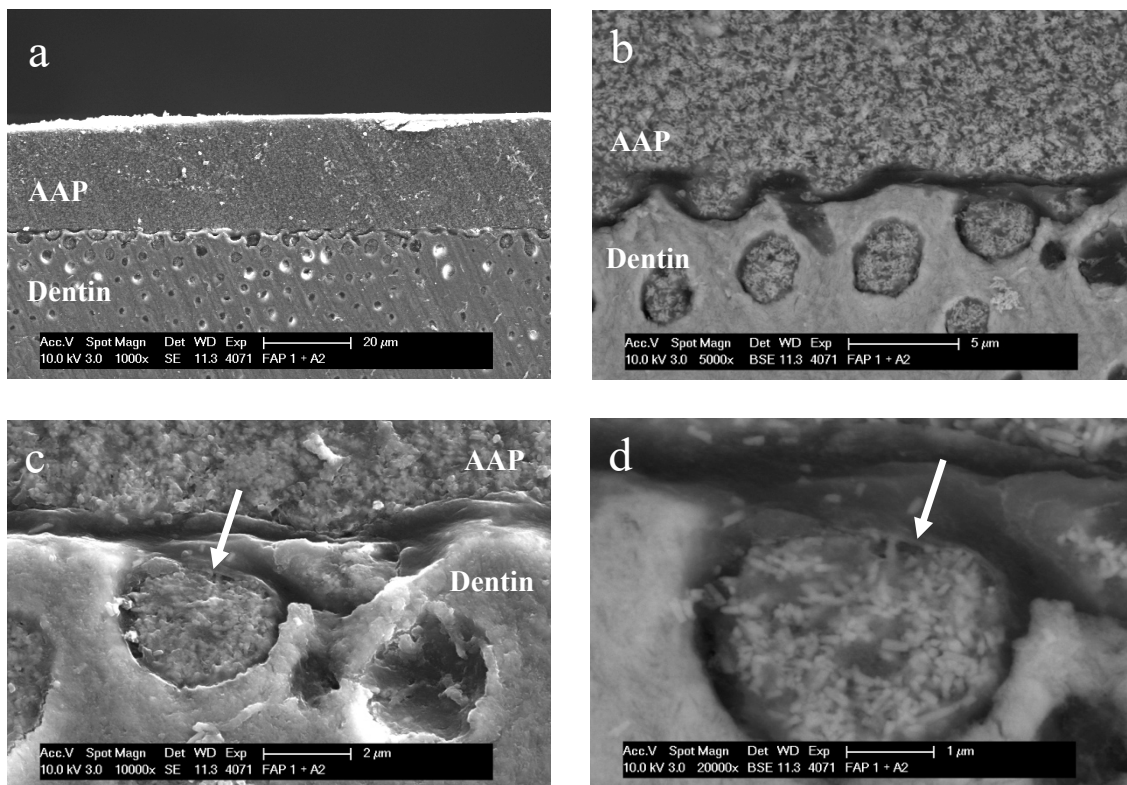


Abb. 4.2: REM BSE und SE Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + Scotchbond Universal. a) Im SE-Modus ergibt sich ein geringerer Kontrast der einzelnen Schichten zueinander. Dennoch lässt sich auch hier eine homogene Auflagerung als AAP-Schicht erkennen. b) Bei 5.000facher Vergrößerung zeigt sich die regelmäßige Verzapfung der AAP mit dem Dentin über eine schmale Hybridzone. c) und d) Es stellen sich vollständig, mit dicht gepacktem Material gefüllte Dentintubuli dar (Pfeile). Die stäbchenförmigen FAP-Partikel sind deutlich zu erkennen. Originalvergrößerungen: 1.000fach (a), 5.000fach (b), 10.000fach (c), 20.000fach (d)

FAP 1 + Clearfil Universal Bond Quick

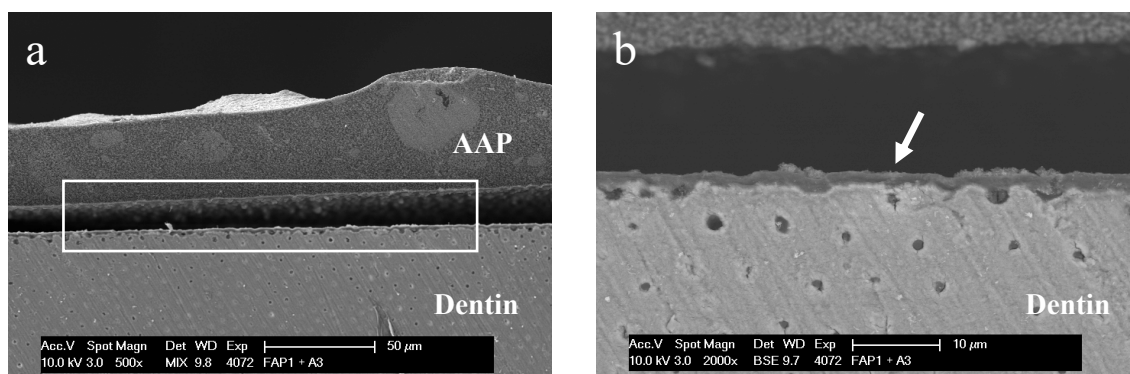


Abb. 4.3: REM BSE und MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + Clearfil Universal Bond Quick. a) Es zeigt sich deutlich ein Ablösen der AAP-Auflagerung vom Dentinprüfkörper (Kasten). b) Bei 2.000facher Vergrößerung wird sichtbar, dass es sich hierbei um ein adhäsives Verbundversagen handelt, d. h. das Ablösen erfolgte oberhalb der intakten Hybridschicht (Pfeil). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 2.000fach (b)

FAP 1 + OptiBond eXTRa Universal

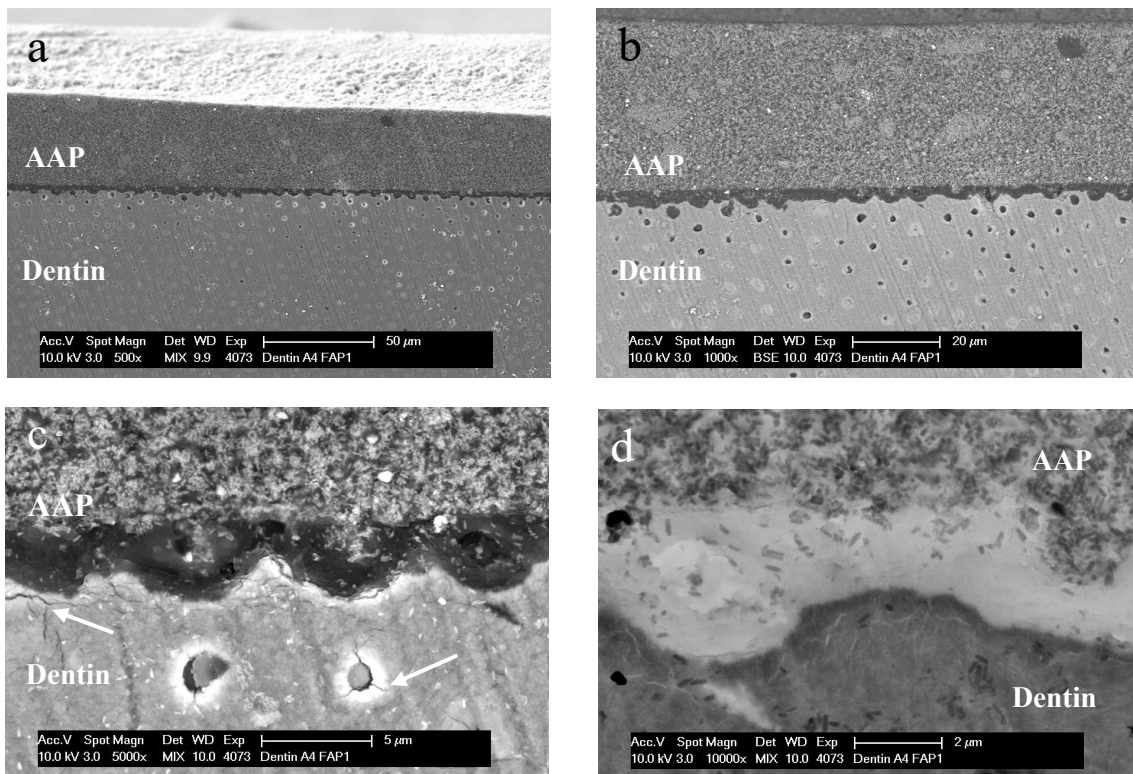


Abb. 4.4: REM BSE und MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + OptiBond eXTRa Universal. a) und b) Im BSE Modus lassen sich die drei Anteile des Prüfkörpers deutlicher voneinander abgrenzen, als im MIX Modus. Es zeigen sich AAP-Auflagerungen gleichmäßiger Schichtstärke sowie eine intermediäre Zone mit unregelmäßigen Verzäpfungen zum Dentin. c) und d) Bei höheren Vergrößerungen wird deutlich, dass eine strukturhaltige Hybridzone mit eingelagerten, stäbchenförmigen FAP-Partikeln in spaltfreiem Verbund zum Dentin vorliegt. In Abbildung c) lassen sich innerhalb des Dentins mehrere Risse feststellen (Pfeile). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 1.000fach (b), 5.000fach (c), 10.000fach (d)

Die AAP-Auflagerungen bei Verwendung des HAP-Pulvers von Kalident zeigen eher zufällig in die Adhäsivmatrix eingebundene, amorphe, bzw. pseudokristalline Apatitpartikel heterogener Morphologie und stark variierender Größe. Daraus resultiert im Vergleich zur AAP mit FAP eine unebenere Oberfläche, wie in den Abbildungen 4.5 und 4.6 gut erkennbar ist. Die dargestellten Tubuli sind größtenteils dicht mit AAP-Material gefüllt.

HAP 1 + Adhese Universal

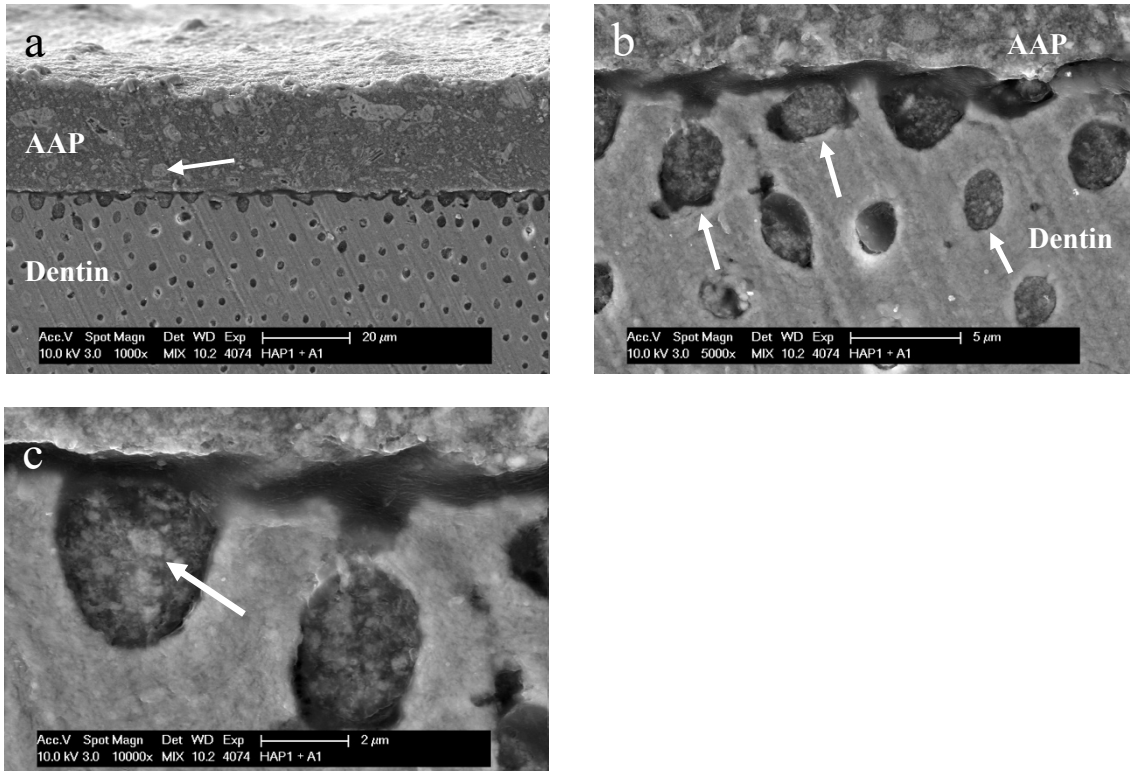


Abb. 4.5: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + Adhese Universal. a) Es zeigt sich eine Schichtstärken konstante AAP-Auflagerung mit eingebundenen, zufällig verteilten amorphen Kalident-Partikeln (Pfeil) und ein spaltfreier Verbund zum Dentin. Als Ausdruck von Schleif- und Politurvorgängen fallen im Dentin schräg verlaufende Linien auf. b) In dieser Vergrößerung zeigen sich mehrere mit AAP-Material gefüllte Dentintubuli (Pfeile). c) Bei 10.000facher Vergrößerung werden die einzelnen Kalident-Partikel innerhalb der Tubuli sichtbar (Pfeil). Das Füllmaterial liegt den Tubuluswänden spaltfrei an. Originalvergrößerungen: 1.000fach (a), 5.000fach (b), 10.000fach (c)

HAP 1 + Scotchbond Universal

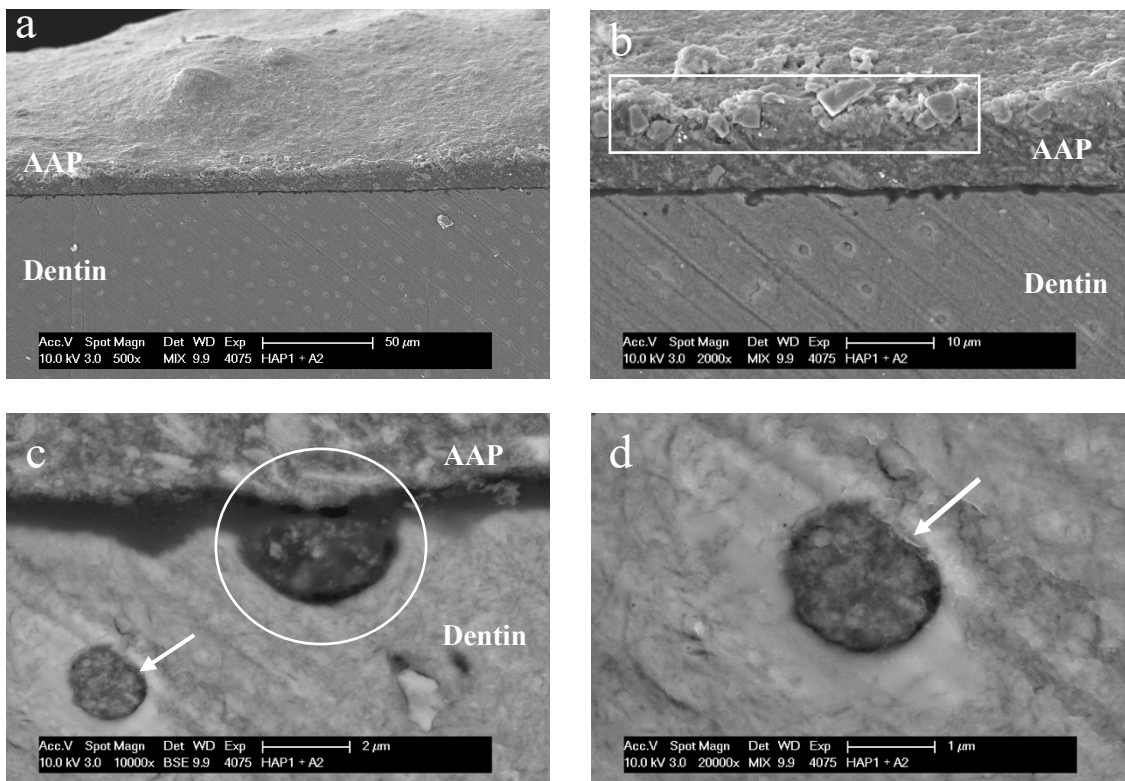


Abb. 4.6: REM BSE und MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + Scotchbond Universal. a) Die AAP-Auflagerungen dieses Prüfkörpers zeigen eine größere Variabilität in der Schichtstärke, liegen dem Dentin aber spaltfrei an. b) Es zeigen sich an der Oberfläche der aufgetragenen Paste einige Kalident-Partikel, welche der AAP scheinbar lose aufliegen und nicht vollständig in die Matrix aus Adhäsiv eingebettet sind (Kasten). Das Dentin weist wieder schräg verlaufende Linien als Ausdruck von Schleif- und Politurvorgängen auf. c) Im Bereich der Hybridzone wird die Verzäpfung mit dem Dentin sichtbar (Kreis). d) Es ist ein spaltfrei gefüllter Dentintubulus zu sehen (Pfeil). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 2.000fach (b), 10.000fach (c), 20.000fach (d)

HAP 1 + Clearfil Universal Bond Quick

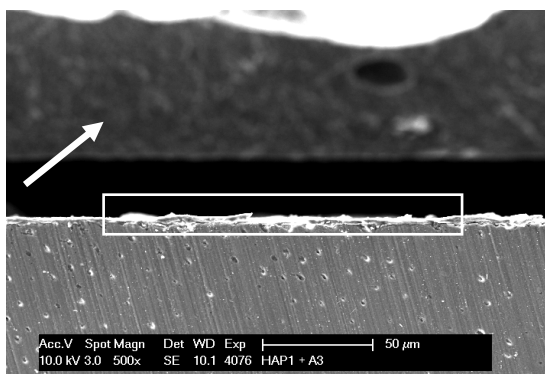


Abb. 4.7: REM SE Aufnahme der Grenzfläche, HAP1 + Clearfil Universal Bond Quick. Auf der Dentin Oberfläche fehlt eine AAP-Auflagerung vollständig. Es sind einige Reste einer Hybridzone zu erkennen (Kasten). Bei der mit Pfeil markierten Struktur handelt es sich wahrscheinlich um die abgelöste AAP-Schicht, die hier in einer anderen Ebene liegt. Originalvergrößerung: 500fach

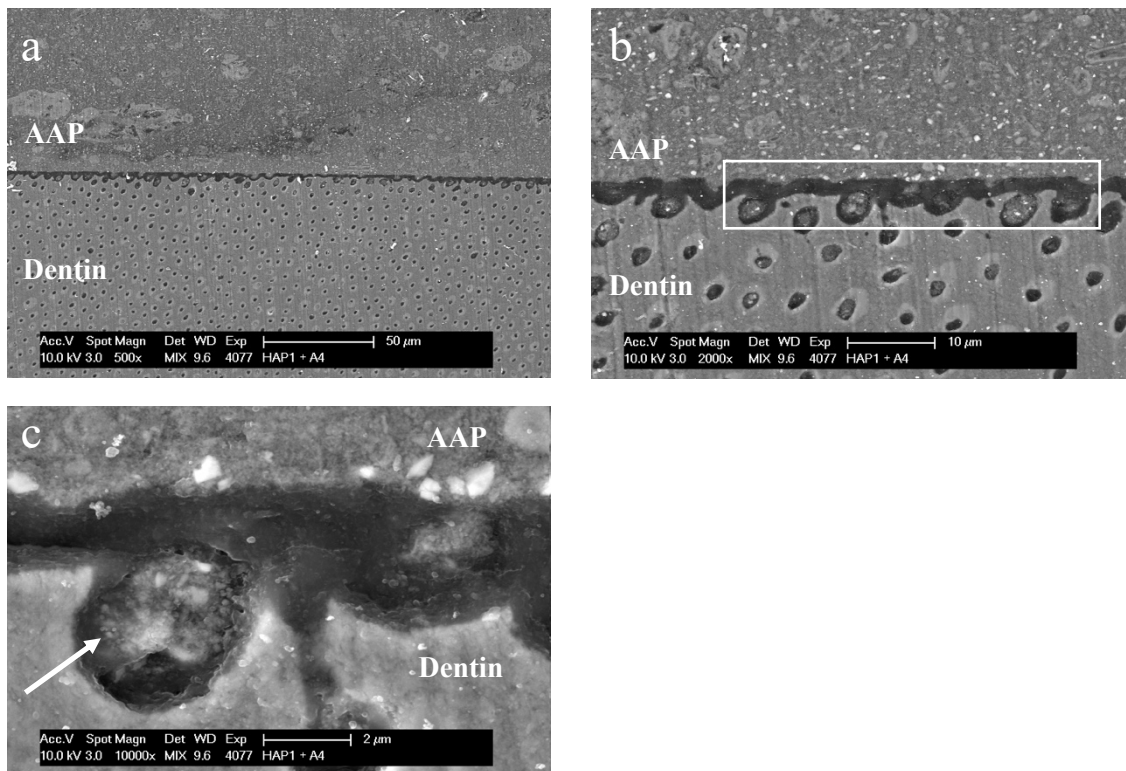
HAP 1 + OptiBond eXTRa Universal

Abb. 4.8: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + OptiBond eXTRa Universal. a) und b) Es zeigen sich AAP-Auflagerungen mit zufällig verteilten amorphen HAP-Partikeln und eine Verbundzone mit zapfenartigem Muster zum Dentin (Kasten) als intakter Verbund. c) Bei höherer Vergrößerung zeigt sich die strukturhaltige Hybridzone mit Einlagerung des AAP-Materials in einen angrenzenden Dentintubulus (Pfeil). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 2.000fach (b), 10.000fach (c)

Nachfolgend sind die REM-Aufnahmen der Prüfkörper mit dem HAP von Sigma Aldrich aufgeführt. Die AAP-Auflagerungen zeigen ähnlich ebene Oberflächen wie die des FAP-Pulvers (Abbildung 4.9), die Partikel haben eine gleichmäßigere Dimensionierung. Die nun wieder regelmäßiger in die AAP-Schicht eingebundenen Partikel mit sphärischem Erscheinungsbild erzeugen eine homogene Schicht aus Adhäsivsystem und Apatitmaterial und zeigen bis auf die Kombination mit dem Clearfil Universal Bond Quick stabile Verbundzonen.

HAP 2 + Adhese Universal

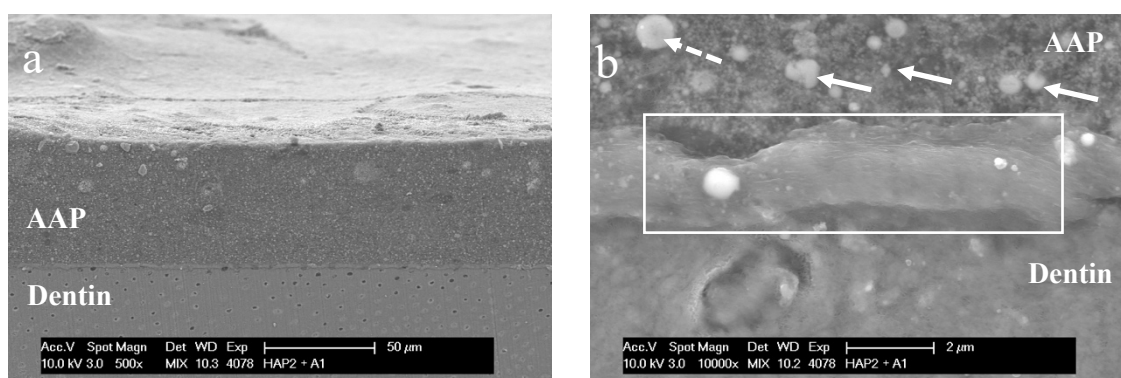


Abb. 4.9: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + Adhese Universal. a) Es zeigt sich eine gleichmäßig hohe AAP-Auflagerung mit spaltfreiem Verbund zum darunterliegenden Dentin. b) Bei 10.000facher Vergrößerung lassen sich die einzelnen sphärischen HAP-Partikel unterschiedlicher Größe in der Adhäsivmatrix nachweisen (Pfeile). Die größten Partikel erreichen dabei eine ungefähre Größe von 1 µm (Pfeil, gestrichelt). Die Hybridzone zeigt hier erneut ein Aufquellen mit Austreten aus der Bildfläche in Richtung des Betrachters (Kasten). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 10.000fach (b)

HAP 2 + Scotchbond Universal

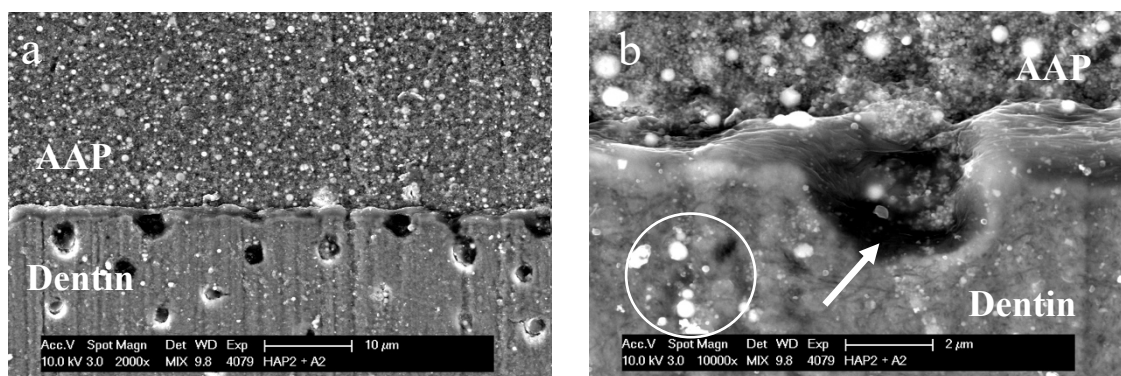


Abb. 4.10: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + Scotchbond Universal. a) Die AAP-Auflagerung zeigt eine sehr dichte und homogene Inkorporation von kugelförmigen HAP-Partikeln und einen spaltfreien Verbund zum Dentin. b) Bei 10.000facher Vergrößerung zeigt sich auch hier ein leichtes Quellphänomen der Hybridzone. Die Dentintubuli scheinen weniger dicht gefüllt (Pfeil). Bei den eingekreisten, weißen kugelförmigen Strukturen könnte es sich um Siliciumpartikel aus dem verwendeten Schleifpapier der Schleifmaschine handeln. Originalvergrößerungen: 2.000fach (a), 10.000fach (b)

HAP 2 + Clearfil Universal Bond Quick

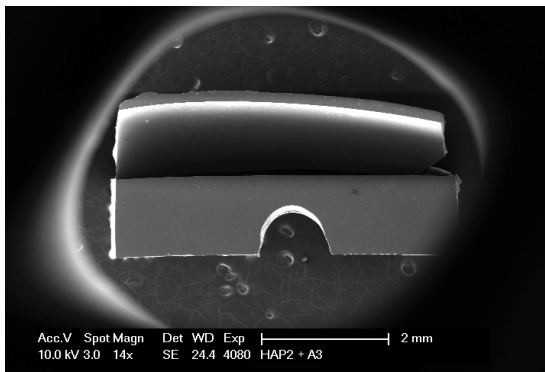


Abb. 4.11: REM SE Aufnahme des Prüfkörpers, HAP2 + Clearfil Universal Bond Quick. Es zeigt sich ein erneutes Ablösen der AAP-Schicht vom Dentinprüfkörper. Originalvergrößerung: 14fach

HAP 2 + OptiBond eXTRa Universal

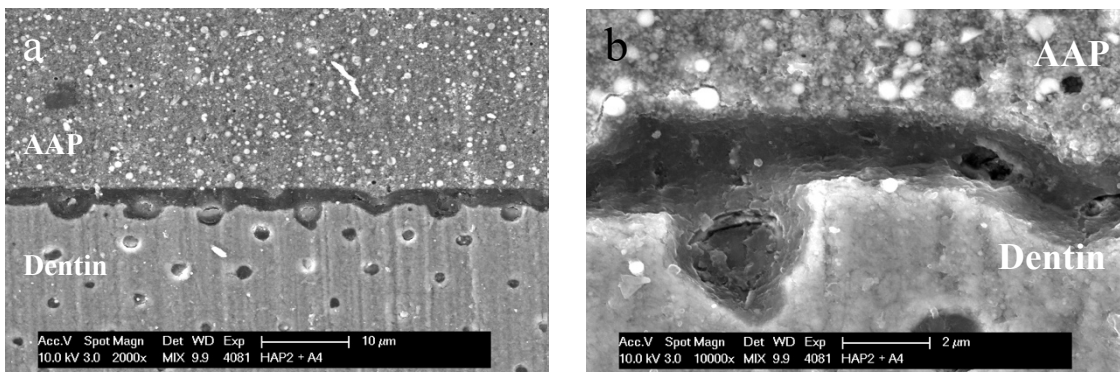


Abb. 4.12: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + OptiBond eXTRa Universal. a) Eine AAP-Schicht mit zahlreichen eingelagerten HAP-Partikeln kugelförmiger Morphologie und eine stabile Verbundzone sind sichtbar. Im Dentin zeigen sich vertikal verlaufende Linien, welche Schleif- und Politurvorgängen am Prüfkörper zugeordnet werden können. b) Bei höherer Vergrößerung zeigt sich eine strukturhaltige Hybridzone. Die Größenvariabilität der HAP-Partikel in der AAP-Schicht wird deutlich. Originalvergrößerungen: 2.000fach (a), 10.000fach (b)

Die folgenden drei Abbildungen von Prüfkörpern mit den AAP aller Apatite mit dem Adhäsivsystem Adhese Universal (A1) zeigen dieselben Prüfkörper nach erneutem Anschleifen der betrachteten Grenzfläche mit einer Körnung P4000. Diese Prüfkörper zeigten zuvor bei den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen ein Aufquellen des Materials im Bereich der Hybridzone, welches bei den folgenden Abbildungen 4.13 - 4.15 vollständig ausbleibt.

FAP 1 + Adhese Universal (Grenzfläche neu angeschliffen)

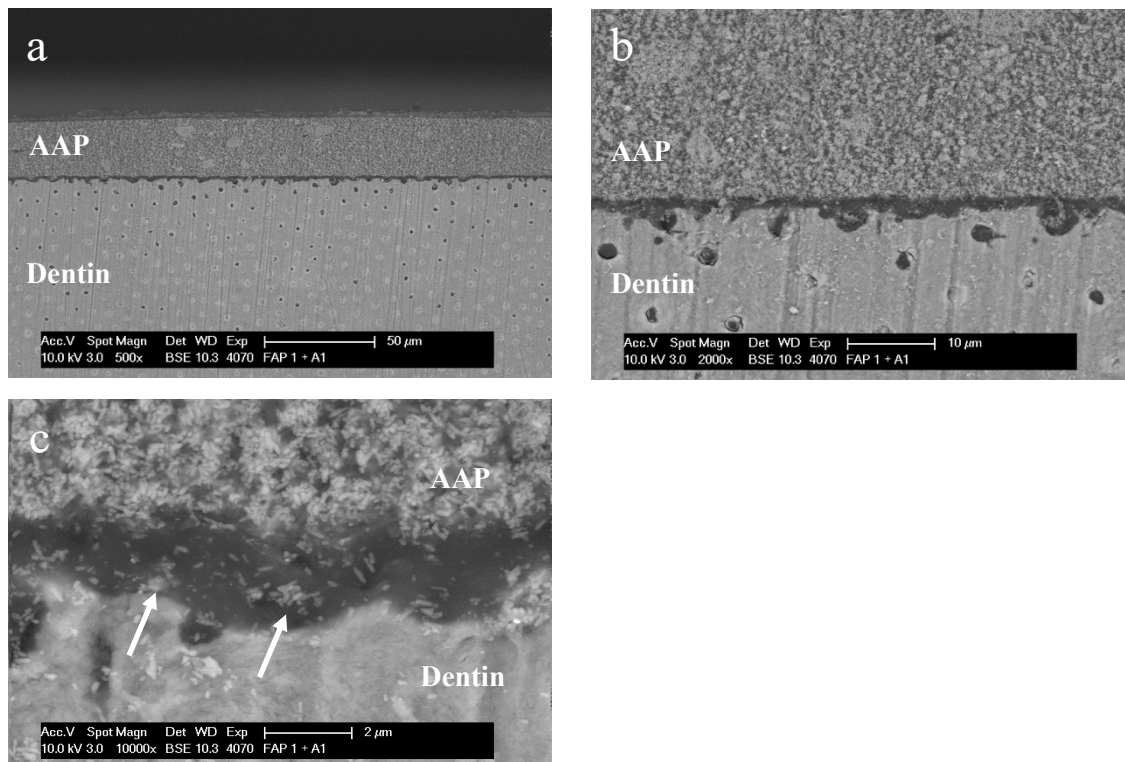


Abb. 4.13: REM BSE Aufnahmen der neu angeschliffenen Grenzfläche, FAP1 + Adhese Universal. a) Es zeigt sich nach wie vor ein AAP-Bereich mit konstanter Schichtstärke und spaltfreiem Verbund zum Dentin. b) Bei 2.000facher Vergrößerung kann das nun ausbleibende Quellphänomen in der Hybridzone beobachtet werden. Die AAP-Schicht wirkt sehr homogen. Im Dentin können vertikal verlaufende Linien als Zeichen von Schleif- und Politurvorgängen am Prüfkörper erkannt werden. c) Die Pfeile zeigen deutlich in die Hybridzone eingelagerte, stäbchenförmige FAP-Partikel. Originalvergrößerungen: 500fach (a), 2.000fach (b), 10.000fach (c)

HAP 1 + Adhese Universal (Grenzfläche neu angeschliffen)

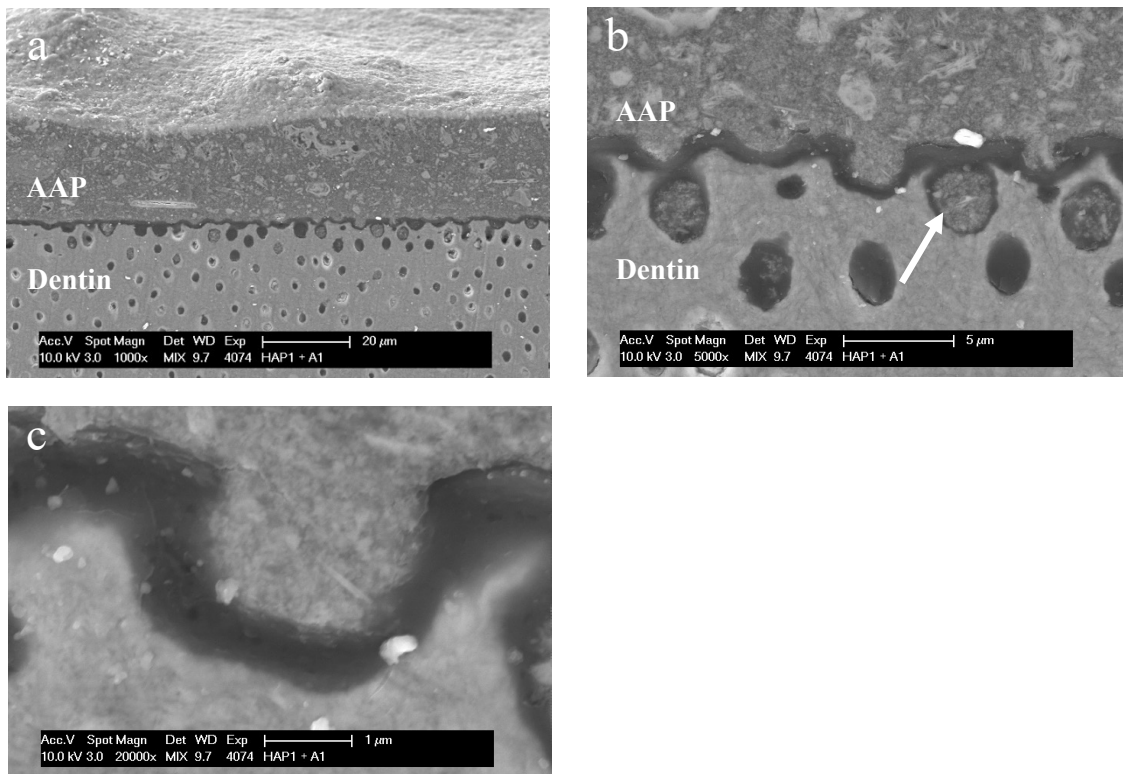


Abb. 4.14: REM MIX Aufnahmen der neu angeschliffenen Grenzfläche, HAP1 + Adhese Universal. a) AAP-Auflagerung mit spaltfreiem Verbund zum Dentin. b) Die Hybridzone zeigt kein Quellphänomen, einige Dentintubuli sind nach wie vor mit AAP-Material gefüllt (Pfeil). c) Einige Partikel haben sich auch in die Hybridzone eingelagert. Originalvergrößerungen: 1.000fach (a), 5.000fach (b), 20.000fach (c)

HAP 2 + Adhese Universal (*Grenzfläche neu angeschliffen*)

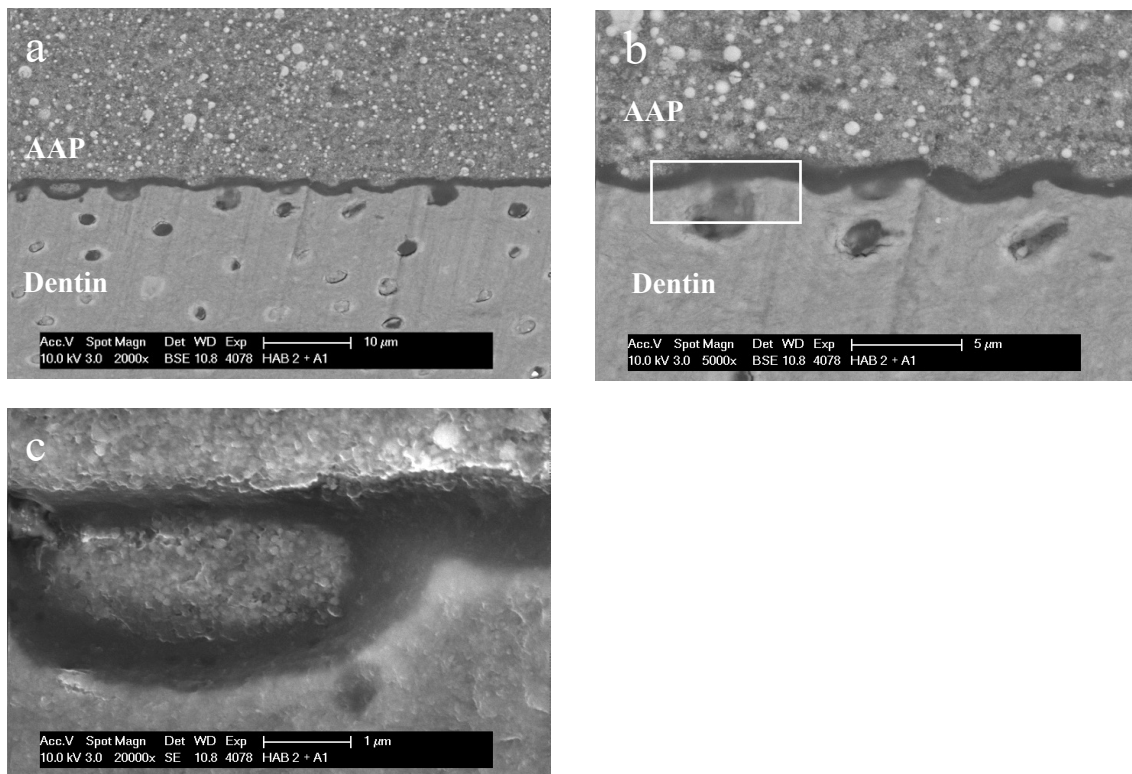


Abb. 4.15: REM BSE und SE Aufnahmen der neu angeschliffenen Grenzfläche, HAP2 + Adhese Universal. a) Homogene AAP-Auflagerung mit spaltfreiem Verbund zum Dentin. b) Minimales Aufquellen der Hybridzone nur noch in Teilen des Bildausschnittes zu sehen (Kasten). Insgesamt zeigt sich in der Hybridzone sehr wenig Apatit. c) Auch bei höherer Vergrößerung liegt die Hybridzone in der Bildfläche. Sie ragt mit einem Kunststofftag in einen quer angeschnittenen Dentintubulus. Originalvergrößerungen: 2.000fach (a), 5.000fach (b), 20.000fach (c)

4.2 Versuchsreihe 2: geändertes Versuchsprotokoll für Clearfil Universal Bond Quick und 7-tägige Nasslagerung der Proben

Die folgenden Abbildungen zeigen REM-Aufnahmen von Prüfkörpern, welche nach ihrer Herstellung sieben Tage in destilliertem Wasser in Reaktionsgefäßen zwischenlagerten. Für das Adhäsivsystem Clearfil Universal Bond Quick wurde das Versuchsprotokoll, wie in Abschnitt *Material und Methoden* beschrieben, abgeändert. Für die übrigen Kombinationen aus Versuchsreihe 1 wurde nach bekanntem Schema je ein Prüfkörper nach sieben Tagen Wasserlagerung im REM analysiert.

Bei den Kombinationen FAP1 + A1, FAP1 + A2 und HAP2 + A1 kann erstmals in begrenzten Bereichen des Prüfkörpers eine Spaltbildung zwischen der AAP und dem Dentin beobachtet werden (Abbildungen 4.16, 4.17 und 4.26). Bei höheren Vergrößerungen wird deutlich, dass es sich hierbei um ein adhäsives Verbundversagen handelt, die AAP-Auflagerung sich also oberhalb einer intakten Hybridschicht ablöste. Für die Struktur der AAP selbst können keine mikroskopisch relevanten Änderungen festgestellt werden, sie blieben von der Nasslagerung scheinbar unbeeinflusst.

Bei abgeändertem Versuchsprotokoll für Prüfkörper mit dem Adhäsivsystem Clearfil Universal Bond Quick kann für die verkürzte Ätzzeit von 2 s bei den Apatiten FAP1 und HAP2 eine Spaltbildung zwischen der AAP-Schicht und dem Dentin beobachtet werden (Abbildungen 4.18 und 4.28). Auf Abbildung 4.28 zeigt sich für das HAP2 erneut das oben beschriebene adhäsive Verbundversagen bei intakter Hybridschicht. Bei Verwendung des HAP1 riss die AAP-Auflagerung sogar teilweise vollständig vom Prüfkörper ab, ein Teil der restlichen intakten Auflagerung zeigt ebenfalls eine Spaltbildung (Abbildung 4.23). Bei den unkonditionierten Bruchpräparaten löste sich die AAP-Schicht beim FAP1 vollständig vom Prüfkörper ab (Abbildung 4.19), während für das HAP1 und HAP2 ein spaltfreier Verbund bei scheinbar fehlender Hybridzone beobachtet werden kann (Abbildungen 4.24 und 4.29).

FAP 1 + Adhese Universal

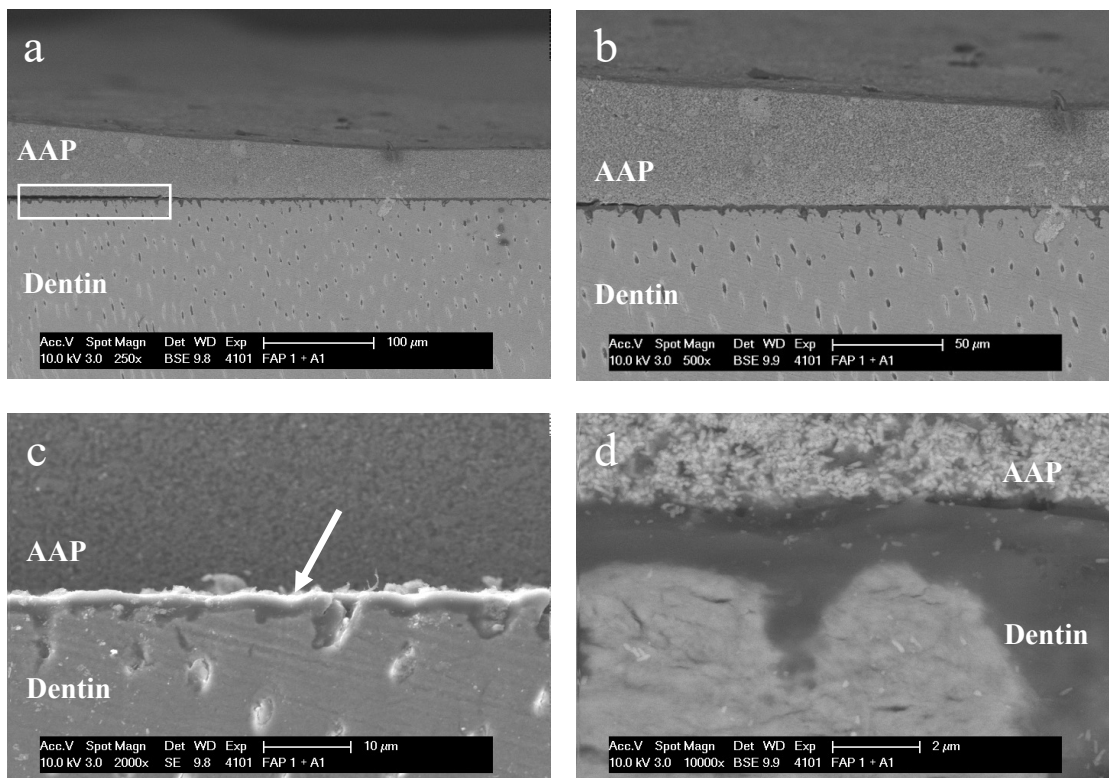


Abb. 4.16: REM BSE und SE Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + Adhese Universal nach 7-tägiger Nasslagerung. a) Bei 250facher Vergrößerung zeigt sich im linken Bildausschnitt eine Spaltbildung zwischen der AAP und dem Dentin (Kasten) bei sonst intaktem Verbund. b) Die AAP-Schicht wirkt homogen, in diesem Bereich des Prüfkörpers zeigt sich ein spaltfreier Verbund zum Dentin. c) Im SE-Modus wird auch hier wieder das Quellphänomen der Hybridschicht deutlich (Pfeil). d) In der AAP sind die dicht gepackten, stäbchenförmigen FAP-Partikel gut dargestellt, darunter zeigt sich eine eher FAP-arme Hybridzone. Originalvergrößerungen: 250fach (a), 500fach (b), 2.000fach (c), 10.000fach (d)

FAP 1 + Scotchbond Universal

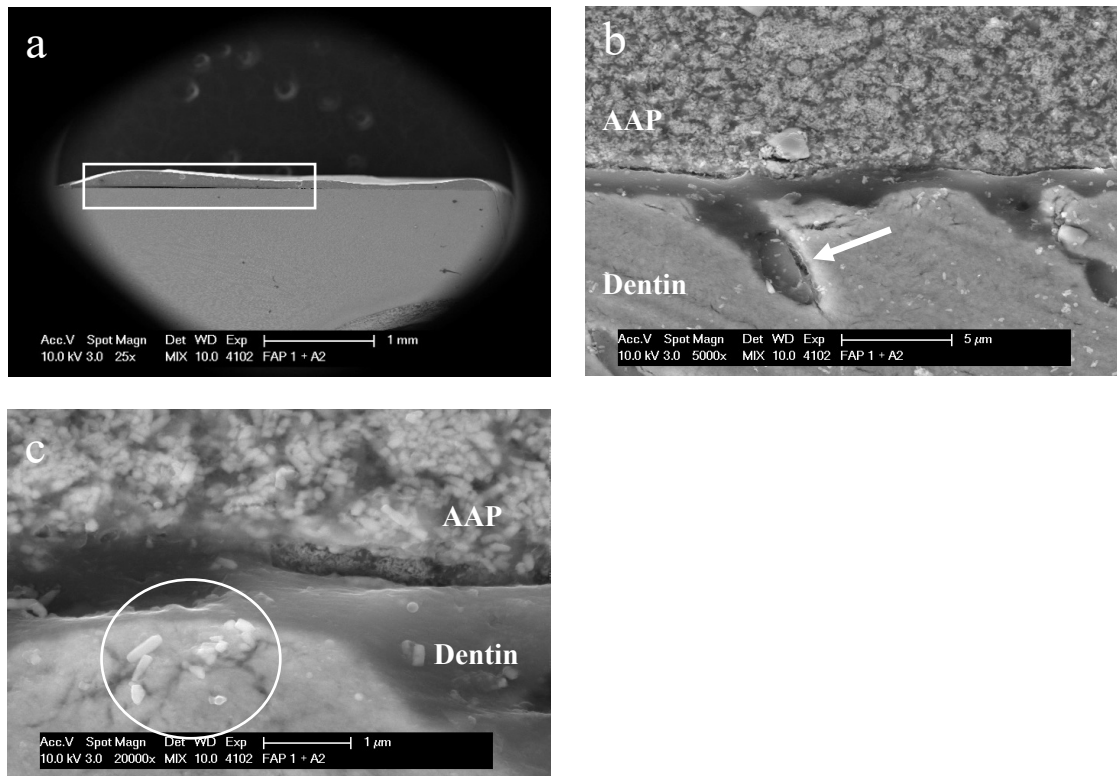


Abb. 4.17: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + Scotchbond Universal nach 7-tägiger Nasslagerung. a) In der Übersichtsaufnahme zeigt sich in der linken Hälfte des Prüfkörpers ein Spalt zwischen AAP und Dentin (Kasten). b) Die AAP-Auflagerung zeigt eine hohe Packungsdichte der Apatite. Ausgehend von der Hybridzone ragt ein AAP-Tag in einen längs angeschnittenen Dentintubulus (Pfeil) bei hier intaktem Verbund. c) FAP-Partikel finden sich auch über die Hybridzone hinaus im Dentin wieder (Kreis). Originalvergrößerungen: 25fach (a), 5.000fach (b), 20.000fach (c)

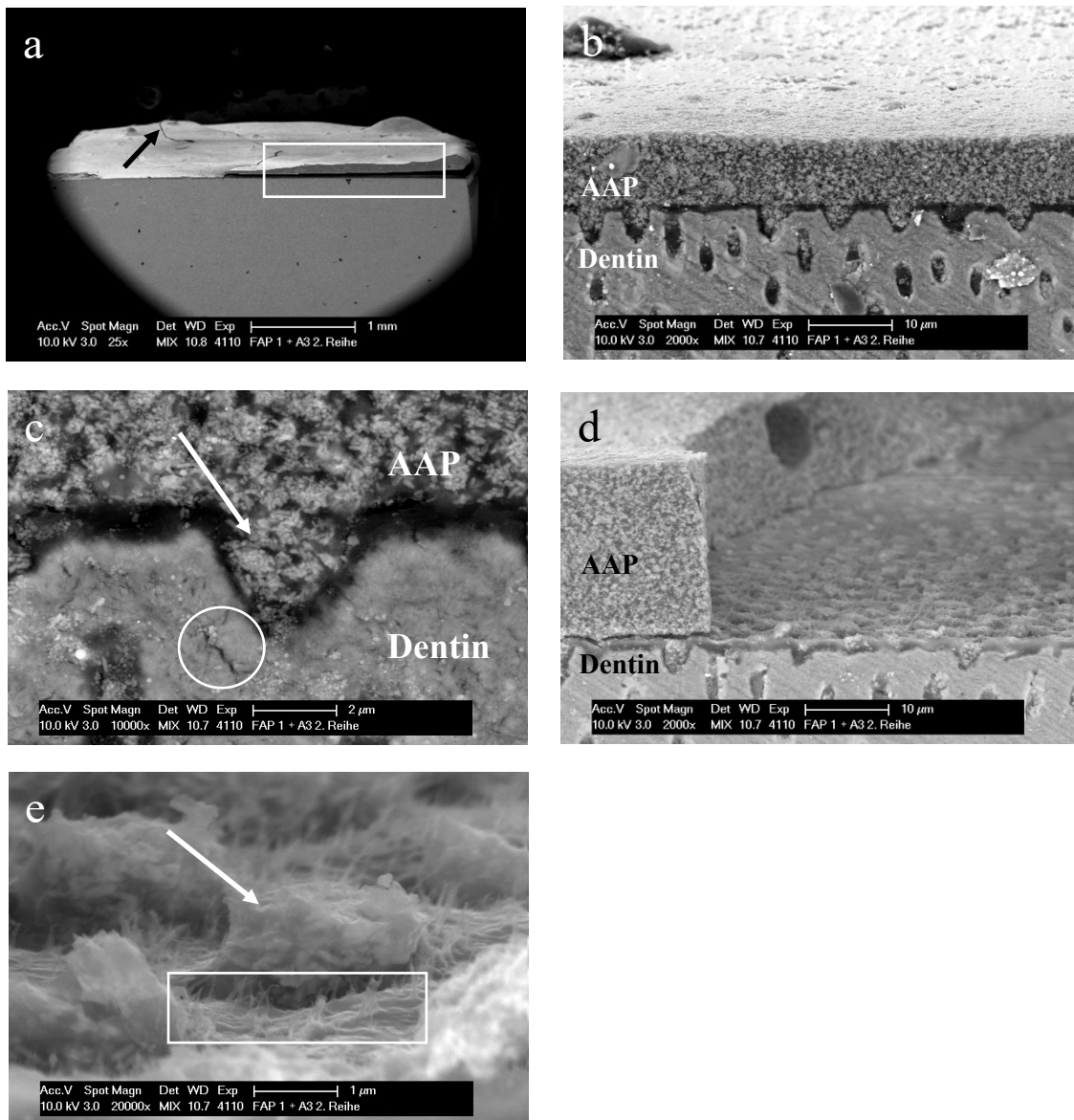
FAP 1 + Clearfil Universal Bond Quick (Dentinprüfkörper nur 2 s konditioniert)


Abb. 4.18: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + Clearfil Universal Bond Quick auf Dentinprüfkörper nach 2 s Konditionierung und 7-tägiger Nasslagerung. a) Über die Hälfte des Pastenanteils hat sich vom Dentin abgelöst (Kasten). Der Pfeil zeigt auf eine Rissbildung innerhalb der AAP im Sinne eines kohäsiven Risses. b) Eine homogene und gleichmäßig hohe AAP-Auflagerung liegt dem Dentin in diesem Bereich des Prüfkörpers spaltfrei und mit ausgeprägtem Verzäpfungsmuster an. c) Es zeigt sich eine ausgeprägte Penetration von Apatitmaterial in die Tubuli (Pfeil). Innerhalb des Dentins fällt eine Rissbildung im Sinne eines kohäsiven Bruchs auf (Kreis). d) Diese Aufnahme stellt den Grenzbereich von herausgerissener zu intakter AAP-Auflagerung dar. Deutlich wird, dass es sich um ein Ablösen an der Oberfläche des hybridisierten Dentins handelt. e) Bei höherer Vergrößerung lässt sich das durch Säurekonditionierung freigelegte Kollagenfasergeflecht im Bereich der abgerissenen Auflagerung darstellen (Kasten). Einzelne Apatitanteile liegen noch auf den Fibrillen auf (Pfeil). Originalvergrößerungen: 25fach (a), 2.000fach (b), 10.000fach (c), 2.000fach (d), 20.000fach (e)

unkonditionierter Dentinprüfkörper als Bruchpräparat

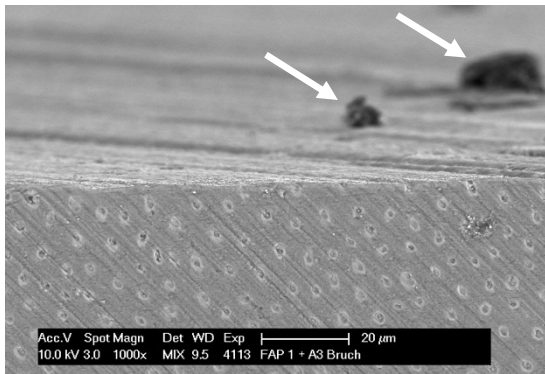


Abb. 4.19: REM MIX Aufnahme der Grenzfläche, FAP1 + Clearfil Universal Bond Quick auf ungeätzter Bruchoberfläche nach 7-tägiger Nasslagerung. Auf der Oberfläche des Dentins fehlt jegliche AAP-Auflagerung. Es zeigen sich lediglich Reste von aufgelagertem Material (Pfeile). Spuren von Schleif- und Politurvorgängen zeigen sich als schräg verlaufende Linien im Dentin. Originalvergrößerung: 1.000fach

FAP 1 + OptiBond eXTRa Universal

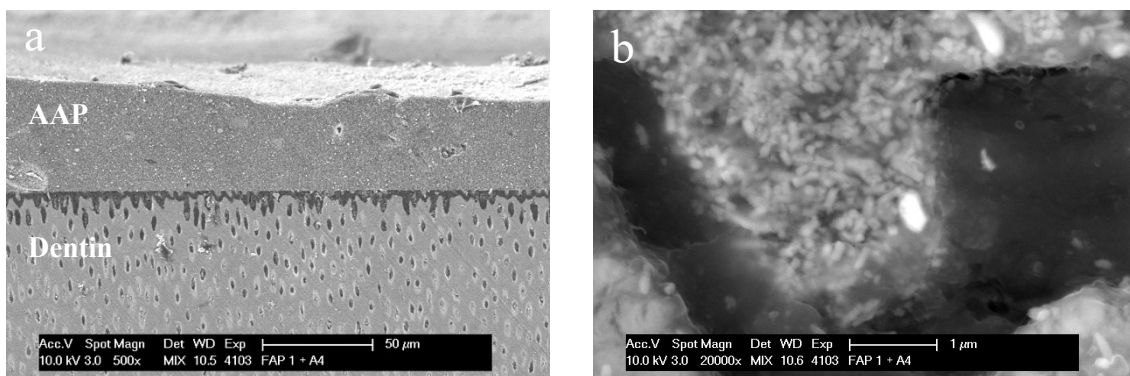


Abb. 4.20: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + OptiBond eXTRa Universal nach 7-tägiger Nasslagerung. a) Homogene AAP-Auflagerungen zeigen über eine Hybridzone mit zapfenartiger Struktur einen spaltfreien Verbund zum Dentin. b) Ein mit zahlreichen FAP-Partikeln gefüllter Dentintubulus im Bereich der Hybridzone. Originalvergrößerungen: 500fach (a), 20.000fach (b)

HAP 1 + Adhese Universal

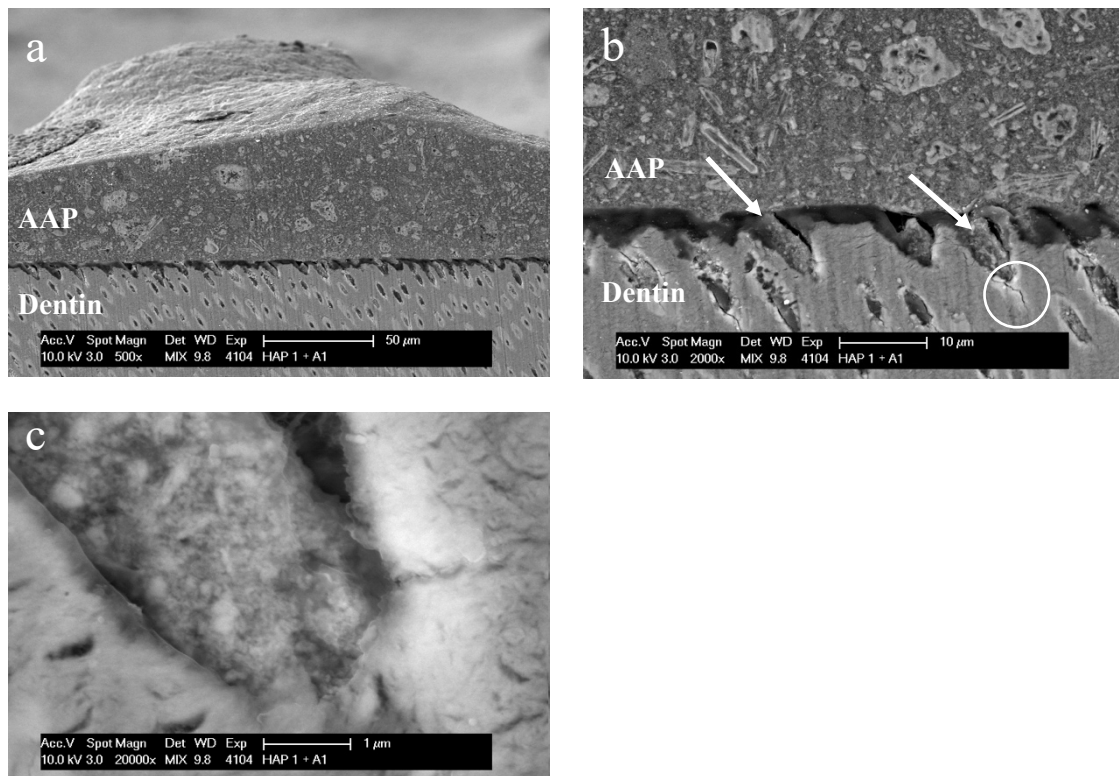


Abb. 4.21: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + Adhese Universal nach 7-tägiger Nasslagerung. a) Die AAP-Auflagerung variiert in ihrer Schichtstärke. Der Verbund zum Dentin ist spaltfrei. b) Die Inkorporation von HAP-Partikeln unterschiedlicher Morphologie in die Adhäsivmatrix wird deutlich. Es zeigen sich Tags aus AAP-Material in den hier längs angeschnittenen Dentintubuli (Pfeile). Am Rand der gefüllten Tubuli haben sich kohäsive Risse im Dentin gebildet (Kreis). c) Bei höherer Vergrößerung zeigt sich ein dicht gefüllter Dentintubulus, in welchem das Füllmaterial bis an die Wand des Tubulus heran reicht. Originalvergrößerungen: 500fach (a), 2.000fach (b), 20.000fach (c)

HAP 1 + Scotchbond Universal

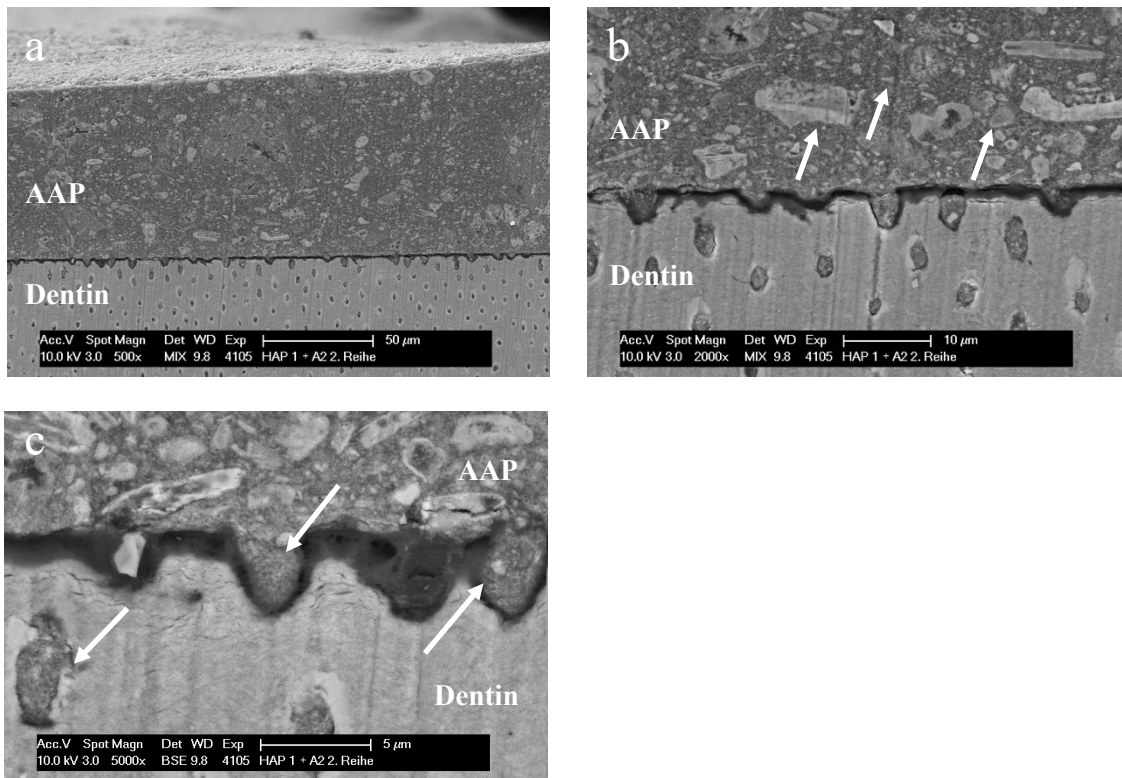


Abb. 4.22: REM BSE und MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + Scotchbond Universal nach 7-tägiger Nasslagerung. a) AAP-Auflagerung mit gleichmäßiger Schichtstärke und zufällig verteilten HAP-Partikeln. Darstellung einer dünnen Hybridschicht. b) Die variierende Größe der Apatitpartikel wird deutlich (Pfeile). c) Die Hybridzone zeigt eine Penetration von reichlich Apatit in die Dentintubuli (Pfeile). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 2.000fach (b), 5.000fach (c)

HAP 1 + Clearfil Universal Bond Quick (*Dentinprüfkörper nur 2 s konditioniert*)

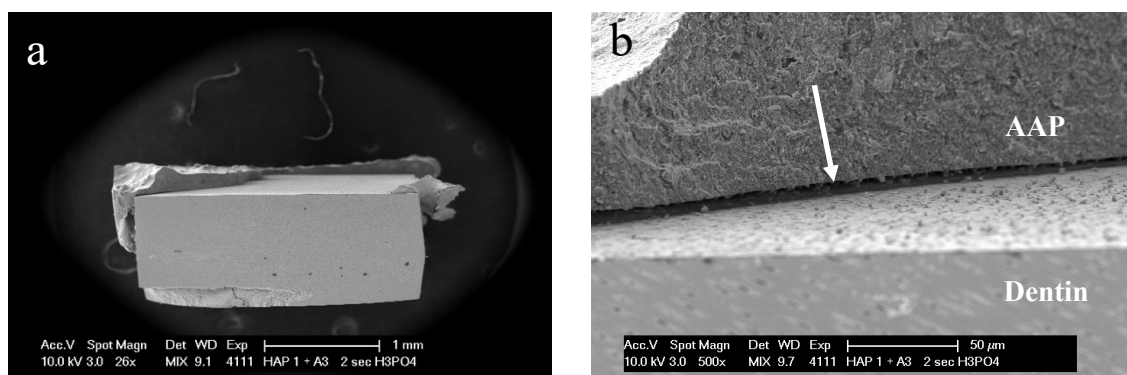


Abb. 4.23: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + Clearfil Universal Bond Quick auf Dentinprüfkörper nach 2 s Konditionierung und nach 7-tägiger Nasslagerung. a) Der größte Teil der AAP-Schicht ist vom Dentinprüfkörper abgelöst. b) Bei höherer Vergrößerung wird im Grenzbereich des abgelösten Anteils sichtbar, dass auch der übrige AAP-Anteil einen Spalt zum Dentin aufweist (Pfeil). Originalvergrößerungen: 26fach (a), 500fach (b)

unkonditionierter Dentinprüfkörper als Bruchpräparat

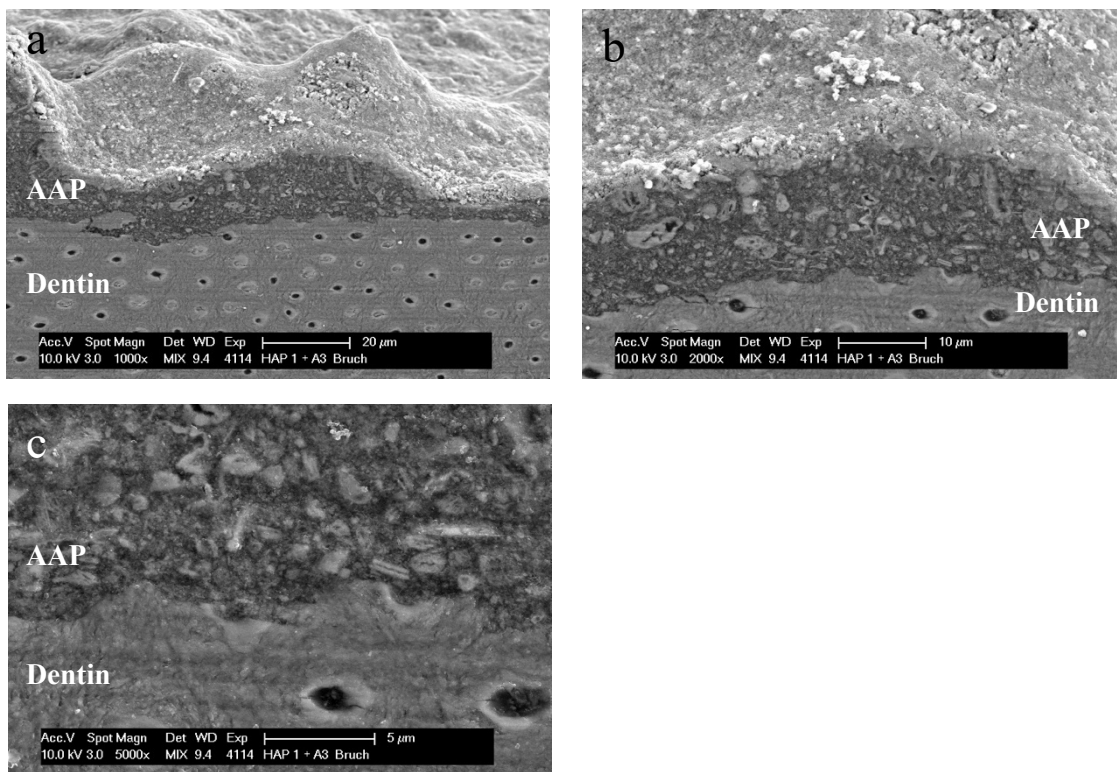


Abb. 4.24: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + Clearfil Universal Bond Quick auf ungeätzter Bruchoberfläche nach 7-tägiger Nasslagerung. a) und b) Eine diskontinuierlich hohe AAP-Schicht liegt dem Dentin spaltfrei an. c) auch bei höherer Vergrößerung lässt sich zwischen AAP und Dentin keine typische Hybridzone erkennen. Originalvergrößerungen: 1.000fach (a), 2.000fach (b), 5.000fach (c)

HAP 1 + OptiBond eXTRa Universal

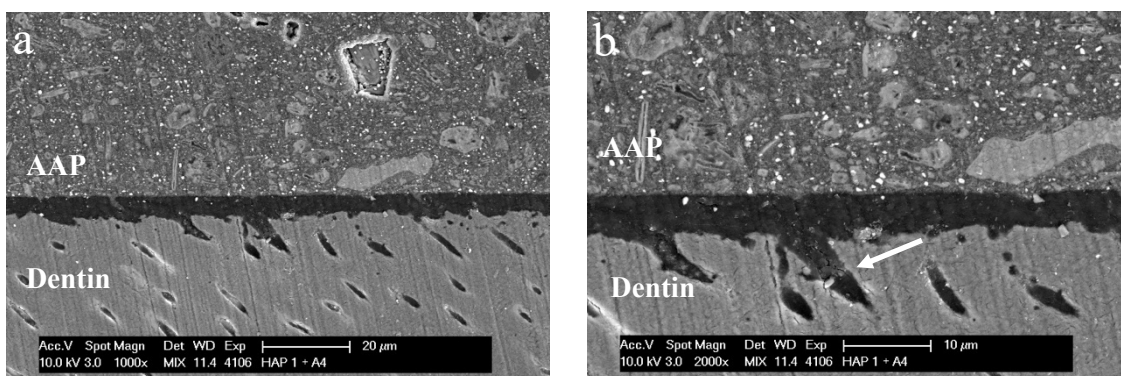


Abb. 4.25: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + OptiBond eXTRa Universal nach 7-tägiger Nasslagerung a) und b) Die Hybridzone erscheint als dunkles Band, welches sich in die Dentintubuli hineinzieht (Pfeil). Der Verbund zum Dentin ist intakt. Innerhalb der Hybridschicht zeigt sich wenig Apatit-Material. Originalvergrößerungen: 1.000fach (a), 2.000fach (b)

HAP 2 + Adhese Universal

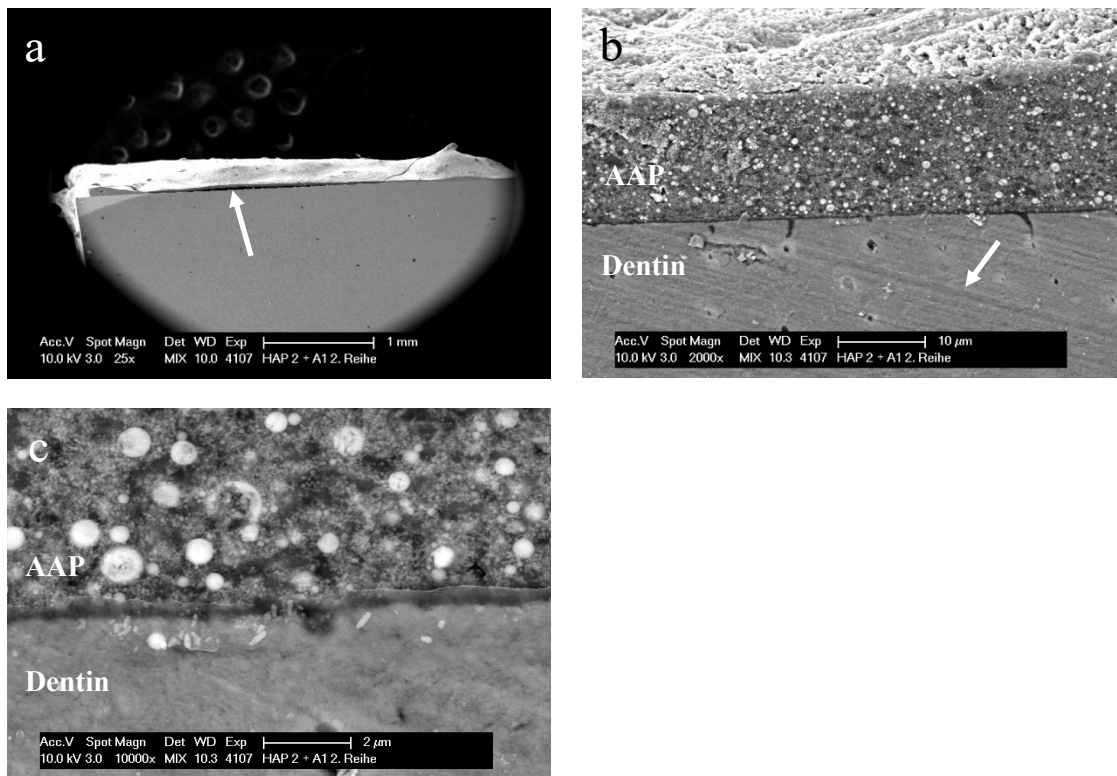


Abb. 4.26: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + Adhese Universal nach 7-tägiger Nasslagerung. a) In der Übersichtsaufnahme zeigt sich ein Bereich unzureichender Haftung am Dentin als Spaltbildung (Pfeil). b) Eine homogene AAP-Schicht liegt dem Dentin in diesem Bereich spaltfrei an. Es sind wenige Tags und angeschnittene Tubuli sichtbar. Feine, sichtbare Linien im Dentin sind Ausdruck von Schleif- und Politurvorgängen am Prüfkörper (Pfeil). c) Der Verbund zum Dentin zeigt sich spaltfrei, die Hybridzone erneut leicht aufgequollen. Originalvergrößerungen: 25fach (a), 2.000fach (b), 10.000fach (c)

HAP 2 + Scotchbond Universal

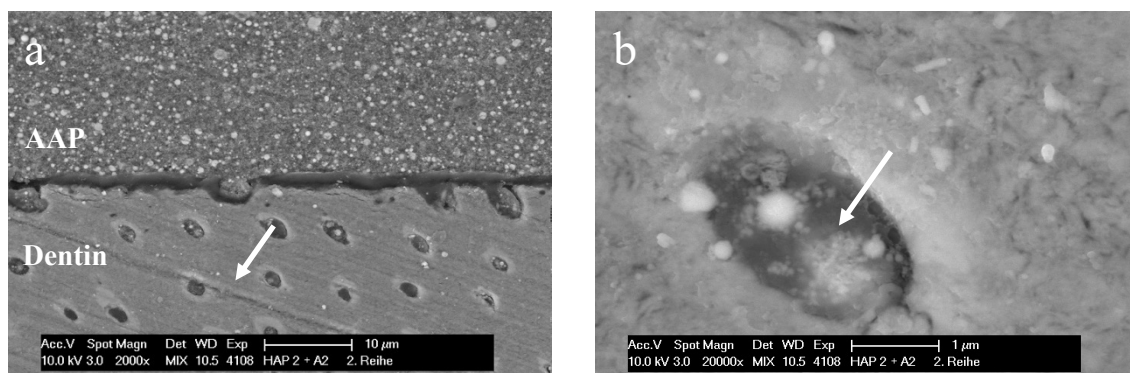


Abb. 4.27: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + Scotchbond Universal nach 7-tägiger Nasslagerung. a) Spaltfreies Anliegen der AAP-Auflagerung am Dentin mit Ausbildung einer Hybridzone. Im Bereich des Dentins sind schräg verlaufende Linien sichtbar, welche durch Schleif- und Politurvorgänge des Prüfkörpers erklärt werden können (Pfeil). b) Innerhalb der Tubuli liegt dicht gepacktes Apatitmaterial bis an die Tubuluswände heran (Pfeil). Originalvergrößerungen: 2.000fach (a), 20.000fach (b)

HAP 2 + Clearfil Universal Bond Quick (*Dentinprüfkörper nur 2 s konditioniert*)

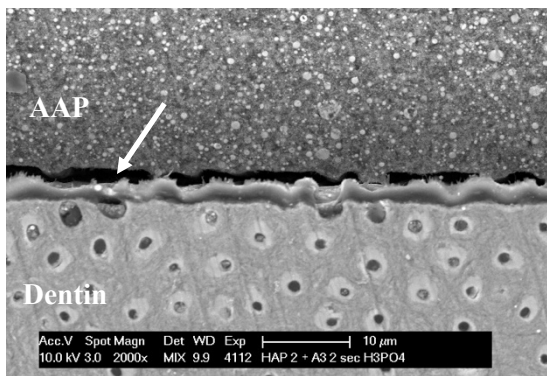


Abb. 4.28: REM MIX Aufnahme der Grenzfläche, HAP2 + Clearfil Universal Bond Quick auf Dentinprüfkörper nach 2 s Konditionierung und 7-tägiger Nasslagerung. Die AAP-Schicht hat sich im Sinne eines adhäsiven Verbundversagens oberhalb des hybridisierten Dentins abgelöst (Pfeil). Originalvergrößerung: 2.000fach

unkonditionierter Dentinprüfkörper als Bruchpräparat

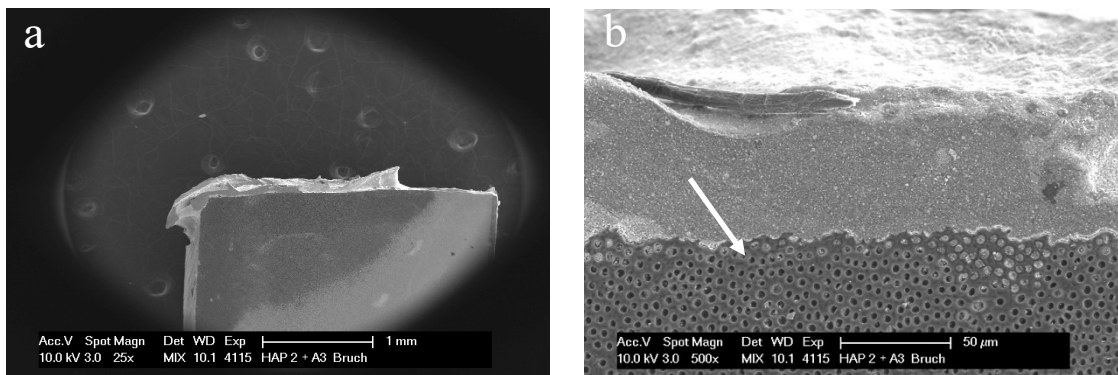


Abb. 4.29: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + Clearfil Universal Bond Quick auf ungeätzter Bruchoberfläche nach 7-tägiger Nasslagerung. a) und b) Die Beurteilung des Verbunds zum Dentin wird erschwert durch die Überlagerung mit einer Struktur von unbekanntem Erscheinungsbild (Pfeil). Originalvergrößerungen: 25fach (a), 500fach (b)

HAP 2 + OptiBond eXTRa Universal

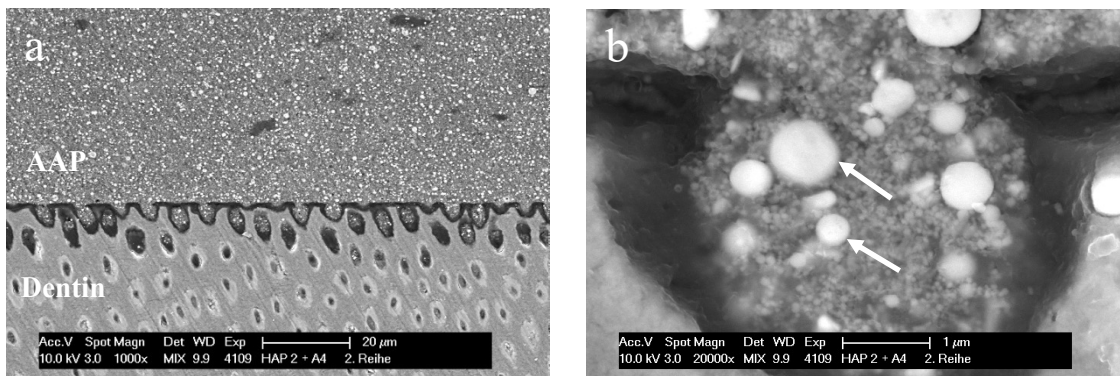


Abb. 4.30: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + OptiBond eXTRa Universal nach 7-tägiger Nasslagerung. a) Eine homogene AAP-Schicht liegt über einer schmalen Hybridzone mit ausgeprägter Verzäpfung dem Dentin spaltfrei an. b) Innerhalb eines Dentintubulus zeigen sich zahlreiche, dicht gepackte Apatit-Partikel unterschiedlicher Größe (Pfeile). Originalvergrößerungen: 1.000fach (a), 20.000fach (b)

4.3 Versuchsreihe 3: Scotchbond Universal nach 3-monatiger Nasslagerung

Versuchsreihe 3 umfasst Prüfkörper mit AAP-Kombinationen aller Apatitpulver und dem Adhäsivsystem Scotchbond Universal nach einer verlängerten Nasslagerung von drei Monaten. Auf den Prüfkörpern sind vereinzelt Hyphen im Sinne einer Pilzbildung zu erkennen (Abbildung 4.31). Für das FAP1 kann bereits bei kleinster Vergrößerung im REM eine Spaltbildung zwischen AAP und Dentin über nahezu den gesamten Prüfkörper erkannt werden. Beim Apatit Kalident (HAP1) können wieder große Bereiche vollständig herausgerissener Pastenanteile, sowie ein Aufquellen der Verbundzone beobachtet werden (Abbildung 4.32). Lediglich für das HAP2 zeigt sich ein intakter und spaltfreier Verbund zum Dentin (Abbildung 4.33).

FAP 1 + Scotchbond Universal

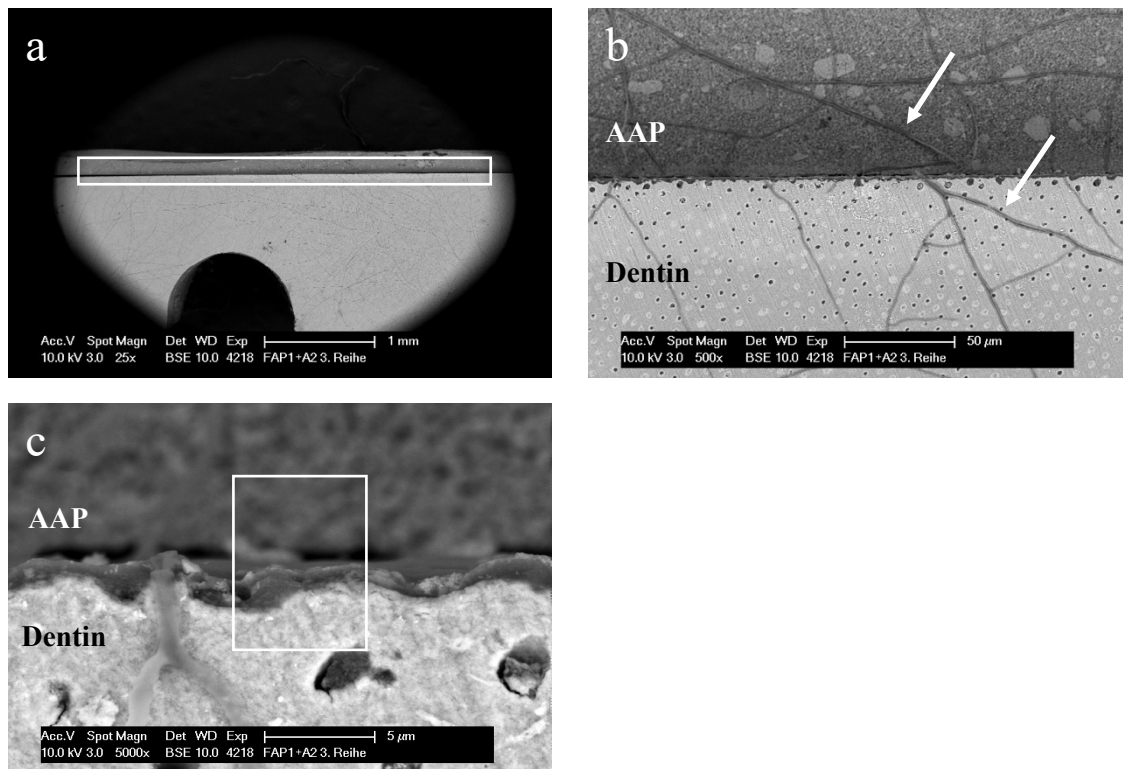


Abb. 4.31: REM BSE Aufnahmen der Grenzflächen, FAP1 + Scotchbond Universal nach 3-monatiger Nasslagerung. a) Bereits bei 25facher Vergrößerung kann für die gesamte Länge des Prüfkörpers eine dunkle Zone zwischen AAP und Dentin erkannt werden, welche am ehesten mit einer Spaltbildung zu vereinbaren ist (Kasten). b) Bei 500facher Vergrößerung scheint der Verbund zunächst intakt zu sein. Die Pfeile zeigen Hyphen bei beginnender Pilzbildung über den Prüfkörper verteilt (Pfeile). c) Bei dieser Aufnahme wird im Bereich oberhalb der Hybridzone ein Versatz in der Bildfläche deutlich, die AAP-Schicht scheint sich oberhalb der intakten Hybridzone abgelöst und von der Grenzfläche nach hinten wegbewegt zu haben (Kasten). Originalvergrößerungen: 25fach (a), 500fach (b), 5.000fach (c)

HAP 1 + Scotchbond Universal

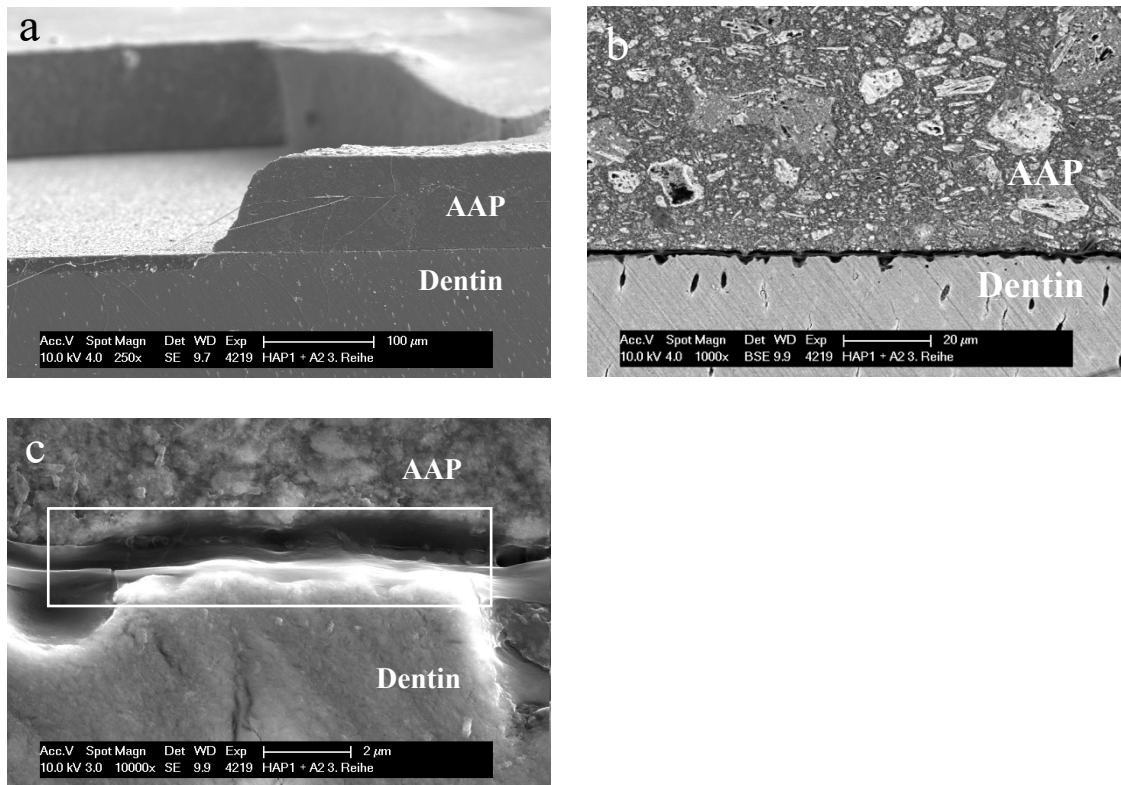


Abb. 4.32: REM BSE und SE Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + Scotchbond Universal nach 3-monatiger Nasslagerung. a) Es ist ein Bereich dargestellt, in welchem sowohl auf dem Dentin fest anhaftende AAP als auch eine Zone vollständig abgelöster AAP zu sehen ist. b) In diesem Abschnitt stellt sich eine intakte, schmale Hybridschicht und ein spaltfreier Verbund dar. Die AAP-Schicht zeigt zahlreiche eingebundene HAP-Partikel. c) Die Hybridzone erscheint aufgequollen (Kasten). Originalvergrößerungen: 250fach (a), 1.000fach (b), 10.000fach (c)

HAP 2 + Scotchbond Universal

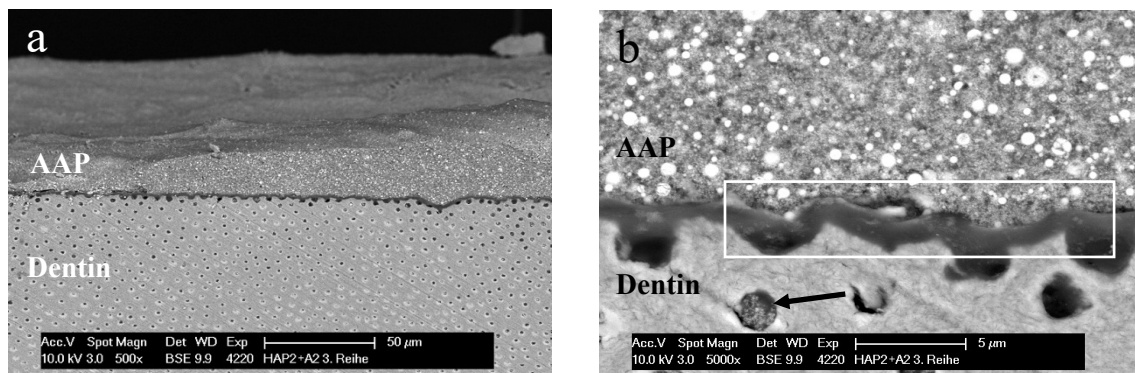


Abb. 4.33: REM BSE Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + Scotchbond Universal nach 3-monatiger Nasslagerung. a) Eine dünne, regelmäßige AAP-Schicht mit spaltfreiem Verbund zum darunterliegenden Dentin. b) Bei höherer Vergrößerung wirkt die Hybridschicht auch hier leicht aufgequollen (Kasten). Es sind einzelne AAP-gefüllte Dentintubuli zu erkennen (Pfeil). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 5.000fach (b)

4.4 Versuchsreihe 4: Prüfkörper nach Thermocycling und Säuretoleranztest

Für die Adhäsivapatit-Kombinationen mit den mikroskopisch überzeugendsten Verbundeigenschaften der vorangegangenen Versuchsreihen wurde zunächst jeweils ein Prüfkörper dem Thermocycling-Verfahren unterzogen und anschließend erneut rasterelektronenmikroskopisch beurteilt. Es handelt sich hierbei um die Kombinationen FAP1 + A1, FAP1 + A4, HAP1 + A4, HAP2 + A4.

In den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der ersten Proben nach Thermocycling können für keine der Kombinationen relevante Veränderungen im Strukturgefüge der beteiligten Materialien festgestellt werden. Sowohl die Struktur der AAP-Auflagerungen selbst, als auch die Hybridzone und der Verbund zum Dentin hielten den thermischen Wechselbelastungen zur Simulation des Alterungsprozesses stand.

Proben nach Thermocycling

FAP 1 + Adhese Universal

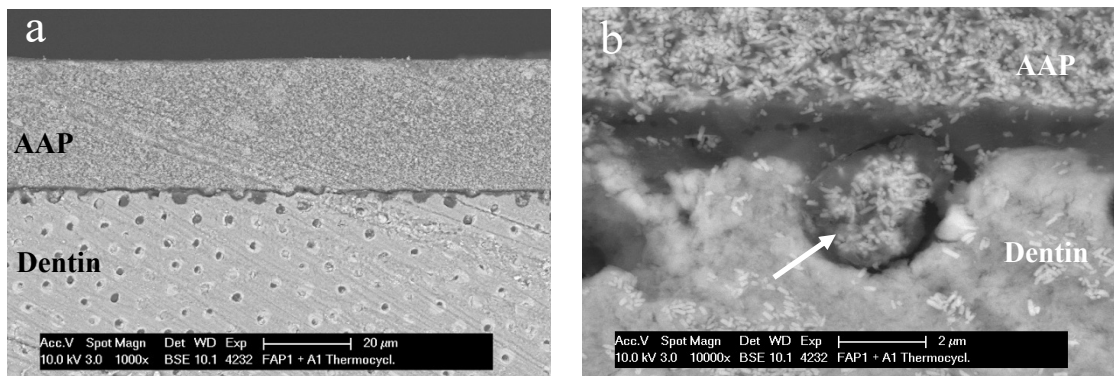


Abb. 4.34: REM BSE Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + Adhese Universal nach Thermocycling. a) Eine sehr homogene AAP-Auflagerung konstanter Schichtstärke zeigt weiterhin einen spaltfreien Verbund zum Dentin. b) Innerhalb der AAP werden die stäbchenförmigen, dicht gepackten FAP-Partikel sichtbar, welche auch nach Thermocycling in der Hybridzone sowie innerhalb der Tubuli erhalten bleiben. Das Füllmaterial liegt der Tubuluswand weiterhin spaltfrei an (Pfeil). Originalvergrößerungen: 1.000fach (a), 10.000fach (b)

FAP 1 + OptiBond eXTRa Universal

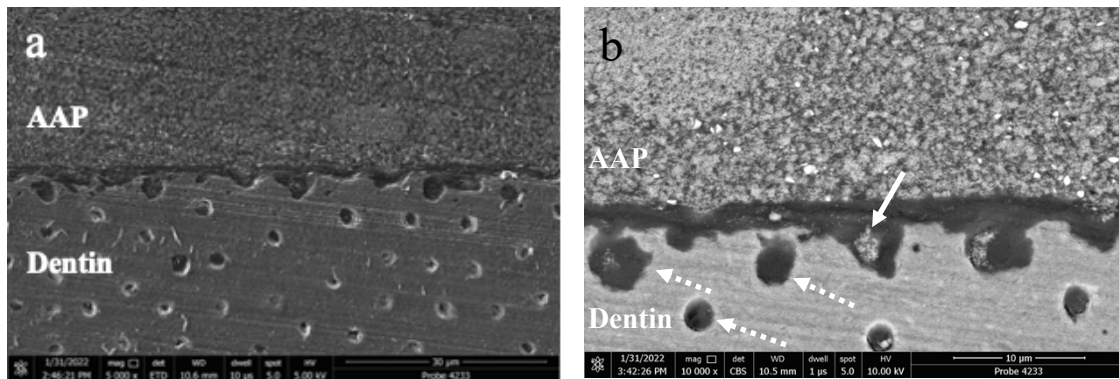


Abb. 4.35: REM BSE (CBS) und SE (ETD) Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + OptiBond eXTRa Universal nach Thermocycling. a) Im SE-Modus erscheinen die Strukturen sehr dunkel und mit wenig Kontrast zueinander. Es kann dennoch ein spaltfreier Verbund zum Dentin erkannt werden. b) Im BSE-Modus wird die bekannte homogene Struktur der AAP mit FAP-Partikeln sichtbar, welche sich auch teilweise in den Dentintubuli wiederfindet (Pfeil). Einige Tubuli erscheinen aber auch ungefüllt (Pfeile, gestrichelt). Originalvergrößerungen: 5.000fach (a), 10.000fach (b)

HAP1 + OptiBond eXTRa Universal

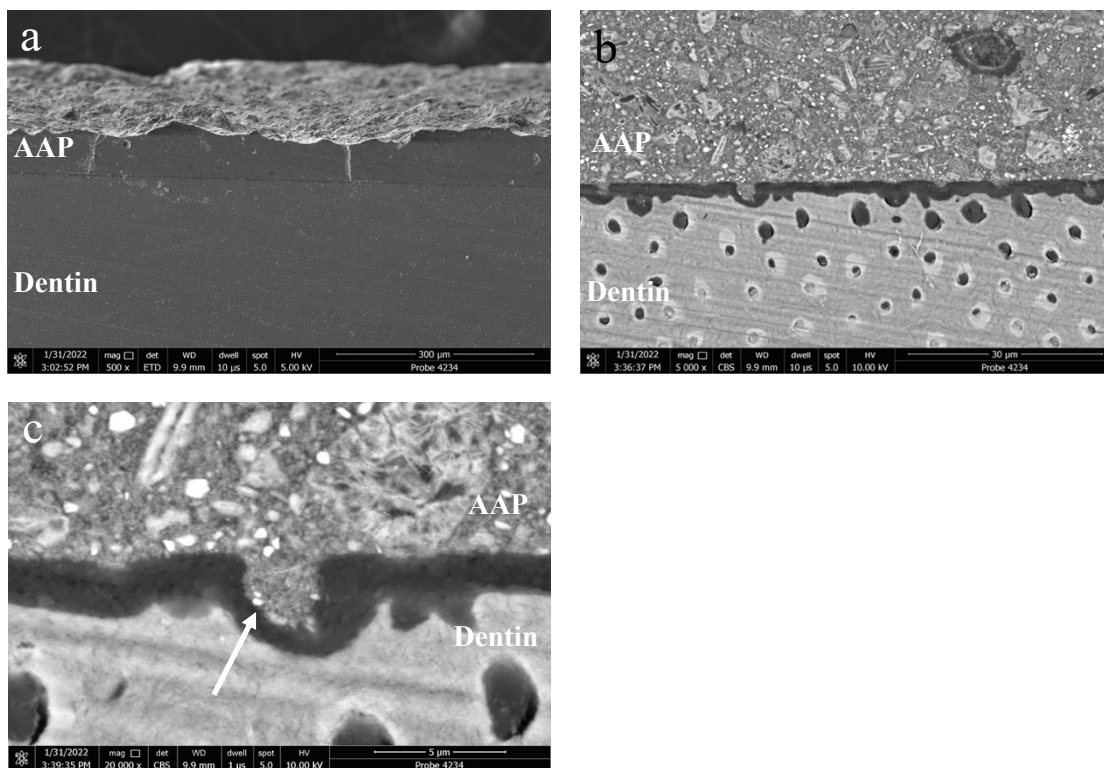


Abb. 4.36: REM BSE (CBS) und SE (ETD) Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + OptiBond eXTRa Universal nach Thermocycling. a) Die Oberfläche der AAP zeigt sich unebener. Durch fehlenden Kontrast kann der Verbund in dieser Ansicht nur unzureichend beurteilt werden. b) Im BSE-Modus erscheint eine für das HAP1 typische AAP-Zone und ein für das verwendete Adhäsiv typisches dunkles Band als Zeichen eines intakten Verbunds zum Dentin. Die Dentintubuli direkt unterhalb der Hybridzone scheinen nicht mit Apatit gefüllt zu sein. Es zeigen sich feine, schräg verlaufende Linien innerhalb des Dentins, die durch Schleif- und Politurvorgänge erklärt werden können. c) Die Penetration von AAP-Material in die Hybridzone und das konditionierte Dentin wird deutlich (Pfeil). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 5.000fach (b), 20.000fach (c)

HAP2 + OptiBond eXTRa Universal

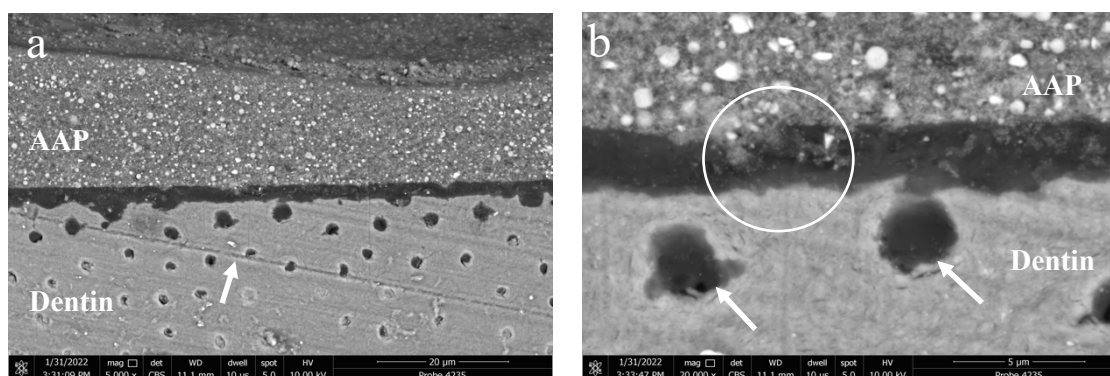


Abb. 4.37: REM BSE (CBS) Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + OptiBond eXTRa Universal nach Thermocycling. a) Es zeigt sich eine homogene AAP-Schicht und ein intakter Verbund zum Dentin. In diesem sind teilweise feine, schräg verlaufende Linien zu erkennen, welche Ausdruck von Schleif- und Politurvorgängen sind (Pfeil). b) In die dunkel erscheinende Hybridzone hat sich Apatit eingelagert (Kreis). Die beiden dargestellten Dentintubuli erscheinen ungefüllt (Pfeile). Originalvergrößerungen: 5.000fach (a), 20.000fach (b)

Um diese überzeugenden Ergebnisse an einer größeren Stückzahl zu überprüfen, wurden in einer zweiten Reihe je vier weitere der oben beschriebenen Prüfkörper erstellt (2a-d) und analog zum ersten Teil dem künstlichen Alterungsprozess in 3.000 Zyklen Thermocycling unterzogen. Für die Kombination FAP1 + Adhese Universal löste sich der Verbund der aufgetragenen Paste zum Dentin bei zwei Prüfkörpern bereits vor dem Anschleifen der Grenzfläche beim Entnehmen aus den Reaktionsgefäßen, in welchen alle Prüfkörper trocken zwischenlagerten. Bei zwei weiteren Prüfkörpern versagte der Verbund nach dem Anschleifen der Grenzfläche beim Befestigen der Prüfkörper auf den Probetellern für die Untersuchungen im REM, sodass für diese vier Prüfkörper keine rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen erstellt werden konnten. Ein Prüfkörper der Kombination FAP1 + OptiBond eXTRa Universal zeigte ein entsprechendes Verbundversagen während der Vakuumphase beim Besputtern der Proben vor Eingabe in das REM, sodass auch dieser nicht weiter untersucht wurde. Für die übrigen Prüfkörper zeigte sich bei weiteren vier in mindestens einem Bereich ein Verbundversagen als Spaltbildung oder vollständiges Ablösen der AAP-Schicht vom Dentin (Abbildungen 4.38, 4.39, 4.40, 4.42). Für ebenso vier Prüfkörper konnte innerhalb der AAP-Schicht eine vertikale Rissbildung festgestellt werden (Abbildungen 4.38, 4.42, 4.47, 4.48). Bei allen in diesem Durchgang untersuchten Prüfkörpern fällt auf, dass die aufgetragene Paste deutlich größere und innerhalb eines Prüfkörpers variabelere Schichtstärken aufweist. Das Verbundversagen trat dabei hauptsächlich an Stellen größerer Schichtstärken ($> 200 \mu\text{m}$) auf. Nur wenige Prüfkörper zeigten einen spaltfreien Verbund zum Dentin ohne Rissbildungen in der AAP (Abbildungen 4.41, 4.43 und 4.44 - 4.46).

FAP1 + OptiBond eXTRa Universal 2a

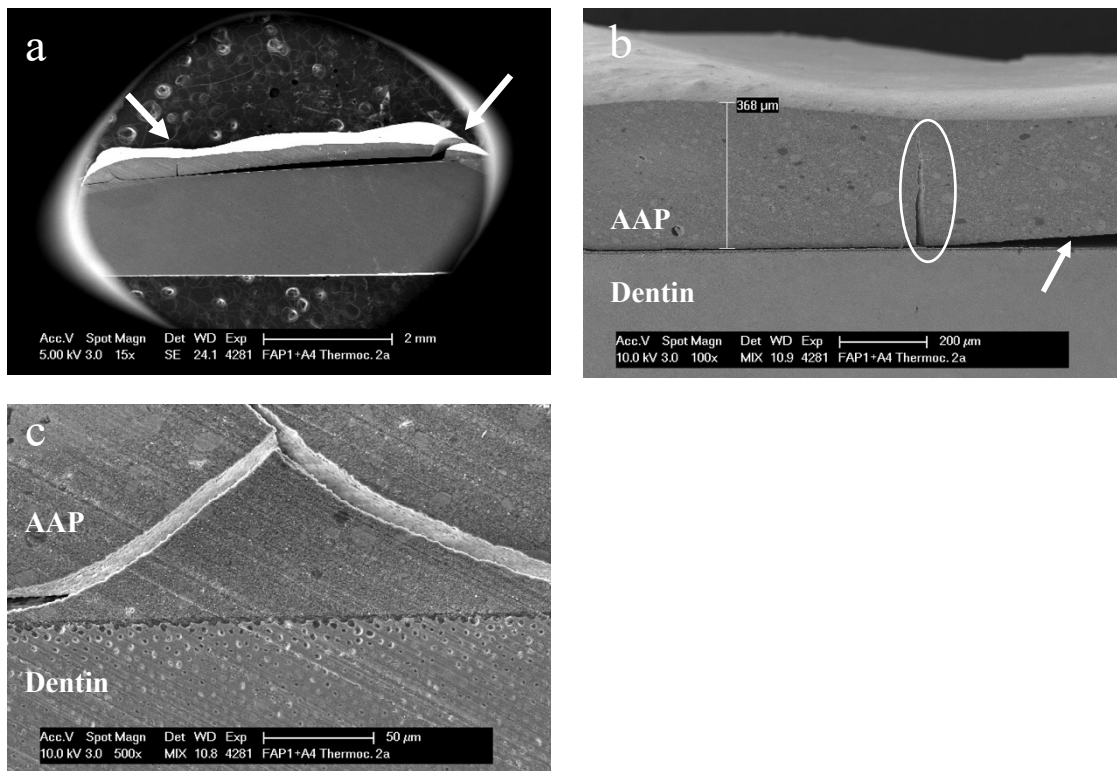


Abb. 4.38: REM SE und MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + OptiBond eXTRa Universal 2a nach Thermocycling. a) Innerhalb der AAP-Schicht zeigen sich zwei vertikale Risse, davon einer durch die gesamte Dicke der AAP verlaufend (Pfeile). Im Bereich zwischen diesen beiden Rissen ist ein Spalt zwischen AAP und Dentin zu sehen. b) Der vertikale Riss des linken Bildausschnittes aus a) und das Verbundversagen sind in höherer Vergrößerung dargestellt (Oval und Pfeil). Die höchste Stelle der AAP misst ca. 368 µm. c) Eine weitere Stelle mit Rissbildungen innerhalb der AAP. Zwischen den Rissen lässt sich ein intakter Verbund zum Dentin feststellen. Es zeigen sich durch Schleif- und Politurvorgänge entstandene feine Linien über Dentin und AAP verteilt. Originalvergrößerungen: 15fach (a), 100fach (b), 500fach (c)

FAP 1 + OptiBond eXTRa Universal 2b

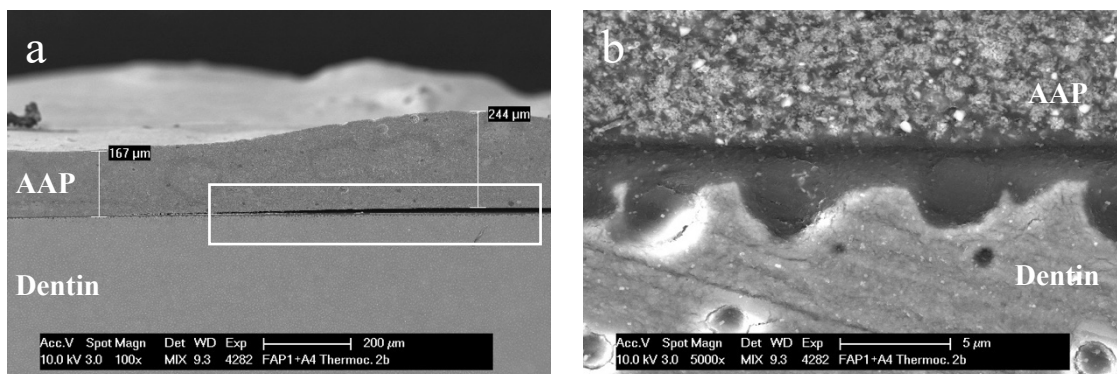


Abb. 4.39: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + OptiBond eXTRa Universal 2b nach Thermocycling. a) Neben einer Zone intakten Verbunds bei ca. 167 µm Höhe der AAP zeigt sich ein Bereich mit Verbundversagen bei einer Schichtstärke von ca. 244 µm (Kasten). b) Es ist ein Bereich mit intaktem Verbund über eine wenig gefüllte Hybridzone erkennbar. Im Dentin sind feine, schräg verlaufende Linien durch Schleif- und Politurvorgänge sichtbar. Originalvergrößerungen: 100fach (a), 5.000fach (b)

FAP 1 + OptiBond eXTRa Universal 2d

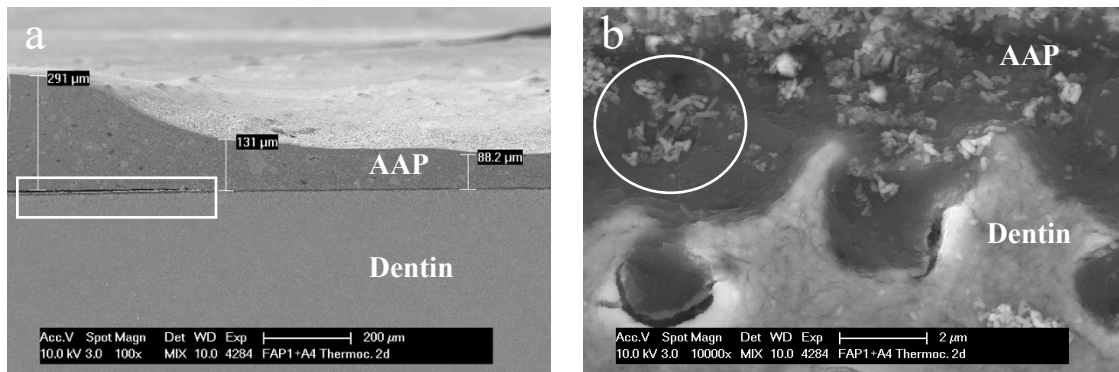


Abb. 4.40: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + OptiBond eXTRa Universal 2d nach Thermocycling. a) Im linken Bildausschnitt zeigt sich erneut ein Bereich mit Spaltbildung bei ca. 291 µm hoher AAP-Auflagerung (Kasten). Bei geringeren Schichtstärken von 131 µm und 88,2 µm rechts nebenan scheint der Verbund intakt zu sein. b) Es zeigt sich eine intakte und reichlich mit Apatit gefüllte Hybridzone (Kreis). Originalvergrößerungen: 100fach (a), 10.000fach (b)

HAP 1 + OptiBond eXTRa Universal 2a

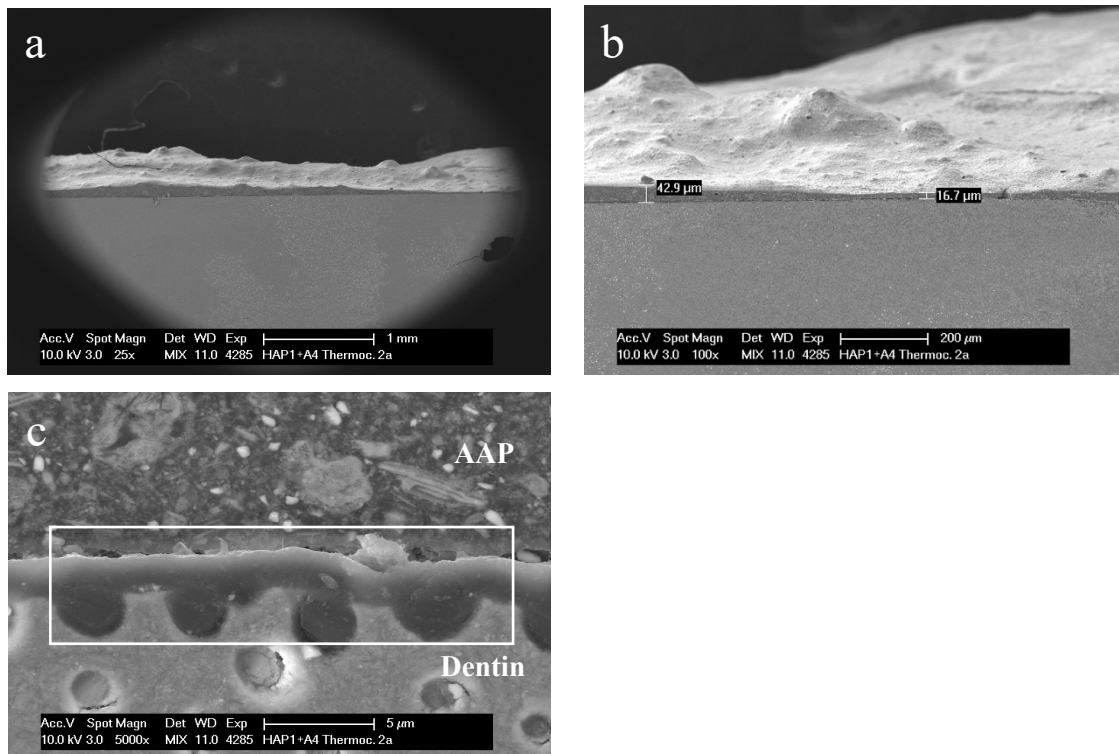


Abb. 4.41: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + OptiBond eXTRa Universal 2a nach Thermocycling. a) In dieser Übersichtsaufnahme erscheint eine dünne AAP-Auflagerung mit intaktem Verbund zum Dentin. b) Die Schichtstärken in diesem Bildausschnitt variieren zwischen 16,7 µm und 42,9 µm. c) Bei höherer Vergrößerung wird wieder ein Aufquellen der Hybridschicht deutlich. Die Tubuli direkt unter der Hybridschicht scheinen nicht mehr mit Apatit gefüllt zu sein (Kasten). Originalvergrößerungen: 25fach (a), 100fach (b), 5.000fach (c)

HAP 1 + OptiBond eXTRa Universal 2b

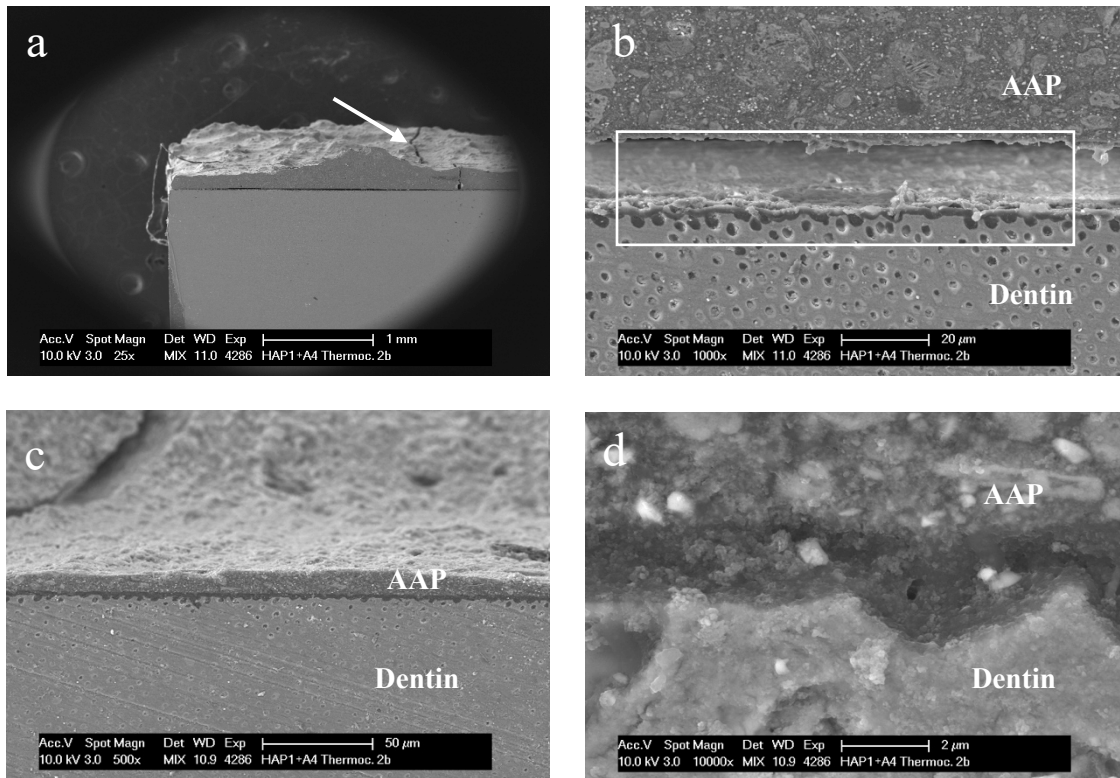


Abb. 4.42: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + OptiBond eXTRa Universal 2b nach Thermocycling. a) Die AAP-Auflagerung scheint sich nahezu auf gesamter Länge vom Prüfkörper abgelöst zu haben. Wieder variiert die Schichtstärke der AAP deutlich. Innerhalb der Paste zeigt sich eine Rissbildung (Pfeil). b) Bei 1.000facher Vergrößerung wird das adhäsive Verbundversagen deutlich (Kasten). c) In diesem Bereich geringer AAP-Schichtstärke ist der Verbund zum Dentin erhalten. d) Bei intaktem Verbund zeigt die Hybridschicht eine Inkorporation von Apatitmaterial. Originalvergrößerungen: 25fach (a), 1.000fach (b), 500fach (c), 10.000fach (c)

HAP 1 + OptiBond eXTRa Universal 2c

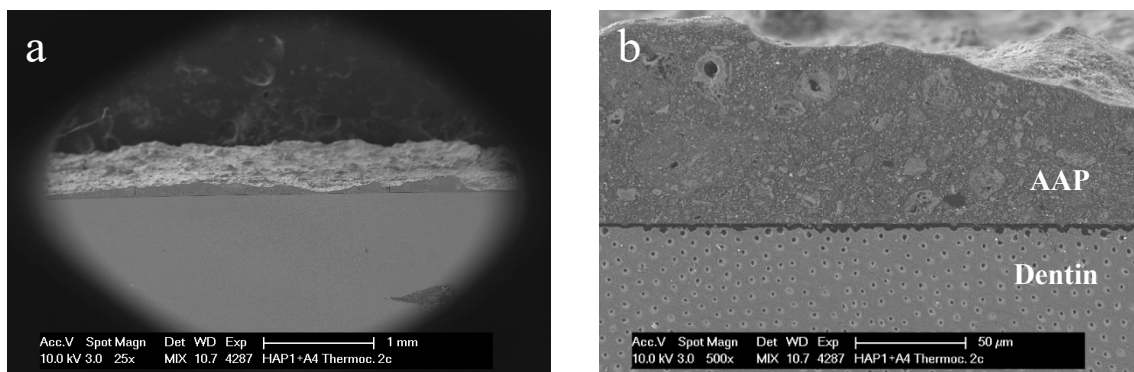


Abb. 4.43: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + OptiBond eXTRa Universal 2c nach Thermocycling. a) Eine dünne Schicht AAP liegt dem Dentin spaltfrei an. b) Bei 500facher Vergrößerung ist der intakte Verbund gut zu beurteilen. Originalvergrößerungen: 25fach (a), 500fach (b)

HAP 1 + OptiBond eXTRa Universal 2d

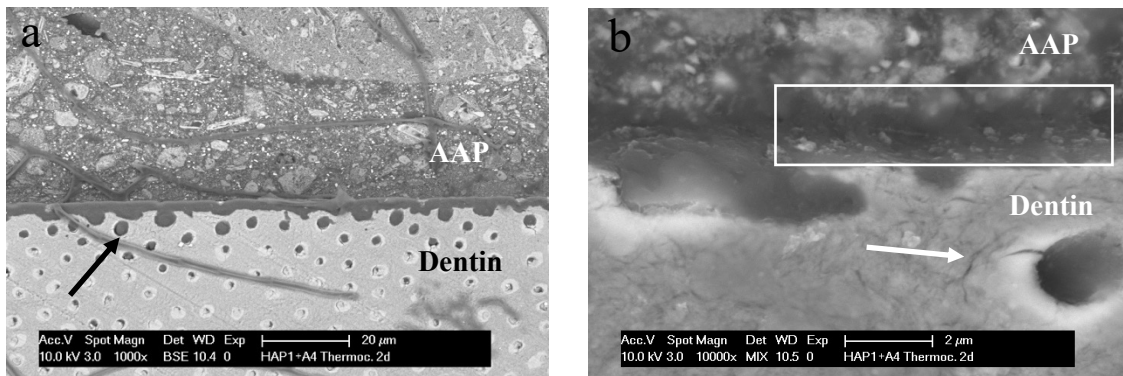


Abb. 4.44: REM BSE und MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + OptiBond eXTRa Universal 2d nach Thermocycling. a) Der Verbund der AAP zum Dentin stellt sich intakt dar. Vereinzelt sind Pilz-Hyphen zu sehen (Pfeil). b) Bei höherer Vergrößerung verdeutlicht sich der stabile Verbund mit in der Hybridzone eingelagerten Apatit-Partikeln (Kasten). Es lassen sich feine Risse direkt neben einem Dentintubulus erkennen (Pfeil). Originalvergrößerungen: 1.000fach (a), 10.000fach (b)

HAP 2 + OptiBond eXTRa Universal 2a

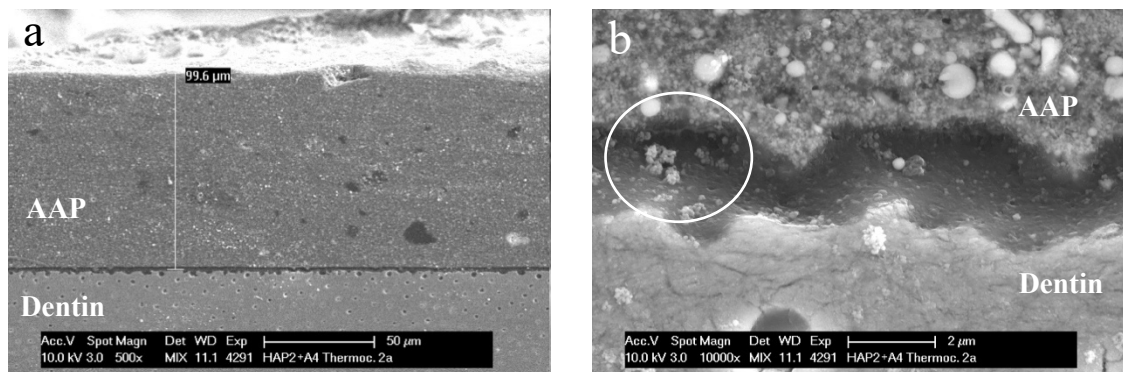


Abb. 4.45: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + OptiBond eXTRa Universal 2a nach Thermocycling. a) Eine AAP-Auflagerung mit einer gemessenen Schichtstärke von 99,6 μm zeigt einen spaltfreien Verbund zum Dentin. b) Bei 10.000facher Vergrößerung zeigen sich einige in die Hybridschicht eingelagerte Apatitpartikel (Kreis). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 10.000fach (b)

HAP 2 + OptiBond eXTRa Universal 2b

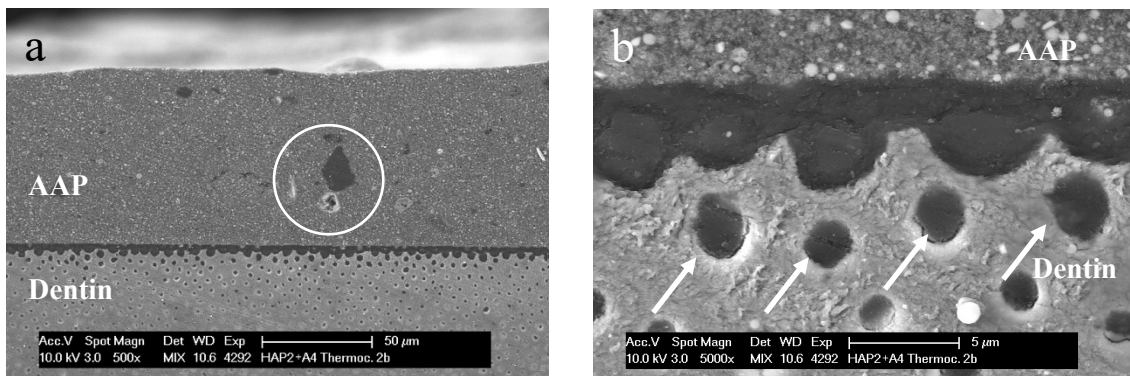


Abb. 4.46: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + OptiBond eXTRa Universal 2b nach Thermocycling. a) Es zeigt sich ein spaltfreier Verbund der AAP zum Dentin. Innerhalb der AAP sind Einschlüsse unterschiedlich großer Strukturen erkennbar (Kreis). b) Bei höherer Vergrößerung zeigt sich eine eher strukturalme Hybridzone mit wenig eingeschlossenen Apatit-Partikeln. Die Dentintubuli direkt unterhalb der Verbundzone erscheinen leer, sie zeigen keine Aufnahme von Apatit (Pfeile). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 5.000fach (b)

HAP 2 + OptiBond eXTRa Universal 2c

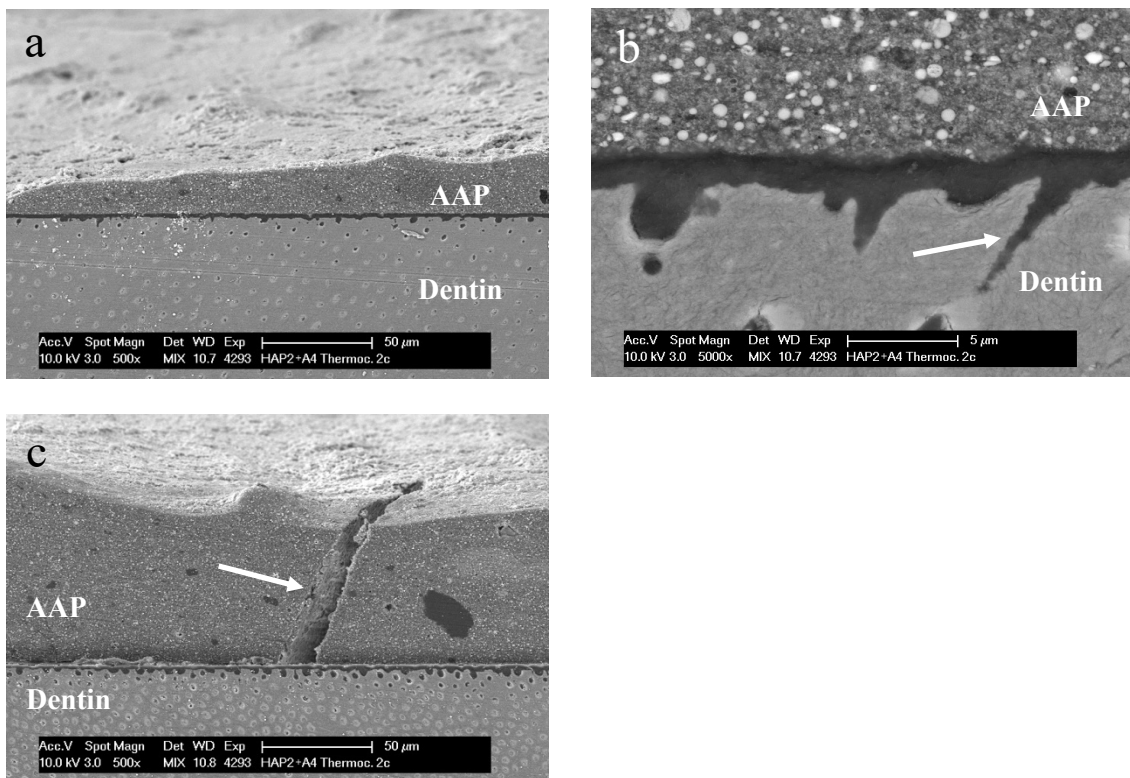


Abb. 4.47: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + OptiBond eXTRa Universal 2c nach Thermocycling. a) Eine dünne AAP-Schicht liegt dem Dentin über eine Hybridzone spaltfrei an. b) Bei 5.000facher Vergrößerung wird die Struktur der AAP mit gleichmäßig verteilten, kugelförmigen Apatit-Partikeln deutlich. Die Hybridzone erscheint wenig gefüllt, sie strahlt über Tags in das Dentin ein (Pfeil). c) In diesem Bereich der Probe zeigt sich ein vertikaler Riss innerhalb der AAP (Pfeil). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 5.000fach (b), 500fach (c)

HAP 2 + OptiBond eXTRa Universal 2d

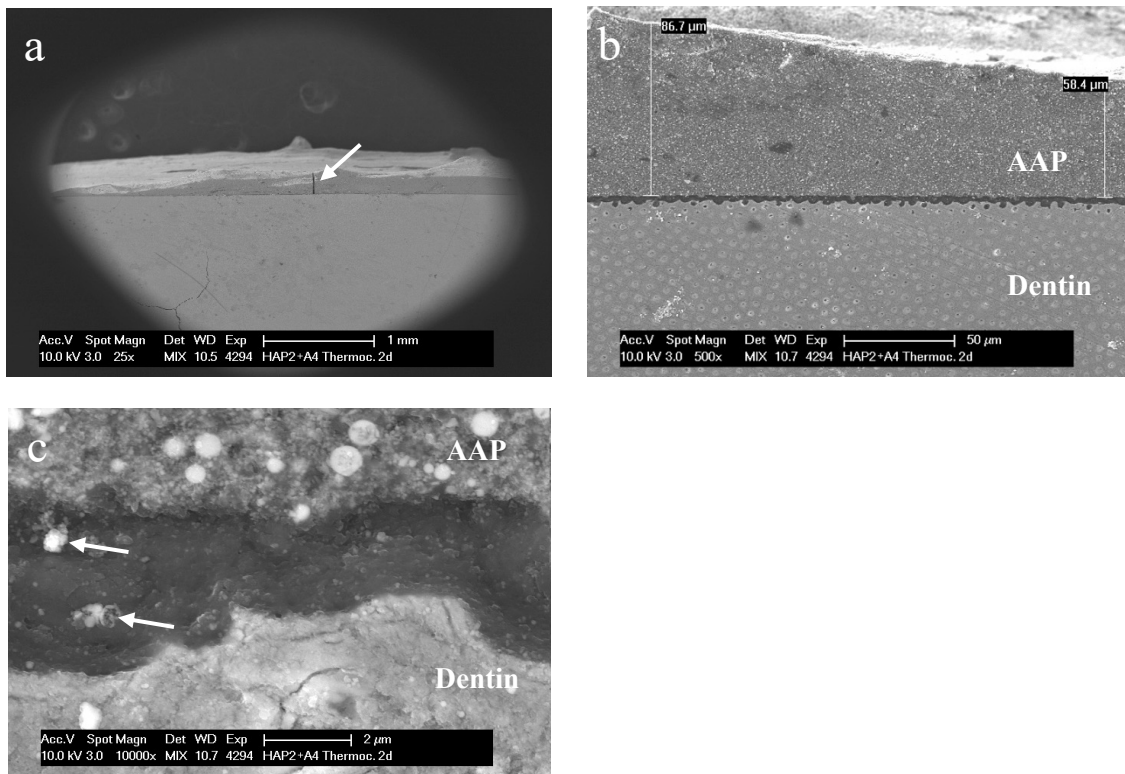


Abb. 4.48: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + OptiBond eXTRa Universal 2d nach Thermocycling. a) In dieser Aufnahme zeigt sich eine dünne AAP-Schicht auf dem Dentin. Der Pfeil zeigt auf eine Rissbildung innerhalb der AAP. b) Bei gemessenen Schichtstärken von 86,7 μm und 58,4 μm bleibt der Verbund zum Dentin intakt. c) Die Apatitpartikel finden sich auch innerhalb der Hybridschicht wieder (Pfeile). Originalvergrößerungen: 25fach (a), 500fach (b), 10.000fach (c)

Proben nach Säuretoleranztest

Nachfolgend sind die REM-Aufnahmen der Prüfkörper nach 30-sekündigem und nach 60-sekündigem Säuretoleranztest zusammengefasst dargestellt. Um die Veränderungen nach Einwirken der Säure und ein mögliches Herauslösen von Apatitpartikeln zu untersuchen, wurde jeweils der Übergang von ungeätzt zu geätzt Areal dargestellt, sodass bei jedem Prüfkörper eine unbehandelte Fläche als Referenz diene.

Nach 30-sekündiger Säureexposition zeigt der Bereich des Dentins wie erwartet eine Zone vollständiger Demineralisation mit eröffneten Dentintubuli und freigelegtem Kollagennetzwerk. Innerhalb der AAP-Schichten zeigen sich unterschiedliche Reaktionen auf die Säureeinwirkung. Die Kombination FAP1 + A1 zeigt dabei die geringste mikroskopisch sichtbare Veränderung ihrer Struktur. Die stäbchenförmigen FAP-Partikel erscheinen lediglich weniger gut voneinander abgrenzbar, die Homogenität der Paste bleibt jedoch erhalten (Abbildung 4.49). Der größte Unterschied wird bei der Kombination HAP1 + A4 deutlich. Hier scheinen zahlreiche HAP-Partikel aus der umgebenden Matrix des Adhäsivsystems herausgelöst zu sein, sodass Hohlräume innerhalb der Paste sichtbar werden (Abbildung 4.51). Bis auf den Prüfkörper der Kombination FAP1 + A4 (Abbildung 4.50) zeigen alle Prüfkörper einen intakten Verbund der AAP zum Dentin. Das Verbundversagen des Prüfkörpers FAP1 + A4 kann bei genauerer Betrachtung aber bereits auf den REM-Aufnahmen dieses Prüfkörpers nach Thermocycling erkannt werden, sodass der Säuretoleranztest hierfür nicht als Ursache ausgemacht werden kann.

FAP 1 + Adhese Universal

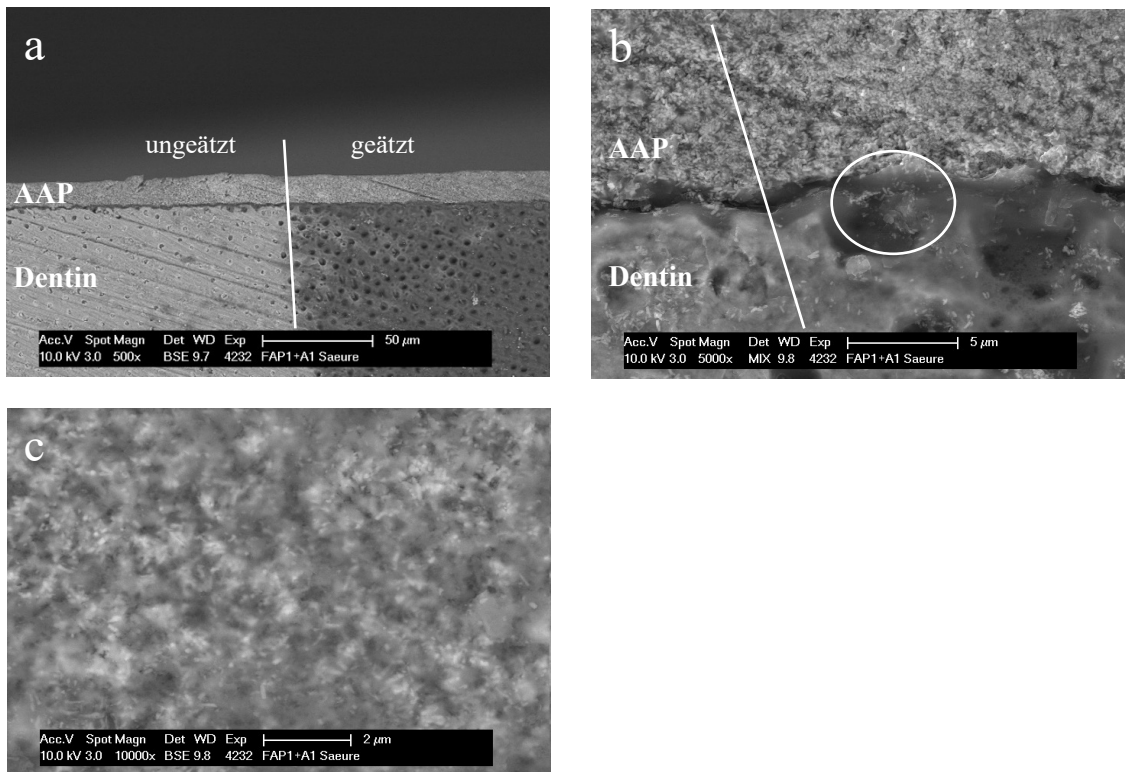


Abb. 4.49: REM BSE und MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + Adhese Universal nach Säuretoleranztest. a) Die 500fache Vergrößerung zeigt eine gleichmäßig dünne AAP-Schicht mit gutem Verbund zum Dentin. Die Linie markiert den Übergang von geätztem zu ungeätztem Bereich, was sich an der Struktur des Dentins mit geöffneten Dentintubuli deutlich zeigt. Feine, schräg verlaufende Linien innerhalb des Dentins können durch Schleif- und Politurvorgänge erklärt werden. b) Der Grenzbereich zwischen geätzter und ungeätzter Fläche ist dargestellt (links der Linie ungeätzt, rechts der Linie geätzt). Innerhalb der AAP zeigen sich kaum Veränderungen. Die Hybridzone zeigt weiterhin inkorporierte FAP-Partikel. Im Kreis dargestellte Strukturen deuten am ehesten auf herausgelöste, aber nicht vollständig abgesprühte Pastenanteile hin. c) Darstellung der AAP-Fläche nach Säureeinwirkung. Die einzelnen stäbchenförmigen FAP-Partikel lassen sich weniger klar voneinander abgrenzen, als für das FAP sonst üblich. Originalvergrößerungen: 500fach (a), 5.000fach (b), 10.000fach (c)

FAP1 + OptiBond eXTRa Universal

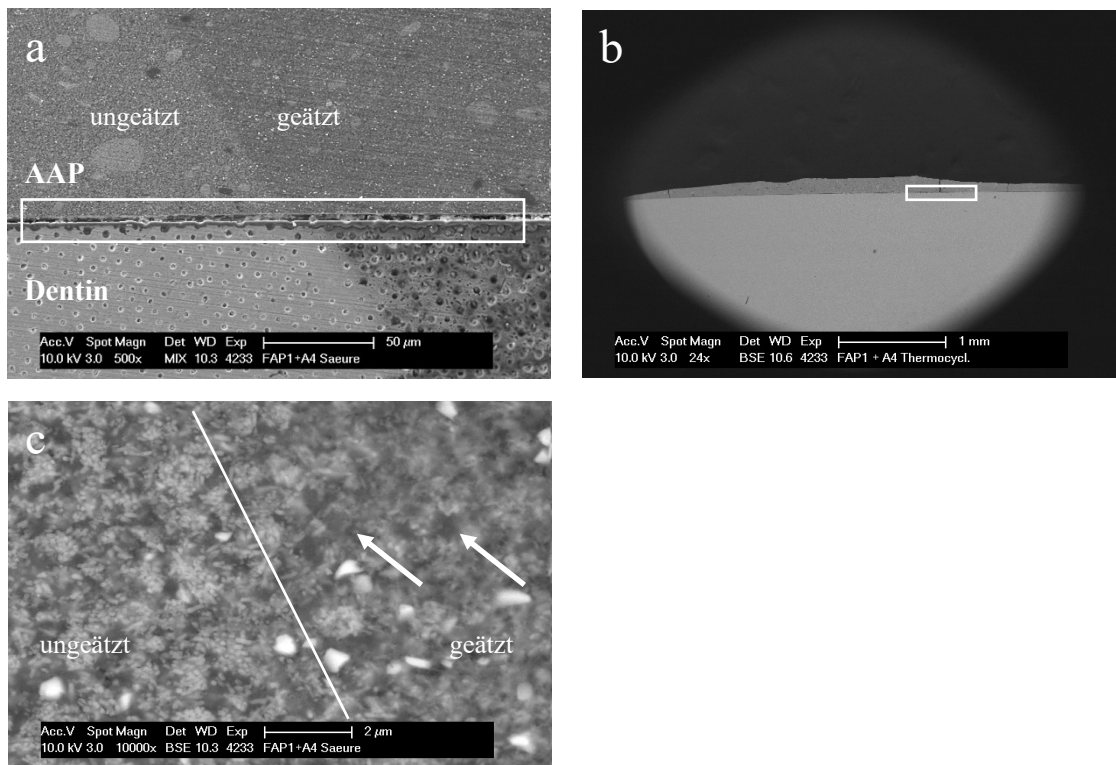


Abb. 4.50: REM BSE und MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + OptiBond eXTRa Universal vor und nach Säuretoleranztest. a) Sowohl in der AAP als auch im Dentin wird der Übergang von geätzter zu ungeätzter Fläche deutlich. Im Bereich der Verbundzone zeigt sich ein Ablösen der AAP-Schicht von der Hybridzone (Kasten). b) Bei Analyse desselben Prüfkörpers vor Säuretoleranztest ist dieses Verbundversagen an vereinzelten Stellen bereits zu erkennen (Kasten). c) Rechts der eingezeichneten Linie im geätzten Bereich können mehrere dunkle Stellen im Sinne herausgelöster Pastenanteile erkannt werden (Pfeile). Die typische Morphologie der stäbchenförmigen FAP-Partikel erscheint in dieser Zone weniger deutlich als im Bereich ohne Ätzung. Originalvergrößerungen: 500fach (a), 24fach (b), 10.000fach (c)

HAP1 + OptiBond eXTRa Universal

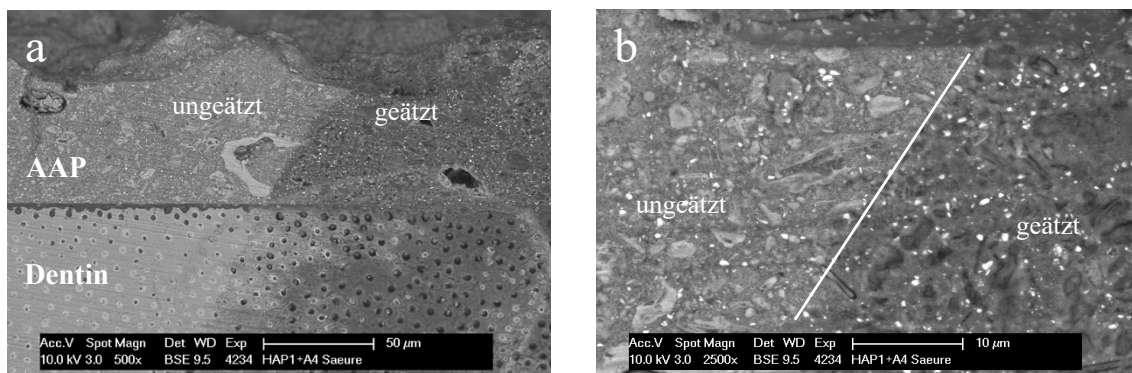


Abb. 4.51: REM BSE Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + OptiBond eXTRa Universal nach Säuretoleranztest. a) Der Übergang von geätzter zu ungeätzter Fläche wird auch in der AAP-Schicht deutlich sichtbar. Die Auflagerung zeigt einen spaltfreien Verbund zum Dentin. b) Bei höherer Vergrößerung zeigen sich im geätzten Bereich der AAP deutliche Hohlräume durch herausgelöste Pastenanteile. Originalvergrößerungen: 500fach (a), 2.500fach (b)

HAP2 + OptiBond eXTRa Universal

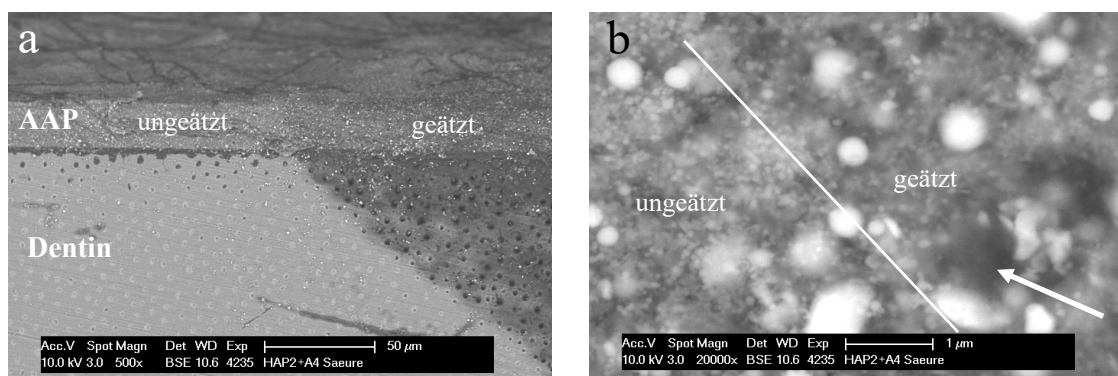


Abb. 4.52: REM BSE Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + OptiBond eXTRa Universal nach Säuretoleranztest. a) Bei 500facher Vergrößerung kann innerhalb der AAP-Schicht strukturell nur ein geringer Unterschied zwischen ungeätzter und geätzter Zone erkannt werden. Der Verbund zum Dentin ist intakt. b) Auch bei höchster Vergrößerung bleiben die strukturellen Veränderungen eher gering. Zum Teil sind größere Partikel herausgelöst (Pfeil), bzw. einzelne HAP-Partikel weniger gut voneinander abgrenzbar als vor der Säureeinwirkung. Originalvergrößerungen: 500fach (a), 20.000fach (b)

In einem weiteren Versuchsansatz wurde der Säuretoleranztest an Klinik nähere Bedingungen angepasst und mithilfe der Multifunktionsspritze einer zahnmedizinischen Einheit an je zwei nach bekanntem Schema neu hergestellten Prüfkörpern (1 und 2) der Kombinationen FAP1 + A1, FAP1 + A4, HAP1 + A4 und HAP2 + A4 durchgeführt. Außerdem wurde die Einwirkzeit der Säure auf 60 s erhöht. Verglichen mit den Aufnahmen nach 30-sekündigem Säuretoleranztest zeigt sich in den folgenden REM-Aufnahmen ein deutlicherer Unterschied aller beteiligten Strukturen. Die Hybridschicht und das darunterliegende Dentin erscheinen in unterschiedlichen Bildebenen, die Hybridschicht aufgequollen. Darüber hinaus zeigen sich deutlicher die in den Dentintubuli verbliebenen AAP-Tags, welche nicht mehr spaltfrei an den Tubuluswänden anliegen (Abbildung 4.53). Die Struktur der AAP selbst unterscheidet sich – unter anderem hinsichtlich entstandener Hohlräume (Abbildung 4.56) – deutlicher von unbeeinflussten AAP-Bereichen als nach 30-sekündiger Säureexposition. In den Aufnahmen der Kombination HAP1 + A4 fallen erstmals Bereiche größerer Einschlüsse auf, welche nach Applikation der Säure im Vergleich zu den übrigen Bereichen der AAP einer größeren Veränderung unterliegen (Abbildung 4.55).

In den folgenden Aufnahmen sind die Auswirkungen der 60-sekündigen Säureapplikation auf das strukturelle Gefüge der AAP-Auflagerungen sowie auf die Hybridzone dargestellt.

FAP1 + Adhese Universal

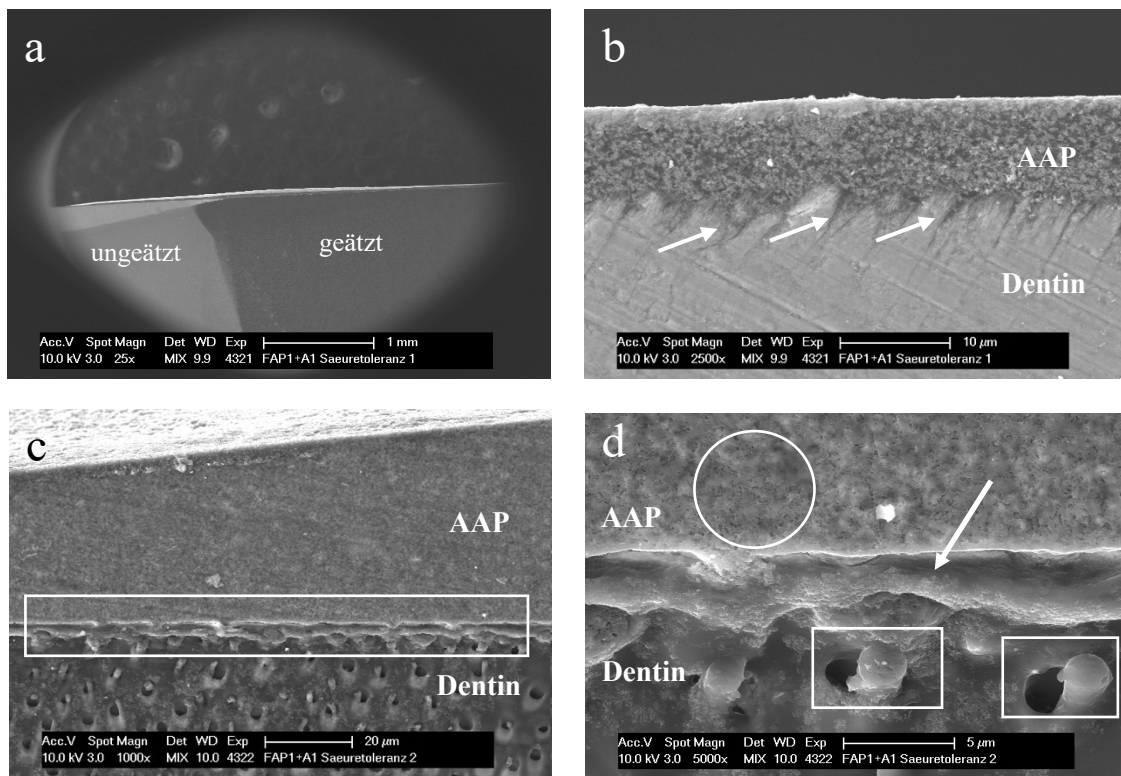


Abb. 4.53: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + Adhese Universal Prüfkörper 1 und 2 nach 60 s Säuretoleranztest. a) Die Übersichtsaufnahme zeigt einen abgrenzbaren Bereich geätzten Dentins mit einer sehr dünnen AAP-Auflagerung. b) In einer Zone ohne Säureeinwirkung zeigt sich ein intakter Verbund mit zahlreichen in das Dentin einstrahlenden Tags aus AAP-Material im Sinne einer mikromechanischen Verankerung (Pfeile). c) Bei 1.000facher Vergrößerung im geätzten Bereich erscheint der Verbund von AAP zum Dentin zunächst nicht intakt (Kasten). d) Bei höherer Vergrößerung wird deutlich, dass die Hybridzone nach Einwirkung der Säure in einer anderen Ebene als das darunterliegende Dentin liegt (Pfeil). Der Verbund ist intakt. Die Struktur der AAP selbst ist nach Säureeinwirkung deutlich verändert, die FAP-Partikel lassen sich nicht mehr klar voneinander abgrenzen (Kreis). Die AAP-Tags der Hybridschicht liegen durch das Wegätzen des Dentins in der Umgebung nun frei in den eröffneten Tubuluseingängen (Kästen). Originalvergrößerungen: 25fach (a), 2.500fach (b), 1.000fach (c), 5.000fach (d)

FAP1 + OptiBond eXTRa Universal

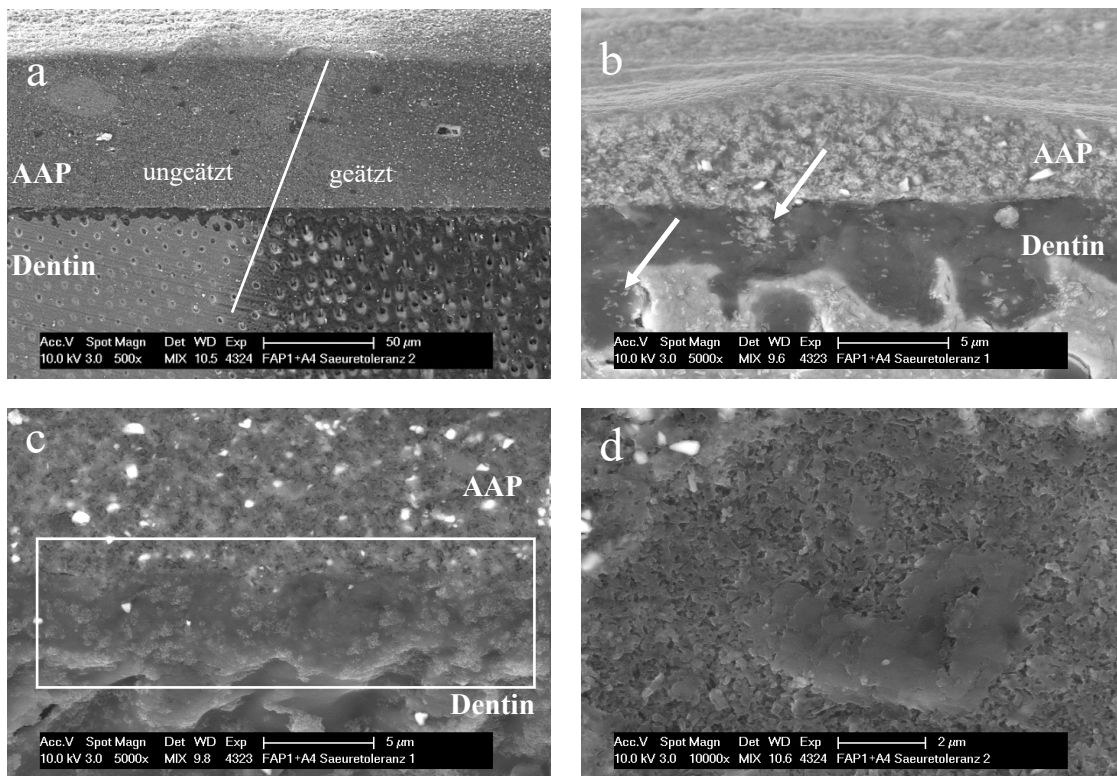


Abb. 4.54: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, FAP1 + OptiBond eXTRa Universal Prüfkörper 1 und 2 nach 60 s Säuretoleranztest. a) Der Übergang von ungeätzter zu geätzter Oberfläche wird bei 500facher Vergrößerung innerhalb der AAP kaum deutlich. b) In einer Zone ohne Säureeinwirkung zeigt sich eine gut ausgebildete Hybridzone mit eingeschlossenen Apatitpartikeln (Pfeile). c) Nach Säureeinwirkung erscheinen innerhalb der Hybridzone Strukturen, die als Ansammlungen aus mit Monomeren des Adhäsivs verklebten FAP-Partikeln verstanden werden können (Kasten). d) Bei 10.000facher Vergrößerung erscheint im dargestellten Bereich eine Oberfläche, bei der nahezu keine FAP-Partikel mehr zu identifizieren sind. Originalvergrößerungen: 500fach (a), 5.000fach (b), 5.000fach (c), 10.000fach (d)

HAP1 + OptiBond eXTRa Universal

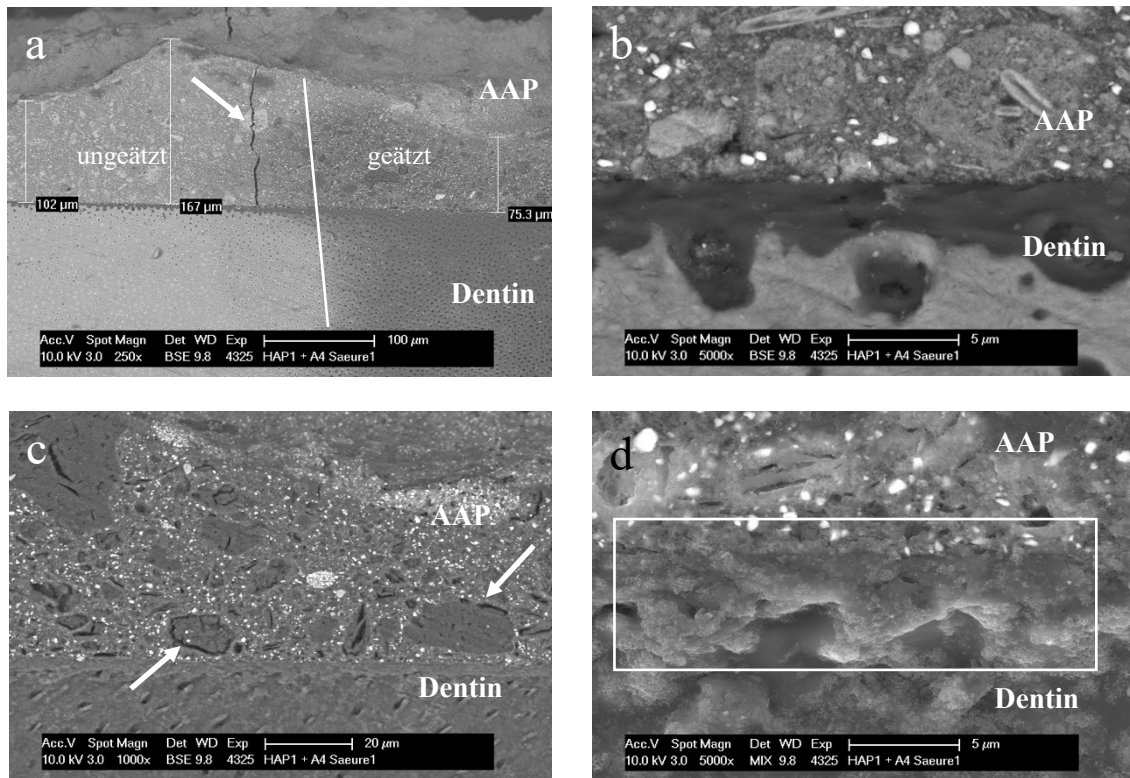


Abb. 4.55: REM BSE und MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP1 + OptiBond eXTRa Universal Prüfkörper 1 nach 60 s Säuretoleranztest. a) Sowohl in der AAP-Schicht als auch im Dentin lässt sich ein Bereich nach Säureeinwirkung von einem unbeeinflussten Bereich abgrenzen (Linie). Durch die AAP verläuft ein vertikaler Riss (Pfeil). Die AAP zeigt variierende Schichtstärken von 75,3 µm, 102 µm sowie 167 µm. b) Ein unbeeinflusster Bereich der Probe zeigt HAP-Partikel in der AAP und einen intakten Verbund zum Dentin. c) Die Oberfläche zeigt nach Säureeinwirkung mehrere Bereiche größerer Einschlüsse, in welchen das Herauslösen von Pastenbestandteilen deutlicher zu sein scheint (Pfeile). d) Die Hybridzone lässt sich nur schlecht vom Dentin abgrenzen und erscheint auch hier in einer anderen Bildebene als das darunterliegende Dentin (Kasten). Originalvergrößerungen: 250fach (a), 5.000fach (b), 1.000fach (c), 5.000fach (d)

HAP2 + OptiBond eXTRa Universal

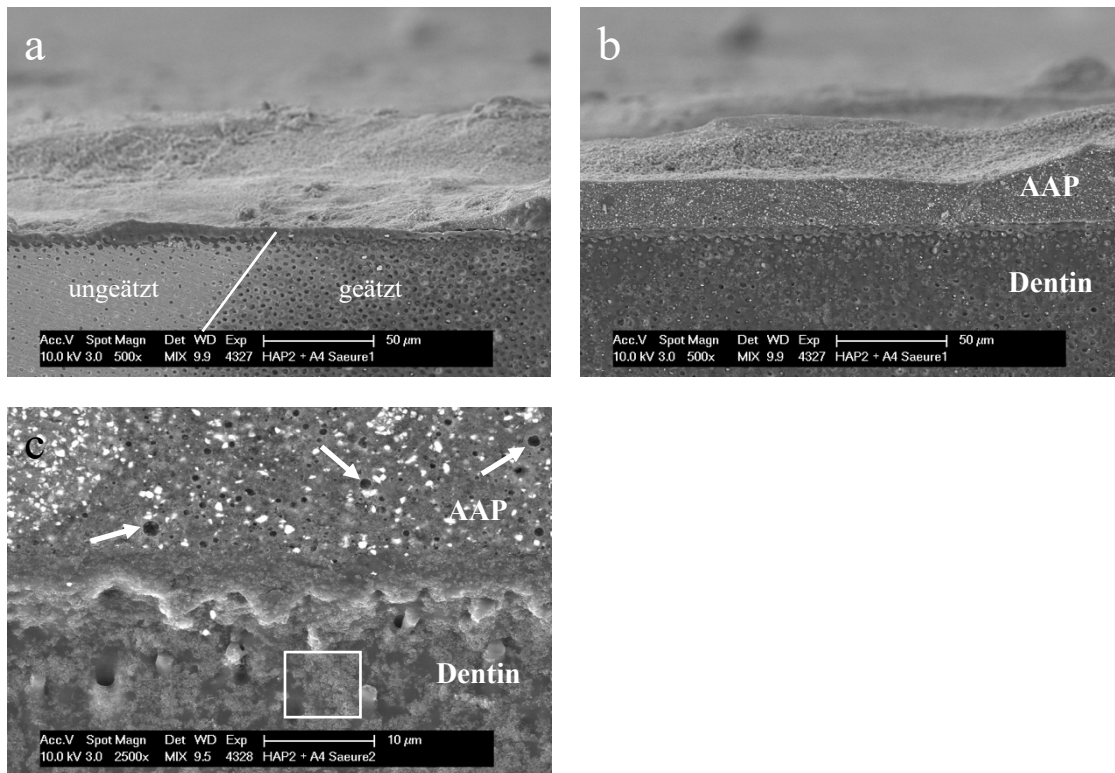


Abb. 4.56: REM MIX Aufnahmen der Grenzfläche, HAP2 + OptiBond eXTRa Universal Prüfkörper 1 und 2 nach 60 s Säuretoleranztest. a) Die AAP-Auflagerung stellt sich sehr dünn und mit eher unregelmäßiger Oberfläche dar. b) Der Verbund zum Dentin bleibt auch nach Säureeinwirkung intakt. c) Bei höherer Vergrößerung werden Hohlräume durch herausgelöste HAP-Partikel sichtbar (Pfeile). Die Hybridzone stellt sich entsprechend der anderen Prüfkörper unspezifisch dar. Auf der Dentinoberfläche zeigen sich wolkenartige Strukturen, welche am ehesten mit herausgelösten, aber nicht vollständig abgesprühten Partikeln zu vereinbaren sind (Kasten). Originalvergrößerungen: 500fach (a), 500fach (b), 2.500fach (c)

4.5 Ergebnisse der EDX-Analysen

4.5.1 Nachweis von Apatitmaterial

Das Erstellen von EDX-Analysen diente in vorliegender Studie der Detektion der Apatitmaterialien in den relevanten Bereichen der Prüfkörper, um nachfolgend Aussagen über die Qualität des neuartigen Materials, des Verbunds zum Dentin sowie über die Auswirkungen verschiedener Prüfverfahren auf diese Eigenschaften treffen zu können. Als Referenzwerte für die gemessenen Elementzusammensetzungen der AAP wurden die in nachfolgender Tabelle dargestellten, über EDX-Analysen gemessenen Werte der reinen Apatitpulver herangezogen.

Tab. 4.1: Referenzmessungen der in den Apatiten enthaltenen Elemente als Mittelwerte. Angaben in Wt%. Werte < 1 sind vernachlässigbar.

| Apatit | Ca | P | Mg | Na | F |
|--------|-------|-------|------|------|------|
| FAP1 | 30,29 | 15,05 | 0,46 | 1,20 | 3,95 |
| HAP1 | 32,87 | 15,21 | 0,38 | | |
| HAP2 | 38,16 | 17,44 | 0,32 | | |

Die gelungene Inkorporation der Apatitmaterialien in alle vier Adhäsivsysteme wurde bereits in den Untersuchungen der Vorgängerstudie (Hennrich 2021) anhand quantitativer EDX-Analysen gezeigt und konnte in dieser Untersuchung für alle Kombinationen reproduziert werden. Darüber hinaus konzentrierten sich die Messungen dieser Studie auf den Nachweis von Apatitmaterial innerhalb der Dentintubuli. Speziell für das Prüfverfahren des Säuretoleranztests konnten mithilfe der EDX-Analysen neben visuellen, auch quantitative Aussagen über den Einfluss der Säureexposition auf das Material und alle beteiligten Strukturen getroffen werden.

Folgende Tabelle zeigt die gemessenen Werte der relevanten Elemente innerhalb der AAP aller Kombinationen.

Tab. 4.2: Nachweis von Apatitmaterial innerhalb der AAP. Alle Messungen stammen von Prüfkörpern aus Versuchsreihe 1 / 2. Sofern nur ein Wert angegeben ist, stammt dieser von einem Prüfkörper aus einer der beiden Versuchsreihen. Angaben in Wt%. Werte < 1 sind vernachlässigbar.

| AAP Kombination | Ca | P | Mg | Na | F |
|------------------------|---------------|---------------|-------------|-------------|-------------|
| FAP1 + Adhese | 22,55 / 24,66 | 12,37 / 13,74 | 0,53 / 0,64 | 0,92 / 1,36 | 3,35 / 4,16 |
| FAP1 + Scotchbond | 27,91 / 21,51 | 13,92 / 11,69 | 0,35 / 0,31 | 0,78 / 0,93 | 2,71 / 3,19 |
| FAP1 + Clearfil | 21,90 | 12,49 | 0,66 | 1,16 | 3,13 |
| FAP1 + OptiBond eXTRa | 19,29 / 21,96 | 10,48 / 12,66 | 0,83 | 0,65 / 1,35 | 2,62 / 3,89 |
| HAP1 + Adhese | 25,00 / 20,99 | 13,02 / 10,92 | 0,50 / 0,55 | 0,34 / 0,52 | |
| HAP1 + Scotchbond | 21,48 / 21,67 | 11,43 / 11,43 | 0,50 / 0,87 | 0,39 / 0,69 | |
| HAP1 + Clearfil | 20,63 | 11,16 | 0,69 | 0,78 | |
| HAP1 + OptiBond eXTRa | 21,23 / 15,75 | 11,71 / 8,53 | 0,79 / 0,65 | 0,85 / 0,79 | |
| HAP2 + Adhese | 24,34 / 24,12 | 13,16 / 12,90 | 0,51 / 0,66 | 0,35 / 0,74 | |
| HAP2 + Scotchbond | 24,16 / 20,87 | 13,08 / 11,18 | 0,51 / 0,42 | 0,50 / 0,45 | |
| HAP2 + Clearfil | 25,94 | 14,19 | | 0,76 | |
| HAP2 + OptiBond eXTRa | 20,69 / 22,71 | 11,61 / 11,80 | 0,71 / 0,80 | 0,80 / 0,63 | |

Der Vergleich der gemessenen Werte für die Elemente der AAP mit den Referenzwerten der reinen Apatitpulver (Tabelle 4.1) bestätigt die Inkorporation der Apatitpartikel in die jeweiligen Adhäsivsysteme auch quantitativ.

Zur Beurteilung des Eindringens der Pastenbestandteile in die Struktur des Dentins erfolgten auch innerhalb der gefüllten Dentintubuli EDX-Analysen. Die Werte sind nachfolgend als EDX-Schema und tabellarisch dargestellt.

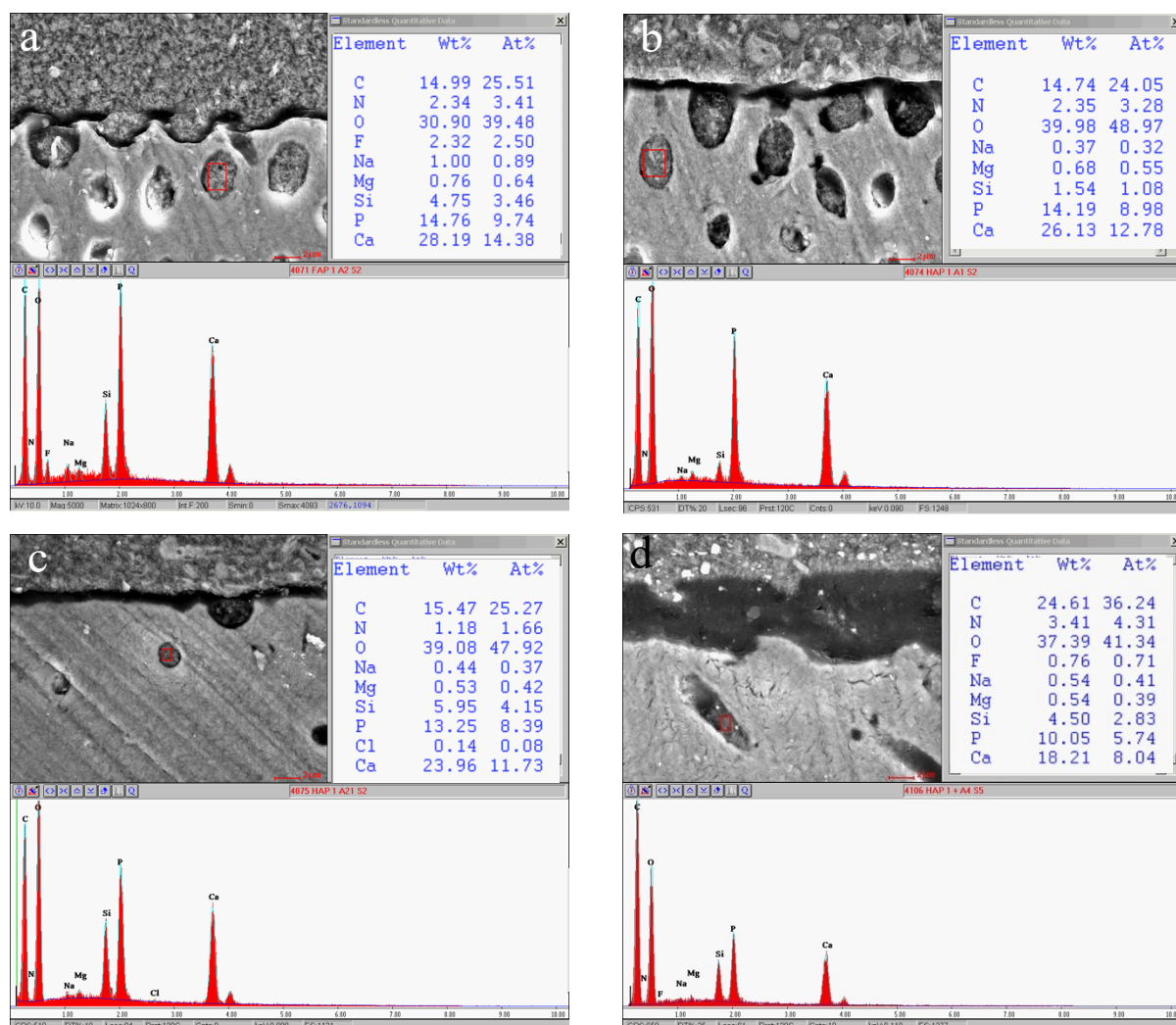


Abb. 4.57: EDX-Analysen der gefüllten Dentintubuli. a) FAP1 + Scotchbond Universal b) HAP1 + Adhese Universal c) HAP1 + Scotchbond Universal d) HAP1 + OptiBond eXTRa Universal. Werte < 1 sind vernachlässigbar.

Tab. 4.3: Nachweis von Apatitmaterial in den Dentintubuli. Alle Messungen stammen von Prüfkörpern aus Versuchsreihe 1 und 2. Angaben in Wt%. Werte < 1 sind vernachlässigbar.

| AAP Kombination | Ca | P | Mg | Na | F |
|-----------------------|-------|-------|------|------|------|
| FAP1 + Scotchbond | 28,19 | 14,76 | 0,76 | 1,00 | 2,32 |
| HAP1 + Adhese | 26,13 | 14,19 | 0,68 | 0,37 | |
| HAP1 + Scotchbond | 23,96 | 13,25 | 0,53 | 0,44 | |
| HAP1 + OptiBond eXTRa | 18,21 | 10,05 | 0,54 | 0,54 | |

Die gemessenen Werte des Materials in den Dentintubuli zeigen eine sehr große Ähnlichkeit zu denen der AAP-Auflagerungen und der Referenzmessungen der Apatite, was die erfolgreiche Inkorporation des Materials in das Gefüge des Dentins auch quantitativ nachweist.

4.5.2 Auswirkungen des Säuretoleranztests

Das strukturelle Gefüge der AAP zeigte material- sowie zeitabhängige Veränderungen nach Applikation der Phosphorsäure im Rahmen des Säuretoleranztests. Folgende Messungen stellen den dadurch entstandenen Verlust von Mineral quantitativ dar.

30-sekündiger Säuretoleranztest

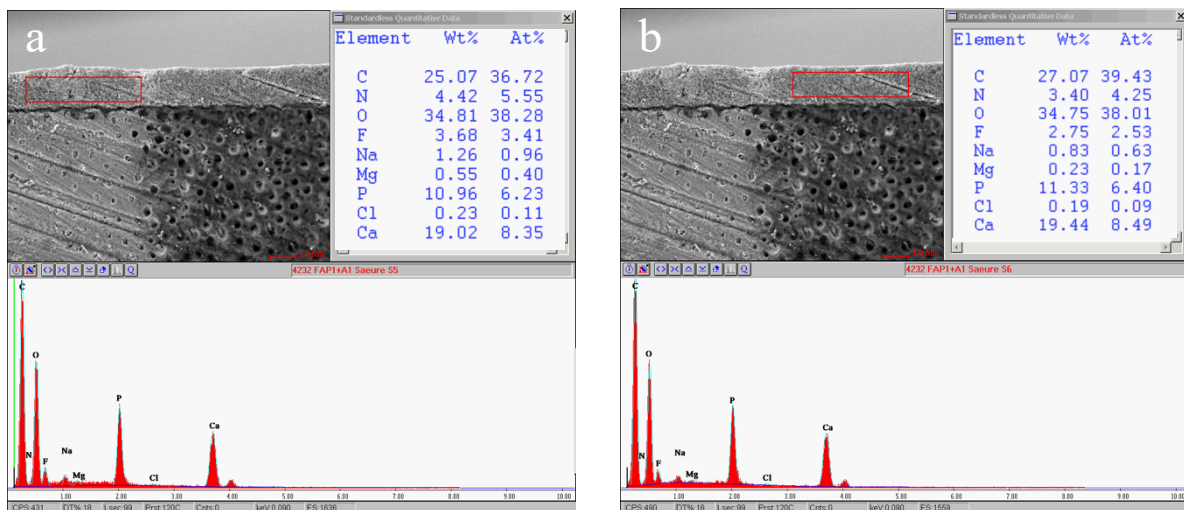


Abb. 4.58: Beispiel einer EDX-Analyse der AAP-Auflagerung FAPI + Adhese Universal. a) in ungetätztem Bereich. b) in getätztem Bereich. Werte < 1 sind vernachlässigbar.

Die gemessenen Werte der übrigen Kombinationen sind in folgender Tabelle dargestellt.

Tab. 4.4: Elementzusammensetzung der AAP-Auflagerungen im ungeätzten und im geätzten Bereich nach 30-sekündigem Säuretoleranztest. Angaben in Wt%. Werte < 1 sind vernachlässigbar.

| AAP Kombination | Ca | P | Mg | Na | F |
|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | ungeätzt / geätzt | ungeätzt / geätzt | ungeätzt / geätzt | ungeätzt / geätzt | ungeätzt / geätzt |
| FAP1 + OptiBond eXTRa | 15,16 / 12,85 | 8,96 / 8,13 | 0,30 / 0,44 | 0,63 / 0,53 | 2,69 / 2,42 |
| HAP1 + OptiBond eXTRa | 17,10 / 8,60 | 9,17 / 6,22 | 0,38 / 0,71 | 0,43 / 0,75 | |
| HAP2 + OptiBond eXTRa | 17,14 / 15,44 | 9,12 / 8,45 | 0,15 / 0,17 | 0,15 / 0,16 | |

60-sekündiger Säuretoleranztest

Tab. 4.5: Elementzusammensetzung der AAP-Auflagerungen im geätzten Bereich beider Proben jeder Kombination nach 60-sekündigem Säuretoleranztest. Die Werte aus Tabelle 4.4 für den ungeätzten Bereich sind als Referenzwerte heranzuziehen. Angaben in Wt%. Werte < 1 sind vernachlässigbar.

| AAP Kombination | Ca geätzt | P geätzt | Mg geätzt | Na geätzt | F geätzt |
|-----------------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| FAP1 + Adhese | 13,53 / 15,85 | 7,86 / 9,07 | | 0,69 / 0,74 | 2,07 / 2,77 |
| FAP1 + OptiBond eXTRa | 14,09 / 10,84 | 8,80 / 6,09 | | 0,93 | 2,91 / 2,97 |
| HAP1 + OptiBond eXTRa | 0,87 / 2,06 | 1,33 / 2,26 | 0,43 / 0,46 | 0,55 / 0,57 | |
| HAP2 + OptiBond eXTRa | 9,71 / 2,00 | 5,93 / 1,39 | 0,35 / 0,33 | 0,40 / 0,44 | |

Darüber hinaus diente die EDX-Analyse der Erklärung von Beobachtungen zu aggregierten Bereichen in Proben aus dem 60-sekündigen Säuretoleranztest (Abbildung 4.55). Diese Bereiche größerer Einschlüsse lassen sich in den REM-Aufnahmen nach Säureexposition deutlich von der übrigen Struktur der AAP abgrenzen. EDX-Messungen ergaben für die Aggregate vor Säureexposition deutlich höhere Werte für Calcium und Phosphat bei gleichzeitig fehlendem Silicium verglichen mit den übrigen AAP-Bereichen. Nach 60-sekündiger Säureeinwirkung sind Calcium und Phosphat innerhalb der Aggregate teilweise nicht mehr nachweisbar oder in deutlich geringerem Maße als in den übrigen Bereichen. Messungen der betreffenden Bereiche sind nachfolgend als EDX-Schema sowie tabellarisch dargestellt.

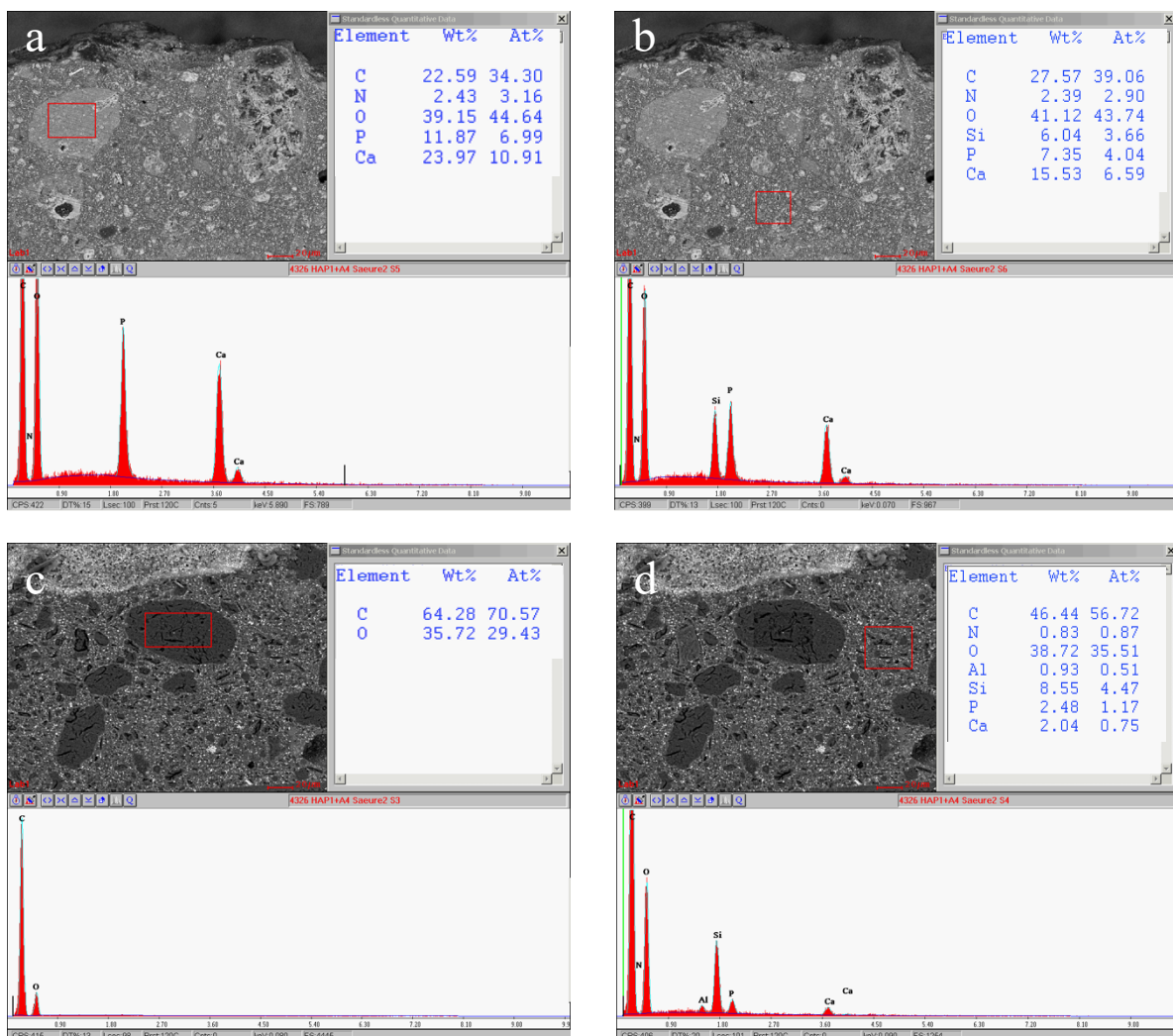


Abb. 4.59: EDX-Analysen: HAP1 + OptiBond eXTRA. a) Aggregat vor Säuretoleranztest. b) übriger AAP-Bereich vor Säuretoleranztest. c) Aggregat nach Säuretoleranztest. d) übriger AAP-Bereich nach Säuretoleranztest. Werte < 1 sind vernachlässigbar.

Ergebnisse

Tab. 4.6: Messungen für Calcium, Phosphat und Silicium in Aggregaten sowie übrigen AAP-Bereichen vor und nach 60-sekündigem Säuretoleranztest. Angaben in Wt%. Werte < 1 sind vernachlässigbar.

| Bereich | Ca | P | Si |
|-----------------------------------|---------------|---------------|------|
| Aggregat vor Säuretoleranztest | 23,97 | 11,87 | |
| übrige AAP vor Säuretoleranztest | 15,53 | 7,35 | 6,04 |
| Aggregat nach Säuretoleranztest | kein Nachweis | kein Nachweis | |
| übrige AAP nach Säuretoleranztest | 2,04 | 2,48 | 8,55 |

5 Diskussion

5.1 Material und Methoden

5.1.1 Prüfkörperherstellung

Die Dentinprüfkörper wurden ausschließlich aus humanen, karies- und füllungsfreien Frontzähnen und Molaren der zweiten Dentition gewonnen. Hierbei handelte es sich überwiegend um extrahierte Weisheitszähne, welche in der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und präventive Zahnheilkunde des Universitätsklinikums des Saarlandes nach Extraktion in 0,1%iger Thymollösung in Gläsern bei 4 °C im Kühlschrank zwischenlagerten.

In der Literatur wird für zahnmedizinische Untersuchungen neben dem Einsatz humaner auch der Einsatz boviner Zahnhartsubstanzen angegeben, da diese eine große strukturelle und chemische Ähnlichkeit zu menschlichen Zähnen aufweisen (Reis *et al.* 2004). In einer vergleichenden Studie wurden die Zahnhartsubstanzen von drei Tierarten hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung untersucht und für das Dentin von Rinderzähnen die größte Ähnlichkeit zum menschlichen Dentin festgestellt (Teruel *et al.* 2015). Schilke *et al.* (2000) konnten bezüglich der Anzahl der Dentintubuli pro mm² und des Tubulusdurchmessers keine signifikanten Unterschiede zwischen koronalem Rinderdentin und menschlichem Dentin feststellen und schlussfolgerten, dass bovines Dentin durchaus für standardisierte Präparate in Adhäsionsstudien zum Einsatz kommen kann (Schilke *et al.* 2000). Humane Zähne in ausreichender Qualität und Quantität zu akquirieren, um aus ihnen möglichst standardisierte Prüfkörper ausreichender Größe zu gewinnen, kann für bestimmte Forschungsfragen zu Schwierigkeiten führen (Mellberg 1992), ließ sich jedoch für diese Studie unter Beachtung bestimmter Kriterien zufriedenstellend durchführen und ermöglichte Untersuchungen nach einem weitestgehend standardisierten Vorgehen. Soares *et al.* zeigten in einer Studie aus dem Jahr 2013 zum strukturellen Vergleich humanen und bovinen Dentins signifikant höhere organische und anorganische Bestandteile im menschlichen Dentin. Bezogen auf die Freilegung des Kollagennetzwerks bei der Konditionierung kann diese Tatsache die Adhäsion am Substrat Dentin beeinflussen (Soares *et al.* 2013). Pashley beschrieb bereits im Jahr 1995 eine bessere Kunststoff-Infiltration an menschlichem Dentin im Vergleich zu bovinem Dentin (Pashley *et al.* 1995). Untersuchungen zur Röntgendichte zeigten für humanes koronales Dentin eine höhere Dichte als für bovines koronales Dentin (Fonseca *et al.* 2004, Tanaka *et al.* 2008), was nach Soares durch folglich unterschiedlich verbleibende Mengen an Mineral nach einem Ätzevorgang ebenfalls Auswirkungen auf die Infiltration von Adhäsivsystemen nach sich ziehen kann (Soares *et al.* 2013).

Ferner werden für bovine und humane Zahnhartsubstanzen unterschiedliche Haftwerte für den adhäsiven Verbund angegeben (Nakamichi *et al.* 1983). Diese Tatsache kann für vorliegende Untersuchung vernachlässigt werden, da kein Materialtest zur Haftkraft stattfand. Wegen dargelegter struktureller Unterschiede der Substrate wurde in dieser Studie zur Untersuchung eines adhäsiven Verbunds zum Dentin die Verwendung humaner Zähne bevorzugt.

Es wurde weiterhin für eine bessere Standardisierbarkeit und um eine Beeinflussung auf den Verbund zum Dentin auszuschließen, auf eine vollständige Kariesfreiheit der verwendeten Zähne geachtet. Kariesbefallenes Dentin zeigt nach Konditionierung durch mineralische Ablagerungen verschlossene Dentintubuli (Nakajima *et al.* 2005) und erreicht infolgedessen sowie aufgrund von Unterschieden in der Mineralphase bei Tests zur Mikrozugfestigkeit eines adhäsiven Verbunds schlechtere Werte als gesundes Dentin (Ceballos *et al.* 2003, Huang *et al.* 2011, Yoshiyama *et al.* 2002). Bei Adhäsion auf kariesbefallenem Dentin stellten Forscher eine im Gegensatz zu gesundem Dentin dickere, kollagenreiche und poröse Zone im Bereich der Hybridschicht fest, (Neves *et al.* 2011) welcher auch nachgesagt wird, den Abbauprozess im Verbundbereich zu beschleunigen und so die Langlebigkeit einer Restauration zu verringern (Erhardt *et al.* 2008).

Um an der Grenzfläche zwischen AAP und Dentin für die rasterelektronenmikroskopische Betrachtung eine möglichst glatte Oberfläche zu erzielen, wurden alle Prüfkörper an der zu betrachtenden Fläche mit SiC-Schleifpapier mit finaler Körnung P4000 angeschliffen. Folge dieses Schleifens der Prüfkörper sind meist schräg verlaufende, zum Teil riss-ähnliche, feine Linien in den REM-Bildern. Van Meerbeek *et al.* wiesen in einer Publikation im Jahr 2000 darauf hin, dass Grenzflächenbetrachtungen je nach angewandter Präparationsmethode stets kritisch hinterfragt werden sollten. Beim Vorgang des Schleifens bzw. Polierens verbleiben auf den Prüfkörpern Polierreste, die unter Umständen einen guten Verbund vortäuschen oder im Falle des Dentins Tubuli artifiziell verschließen können, sodass tatsächliche Strukturen im Verborgenen bleiben. Eine Alternative zum Anschleifen der Grenzflächen stellt das Brechen der Proben mit anschließender Betrachtung der Bruchfläche dar, wobei hier innerhalb der Probe unkontrollierte Spannungen und demzufolge Mikrorisse innerhalb des Verbunds auftreten können (Van Meerbeek *et al.* 2000). Soeben beschriebene Problematik, in Kombination mit einer erschweren Betrachtung im REM aufgrund unregelmäßig verlaufender Bruchkanten, zeigte sich auch in der Vorgängerstudie (Henrich 2021), sodass in dieser Studie das Anschleifen der Grenzflächen mit eben beschriebenen Konsequenzen das Verfahren der Wahl darstellte. Das Schleifen von Dentinprüfkörpern mit SiC-Papier wird in der Forschung häufig dazu

genutzt, den durch Manipulation des Dentins entstehenden smear layer zu simulieren (Kenshima *et al.* 2005, Reis *et al.* 2005). Über die Körnung, welche das Schleifen von Bohrern dabei am besten imitieren kann, besteht in der Literatur kein Konsens. Forscher kamen zu dem Ergebnis, dass Diamantbohrer tendenziell rauere und dichtere smear layer erzeugen als die im Großteil der Literatur verwendete Schleifpapier-Körnung von 600 grit (Saikaew *et al.* 2016, Sattabanasuk *et al.* 2007) und dass eine Körnung von 320 grit klinisch relevantere smear layer erzeugen kann (Oliveira *et al.* 2003). Es kann in vorliegender Studie also nicht davon ausgegangen werden, dass durch das Schleifen der Prüfkörper mit SiC-Papier ähnliche smear layer erzeugt wurden, wie es beim Einsatz von Bohrern auf Dentin der Fall ist.

Das Aushärten der AAP-Schichten erfolgte in dieser Studie mit einer 5 W LED-Polymerisationslampe. LED-Lampen sind seit über zehn Jahren als Standard in der zahnmedizinischen Lichtpolymerisation anerkannt (Rueggeberg 2011). Um eine adäquate Polymerisation aller Bereiche des auszuhärtenden Materials zu erreichen, ist eine exakte Anwendung Voraussetzung. So z. B. kann eine Entfernung der Lichtquelle von 6 mm zum auszuhärtenden Bereich bereits eine Reduktion der Bestrahlungsstärke um bis zu 50% erwirken, eine Entfernung von 10 mm sogar eine Abnahme von circa 80%. Ebenso kann eine Winkelabweichung zu einer Verringerung der Bestrahlungsstärke führen (Price *et al.* 2000). Der potenzielle Einfluss soeben beschriebener Anwendungsfehler mit negativen Auswirkungen auf die Haftung der AAP am Dentin kann auch in dieser Studie nicht vollständig ausgeschlossen werden.

5.1.2 Auswahl der Materialien

LAGERUNGSMEDIUM

Die in vorliegenden Untersuchungen verwendeten extrahierten Zähne und die daraus hergestellten reinen Dentinprüfkörper lagerten vor der Applikation der AAP in einer 0,1%-igen Thymollösung bei 4 °C. Es lag dabei keine Information über die Zeitspanne zwischen Extraktion und Verwendung für diese Studie vor. Thymol zeichnet sich als Phenol-Derivat durch seine antimykotische, bakterizide und allgemein desinfizierende Wirkung aus (Mutschler *et al.* 2001) und wird aufgrund dieser Eigenschaften in der zahnmedizinischen Forschung vielfach als Lagerungsmedium humaner oder tierischer Zähne, auch über einen längeren Zeitraum eingesetzt (Goodis *et al.* 1993, Haller *et al.* 1993, Reinhardt *et al.* 1987). Zur Auswirkung der Lagerung von Zähnen in Thymol-haltigen Lösungen besteht in der Literatur kein klarer Konsens. Retief *et al.* (1989) konnten in ihrer Studie zur Untersuchung der Auswirkung von Lagerungsmedien auf die Scherfestigkeit eines Adhäsivs auf Dentin weder für das Lagerungsmedium,

noch für die Lagerungsdauer einen signifikanten Einfluss feststellen (Retief *et al.* 1989). Zu ähnlichen Erkenntnissen kamen auch Williams und Svare, die in ihren Untersuchungen bezüglich der Scherfestigkeit keine signifikanten Unterschiede zwischen einer 24-stündigen, dreimonatigen und fünf-jährigen Lagerungsdauer in u. a. thymolhaltiger Lösung feststellen konnten, wobei hier nur der Verbund zum Substrat Schmelz untersucht wurde (Williams und Svare 1985). Dem gegenüber stehen zahlreiche Studien, die sehr wohl eine Einflussnahme der Lagerungsdauer nach Extraktion der Zähne bis zu ihrem Einsatz im Versuchsaufbau auf Parameter wie Haftkraft und Dentinpermeabilität feststellen konnten (Causton und Johnson 1979, Goodis *et al.* 1991, Pashley *et al.* 1988b, Tao und Pashley 1988b). Demzufolge ist auch in dieser Studie ein Einfluss der Lagerung auf die spätere Haftung der AAP am Dentin nicht auszuschließen. Ferner wurde bereits herausgearbeitet, dass phenolische Verbindungen, denen das Thymol zuzuordnen ist, eine Hemmung der Polymerisation von Methacrylaten hervorrufen können (Fujisawa und Kadoma 1992).

Ein Teil der Proben dieser Studie lagerte nach dem Aufbringen der AAP für sieben Tage, bzw. drei Monate in destilliertem Wasser, um mögliche hydrolytische Degradationsvorgänge im adhäsiven Verbund durch Wasseraufnahme *in vitro* zu simulieren und so näher an klinischen Bedingungen zu arbeiten. Eine wässrige Umgebung kann über das bekannte Phänomen des Nanoleakage eine Hydrolyse der Kollagenfibrillen und ein Auswaschen von Bestandteilen der Polymermatrix zur Folge haben (Hashimoto *et al.* 2003). Ein weiterer Effekt der Wasserlagerung von Adhäsivrestaurationen ist die sogenannte **hygroskopische Expansion**, von welcher einige Autoren erwarten, dass sie in der Lage ist, das Phänomen der Polymerisationsschrumpfung im adhäsiven Gefüge zu kompensieren (Huang *et al.* 2002, Momoi und McCabe 1994). Diese Hypothese konnte von Rüttermann *et al.* (2007) in einer Untersuchung 2007 widerlegt werden, wenngleich für eine 7-tägige Lagerung in Wasser bei 37 °C eine signifikante hygroskopische Expansion aller untersuchten Materialien festgestellt werden konnte (Rüttermann *et al.* 2007).

DENTINKONDITIONIERUNG

Alle Dentinprüfkörper wurden vor Auftragen der AAP für 10 s mit 37,5%-iger Phosphorsäure geätzt, trotz dass es sich bei allen der vier verwendeten Adhäsivsysteme um Universaladhäsive handelt, welche nach Herstellerangaben dank ihrer sauren Monomere auch ohne vorherige Ätzung im Self-Etch Modus angewandt werden können. Die optimale Strategie zur Anwendung der Universaladhäsive bleibt weiterhin umstritten, eine Metaanalyse von Hong *et al.* (2021)

kam jedoch zu dem Ergebnis und der Empfehlung, Universaladhäsive im Etch-and-Rinse-Verfahren, also mit separatem Ätz-Schritt vor Auftragen des Adhäsivs anzuwenden (Hong *et al.* 2021). Eine weitere zugrundeliegende Studie von Stape *et al.* (2021) kam zu dem Ergebnis, dass zuvor geätzte Dentinoberflächen im adhäsiven Verbund hinsichtlich Mikrozugfestigkeit, Ermüdungsverhalten und Morphologie der Hybridschichten den Dentin-Adhäsiv-Verbindungen im Self-Etch-Modus überlegen waren, wobei eine Ätzzeit von 3 s derjenigen von 15 s überlegen war. Den eingesetzten milden Universaladhäsiven gelang es nicht, den durch SiC-Schleifpapier erzeugten smear layer ausreichend aufzulösen (Stape *et al.* 2021). Kommt es hingegen durch stark saure Universaladhäsive zu einem Überätzen des Dentins, resultiert eine Überexposition des Kollagennetzwerks, welche anschließend nur unzureichend von Adhäsiv infiltriert werden kann (Stape *et al.* 2018). Hinzu kommt die Tatsache, dass bei kürzeren und weniger aggressiven Ätzvorgängen mehr Hydroxylapatit verbleibt, welches anschließend über das AD-Konzept eine chemische Bindung mit den sauren Monomeren im Adhäsiv eingehen kann (Stape *et al.* 2021). Auch *in vivo* stellte sich nach einem 24-monatigen Beobachtungszeitraum hinsichtlich der Retention und der Randqualität von adhäsiven Restaurationen heraus, dass Universaladhäsive im Etch-and-Rinse-Verfahren klinisch bessere Ergebnisse liefern können (Oz *et al.* 2019). Aufgrund dargelegter Beobachtungen wurde in vorliegender Studie eine mittlere Ätzzeit von 10 s gewählt.

ADHÄSIVE

In Analogie zur Vorgängerstudie (Hennrich 2021) wurden für vorliegende Untersuchungen die vier gängigen Universaladhäsive Adhese Universal, Scotchbond Universal, Clearfil Universal Bond Quick und OptiBond eXTRa Universal im Etch-and-Rinse-Verfahren verwendet. Das OptiBond eXTRa Universal war hierbei das einzige Zwei-Flaschen-Adhäsiv – mit separatem Auftragen von Primer und Bonding – alle anderen gehören der Gruppe der Ein-Flaschen-Systeme an. Darüber hinaus unterscheiden sie sich sowohl im angegebenen pH-Wert als auch in den enthaltenen funktionellen Monomeren. Das Adhese Universal und das Scotchbond Universal mit pH-Werten von 2,5-3 und 2,7 zählen nach einer Einteilung von Meerbeek *et al.* (2011) zu den ultra-milden, das Clearfil Universal Bond Quick mit einem pH-Wert von 2,3 zu den milden und das OptiBond eXTRa Universal mit pH-Werten von 1,6-1,8 zu den mittelstarken Universaladhäsiven. Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen pH-Wert-abhängige Interaktionszonen zwischen Adhäsiv und Dentin, die von wenigen hundert nm bei ultra-milden Adhäsiven, über ca. 1 µm bei milden und 1-2 µm bei mittelstarken,

bis hin zu 4 µm bei ultrastarken Adhäsivsystemen reichen (Van Meerbeek *et al.* 2011). Während der grundlegende Mechanismus der Haftung auf einem Austauschprozess von aus dem Dentin herausgelöstem Mineral und Monomeren aus dem Adhäsiv besteht, welche sich nach der Polymerisation mikromechanisch im Dentin verankern (Van Meerbeek *et al.* 2003), kann in Abhängigkeit von den Eigenschaften der Säure eine chemische Bindung zwischen funktionellen Monomeren und dem HAP des Dentins den Verbund weiter stärken (Salz *et al.* 2006). Je mehr HAP-Partikel nach dem Ätzen durch saure Monomere an den Kollagenfibrillen verbleiben, desto stärker kann diese zusätzliche chemische Bindung einen Beitrag zum Verbund leisten (Tay und Pashley 2001, Waidyasekera *et al.* 2009). Ultrastarke Adhäsive mit pH-Werten < 1 erzeugen zwar strukturell ähnliche Hybridschichten, wie herkömmliche Etch-and-Rinse-Systeme, bilden jedoch durch das aggressive Herauslösen der Mineralien aus dem Dentin Calciumphosphat-Komplexe, welche sich innerhalb der Hybridschicht ablagern und durch ihre geringe hydrolytische Stabilität die Grenzfläche langfristig schwächen (Van Meerbeek *et al.* 2003). Dieser Effekt konnte auch in *in vitro* und in klinischen Studien beobachtet werden (Brackett *et al.* 2002, De Munck *et al.* 2006, Shirai *et al.* 2005).

Bis auf das OptiBond eXTRa Universal enthalten alle vier verwendeten Adhäsivsysteme das 10-MDP-Monomer, welches in der Lage ist, über die chemische Bindung mit dem HAP des Dentins eine stabile, ca. 4 nm dicke Schicht zu bilden (Yoshihara *et al.* 2011), welche durch ihre hydrophoben Eigenschaften die Hybridschicht vor Degradation schützen kann (Breschi *et al.* 2008). Sie besteht aus zwei Unterschichten verknüpfter Methacrylat-Gruppen des MDP-Moleküls und herausgelöster Calcium-Ionen (Yoshida *et al.* 2012). Das verwendete Adhäsivsystem OptiBond eXTRa Universal enthält statt 10-MDP das Monomer GPDM. Yoshihara *et al.* untersuchten im Jahr 2018 erstmals genauer die chemische Bindungsfähigkeit von GPDM zu HAP und stellten fest, dass das deutlich hydrophilere funktionelle Monomer zwar nachweislich an HAP binden konnte, jedoch im Gegensatz zum MDP-Monomer keine stabilen, sondern leicht lösliche GPDM-Calcium-Salze bildete, die durch Wasser ausgewaschen wurden. GPDM kann jedoch durch seine Hydrophilie und relativ geringe Größe effektiver in das tiefliegende Kollagen infiltrieren und durch effizienteres Polymerisieren mit anderen Co-Monomeren ein ausgeprägteres Polymernetzwerk ausbilden als das MDP-Monomer (Yoshihara *et al.* 2018). Einige *in vitro*- und *in vivo*-Studien zeigen die seit vielen Jahren wirksame Funktion des GPDM-Monomers in gängigen Adhäsivsystemen (Peumans *et al.* 2014, Walter *et al.* 2011).

Neben den angesprochenen Hauptmonomeren kommt auch den Copolymeren und übrigen Bestandteilen, wie Lösungsmitteln eine wichtige Rolle in Adhäsivsystemen zu. Deutlich wird dies in den Ergebnissen einer vergleichenden Studie, welche u. a. drei der hier verwendeten Adhäsive (Adhese Universal, Clearfil Universal Bond Quick und Scotchbond Universal) einbezog und nach Tests zur Aushärteeffizienz, Ausmaß der Sauerstoffinhibition, Härte und Haftfestigkeit schlussfolgerte, dass trotz des in allen Adhäsiven vorkommenden 10-MDP erhebliche Unterschiede in den untersuchten Kriterien bestehen (Papadogiannis *et al.* 2019). Alle der vier in vorliegender Studie verwendeten Adhäsive enthalten das Monomer HEMA mit Ethanol und/oder Wasser als Lösungsmittel, welches in der Lage ist, ein durch Ätzung kollabiertes Kollagenetzwerk zu benetzen und die Diffusion ins Dentin zu erleichtern (Hitmi *et al.* 2002, Nakabayashi und Takarada 1992b). Bis-GMA als weiterer Bestandteil von Adhese Universal, Clearfil Universal Bond Quick und Scotchbond Universal sorgt im Polymernetzwerk für Festigkeit und Steifigkeit, hydrophobe Dimethacrylate in allen vier Adhäsiven für Elastizität und die Vernetzung mit hydrophoben Restaurationsmaterialien (Papadogiannis *et al.* 2019). Die Adhäsivsysteme Adhese Universal und Scotchbond Universal enthalten außerdem Methacrylat-modifizierte Carbonsäure-Copolymere, welche Untersuchungen zufolge dazu in der Lage sind, mit dem 10-MDP um die Bindungsstelle am HAP zu konkurrieren. Die angesprochene Nanoschicht mit MDP-Calcium-Salzen war in diesen Fällen weniger stark ausgeprägt (Yoshida *et al.* 2012).

HYDROXYLAPATITE

Um die vielversprechenden Ergebnisse der Vorgängerstudie (Henrich 2021) ausführlicher am Substrat Dentin zu überprüfen, wurden die synthetisch hergestellten Apatite in Pulverform analog verwendet. Das Hydroxylapatitpulver Kalident first von Kalichem ist in Korrelation zu seiner amorphen Struktur auch innerhalb der Matrix aus Adhäsiv eher zufällig und ungeordnet in die AAP eingebunden. Das Hydroxylapatitpulver von Sigma Aldrich zeigt eine sphärische, pseudokristalline Struktur der Partikel, welche in die Adhäsivmatrix homogen und regelmäßig eingebunden sind. Die stäbchenförmigen Partikel des Nanofluorapatits von S&C Polymer liegen besonders dicht gepackt in der AAP und zeigen die ausgeprägteste Inkorporation sowohl in die Hybridschicht als auch in die Dentintubuli. Die Fähigkeit synthetischer Nanopartikel in die Dentinstruktur zu infiltrieren, korreliert nachweislich mit ihrer Größe. So konnten Besinis *et al.* 2014 für eine nHAP-Lösung mit kugelförmigen Partikeln eines maximalen Durchmessers von 3 nm eine deutlich bessere Diffusion in Dentinproben erreichen, als mit stäbchenförmigen nHAP-Partikeln einer Größe zwischen 200 bis 700 nm (Besinis *et al.* 2014),

was mit Ergebnissen anderer Studien übereinstimmt, die für stäbchenförmige Partikel einer mittleren Länge von etwa 70 nm und eines Durchmessers von etwa 30 nm teilweise ein vollständiges Okkludieren von 90% der Dentintubuli erreichen konnten (Earl *et al.* 2009). Nach Herstellerangaben haben die Apatitpartikel des Produkts von Sigma Aldrich eine Größe von < 100 nm, was den oben genannten Studien zufolge mit einer guten Diffusion in die Dentinstruktur verbunden ist. Die REM-Aufnahmen betreffender Kombinationen mit dem HAP2 lassen allerdings auch größere Partikel von bis zu 1 µm erkennen. Für die stäbchenförmigen Partikel des verwendeten Nanofluorapatits können im Mittel Längen von ca. 320 nm gemessen werden. Das HAP1 zeigt die Partikel mit den größten morphologischen Unterschieden und der demnach auch größten Variation in der Größe, was unter anderem auf Abbildung 4.22 deutlich wird. Es lassen sich in den REM-Aufnahmen kleinste Partikel von wenigen hundert Nanometern Länge bis hin zu 10 µm Länge erkennen. Die Messungen in den REM-Bildern erfolgte dabei mit der Open-Source-Software ImageJ, welche zur Verarbeitung und Analyse wissenschaftlicher Bilder allgemein anerkannt ist (Schneider *et al.* 2012).

5.1.3 Analyseverfahren

REM/EDX

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM) ist heutzutage in der zahnmedizinischen Forschung eine beliebte und einfache Methode zur Visualisierung von Haftmechanismen mit hoher Auflösung und großer Schärfentiefe. Konnte noch zu Beginn der 1990er Jahre mit Mikroskoptechniken lediglich gezeigt werden, ob im Verbund zum Dentin eine Hybridzone mit Tags vorhanden war oder nicht, erlauben die heute verfügbaren Techniken eine deutlich detailliertere Charakterisierung der Vorgänge innerhalb der Interaktionszone im Submikronbereich (Van Meerbeek *et al.* 2000). Mithilfe der verschiedenen Modi SE, BSE und MIX können je nach Fragestellung unterschiedliche Bereiche einer Probe mit ausreichendem Kontrast dargestellt werden. Der SE-Modus nutzt dabei die niederenergetischen Sekundärelektronen, welche aus oberflächlichen Schichten der Probe stammen und gute Kontraste im Bereich von Oberflächenmorphologien, wie z. B. Rissbildungen liefern. Im BSE-Modus sorgen höherenergetische Elektronen für den sogenannten Materialkontrast, der die Unterscheidung unterschiedlicher Materialien abhängig von der jeweiligen Kernladungszahl zulässt und so z. B. Füllstoffe innerhalb einer Matrix darstellen kann (Reimer und Pfefferkorn 1973). Fitzgerald *et al.* gelang es im Jahr 1968 erstmals einen Röntgendetektor mit einem einfallenden Elektronenstrahl zu kombinieren, womit sie die Anfänge der energiedispersiven Röntgenspektroskopie (EDX) markieren

konnten (Fitzgerald *et al.* 1968). Aufgrund der hohen Energie beim Auftreffen der Elektronen auf die Probe entsteht im System charakteristische Röntgenstrahlung, welche von einem Detektor aufgefangen wird und sowohl qualitative als auch quantitative Analysen der in den Proben enthaltenen Elemente erlaubt (Goldstein *et al.* 2018).

Um die vorliegenden Ergebnisse mit denen beider Vorgängerstudien (Hennrich 2021, Seidel 2016) vergleichen zu können, wurden EDX-Messungen relevanter Bereiche durchgeführt. Von Interesse waren zum einen der Fluoridanteil innerhalb der Hybridzone und in gefüllten Tubuli direkt unterhalb der Hybridzone als Hinweis darauf, wie viel Nano fluorapatit in das Dentin eingelagert wurde, zum anderen die Analysen im Anschluss an den Säuretoleranztest hinsichtlich der Säureresistenz der AAP. Einige Forscher bedienten sich bereits dieser Methode zur Analyse der elementaren Zusammensetzung von Materialien mit Nanopartikeln (Elkassas und Haridy 2015, Sadat-Shojai *et al.* 2010, Vijayasankari *et al.* 2019).

THERMOCYCLING

Um die in der Mundhöhle vorherrschenden Temperaturschwankungen während der Nahrungsaufnahme (Palmer *et al.* 1992) *in vitro* zu simulieren und ihre Auswirkungen auf Zähne und Restaurationsmaterialien zu untersuchen, bedient sich die zahnmedizinische Forschung des Thermocycling-Verfahrens. Ernst *et al.* (2004) überprüften in einer Studie die in den meisten Untersuchungen angewandten Provokationstemperaturen von 5 °C und 55 °C auf ihre Sinnhaftigkeit hin. Sie konnten in den Approximalräumen der Zähne eine Höchsttemperatur von 52,8 °C und eine Tiefsttemperatur von 13,7 °C messen, sodass die in den meisten Studien gewählten Grenzwerte von 5 °C und 55 °C die tatsächlich auftretenden Temperaturen in der Mundhöhle gut abdecken (Ernst *et al.* 2004). Die thermische Belastung soll zudem eine künstliche Alterung simulieren, jedoch unterliegen die Angaben bezüglich einer geeigneten Zyklanzahl in der Literatur starken Schwankungen und scheinen teilweise willkürlich festgelegt zu sein (Amaral *et al.* 2007). Gale und Darvell gehen davon aus, dass ein Temperaturwechsel in der Mundhöhle 20-50 Mal täglich stattfindet, sodass eine Zyklanzahl von 10.000 etwa einem Jahr physiologischer Alterung entspricht (Gale und Darvell 1999). Die künstliche Alterung der Proben in dieser Studie entspräche somit einem Zeitraum von ungefähr vier Monaten. Das Thermocycling-Verfahren wird in zahlreichen Studien zur Untersuchung der Beständigkeit eines adhäsiven Verbunds auf Zahnhartsubstanzen eingesetzt (De Munck *et al.* 2005, Dos Santos *et al.* 2005, Visintini *et al.* 2008).

SÄURETOLERANZTEST

Die Säureexposition aller in der Mundhöhle beteiligten Strukturen ist bei normaler Funktion unumgänglich. Ein übermäßiger Konsum säurehaltiger Lebensmittel oder der Kontakt mit Säuren durch intrinsische Quellen (häufiges Erbrechen, Refluxerkrankungen) kann an der Zahnhartsubstanz zu erosiven Veränderungen führen (Kanzow *et al.* 2016). Auch restaurative Materialien und ihr Verbund zur Zahnhartsubstanz unterliegen mehr oder minder ausgeprägten Veränderungen ihrer Morphologie und mechanischen Eigenschaften nach Säureexposition (Fan *et al.* 2014, Hwang *et al.* 2018). Dabei scheinen die Degradationsprozesse maßgeblich von der Art des Materials und bei Kompositverbindungen in erster Linie vom Füllstoffgehalt abhängig zu sein, wobei ein höherer Gehalt an Füllstoffen die Widerstandsfähigkeit von Kompositmaterialien zu verbessern scheint (Krüger *et al.* 2018). Bereits mehrere Studien konnten für synthetisches HAP in unterschiedlichen Formulierungen eine Pufferfunktion und somit eine erosionsprotektive Wirkung nachweisen (Colombo *et al.* 2016, Kensche *et al.* 2016, Min *et al.* 2011, Poggio *et al.* 2017). Das strukturelle Gefüge der AAP sowie ihr Verbund zum Dentin sollten in vorliegender Studie hinsichtlich eines potenziellen Einsatzes in der Mundhöhle ebenfalls auf ihre Säureresistenz hin untersucht werden.

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Versuchsreihe 1: Kombination aller Adhäsive und Apatitpulver

Bei der Kombination der beiden verwendeten synthetischen Hydroxylapatitpulver und des Fluorapatitpulvers mit vier gängigen Universaladhäsiven konnte für alle Kombinationen eine auf Dentinprüfkörper applizierbare Paste mit mikroskopisch unterschiedlichen Eigenschaften generiert werden. Es gelang zuverlässig, Auflagerungen nahezu konstanter Schichtstärken von im Mittel 50 μm auf der Dentinoberfläche zu erzeugen. Die jeweiligen Apatitpartikel erscheinen dabei innerhalb der AAP überwiegend homogen in die Matrix aus Polymer eingebettet. Grundlage dieser Inkorporation der Partikel und deren ionischer Bindungsfähigkeit an die monomeren Bestandteile der Adhäsivsysteme stellt das bereits erläuterte AD-Konzept dar, welches einen Ionenaustauschprozess der Phosphatgruppe des HAP mit der reaktiven Phosphatgruppe der Monomere beschreibt (Yoshida *et al.* 2001). Die EDX-Analysen der AAP-Auflagerungen bestätigen das erfolgreiche Einbinden der HAP-Partikel in die Adhäsivmatrix anhand der Werte der Elementzusammensetzungen, verglichen mit den Referenzwerten der reinen Apatitpulver (Tabelle 4.1 und 4.2).

In dieser ersten Versuchsreihe besonders auffällig und nach den Ergebnissen der Vorgängerstudie (Hennrich 2021) zunächst überraschend ist die Tatsache, dass sich ausschließlich beim Adhäsivsystem Clearfil Universal Bond Quick an allen Prüfkörpern ein teilweises bis vollständiges Verbundversagen zwischen der AAP und dem Dentin zeigt. Die REM-Aufnahmen entsprechender Prüfkörper zeigen ein Ablösen der AAP oberhalb der ausgebildeten Hybridschicht im Sinne eines adhäsiven Verbundversagens, wie es auch Forscher in ihren Untersuchungen zur Beimengung von nHAP-Partikeln zu einem experimentellen Adhäsivsystem im Verbund zum Dentin feststellen konnten (Sadat-Shojai *et al.* 2010). Die Beobachtungen der Vorgängerstudie (Hennrich 2021) zu überzeugenden Verbundeigenschaften des Clearfil Universal Bond Quick zum Schmelz ließen sich in dieser Versuchsreihe am weitaus anspruchsvolleren Substrat Dentin nicht reproduzieren. Die adhäsive Bindung an das Dentin bleibt aufgrund der morphologischen Komplexität mit hohem anorganischem Anteil, der intrinsischen Feuchtigkeit sowie dem Phänomen des smear layers trotz aller technischen und wissenschaftlichen Fortschritte weiterhin eine Herausforderung (Swift 2002).

Für die übrigen Kombinationen konnte ausnahmslos ein intakter Verbund der AAP zum darunter liegenden Dentin über eine aus der Adhäsivtechnik bekannte Zone der Hybridisierung mit Ausbildung von Resin-Tags im Sinne einer mikromechanischen Verankerung erreicht werden. Die REM-Aufnahmen entsprechender Vergrößerungen zeigen bei allen verwendeten Apatiten eine Infiltration der Nanopartikel sowohl in die Hybridzone als auch in die darunter liegenden, durch Phosphorsäureätzung eröffneten Dentintubuli. Die EDX-Messungen der betreffenden Bereiche bestätigen diese Beobachtung und verdeutlichen den stabilen chemischen Verbund zwischen den Apatitpartikeln und den Monomeren der Adhäsive innerhalb der AAP sowie zwischen der AAP und der Dentinsubstanz. Die gemessenen EDX-Werte des Tubulusinhalts stimmen nahezu mit denen der reinen AAP überein (Abbildung 4.57 und Tabelle 4.3).

Die Eigenschaft von Nanofüllern, die Adhäsivschicht am Übergang zum Dentin zu verstärken, konnte bereits in mehreren Studien gezeigt werden (Atai *et al.* 2009, Solhi *et al.* 2012) und von Sadat-Shojai *et al.* (2010) dahingehend bestätigt werden, dass die Zugabe von nHAP-Partikeln zu ihrem experimentellen Adhäsivsystem zu Resin-Tags mit verbesserten mechanischen Eigenschaften führte (Sadat-Shojai *et al.* 2010). Wenn auch der Ausbildung von Resin-Tags als Beitrag zum Haftverbund von Adhäsiv und Dentin in der Literatur eine eher untergeordnete Rolle zugeschrieben wird (Nakabayashi *et al.* 1991, Tagami *et al.* 1990), so gewährleistet ein spaltfreies Anliegen des Füllmaterials an den Tubuluswänden sowie in deren Seitenabzweigungen einen dichten Verbund zum Dentin (Van Meerbeek *et al.* 2000).

Auf den REM-Aufnahmen der Prüfkörper mit intaktem Verbund der AAP zum Dentin lässt sich dieses Phänomen eindrucksvoll beobachten. Die Prüfkörper unter Verwendung des Adhäsivsystems Adhese Universal zeigen unabhängig vom beigemischten Apatitpulver sogenannte Quellphänomene der Hybridzone. Die Hybridzone scheint in den entsprechenden REM-Aufnahmen optisch aus der Bildebene bzw. der Grenzfläche des angeschliffenen Prüfkörpers herauszutreten (Abbildungen 4.1 und 4.9). Eine mögliche Ursache hierfür können unzureichend evaporierte Lösungsmittel des Adhäsivs sein, welche beim späteren Anschleifen der Grenzflächen bzw. im Hochvakuum des Rasterelektronenmikroskops zu einem Aufquellen der Hybridzone führen können. Zum ausreichenden Evaporieren der Lösungsmittel ist nach dem Auftragen ein angemessenes Verblasen über einen Luftstrom notwendig, wobei der Erfolg der Evaporation sowohl von der Art (Ikeda *et al.* 2005) als auch von der Konzentration (Cadenaro *et al.* 2009) der Lösungsmittel abhängig ist. Über das Verhältnis der Lösungsmittel in der Adhäsivflüssigkeit sind vonseiten der Hersteller nur unzureichende Informationen bekannt. Zudem gibt es keine weiteren Informationen darüber, inwiefern die Beimischung der HAP-Partikel ein adäquates Verblasen der Adhäsivbestandteile beeinflussen kann. Darüber hinaus könnte das verstärkte Aufquellen beim Adhäsivsystem Adhese Universal mit der Kombination der Monomere Bis-GMA und HEMA in Verbindung gebracht werden, welche aufgrund ihrer Hydrophilie zu einer verstärkten Wasseraufnahme, z. B. während des Anschleifens der Proben vor Eingabe in das Rasterelektronenmikroskop und anschließender unzureichender Trocknung führen können (Bakhsh und Turkistani 2021). Nach erneutem Anschleifen der im REM betrachteten Grenzfläche konnte dieses Aufquellen bei den betreffenden Proben nicht mehr beobachtet werden. Diese Tatsache spricht für die Lösungsmittel als Ursache, bei erneutem Anschleifen wurden somit wahrscheinlich alle übrigen Lösungsmittel entfernt. Unabhängig der in dieser Studie durchgeführten Beimischung von Hydroxylapatitpulvern zu den jeweiligen Adhäsivsystemen, weisen die in der Praxis gängigen Adhäsive hinsichtlich eines Verbunds zur Zahnhartsubstanz eine große Variabilität auf, sogar bei Vorhandensein des gleichen Hauptmonomers, wie beispielsweise des 10-MDP-Monomers (Papadogiannis *et al.* 2019). Die Reaktivität des 10-MDP ist von Faktoren wie der Reinheit des Materials (Yoshihara *et al.* 2015), der Art der Lösungsmittel (Chen *et al.* 2017), dem pH-Wert und dem Vorhandensein von Co-Monomeren (Tian *et al.* 2016) abhängig.

5.2.2 Versuchsreihe 2: geändertes Versuchsprotokoll für Clearfil Universal Bond Quick und 7-tägige Nasslagerung der Proben

Um das Adhäsivsystem Clearfil Universal Bond Quick trotz schlechter Haftung in Versuchsreihe 1 weiter auf seine Einsatzfähigkeit in dieser Studie hin zu untersuchen, wurde das bekannte Versuchsprotokoll dahingehend geändert, dass die AAP einerseits auf zuvor nur 2 s lang geätztes Dentin und andererseits auf ungeätzte Bruchpräparate aufgetragen wurde. In den anschließenden REM-Aufnahmen konnte lediglich für die beiden Kombinationen HAP1 + Clearfil Universal Bond Quick und HAP2 + Clearfil Universal Bond Quick auf Bruchpräparaten ohne vorherige Ätzung ein intakter Verbund erkannt werden. Alle übrigen Prüfkörper zeigten wie in Versuchsreihe 1 Spaltbildungen zwischen AAP und Dentin bis hin zum vollständigen Ablösen der Auflagerungen.

Hintergrund der verkürzten Ätzzeit bzw. der Applikation der AAP ohne vorherige Ätzung war die vom Hersteller des Universaladhäsivs ohnehin nicht empfohlene Konditionierung mit Phosphorsäure in einem separaten Schritt vor der Anwendung auf Dentin sowie die Überlegung, dass ein überätztes Dentin den Verbund möglicherweise beeinträchtigen könnte. Ein übermäßiges Ätzen und anschließend womöglich zu ausgeprägtes Trocknen bewirkt im Substrat Dentin ein Kollabieren der Kollagenfibrillen (Cuevas-Suárez *et al.* 2019, Pashley *et al.* 2011) und infolgedessen eine verminderte Penetration des Adhäsivsystems (Paul *et al.* 1999, Zafar und Ahmed 2015, Zhao *et al.* 2010). Für die verkürzte Ätzzeit zeigte sich in dieser Versuchsreihe keine Verbesserung bezüglich des Verbunds, was hinsichtlich der Haftfestigkeit mit den Beobachtungen einer Studie von Burrer *et al.* aus dem Jahr 2020 übereinstimmt, die sogar für ein übermäßiges Ätzen vor Anwendung des Adhäsivsystems Scotchbond Universal keine Verminderung der Haftkraft feststellen konnten (Burrer *et al.* 2020). Bei der Applikation der AAP auf Prüfkörper ohne Phosphorsäureätzung konnte für die beiden Hydroxylapatitpulver von Sigma Aldrich und Kalident zwar ein intakter Verbund generiert werden, auf den REM-Aufnahmen lässt sich jedoch auch bei höchster Vergrößerung keine eindeutige Zone einer Hybridisierung erkennen, wie es bei vorheriger Ätzung der Fall ist. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde in den folgenden Versuchsreihen stets eine vorangestellte Phosphorsäureätzung der Dentinprüfkörper vorgenommen.

Um in den vorliegenden Untersuchungen die feuchten Bedingungen in der Mundhöhle besser nachzuahmen, lagerten die Prüfkörper dieser Versuchsreihe nach Applikation der AAP für sieben Tage in destilliertem Wasser zwischen, bevor sie für eine Betrachtung im REM vorbereitet wurden. Die Struktur der AAP-Auflagerungen bleibt von der 7-tägigen Wasserlagerung

weitestgehend unbeeinflusst, rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen keine strukturellen Unterschiede zu vorherigen Versuchsreihen. Der Verbundbereich zeigt in dieser Versuchsreihe erstmals auch für andere Adhäsivsysteme als das Clearfil Universal Bond Quick adhäsive Versagensphänomene. Auch wenn Dentin-Adhäsiv-Verbindungen in wässriger Umgebung dem Prozess der hydrolytischen Degradation unterliegen und diese den adhäsiven Verbund sukzessive schwächt (Hashimoto *et al.* 2003), besteht bei den hier vorliegenden Verbundversagen nach nur sieben Tagen Wasserlagerung nicht zwangsläufig ein direkter Zusammenhang, weshalb auch von anderen Ursachen für das Verbundversagen ausgegangen werden muss (genauere Erläuterung siehe Abschnitt 5.2.4 *Thermocycling*).

Je nach verwendetem Adhäsivsystem zeigen sich Unterschiede in der Stabilität der Verbundzone, wobei das Adhese Universal in Kombination mit zwei Apatiten ein adhäsives Verbundversagen aufweist, während das Adhäsiv OptiBond eXTRa Universal mit allen drei Apatiten eine intakte Hybridzone generierte (Abbildungen 4.20, 4.25 und 4.30). Die Korrelation des Abbaus der Hybridzone mit der Wassersorption brachte Untersuchungen zum Grad der Wasseraufnahme gängiger Adhäsivsysteme hervor (Breschi *et al.* 2008). So beschrieben Malacarne *et al.* einen direkten Zusammenhang zwischen der Hydrophilie eines Adhäsivs und dem Ausmaß der Wassersorption (Malacarne *et al.* 2006). Die funktionellen (OH-)Gruppen der in gängigen Adhäsivsystemen enthaltenen Monomere Bis-GMA oder HEMA bestimmen die Polarität eines Adhäsivs, welche wiederum ausschlaggebend für den Grad der Wasseraufnahme ist. Steigende Polarität und demnach eine erhöhte Wasseraufnahme können innerhalb der Hybridzone eines adhäsiven Verbunds eine Herabsetzung des E-Moduls bewirken. Die verminderte Steifigkeit des betreffenden Bereichs führt zu einer negativen Spannungsverteilung, die bei wiederholten Belastungen zu Debonding führen kann (Ito *et al.* 2005). In der hier vorliegenden Untersuchung der AAP im Verbund zum Dentin stellen das Anschleifen der Prüfkörper an der Schleifmaschine sowie das Austrocknen der Proben und die Umgebung des Hochvakuums im REM eben solche Belastungen dar (zur ausführlicheren Erläuterung der Zusammenhänge siehe Abschnitt 5.2.4 *Thermocycling*). Ob es sich beim OptiBond eXTRa Universal tatsächlich im Vergleich zu den anderen angewandten um ein weniger hydrophiles Adhäsivsystem handelt, welches demnach einer geringeren Wasseraufnahme unterliegt und ein daraus resultierendes Debonding unwahrscheinlicher macht, lässt sich anhand der Herstellerangaben nicht nachvollziehen und kann in diesem Zusammenhang nur vermutet werden. Findet durch vorheriges Ätzen von Dentin eine anschließend unzureichende Infiltration aller freigelegten Bereiche mit Monomeren statt (Van Meerbeek *et al.* 2003), entstehen Bereiche ungeschützten Kollagens

(Hashimoto *et al.* 2000a), welche die Grundlage für die Entstehung von Nanoleakage sind und das Eindringen von Wasser fördern, was den Verbund langfristig schwächt (Sano *et al.* 1995).

5.2.3 Versuchsreihe 3: Scotchbond Universal nach 3-monatiger Nasslagerung

Da beim Adhäsivsystem Scotchbond Universal in vorherigen Versuchsreihen lediglich akzeptable, aber keine umfassend zufriedenstellenden Ergebnisse erzielt werden konnten, diente diese dritte Versuchsreihe einer erneuten Prüfung der Eignung dieses Adhäsivs im beschriebenen Kontext. Die Prüfkörper lagerten für drei Monate in destilliertem Wasser zwischen, bevor sie für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung vorbereitet wurden.

Die Aufnahmen unterschiedlicher Vergrößerungen lassen ausschließlich für die Kombination mit dem HAP von Sigma Aldrich einen intakten Verbund mit gut ausgebildeter Hybridzone erkennen, während es sowohl beim FAP als auch beim HAP von Kalident Ablösungen bzw. vollständig herausgerissene Bereiche der AAP gibt. Alle drei Kombinationen lassen im Bereich der Hybridschicht, im Gegensatz zur Struktur der AAP ein ausgeprägtes Aufquellen erkennen, was den Schluss zulässt, dass dieser Bereich der Hybridisierung einen vergleichsweise sensiblen gegenüber äußeren Einflüssen, hier der Wasserlagerung, darstellt. In dieser Versuchsreihe werden die zuvor angesprochenen Auswirkungen einer Nasslagerung von Proben mit adhäsivem Verbund durch den verlängerten Zeitraum von drei Monaten relevanter. Die hier zum Einsatz kommenden Universaladhäsive sind, um ihrer Funktion des simultanen Ätzens, Primens und Bondens gerecht zu werden, saurer und hydrophiler als herkömmliche 3-Schritt-Adhäsivsysteme (Inoue *et al.* 2001). Unter dem Begriff der **water trees** bekannt, begünstigt dies einerseits eine höhere Wassersorption über Wasserkanäle aus der Umgebung bei der Lagerung solcher Proben in Wasser (Hashimoto *et al.* 2002) sowie andererseits die Diffusion intrinsischer Flüssigkeit aus dem Dentin in Richtung der Hybridschicht (Ferrari und Tay 2003).

Zusammenfassend stellt das Scotchbond Universal im Kontext dieser Untersuchungen kein ideales Adhäsivsystem zum Generieren eines stabilen Verbunds von AAP zum Dentin dar, welcher dem aus der Adhäsivtechnik bekannten Erscheinungsbild des Verbunds nahekommt.

5.2.4 Versuchsreihe 4: Prüfkörper nach Thermocycling und Säuretoleranztest

Thermocycling

Zur Simulation in der Mundhöhle vorkommender thermischer Wechselbelastungen sowie Änderungen des pH-Werts und Beurteilung der Widerstandfähigkeit der AAP im Verbund zum Dentin wurden die Prüfkörper sowohl dem Thermocycling-Verfahren als auch einem Säuretoleranztest über 30 s bzw. 60 s unterzogen. Im ersten Teil der Thermocycling-Versuchsreihe zeigten sich die Prüfkörper im Verbund und im Strukturgefüge der AAP äußerst widerstandsfähig gegenüber der thermischen Wechselbelastung zur Darstellung der künstlichen Alterung. Die synthetischen HAP-Partikel bleiben weiterhin homogen in die Matrix aus Adhäsiv eingebettet und der Verbund zum Dentin bleibt über eine strukturreiche Hybridzone auch nach dem Testverfahren intakt. Ein Unterschied zu Prüfkörpern, welche nicht den thermischen Wechselbelastungen ausgesetzt waren, zeigt sich im Füllgrad der Tubuli direkt unterhalb der Hybridzone. Besonders für die Kombinationen aller Apatite mit dem Adhäsivsystem OptiBond eXTRa Universal erscheinen viele quer angeschnittene Tubuli in den REM-Aufnahmen entsprechender Vergrößerungen von Apatitmaterial ungefüllt (Abbildungen 4.35 - 4.37), während für das Adhese Universal auf den REM-Aufnahmen nahezu keine Veränderungen nach Thermocycling erkennbar sind und das FAP weiterhin sehr homogen in die Matrix, die Hybridzone und die Tubuli eingebunden ist (Abbildung 4.34). Die beiden Adhäsivsysteme unterscheiden sich in der Art ihres Hauptmonomers, wobei Adhese Universal das 10-MDP-Monomer und OptiBond eXTRa Universal das GPDM-Monomer enthält, wobei für letzteres nachweislich eine schwächere Bindungskapazität an HAP festgestellt werden konnte (Yoshihara *et al.* 2018). Die HAP-Partikel scheinen sich in Kombination mit OptiBond eXTRa Universal leichter herauslösen zu lassen. Diese Tatsache spiegelt sich auch in der Resistenz der betreffenden Adhäsivsysteme gegen thermische Wechselbelastung wider, nach welcher in einer Studie von Wang *et al.* für GPDM-enthaltende Adhäsive ein größerer negativer Einfluss hinsichtlich des Auftretens von Nanoleakage festgestellt werden konnte, als für 10-MDP enthaltende Adhäsivformulierungen (Wang *et al.* 2017). Auch wenn in vorliegender Studie weder Zugfestigkeitsprüfungen, noch Messungen bezüglich der Nanoleakage durchgeführt wurden, stimmt diese Feststellung mit den hier vorliegenden rasterelektronenmikroskopischen Beobachtungen nach 3.000 Zyklen Thermocycling überein.

Im zweiten Teil der Thermocycling-Versuchsreihe, welche analog zur ersten mit einer größeren Stückzahl durchgeführt wurde, zeigen sich vermehrt Bereiche adhäsiven Verbundversagens, Rissbildungen innerhalb der AAP sowie Prüfkörper mit vollständigem Ablösen der AAP-

Auflagerung. Dies geschah zum Teil noch vor Anschleifen der Grenzfläche für eine raster-elektronenmikroskopische Betrachtung, bei anderen Prüfkörpern während des Besputterns im Vakuum. Als eine mögliche Ursache hierfür kann die Tatsache der bei diesen Prüfkörpern deutlich größeren Schichtstärken der AAP von bis zu 368 μm und eine daraus resultierende höhere Polymerisationsschrumpfung während der Lichthärtung angesehen werden. Bei mehreren Prüfkörpern zeigen sich unabhängig vom Adhäsivsystem und verwendetem Apatitmaterial, Zonen eines intakten Verbunds, wenn eine Schichtstärke von 167 μm nicht überschritten wird, während sich der Verbund bei höheren Schichtstärken stets löste. In der Zahnmedizin zum Einsatz kommende Kompositmaterialien unterliegen während ihrer Polymerisation unweigerlich einer Polymerisationsschrumpfung, welche zu internen Kontraktionsspannungen führt und die Integrität des Verbunds zur Zahnhartsubstanz beeinträchtigt (Ferracane 2005). In Bereichen größerer Schichtstärken wirkt sich dieses Phänomen durch die größere Menge an umzusetzenden Monomeren entsprechend stärker aus und kann eine Erklärung für die beschriebenen Beobachtungen in dieser Versuchsreihe sein.

Darüber hinaus kommen für ein Versagen des Verbunds von AAP zum Dentin im Allgemeinen auch weitere, versuchsbedingte Ursachen in Frage. Das Erstellen aussagekräftiger rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen erfordert ein vorheriges Besputtern der Proben in einer Hochvakuum-Umgebung, welche anschließend auch im REM selbst vorherrscht. Während dieser Dehydratation unterliegen alle beteiligten Strukturen einer Schrumpfung unterschiedlichen Ausmaßes (Hashimoto *et al.* 2000b), wodurch es in der Folge zu Rissbildungen und Ablösungen der AAP-Schichten kommen kann. Darüber hinaus wurden die Prüfkörper für die Betrachtung einer repräsentativen Grenzfläche an der Schleifmaschine an jeweils einer Fläche bis zu einer Körnung von P4000 angeschliffen. Diese mechanische Beanspruchung des Verbunds kann bereits vor der Eingabe in die Hochvakuumkammer des REM zur Bildung von Rissen geführt haben, welche sich unter Vakuum-Bedingungen weiter fortsetzen.

Auswirkungen des Thermocyclings auf das adhäsive Gefüge im Sinne von Mikroporositäten, Nanoleakage und Spaltbildungen konnten bereits in zahlreichen Studien festgestellt werden und sind als eine Degradation des Verbunds zur Zahnhartsubstanz zu verstehen (Blunck und Zaslansky 2007, Freeman *et al.* 2012, Sangwichit *et al.* 2016, Zhang *et al.* 2014), welche auch in den vorliegenden Untersuchungen eine Rolle spielt. Durch den thermisch bedingt wiederholten Wechsel zwischen Kontraktion und Expansion sowohl des aufgetragenen Materials, als auch des Dentins in unterschiedlichem Maße, kommt es an der Grenzfläche beider unweigerlich zu Spannungen, welche zur Rissausbreitung und Spaltbildung führen kann

(De Munck *et al.* 2005). Neben den angesprochenen Rissbildungen innerhalb der AAP-Auflagerungen sowie den adhäsiven Verbundversagen, können in mehreren Proben auch sogenannte kohäsive Risse innerhalb des Dentins festgestellt werden (Abbildungen 4.4, 4.18, 4.21 und 4.44). Übersteigt die Haftfestigkeit des Verbunds von AAP zum Dentin die Eigenfestigkeit des Dentins, so kann es in diesem zu einer Rissbildung und -ausbreitung kommen (Davidson *et al.* 1993, Triolo und Swift 1992), was in hier durchgeführter Untersuchung den guten Verbund der AAP zum Dentin hervorhebt. Rissbildungen im Dentin sind dabei maßgeblich vom Alter der Zähne und der damit korrelierenden Geometrie und Anordnung der Tubuli abhängig (Montoya *et al.* 2016), was in vorliegender Studie jedoch, aus mangelnder Kenntnis über den Lagerungszeitraum der Zähne vor ihrer Verwendung, außerhalb der Beurteilung liegt.

Säuretoleranztest

Neben der künstlichen Alterung wurden die Proben zur Simulation in der Mundhöhle herrschender Säureexposition unter Laborbedingungen bzw. an einer zahnmedizinischen Einheit einem Säuretoleranztest von 30 s und 60 s unterzogen. Sowohl die REM-Bilder, als auch die EDX-Analysen zeigen material- bzw. kombinationsspezifische Auswirkungen im Sinne morphologischer Veränderungen beteiligter Strukturen sowie Veränderungen der Elementzusammensetzung. Die 30-sekündige Applikation 37,5%-iger Phosphorsäure auf jeweils eine Hälfte der Grenzfläche eines Prüfkörpers scheint auf die Kombination aus FAP und Adhese Universal die geringste Auswirkung zu haben, die AAP ist weiterhin homogen zusammengesetzt und strukturreich. Erst bei sehr hoher Vergrößerung erscheinen die stäbchenförmigen FAP-Partikel weniger gut voneinander abgrenzbar. EDX-Messungen ergeben nur geringfügige Änderungen des Fluoridgehalts (Abbildung 4.58). In Kombination mit OptiBond eXTRa Universal zeigen sich ähnliche Veränderungen, wobei hier Bereiche herausgerissener Pastenanteile deutlicher herausstechen. Die Änderung des Fluoridgehalts in der EDX-Messung fällt jedoch geringer aus als beim Adhäsiv Adhese Universal (Tabelle 4.4). Das Präparat von Kalident unterliegt den weitaus größten Einflüssen durch Säureexposition, hier sind innerhalb der AAP zahlreiche Hohlräume zu erkennen und der Calcium- und Phosphat-Gehalt unterliegt einer deutlichen Abnahme, während die Werte für das HAP von Sigma Aldrich deutlich stabiler bleiben (Tabelle 4.4). Fluorapatit oder fluoridiertes Hydroxylapatit verfügt nachweislich über eine höhere Säureresistenz als reines Hydroxylapatit, was Untersuchungen von Iijima *et al.* in einem Versuchsmodell an bovinem Dentin bestätigen konnten (Iijima *et al.* 1993). Durch den Einbau des Fluorid-Ions in die Struktur des Hydroxylapatits kann der für Zahnhartsubstanzen kritische

pH-Wert, ab welchem die Demineralisation einsetzt, gesenkt und die Säureexposition abgepuffert werden (Tenuta und Cury 2010).

Die unterschiedlichen Reaktionen der beiden hier verwendeten HAP-Pulver könnten auf ihre Partikelgröße zurückgeführt werden. Die homogeneren, in ihren Abmessungen gleichmäßigeren Partikel des Sigma Aldrich Präparates scheinen von der Adhäsivmatrix stärker inkorporiert zu sein, wodurch ein Herauslösen durch Säure erschwert wird. Die teilweise deutlich größeren und morphologisch unregelmäßigeren Partikel des Präparates von Kalident lassen sich hingegen leichter aus dem Gefüge der Adhäsivmatrix lösen, da sie inhomogener in das Adhäsiv eingebettet sind.

Beim Verwenden einer Drucksprühflasche unter Laborbedingungen in diesem ersten Versuchsabschnitt schienen einige herausgelöste Partikel auf der Oberfläche des Prüfkörpers zu verbleiben. Um ein adäquateres Absprühen der Säure und aller durch sie aufgelösten Bestandteile zu gewährleisten, erfolgte das Absprühen in einem zweiten Teil mit der Multifunktionsspritze einer zahnmedizinischen Einheit. Darüber hinaus wurde die Einwirkzeit der Säure auf 60 s verlängert, um mögliche stärkere Effekte auf die beteiligten Strukturen sichtbar zu machen. Allen Kombinationen gemein ist die Beobachtung einer stärker aufgequollen wirkenden Hybridzone. Diese Beobachtung ist wahrscheinlich der Tatsache geschuldet, dass bei verlängerter Säureeinwirkung eine größere Menge an Dentin aufgelöst wird und die Oberfläche somit im Vergleich zur AAP und Hybridschicht in einer anderen Bildebene liegt. Dies wiederum führt auch dazu, dass die Zapfen der Hybridzone – die Resin-Tags – an der Oberfläche freiliegen, weil sie der Säureeinwirkung im Gegensatz zum Dentin besser standhielten. Die Kombination aus FAP und OptiBond eXTRa Universal zeigt bei hoher Vergrößerung einen Bereich, aus dem die FAP-Partikel scheinbar vollständig herausgelöst wurden, es lassen sich keine der bekannten und zuvor beschriebenen Strukturen abgrenzen (Abbildung 4.54). Die EDX-Messungen hingegen weisen weiterhin Fluorid innerhalb der AAP nach, hierbei liegt der Wert analog zum 30-sekündigen Säuretoleranztest oberhalb des Wertes für die Kombination FAP und Adhese Universal (Tabellen 4.4 und 4.5).

Bei der Kombination aus dem HAP von Kalident und OptiBond eXTRa Universal fallen besonders stark aggregierte Bereiche auf, in denen das Herauslösen von Partikeln nach Säureeinwirkung am stärksten erscheint. Diese Bereiche können nach Beurteilung der EDX-Analysen als jene erklärt werden, in denen durch unvollständiges Vermischen der Pulveranteile mit der Adhäsivflüssigkeit Einschlüsse aus HAP-Partikeln entstanden, welche nicht vollständig in die Adhäsivmatrix eingebettet sind. EDX-Messungen dieser Einschlüsse ergeben hohe Werte für

Calcium und Phosphat bei fehlendem Silicium, welches im Adhäsivsystem enthalten ist (Abbildung 4.59 und Tabelle 4.6). Die ausbleibende Vernetzung mit Bestandteilen des Adhäsivs machen die freiliegenden HAP-Partikel anfälliger für ein Herauslösen durch Säureexposition. Wie bereits nach 30-sekündiger Säureapplikation erkennbar, lassen sich in ihrer Dimension größere Partikel, hier des Apatits von Sigma Aldrich, leichter aus dem Adhäsivgefüge herauslösen und hinterlassen innerhalb der AAP deutliche Hohlräume. In den EDX-Analysen dieser Hohlräume lassen sich für Calcium und Phosphat keine Werte mehr messen, während im umliegenden Bereich Calcium und Phosphat nachgewiesen werden kann. Diese Tatsache bestätigt die Vermutung des vollständigen Herauslösens der HAP-Partikel innerhalb der Aggregate.

Die Tendenz zum Agglomerieren von Füllstoffen in einer Matrix aus Adhäsiv oder in Kompositformulierungen konnte bereits in mehreren Studien gezeigt werden (Wagner *et al.* 2013, Xia *et al.* 2008). Chen *et al.* (2011) stellten in ihren Untersuchungen zur Beimengung von nHAP-Partikeln zu Kompositformulierungen mit BisGMA und TEGDMA ab einem Anteil von 10 Gew.% erste Agglomeratbildungen fest, welche bei höherem Anteil deutlich zunahmen und erklärten diese als mechanischen Schwachpunkt eines solchen Materials (Chen *et al.* 2011). Darüber hinaus kann es bei der Bildung derartiger Agglomerate zu einer Beeinträchtigung des Aushärtungsprozesses all jener Bereiche kommen, welche hinter einem durch HAP-Partikel gebildeten Agglomerat liegen, da HAP selbst lichtundurchlässig ist (Sadat-Shojai *et al.* 2010). In der Studie von Sadat-Shojai *et al.* konnte jedoch auch festgestellt werden, dass nHAP-Partikel eine deutlich geringere Tendenz zum Agglomerieren verbunden mit einer höheren kolloidalen Stabilität aufweisen, wenn diese in Stäbchenform vorliegen (Sadat-Shojai *et al.* 2010). Die Beobachtungen in hier vorliegender Studie stimmen nur teilweise mit oben Beschriebenem in Bezug auf das stäbchenförmige FAP überein, da hier auch für dieses Ansammlungen von Apatitpartikeln beobachtet werden konnten. Bereiche geclusterter Apatitpartikel erschweren zudem die Penetration – hier der AAP – in das Lumen der Dentintubuli, was wiederum die Haftung am Dentin vermindert (Kim *et al.* 2005). Da beschriebene Agglomerate in vorliegender Studie nur an Prüfkörpern nach Säureexposition festgestellt werden konnten, lässt sich dieser Zusammenhang in den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen nicht überprüfen, da der Füllgrad der Tubuli vor und nach Säureexposition keinen direkten Vergleich zulässt.

Für die Struktur des Dentins ergeben sich innerhalb eines Versuchsteils des Säuretoleranztests nahezu keine Unterschiede. Die Dentintubuli sind weitestgehend durch die Säure freigelegt und erscheinen häufiger ungefüllt als vor der Säureeinwirkung. Bei höheren Vergrößerungen wird

jedoch deutlich, dass der Inhalt einiger Tubuli weiterhin in den Kanälen verbleibt, während das Dentin um die AAP-Tags herum aufgelöst wurde. Dieser Effekt erscheint nach 60-sekündiger Säureeinwirkung ausgeprägter, da das die Dentintubuli direkt umgebende, peritubuläre Dentin mit hohem organischem Anteil in höherem Maße einer Auflösung unterliegt und sich der Tubulusdurchmesser somit in Abhängigkeit von der Ätzdauer vergrößert (Ma *et al.* 2009, Zavala-Alonso *et al.* 2011).

5.3 Schlussfolgerung

Mit vorliegender *in vitro* Studie gelang es, an die vielversprechenden Ergebnisse aus Untersuchungen der Vorgängerstudie (Hennrich 2021) anzuknüpfen und eindrucksvolle Verbundeigenschaften der AAP zum Substrat Dentin zu generieren. Erstmals erfolgte die Anwendung von Fluorapatit-Adhäsivpasten auf reinen Dentinprüfkörpern, welche ebenfalls in der Lage sind, über eine mikromechanische Verankerung einen innigen Verbund zum Dentin einzugehen. Entgegen ersten Beobachtungen der Vorgängerstudie erwies sich das Präparat Clearfil Universal Bond Quick mit keinem der verwendeten HAP-Pulver im Verbund zum Dentin als geeignet. In allen Versuchsreihen konnten für die Struktur der AAP materialabhängige und materialspezifische Besonderheiten festgestellt werden, die sich durch Inhaltsstoffe der Adhäsivpräparate und Partikelgrößen der synthetischen Apatite erklären lassen.

Bezüglich der Kriterien eines stabilen Verbunds zum Dentin, der Ausbildung einer strukturhaltigen Hybridzone und der Infiltration von AAP-Material in die Dentintubuli überzeugten vier Kombinationen aus den Präparaten OptiBond eXTRa Universal und Adhese Universal mit den Apatiten FAP, HAP von Sigma Aldrich und HAP von Kalident in rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen besonders. Qualitativ sowie quantitativ konnte über EDX-Analysen das erfolgreiche Einbinden der Apatitpartikel in die Matrix der Adhäsive sowie die Penetration aller Bestandteile in die Dentintubuli nachgewiesen werden, wobei der Erfolg des Eindringens der Partikel in die Tubuli maßgeblich von deren Größe bestimmt wird (Besinis *et al.* 2014). Für entsprechende Kombinationen wurde in den anschließenden Materialprüfverfahren zur künstlichen Alterung sowie Säuretoleranztests eine weitestgehende Resistenz und Stabilität festgestellt. Darüber hinaus konnte aber auch die Techniksensitivität der Anmischmethode dahingehend gezeigt werden, dass die Variation der Schichtstärke und ein unzureichendes Vermischen beider Pastenbestandteile einerseits zur Rissentstehung und -ausbreitung mit anschließendem Verbundversagen sowie andererseits zu einer herabgesetzten Resistenz gegen Säureeinwirkung und dem Herauslösen von Apatitbestandteilen in der Paste führen kann. Eine Optimierung der

Anmischmethode, auch hinsichtlich der zeitlichen Komponente, kann Bestandteil weiterer Forschungen zu diesem Thema sein.

Zusammenfassend gelang in dieser Studie eindrucksvoll das Generieren eines stabilen mikro-mechanischen Verbunds der neuartigen Adhäsivapatitpasten zum Dentin, welcher die Voraussetzung eines potenziellen klinischen Einsatzes, z. B. im Rahmen der Behandlung von Dentin-hypersensibilitäten oder erosiven Zahnhartsubstanzschäden darstellt. Die vorliegende *in vitro* Studie ist dabei nicht in der Lage die komplexen intraoralen Bedingungen vollumfänglich zu simulieren, weshalb Folgeuntersuchungen unter anderem die Beurteilung des Materials im Kontakt zu Speichel, Blut und oralem Biofilm sowie darüber hinaus weitere Materialprüfverfahren, wie Härteprüfungen und Mikrozugfestigkeit umfassen sollten.

6 Literaturverzeichnis

1. **Amaechi BT, Lemke KC, Saha S, Gelfond J (2018)** Clinical Efficacy in Relieving Dentin Hypersensitivity of Nanohydroxyapatite-containing Cream: A Randomized Controlled Trial. *Open Dent J* 12: 572-585
2. **Amaral FLB, Colucci V, Palma-Dibb RG, Corona SAM (2007)** Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review. *J Esthet Restor Dent* 19(6): 340-354
3. **Arifa MK, Ephraim R, Rajamani T (2019)** Recent Advances in Dental Hard Tissue Remineralization: A Review of Literature. *Int J Clin Pediatr Dent* 12(2): 139-144
4. **Atai M, Solhi L, Nodehi A, Mirabedini SM, Kasraei S, Akbari K, Babanzadeh S (2009)** PMMA-grafted nanoclay as novel filler for dental adhesives. *Dent Mater* 25(3): 339-347
5. **Bakhsh TA, Turkistani A (2021)** The Effect of Thermocycling on Interfacial Bonding Stability of Self-Etch Adhesives: OCT Study. *BioMed Research International* 2021: 1-9
6. **Bergenholtz G (1977)** Effect of bacterial products on inflammatory reactions in the dental pulp. *Scand J Dent Res* 85(2): 122-129
7. **Bertassoni LE, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW (2009)** Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. *Caries Res* 43(1): 70-77
8. **Besinis A, van Noort R, Martin N (2012)** Infiltration of demineralized dentin with silica and hydroxyapatite nanoparticles. *Dent Mater* 28(9): 1012-1023
9. **Besinis A, van Noort R, Martin N (2014)** Remineralization potential of fully demineralized dentin infiltrated with silica and hydroxyapatite nanoparticles. *Dent Mater* 30(3): 249-262
10. **Bianco A, Cacciotti I, Lombardi M, Montanaro L, Bemporad E, Sebastiani M (2010)** F-substituted hydroxyapatite nanopowders: Thermal stability, sintering behaviour and mechanical properties. *Ceram Int* 36(1): 313-322
11. **Black G (1908)** A work on operative dentistry: The technical procedures in filling teeth. Medico-Dental Publishing Company, Chicago.
12. **Blunck U, Zaslansky P (2007)** Effectiveness of all-in-one adhesive systems tested by thermocycling following short and long-term water storage. *J Adhes Dent* 9(2): 231-240

13. **Bohner M, Tadier S, van Garderen N, de Gasparo A, Döbelin N, Baroud G (2013)** Synthesis of spherical calcium phosphate particles for dental and orthopedic applications. *Biomatter* 3(2): e25103
14. **Bouyer E, Gitzhofer F, Boulos MI (2000)** Morphological study of hydroxyapatite nanocrystal suspension. *J Mater Sci Mater Med* 11(8): 523-531
15. **Bowen RL (1965)** Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. II. Bonding to dentin promoted by a surface-active comonomer. *J Dent Res* 44(5): 895-902
16. **Brackett WW, Covey DA, St Germain HA (2002)** One-year clinical performance of a self-etching adhesive in class V resin composites cured by two methods. *Oper Dent* 27(3): 218-222
17. **Brännström M, Glantz PO, Nordenvall KJ (1979)** The effect of some cleaning solutions on the morphology of dentin prepared in different ways: an in-vivo study. *ASDC J Dent Child* 46(4): 291-295
18. **Brännström M (1963)** Dentin sensitivity and aspiration of odontoblasts. *J Am Dent Assoc* 66: 366-370
19. **Brännström M (1984)** Smear layer: pathological and treatment considerations. *Oper Dent Suppl* 3: 35-42
20. **Brendel T, Engel A, Rüssel C (1992)** Hydroxyapatite coatings by a polymeric route. *J Mater Sci Mater Med* 3(3): 175-179
21. **Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E (2008)** Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater* 24(1): 90-101
22. **Buonocore MG, Wileman W, Brudevold F (1956)** A Report on a Resin Composition Capable of Bonding to Human Dentin Surfaces. *J Dent Res* 35(6): 846-851
23. **Buonocore MG (1955)** A Simple Method of Increasing the Adhesion of Acrylic Filling Materials to Enamel Surfaces. *J Dent Res* 34(6): 849-853
24. **Buonocore MG, Quigley M (1958)** Bonding of a synthetic resin material to human dentin: preliminary histological study of the bond area. *J Am Dent Assoc* 57(6): 807-811
25. **Burrer P, Dang H, Par M, Attin T, Tauböck TT (2020)** Effect of Over-Etching and Prolonged Application Time of a Universal Adhesive on Dentin Bond Strength. *Polymers* 12(12): 2902

26. **Butler WT (1995)** Dentin Matrix Proteins and Dentinogenesis. *Connect Tissue Res* 33(1-3): 59-65
27. **Butler WT (1998)** Dentin matrix proteins. *Eur J Oral Sci* 106(S1): 204-210
28. **Cadenaro M, Breschi L, Rueggeberg FA, Suchko M, Grodin E, Agee K, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH (2009)** Effects of residual ethanol on the rate and degree of conversion of five experimental resins. *Dent Mater* 25(5): 621-628
29. **Cao CY, Mei ML, Li Q-L, Lo ECM, Chu CH (2015)** Methods for biomimetic remineralization of human dentine: a systematic review. *Int J Mol Sci* 16(3): 4615-4627
30. **Cao Y, Mei ML, Xu J, Lo ECM, Li Q, Chu CH (2013)** Biomimetic mineralisation of phosphorylated dentine by CPP-ACP. *J Dent* 41(9): 818-825
31. **Cardoso GC de, Nakanishi L, Isolan CP, Jardim PDS, Moraes RR de (2019)** Bond Stability of Universal Adhesives Applied To Dentin Using Etch-And-Rinse or Self-Etch Strategies. *Braz Dent J* 30(5): 467-475
32. **Cardoso MV, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, Van Meerbeek B (2011)** Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J* 56(1): 31-44
33. **Carvalho RM, Mendonça JS, Santiago SL, Silveira RR, Garcia FCP, Tay FR, Pashley DH (2003)** Effects of HEMA/solvent combinations on bond strength to dentin. *J Dent Res* 82(8): 597-601
34. **Causton BE, Johnson NW (1979)** Changes in the dentine of human teeth following extraction and their implication for in-vitro studies of adhesion to tooth substance. *Arch Oral Biol* 24(3): 229-232
35. **Causton BE (1984)** Improved bonding of composite restorative to dentine. A study in vitro of the use of a commercial halogenated phosphate ester. *Br Dent J* 156(3): 93-95
36. **Ceballos L, Camejo DG, Victoria Fuentes M, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, Pashley DH (2003)** Microtensile bond strength of total-etch and self-etching adhesives to caries-affected dentine. *J Dent* 31(7): 469-477
37. **Chen L, Yu Q, Wang Y, Li H (2011)** BisGMA/TEGDMA dental composite containing high aspect-ratio hydroxyapatite nanofibers. *Dent Mater* 27(11): 1187-1195

38. **Chen Y, Lu Z, Qian M, Zhang H, Chen C, Xie H, Tay FR (2017)** Chemical affinity of 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate to dental zirconia: Effects of molecular structure and solvents. *Dent Mater* 33(12): e415-e427
39. **Ciobanu G, Carja G, Ciobanu O, Sandu I, Sandu A (2009)** SEM and EDX studies of bioactive hydroxyapatite coatings on titanium implants. *Micron* 40(1): 143-146
40. **Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC (2010)** New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 89(11): 1187-1197
41. **Coffey CT, Ingram MJ, Bjorndal AM (1970)** Analysis of human dentinal fluid. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 30(6): 835-837
42. **Colombo M, Beltrami R, Rattalino D, Mirando M, Chiesa M, Poggio C (2016)** Protective effects of a zinc-hydroxyapatite toothpaste on enamel erosion: SEM study. *Ann Stomatol (Roma)* 7(3): 38-45
43. **Comar LP, Souza BM, Gracindo LF, Buzalaf MAR, Magalhães AC (2013)** Impact of experimental nano-HAP pastes on bovine enamel and dentin submitted to a pH cycling model. *Braz Dent J* 24(3): 273-278
44. **Costerton J (1995)** Overview of microbial biofilms. *J Ind Microbiol* 15(3): 137-140
45. **Cuevas-Suárez CE, da Rosa WL de O, Lund RG, da Silva AF, Piva E (2019)** Bonding Performance of Universal Adhesives: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *J Adhes Dent* 21(1): 7-26
46. **Davidson CL, Abdalla AI, De Gee AJ (1993)** An investigation into the quality of dentine bonding systems for accomplishing a durable bond. *J Oral Rehabil* 20(3): 291-300
47. **De Carvalho FG, Vieira BR, Santos RLD, Carlo HL, Lopes PQ, de Lima BASG (2014)** In vitro effects of nano-hydroxyapatite paste on initial enamel carious lesions. *Pediatr Dent* 36(3): 85-89
48. **De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B (2005)** A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 84(2): 118-132
49. **De Munck J, Shirai K, Yoshida Y, Inoue S, Van Landuyt K, Lambrechts P, Suzuki K, Shintani H, Van Meerbeek B (2006)** Effect of water storage on the bonding effectiveness of 6 adhesives to Class I cavity dentin. *Oper Dent* 31(4): 456-465

50. **Dey A, Bomans PHH, Müller FA, Will J, Frederik PM, de With G, Sommerdijk NAJM (2010)** The role of prenucleation clusters in surface-induced calcium phosphate crystallization. *Nature Mater* 9(12): 1010-1014
51. **Digole VR, Warhadpande MM, Dua P, Dakshindas D (2020)** Comparative evaluation of clinical performance of two self-etch adhesive systems with total-etch adhesive system in noncarious cervical lesions: An in vivo study. *J Conserv Dent* 23(2): 190-195
52. **Dorozhkin SV, Epple M (2002)** Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew Chem Int Ed Engl* 41(17): 3130-3146
53. **Dos Santos PA, Garcia PPNS, Palma-Dibb RG (2005)** Shear bond strength of adhesive systems to enamel and dentin. Thermocycling influence. *J Mater Sci Mater Med* 16(8): 727-732
54. **Earl JS, Wood DJ, Milne SJ (2009)** Nanoparticles for dentine tubule infiltration: an in vitro study. *J Nanosci Nanotechnol* 9(11): 6668-6674
55. **Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE (1970)** Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J Dent Res* 49(6): 1359-1368
56. **Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ (1997)** Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Biol Med* 8(3): 306-335
57. **Elkassas D, Arafa A (2017)** The innovative applications of therapeutic nanostructures in dentistry. *Nanomedicine* 13(4): 1543-1562
58. **Elkassas DW, Haridy MF (2015)** Degree of conversion, flexural strength and bond strength durability of a contemporary universal dentin adhesive fortified with silver and hydroxyapatite nanoparticles. *E. D. J.* 61(3): 1-12
59. **Enax J, Epple M (2018)** Synthetic Hydroxyapatite as a Biomimetic Oral Care Agent. *Oral Health and Preventive Dentistry* 16(1): 7-19
60. **Epple M (2018)** Review of potential health risks associated with nanoscopic calcium phosphate. *Acta Biomater* 77: 1-14
61. **Erhardt MCG, Toledano M, Osorio R, Pimenta LA (2008)** Histomorphologic characterization and bond strength evaluation of caries-affected dentin/resin interfaces: effects of long-term water exposure. *Dent Mater* 24(6): 786-798

62. **Erickson RL (1989)** Mechanism and clinical implications of bond formation for two dentin bonding agents. *Am J Dent* 2(Spec No): 117-123
63. **Ernst CP, Canbek K, Euler T, Willershausen B (2004)** In vivo validation of the historical in vitro thermocycling temperature range for dental materials testing. *Clin Oral Investig* 8(3): 130-138
64. **Fabritius-Vilpoux K, Enax J, Herbig M, Raabe D, Fabritius H-O (2019)** Quantitative affinity parameters of synthetic hydroxyapatite and enamel surfaces in vitro. *Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials* 8(2): 141-153
65. **Fan H-Y, Gan X-Q, Liu Y, Zhu Z-L, Yu H-Y (2014)** The Nanomechanical and Tribological Properties of Restorative Dental Composites after Exposure in Different Types of Media. *J Nanomater* 2014: 1-9
66. **Fan Y, Sun Z, Moradian-Oldak J (2009)** Controlled remineralization of enamel in the presence of amelogenin and fluoride. *Biomaterials* 30(4): 478-483
67. **Featherstone JDB (2008)** Dental caries: a dynamic disease process. *Aust Dent J* 53(3): 286-291
68. **Featherstone JDB (2004)** The Continuum of Dental Caries – Evidence for a Dynamic Disease Process. *J Dent Res* 83(1): 39-42
69. **Ferracane J (2005)** Developing a more complete understanding of stresses produced in dental composites during polymerization. *Dent Mater* 21(1): 36-42
70. **Ferrari M, Tay FR (2003)** Technique sensitivity in bonding to vital, acid-etched dentin. *Oper Dent* 28(1): 3-8
71. **Ferraz MP, Monteiro FJ, Manuel CM (2004)** Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies. *J Appl Biomater Biomech* 2(2): 74-80
72. **Fitzgerald R, Keil K, Heinrich KFJ (1968)** Solid-State Energy-Dispersion Spectrometer for Electron-Microprobe X-ray Analysis. *Science* 159(3814): 528-530
73. **Fonseca RB, Haiter-Neto F, Fernandes-Neto AJ, Barbosa GAS, Soares CJ (2004)** Radiodensity of enamel and dentin of human, bovine and swine teeth. *Arch Oral Biol* 49(11): 919-922
74. **Forsback A, Areva S, Salonen J (2004)** Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. *Acta Odont Scand* 62(1): 14-20

75. **Frankenberger R, Perdigão J, Rosa BT, Lopes M (2001)** “No-bottle” vs “multi-bottle” dentin adhesives – a microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mater* 17(5): 373-380
76. **Frankenberger R, Tay FR (2005)** Self-etch vs etch-and-rinse adhesives: effect of thermo-mechanical fatigue loading on marginal quality of bonded resin composite restorations. *Dent Mater* 21(5): 397-412
77. **Frankenberger R, Blunck U (2013)** Adhäsive. In Frankenberger R, Adhäsive Zahnheilkunde. Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln, 1-33
78. **Frankenberger R (2013)** Adhäsive Zahnheilkunde. Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln
79. **Freeman R, Varanasi S, Meyers IA, Symons AL (2012)** Effect of air abrasion and thermocycling on resin adaptation and shear bond strength to dentin for an etch-and-rinse and self-etch resin adhesive. *Dent Mater J* 31(2): 180-188
80. **Frencken JE, Peters MC, Manton DJ, Leal SC, Gordan VV, Eden E (2012)** Minimal intervention dentistry for managing dental caries – a review. *Int Dent J* 62(5): 223-243
81. **Fujisawa S, Kadoma Y (1992)** Effect of phenolic compounds on the polymerization of methyl methacrylate. *Dent Mater* 8(5): 324-326
82. **Fukegawa D, Hayakawa S, Yoshida Y, Suzuki K, Osaka A, Van Meerbeek B (2006)** Chemical Interaction of Phosphoric Acid Ester with Hydroxyapatite. *J Dent Res* 85(10): 941-944
83. **Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M (1979)** Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res* 58(4): 1364-1370
84. **Gale MS, Darvell BW (1999)** Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent* 27(2): 89-99
85. **Garberoglio R, Brännström M (1976)** Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 21(6): 355-362
86. **Garg N, Garg A (2020)** Textbook of operative dentistry. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd, New Delhi, Fourth edition
87. **Girija EK, Yokogawa Y, Nagata F (2004)** Apatite formation on collagen fibrils in the presence of polyacrylic acid. *J Mater Sci Mater Med* 15(5): 593-599
88. **Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A (2011)** Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)* 3: 711-735

89. **Goldstein JI, Joy DC, Michael JR, Newbury DE, Ritchie NWM, Scott JHJ (2018)** Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. Springer, New York, Fourth edition
90. **Goodis HE, Marshall GW, White JM (1991)** The effects of storage after extraction of the teeth on human dentine permeability in vitro. *Arch Oral Biol* 36(8): 561-566
91. **Goodis HE, Marshall GW, White JM, Gee L, Hornberger B, Marshall SJ (1993)** Storage effects on dentin permeability and shear bond strengths. *Dent Mater* 9(2): 79-84
92. **Gross KA, Chai CS, Kannangara GSK, Ben-Nissan B, Hanley L (1998)** Thin hydroxyapatite coatings via sol-gel synthesis. *J Mater Sci Mater Med* 9(12): 839-843
93. **Haller B, Hofmann N, Klaiber B, Bloching U (1993)** Effect of storage media on microleakage of five dentin bonding agents. *Dent Mater* 9(3): 191-197
94. **Haller B (1994)** Mechanismus und Wirksamkeit von Dentinhaftvermittlern. *Dtsch Zahnärztl Z* 49: 750-759
95. **Han M, Li Q-L, Cao Y, Fang H, Xia R, Zhang Z-H (2017)** In vivo remineralization of dentin using an agarose hydrogel biomimetic mineralization system. *Sci Rep* 7: 41955
96. **Hannig C, Hannig M (2014)** Possibilities and limitations of enamel regeneration – an up-to-date overview. *Dtsch Zahnärztl Z* 69(3): 131-142
97. **Hannig M, Balz M (1999)** Influence of in vivo Formed Salivary Pellicle on Enamel Erosion. *Caries Res* 33(5): 372-379
98. **Hannig M, Hannig C (2012)** Nanotechnology and its role in caries therapy. *Adv Dent Res* 24(2): 53-57
99. **Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H (2000a)** In vivo Degradation of Resin-Dentin Bonds in Humans Over 1 to 3 Years. *J Dent Res* 79(6): 1385-1391
100. **Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H (2000b)** The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater* 16(6): 406-411
101. **Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Tay FR, Kaga M, Kudou Y, Oguchi H, Araki Y, Kubota M (2002)** Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 year of water storage. *J Biomed Mater Res* 63(3): 306-311

102. **Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H (2003)** In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials* 24(21): 3795-3803
103. **Hellwig E, Klimek J, Lussi A (2012)** Fluoride - Wirkungsmechanismen und Empfehlungen für deren Gebrauch. Deutscher Ärzte Verlag, Köln 34(2)
104. **Hellwig E, Klimek J, Attin T (2013)** Einführung in die Zahnerhaltung: Prüfungswissen Kariologie, Endodontologie und Parodontologie. Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln, 6. Auflage
105. **Hench LL (2006)** The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med* 17(11): 967-978
106. **Hennrich (2021)** *In vitro* Untersuchungen von Adhäsivapatitpasten an Schmelz und Dentin. Med Diss Homburg Universität des Saarlandes
107. **Heymann HO, Bayne SC (1993)** Current concepts in dentin bonding: focusing on dentinal adhesion factors. *J Am Dent Assoc* 124(5): 26-36
108. **Hitmi L, Bouter D, Degrange M (2002)** Influence of drying and HEMA treatment on dentin wettability. *Dent Mater* 18(7): 503-511
109. **Hong X, Huang Z, Tong Z, Jiang H, Su M (2021)** Clinical effects of different etching modes for universal adhesives: a systematic review and meta-analysis. *Ann Palliat Med* 10(5): 5462-5473
110. **Huang C, Tay FR, Cheung GSP, Kei LH, Wei SHY, Pashley DH (2002)** Hygroscopic expansion of a compomer and a composite on artificial gap reduction. *J Dent* 30(1): 11-19
111. **Huang SB, Gao SS, Cheng L, Yu HY (2010)** Combined effects of nano-hydroxyapatite and *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel lesion in vitro. *J Dent* 38(10): 811-819
112. **Huang SB, Gao SS, Cheng L, Yu HY (2011)** Remineralization Potential of Nano-Hydroxyapatite on Initial Enamel Lesions: An in vitro Study. *Caries Res* 45(5): 460-468
113. **Huang SB, Gao SS, Yu HY (2009)** Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *J Biomed Mater* 4(3): 034104
114. **Hwang S, Chung SH, Lee J-T, Kim Y-T, Kim YJ, Oh S, Yeo I-SL (2018)** Influence of Acid, Ethanol, and Anthocyanin Pigment on the Optical and Mechanical Properties of a Nanohybrid Dental Composite Resin. *Materials (Basel)* 11(7): E1234

115. **Iijima Y, Ruben JL, Zuidgeest TG, Arends J (1993)** Fluoride and mineral content in hyper-remineralized coronal bovine dentine in vitro after an acid challenge. *Caries Res* 27(2): 106-110
116. **Ikeda T, De Munck J, Shirai K, Hikita K, Inoue S, Sano H, Lambrechts P, Van Meerbeek B (2005)** Effect of evaporation of primer components on ultimate tensile strengths of primer-adhesive mixture. *Dent Mater* 21(11): 1051-1058
117. **Innes NPT, Chu CH, Fontana M, Lo ECM, Thomson WM, Uribe S, Heiland M, Jepsen S, Schwendicke F (2019)** A Century of Change towards Prevention and Minimal Intervention in Cariology. *J Dent Res* 98(6): 611-617
118. **Inoue S, Vargas MA, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Sano H, Van Meerbeek B (2001)** Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin. *J Adhes Dent* 3(3): 237-245
119. **Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C, Rueggeberg FA, Foulger S, Saito T, Nishitani Y, Yoshiyama M, Tay FR, Pashley DH (2005)** Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials* 26(33): 6449-6459
120. **Jarcho M, Kay JF, Gumaer KI, Doremus RH, Drobeck HP (1977)** Tissue, cellular and subcellular events at a bone-ceramic hydroxylapatite interface. *J Biomed Mater Res* 1(2): 79-92
121. **Jiang H, Liu X-Y (2004)** Principles of Mimicking and Engineering the Self-organized Structure of Hard Tissues. *J Biol Chem* 279(40): 41286-41293
122. **Jillavenkatesa A, SR Condrate RA (1998)** Sol-gel processing of hydroxyapatite. *J Mater Sci* 33(16): 4111-4119
123. **Jordan A, Micheelis W (2016)** Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V). Institut der Deutschen Zahnärzte (IDZ) im Auftrag von Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztlicher Bundesvereinigung
124. **Junqueira LC, Carneiro J (1996)** Histologie. Springer Verlag Berlin/Heidelberg, 4. Auflage
125. **Kanzow P, Wegehaupt FJ, Attin T, Wiegand A (2016)** Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence Int* 47(4): 275-278

126. **Kensche A, Pötschke S, Hannig C, Richter G, Hoth-Hannig W, Hannig M (2016)** Influence of Calcium Phosphate and Apatite Containing Products on Enamel Erosion. *Sci World J* 2016: 7959273
127. **Kenshima S, Reis A, Uceda-Gomez N, Tancredo L de LF, Filho LER, Nogueira FN, Loguercio AD (2005)** Effect of smear layer thickness and pH of self-etching adhesive systems on the bond strength and gap formation to dentin. *J Adhes Dent* 7(2): 117-126
128. **Khan AS, Syed MR (2019)** A review of bioceramics-based dental restorative materials. *Dent Mater* 38(2): 163-176
129. **Kim HW, Li LH, Koh YH, Knowles JC, Kim HE (2005)** Sol-Gel Preparation and Properties of Fluoride-Substituted Hydroxyapatite Powders. *J Am Ceram Soc* 87(10): 1939-1944
130. **Kim J, Arola DD, Gu L, Kim YK, Mai S, Liu Y, Pashley DH, Tay FR (2010)** Functional biomimetic analogs help remineralize apatite-depleted demineralized resin-infiltrated dentin via a bottom-up approach. *Acta Biomater* 6(7): 2740-2750
131. **Kim JS, Cho BH, Lee IB, Um CM, Lim BS, Oh MH, Chang CG, Son HH (2005)** Effect of the hydrophilic nanofiller loading on the mechanical properties and the micro-tensile bond strength of an ethanol-based one-bottle dentin adhesive. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 72(2): 284-291
132. **Klont B, ten Cate JM (1991)** Remineralization of Bovine Incisor Root Lesions in vitro: The Role of the Collagenous Matrix. *Caries Res* 25(1): 39-45
133. **Krüger J, Maletz R, Otzl P, Warkentin M (2018)** In vitro aging behavior of dental composites considering the influence of filler content, storage media and incubation time. *PLoS One* 13(4): e0195160
134. **Lee B-S, Tsai H-Y, Tsai Y-L, Lan W-H, Lin C-P (2005)** In Vitro Study of DP-bioglass Paste for Treatment of Dentin Hypersensitivity. *Dent Mater* 24(4): 562-569
135. **Leitune VCB, Collares FM, Trommer RM, Andrioli DG, Bergmann CP, Samuel SMW (2013)** The addition of nanostructured hydroxyapatite to an experimental adhesive resin. *J Dent* 41(4): 321-327
136. **Li F, Feng QL, Cui FZ, Li HD, Schubert H (2002)** A simple biomimetic method for calcium phosphate coating. *Surf Coat Technol* 154:88-93

137. **Li L, Pan H, Tao J, Xu X, Mao C, Gu X, Tang R (2008)** Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. *J Mater Chem* 18(34): 4079
138. **Lin FH, Lin CC, Liu HC, Huang YY, Wang CY, Lu CM (1994)** Sintered porous DP-bioactive glass and hydroxyapatite as bone substitute. *Biomaterials* 15:1087-1098
139. **Lin X, de Groot K, Wang D, Hu Q, Wismeijer D, Liu Y (2015)** A review paper on biomimetic calcium phosphate coatings. *Open Biomed Eng J* 9(1-M4): 56-64
140. **Linde A, Goldberg M (1993)** Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 4(5): 679-728
141. **Linde A, Lundgren T (1995)** From serum to the mineral phase. The role of the odontoblast in calcium transport and mineral formation. *Int J Dev Biol* 39(1): 213-222
142. **Liu Y., Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, Pashley DH, Tay FR (2011a)** Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation. *J Dent Res* 90(8): 953-968
143. **Liu Yan, Mai S, Li N, Yiu CKY, Mao J, Pashley DH, Tay FR (2011b)** Differences between top-down and bottom-up approaches in mineralizing thick, partially demineralized collagen scaffolds. *Acta Biomater* 7(4): 1742-1751
144. **Loesche WJ (1986)** Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 50(4): 353-380
145. **Lutz F, Krejci I, Schüpbach P (1993)** Adhäsivsysteme für zahnfarbene Restaurationen. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 103: 537-549
146. **Ma S, Cai J, Zhan X, Wu Y (2009)** Effects of etchant on the nanostructure of dentin: an atomic force microscope study. *Scanning* 31(1): 28-34
147. **Malacarne J, Carvalho RM, de Goes MF, Svizero N, Pashley DH, Tay FR, Yiu CK, Carrilho MR de O (2006)** Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dent Mater* 22(10): 973-980
148. **Mann S (2000)** The Chemistry of Form. *Angew Chem Int Ed* 39(19): 3392-3406
149. **Mannocci F (2004)** Density of dentinal tubules affects the tensile strength of root dentin. *Dent Mater* 20(3): 293-296
150. **Masuhara E, Kojima K, Kimura T (1962)** Studies on dental self-curing resin. Effect of an alkylborane on the polymerisation of methacrylate with a benzoyl-peroxide. *Rep Inst Dent Mater* 2: 368-374

151. **McLean JW (1996)** Dentinal bonding agents versus glass-ionomer cements. *Quintessence Int* 27(10): 659-667
152. **Mellberg JR (1992)** Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 71(Spec No): 913-919
153. **Min JH, Kwon HK, Kim BI (2011)** The addition of nano-sized hydroxyapatite to a sports drink to inhibit dental erosion: in vitro study using bovine enamel. *J Dent* 39(9): 629-635
154. **Mitchell JC, Musanje L, Ferracane JL (2011)** Biomimetic dentin desensitizer based on nano-structured bioactive glass. *Dent Mater* 27(4): 386-393
155. **Mjör IA, Nordahl I (1996)** The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biol* 41(5): 401-412
156. **Molla K, Park H-J, Haller B (2002)** Bond strength of adhesive/composite combinations to dentin involving total- and self-etch adhesives. *J Adhes Dent* 4(3): 171-180
157. **Momoi Y, McCabe JF (1994)** Hygroscopic expansion of resin based composites during 6 months of water storage. *Br Dent J* 176(3): 91-96
158. **Montoya C, Arola D, Ossa EA (2016)** Importance of tubule density to the fracture toughness of dentin. *Arch Oral Biol* 67: 9-14
159. **Munksgaard EC, Asmussen E (1984)** Bond strength between dentin and restorative resins mediated by mixtures of HEMA and glutaraldehyde. *J Dent Res* 63(8): 1087-1089
160. **Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer H, Schäfer-Korting M (2001)** Mutschler Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 8. Auflage, 761-763
161. **Nagarkar S, Theis-Mahon N, Perdigão J (2019)** Universal dental adhesives: Current status, laboratory testing, and clinical performance. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 107(6): 2121-2131
162. **Najibfard K, Ramalingam K, Chedjieu I, Amaechi BT (2011)** Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *J Clin Dent* 22(5): 139-143
163. **Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N (1991)** Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Restor Dent* 3(4): 133-138

164. **Nakabayashi N, Ashizawa M, Nakamura M (1992a)** Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital dentin. *Quintessence Int* 23(2): 135-141
165. **Nakabayashi N, Takarada K (1992b)** Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater* 8(2): 125-130
166. **Nakajima M, Kitasako Y, Okuda M, Foxton RM, Tagami J (2005)** Elemental distributions and microtensile bond strength of the adhesive interface to normal and caries-affected dentin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 72(2): 268-275
167. **Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T (1983)** Bovine Teeth as Possible Substitutes in the Adhesion Test. *J Dent Res* 62(10): 1076-1081
168. **Neves A de A, Coutinho E, Cardoso MV, de Munck J, Van Meerbeek B (2011)** Micro-tensile bond strength and interfacial characterization of an adhesive bonded to dentin prepared by contemporary caries-excavation techniques. *Dent Mater* 27(6): 552-562
169. **Ning T-Y, Xu X-H, Zhu L-F, Zhu X-P, Chu CH, Liu L-K, Li Q-L (2012)** Biomimetic mineralization of dentin induced by agarose gel loaded with calcium phosphate. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 100(1): 138-144
170. **Niu L, Zhang W, Pashley DH, Breschi L, Mao J, Chen J, Tay FR (2014)** Biomimetic remineralization of dentin. *Dent Mater* 30(1): 77-96
171. **Ogaard B, Rölla G, Ruben J, Dijkman T, Arends J (1988)** Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. *Scand J Dent Res* 96(3): 209-211
172. **Okazaki M, Miake Y, Tohda H, Yanagisawa T, Matsumoto T, Takahashi J (1999)** Functionally graded fluoridated apatites. *Biomaterials* 20(15): 1421-1426
173. **Oliveira SSA, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW (2003)** The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs. a total-etch system. *Dent Mater* 19(8): 758-767
174. **Oz FD, Ergin E, Canatan S (2019)** Twenty-four-month clinical performance of different universal adhesives in etch-and-rinse, selective etching and self-etch application modes in NCCL – a randomized controlled clinical trial. *J Appl Oral Sci* 27: e20180358
175. **Palmer DS, Barco MT, Billy EJ (1992)** Temperature extremes produced orally by hot and cold liquids. *J Prosthet Dent* 67(3): 325-327

176. **Papadogiannis D, Dimitriadi M, Zafiropoulou M, Gaintantzopoulou M-D, Eliades G (2019)** Universal Adhesives: Setting Characteristics and Reactivity with Dentin. *Materials (Basel)* 12(10): 1720
177. **Pashley DH (1984)** Smear layer: physiological considerations. *Oper Dent Suppl* 3: 13-29
178. **Pashley DH, Tao L, Boyd L, King GE, Horner JA (1988a)** Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. *Arch Oral Biol* 33(4): 265-270
179. **Pashley DH, Derkson GD, Tao L, Derkson M, Kalathoor S (1988b)** The effects of a multi-step dentin bonding system on dentin permeability. *Dent Mater* 4(2): 60-63
180. **Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM (1995)** Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater* 11(2): 117-125
181. **Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluay A (2011)** State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater* 27(1): 1-16
182. **Paul SJ, Welter DA, Ghazi M, Pashley D (1999)** Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength. *Oper Dent* 24(3): 181-188
183. **Paz A, Guadarrama D, López M, E. González J, Brizuela N, Aragón J (2012)** A comparative study of hydroxyapatite nanoparticles synthesized by different routes. *Quím Nova* 35(9): 1724-1727
184. **Pepla E, Besharat LK, Palaia G, Tenore G, Migliau G (2014)** Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. *Ann Stomatol (Roma)* 5(3): 108-114
185. **Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Braem M, Yildiz E, Yücel T, Vanherle G (1996)** The interaction of adhesive systems with human dentin. *Am J Dent* 9(4): 167-173
186. **Perdigão J, Lopes M (1999)** Dentin bonding--state of the art 1999. *Compend Contin Educ Dent* 20(12): 1151-1158, 1160-1162
187. **Perdigão J, Frankenberger R (2001)** Effect of solvent and rewetting time on dentin adhesion. *Quintessence Int* 32(5): 385-390

188. **Petersen PE (2003)** The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century – the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol* 31(1): 3-23
189. **Peumans M, De Munck J, Mine A, Van Meerbeek B (2014)** Clinical effectiveness of contemporary adhesives for the restoration of non-carious cervical lesions. A systematic review. *Dent Mater* 30(10): 1089-1103
190. **Poggio C, Gulino C, Mirando M, Colombo M, Pietrocola G (2017)** Preventive effects of different protective agents on dentin erosion: An in vitro investigation. *J Clin Exp Dent* 9(1): e7-e12
191. **Price RB, Dérand T, Sedarous M, Andreou P, Loney RW (2000)** Effect of Distance on the Power Density from Two Light Guides. *J Esthet Restor Dent* 12(6): 320-327
192. **Qi Y, Li N, Niu L, Primus CM, Ling J-Q, Pashley DH, Tay FR (2012)** Remineralization of artificial dentinal caries lesions by biomimetically modified mineral trioxide aggregate. *Acta Biomater* 8(2): 836-842
193. **Ramalingam L, Messer LB, Reynolds EC (2005)** Adding casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to sports drinks to eliminate in vitro erosion. *Pediatr Dent* 27(1): 61-67
194. **Reimer L, Pfefferkorn G (1973)** Rasterelektronenmikroskopie. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 2. Auflage
195. **Reinhardt JW, Chan DCN, Boyer DB (1987)** Shear strengths of ten commercial dentin bonding agents. *Dent Mater* 3(1): 43-45
196. **Reis A, Grandi V, Carlotto L, Bortoli G, Patzlaff R, Rodrigues Accorinte M de L, Dourado Loguercio A (2005)** Effect of smear layer thickness and acidity of self-etching solutions on early and long-term bond strength to dentin. *J Dent* 33(7): 549-559
197. **Reis AF, Giannini M, Kavaguchi A, Soares CJ, Line SRP (2004)** Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth. *J Adhes Dent* 6(2): 117-121
198. **Retief DH, Wendt SL, Bradley EL, Denys FR (1989)** The effect of storage media and duration of storage of extracted teeth on the shear bond strength of Scotchbond 2/Silux to dentin. *Am J Dent* 2(5): 269-273

199. **Reyes-Carmona JF, Felipe MS, Felipe WT (2009)** Biomineralization Ability and Interaction of Mineral Trioxide Aggregate and White Portland Cement With Dentin in a Phosphate-containing Fluid. *J Endod* 35(5): 731-736
200. **Reynolds EC (1998)** Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 18(1): 8-16
201. **Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker GD, Morgan MV, Reynolds C (2008)** Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 87(4): 344-348
202. **Rosa WL de O da, Piva E, Silva AF da (2015)** Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent* 43(7): 765-776
203. **Rueggeberg FA (2011)** State-of-the-art: Dental photocuring – A review. *Dent Mater* 27(1): 39-52
204. **Rüttermann S, Krüger S, Raab WH-M, Janda R (2007)** Polymerization shrinkage and hygroscopic expansion of contemporary posterior resin-based filling materials – a comparative study. *J Dent* 35(10): 806-813
205. **Sadat-Shojai M, Atai M, Nodehi A, Khanlar LN (2010)** Hydroxyapatite nanorods as novel fillers for improving the properties of dental adhesives: Synthesis and application. *Dent Mater* 26(5): 471-482
206. **Saikaew P, Chowdhury AFMA, Fukuyama M, Kakuda S, Carvalho RM, Sano H (2016)** The effect of dentine surface preparation and reduced application time of adhesive on bonding strength. *J Dent* 47: 63-70
207. **Salz U, Mücke A, Zimmermann J, Tay FR, Pashley DH (2006)** pKa value and buffering capacity of acidic monomers commonly used in self-etching primers. *J Adhes Dent* 8(3): 143-150
208. **Sangwichit K, Kingkaew R, Pongprueksa P, Senawongse P (2016)** Effect of thermocycling on the durability of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin. *Dent Mater J* 35(3): 360-368
209. **Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH (1995)** Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 20(1): 18-25
210. **Sattabanasuk V, Vachiramon V, Qian F, Armstrong SR (2007)** Resin-dentin bond strength as related to different surface preparation methods. *J Dent* 35(6): 467-475

211. **Schaffner M, Stich H, Megert B, Lussi A (2016)** Tertiärdentin: Reaktionsdentin, Reparaturdentin. *Swiss Dent J* 126(11): 1028-1029
212. **Schilke R, Lisson JA, Bauß O, Geurtsen W (2000)** Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol* 45(5): 355-361
213. **Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012)** NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 9(7): 671-675
214. **Schroeder HE (1999)** Orale Strukturbiologie - Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks. Thieme Georg Verlag, 4. Auflage
215. **Seidel A (2016)** Untersuchungen zur Schmelzregeneration mit Apatitpasten und Adhäsiv-Apatitpasten. Med Diss Homburg Universität des Saarlandes
216. **Shetty S, Kohad R, Yeltiwar R (2010)** Hydroxyapatite as an in-office agent for tooth hypersensitivity: a clinical and scanning electron microscopic study. *J Periodontol* 81(12): 1781-1789
217. **Shirai K, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Suzuki K, Shintani H, Van Meerbeek B (2005)** Effect of cavity configuration and aging on the bonding effectiveness of six adhesives to dentin. *Dent Mater* 21(2): 110-124
218. **Silva GA (2006)** Neuroscience nanotechnology: progress, opportunities and challenges. *Nat Rev Neurosci* 7(1): 65-74
219. **Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED, Eichmiller FC, Schumacher GE (2000)** Physicochemical evaluation of bioactive polymeric composites based on hybrid amorphous calcium phosphates. *J Biomed Mater Res* 53(4): 381-391
220. **Soares LES, Campos ADF, Martin AA (2013)** Human and Bovine Dentin Composition and Its Hybridization Mechanism Assessed by FT-Raman Spectroscopy. *J Spectrosc* 2013: 1-7
221. **Söderholm K-JM (2007)** Dental adhesives how it all started and later evolved. *J Adhes Dent* (2): 227-230
222. **Solhi L, Atai M, Nodehi A, Imani M (2012)** A novel dentin bonding system containing poly(methacrylic acid) grafted nanoclay: synthesis, characterization and properties. *Dent Mater* 28(10): 1041-1050

223. **Souza BM, Comar LP, Vertuan M, Fernandes Neto C, Buzalaf MAR, Magalhães AC (2015)** Effect of an Experimental Paste with Hydroxyapatite Nanoparticles and Fluoride on Dental Demineralisation and Remineralisation in situ. *Caries Res* 49(5): 499-507
224. **Stape THS, Wik P, Mutluay MM, Al-Ani AAS, Tezvergil-Mutluay A (2018)** Selective dentin etching: A potential method to improve bonding effectiveness of universal adhesives. *J Mech Behav Biomed Mater* 86: 14-22
225. **Stape THS, Viita-Aho T, Sezinando A, Wik P, Mutluay M, Tezvergil-Mutluay A (2021)** To etch or not to etch, Part I: On the fatigue strength and dentin bonding performance of universal adhesives. *Dent Mater* 37(6): 949-960
226. **Suzuki S, Nakanishi J, Yoshida K, Shiba H (2016)** Dentin sialophosphoprotein is a potentially latent bioactive protein in dentin. *J Oral Biosci* 58(4): 134-142
227. **Swift EJ (2002)** Dentin/enamel adhesives: review of the literature. *Pediatr Dent* 24(5): 456-461
228. **Tagami J, Tao L, Pashley DH (1990)** Correlation among dentin depth, permeability, and bond strength of adhesive resins. *Dent Mater* 6(1): 45-50
229. **Tanaka JLO, Medici Filho E, Salgado JAP, Salgado MAC, Moraes LC de, Moraes MEL de, Castilho JC de M (2008)** Comparative analysis of human and bovine teeth: radiographic density. *Braz Oral Res* 22(4): 346-351
230. **Tao L, Pashley DH, Boyd L (1988a)** Effect of different types of smear layers on dentin and enamel shear bond strengths. *Dent Mater* 4(4): 208-216
231. **Tao L, Pashley DH (1988b)** Shear bond strengths to dentin: effects of surface treatments, depth and position. *Dent Mater* 4(6): 371-378
232. **Tas AC (2000)** Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37 degrees C in synthetic body fluids. *Biomaterials* 21(14): 1429-1438
233. **Tay FR, Pashley DH (2001)** Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater* 17(4): 296-308
234. **Tay FR, Suh BI, Pashley DH, Prati C, Chuang S-F, Li F (2003)** Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and self-cured or dual-cured composites. Part II. Single-bottle, total-etch adhesive. *J Adhes Dent* 5(2): 91-105

-
235. **Tay FR, Pashley DH (2008)** Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine. *Biomaterials* 29(8): 1127-1137
236. **Tenuta LMA, Cury JA (2010)** Fluoride: its role in dentistry. *Braz oral res* 24(1): 9-17
237. **Terkla LG, Brown AC, Hainisch AP, Mitchem JC (1987)** Testing sealing properties of restorative materials against moist dentin. *J Dent Res* 66(12): 1758-1764
238. **Teruel J de D, Alcolea A, Hernández A, Ruiz AJO (2015)** Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Arch Oral Biol* 60(5): 768-775
239. **Thompson ID, Hench LL (1998)** Mechanical properties of bioactive glasses, glass-ceramics and composites. *Proc Inst Mech Eng H* 212(2): 127-136
240. **Tian F, Zhou L, Zhang Z, Niu L, Zhang L, Chen C, Zhou J, Yang H, Wang X, Fu B, Huang C, Pashley DH, Tay FR (2016)** Paucity of Nanolayering in Resin-Dentin Interfaces of MDP-based Adhesives. *J Dent Res* 95(4): 380-387
241. **Triolo PT, Swift EJ (1992)** Shear bond strengths of ten dentin adhesive systems. *Dent Mater* 8(6): 370-374
242. **Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G (1992)** Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res* 71(8): 1530-1540
243. **Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G (1994)** Dentinhaftung: Mechanismen und klinische Resultate. *Dtsch Zahnärztl Z* 49: 977-984
244. **Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G (2000)** Microscopy investigations. Techniques, results, limitations. *Am J Dent* 13(Spec No): 3D-18D
245. **Van Meerbeek B, Vargas S, Inoue S (2001)** Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper Dent Suppl* 6: 119-144
246. **Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G (2003)** Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 28(3): 215-235
247. **Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL (2011)** State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 27(1): 17-28

-
248. **Van Meerbeek B, Yoshida Y (2012)** Grundlagen der Adhäsivtechnik. In Meyer-Lückel et al., Karies. Thieme Verlag, Stuttgart
249. **Van Meerbeek B, Yoshihara K, Van Landuyt K, Yoshida Y, Peumans M (2020)** From Buonocore's Pioneering Acid-Etch Technique to Self-Adhering Restoratives. A Status Perspective of Rapidly Advancing Dental Adhesive Technology. *J Adhes Dent* 22(1): 7-34
250. **Vandiver J, Dean D, Patel N, Bonfield W, Ortiz C (2005)** Nanoscale variation in surface charge of synthetic hydroxyapatite detected by chemically and spatially specific high-resolution force spectroscopy. *Biomaterials* 26(3): 271-283
251. **Vano M, Derchi G, Barone A, Pinna R, Usai P, Covani U (2018)** Reducing dentine hypersensitivity with nano-hydroxyapatite toothpaste: a double-blind randomized controlled trial. *Clin Oral Investig* 22(1): 313-320
252. **Varanasi VG, Owyong JB, Saiz E, Marshall SJ, Marshall GW, Loomer PM (2011)** The ionic products of bioactive glass particle dissolution enhance periodontal ligament fibroblast osteocalcin expression and enhance early mineralized tissue development. *J Biomed Mater Res* 98A(2): 177-184
253. **Vijayasankari V, Asokan S, GeethaPriya PR (2019)** Evaluation of remineralisation potential of experimental nano hydroxyapatite pastes using scanning electron microscope with energy dispersive X-ray analysis: an in-vitro trial. *Eur Arch Paediatr Dent* 20(6): 529-536
254. **Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Pasquantonio G, Cadenaro M, Di Lenarda R, Breschi L (2008)** Effects of thermocycling and use of ElectroBond on microtensile strength and nanoleakage using commercial one-step self-etch adhesives. *Eur J of Oral Sci* 116(6): 564-570
255. **Vojinović O, Nyborg H, Brännström M (1973)** Acid treatment of cavities under resin fillings: bacterial growth in dentinal tubules and pulpal reactions. *J Dent Res* 52(6): 1189-1193
256. **Vollenweider M, Brunner TJ, Knecht S, Grass RN, Zehnder M, Imfeld T, Stark WJ (2007)** Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater* 3(6): 936-943

257. **Wagner A, Belli R, Stötzel C, Hilpert A, Müller FA, Lohbauer U (2013)** Biomimetically- and hydrothermally-grown HAp nanoparticles as reinforcing fillers for dental adhesives. *J Adhes Dent* 15(5): 413-422
258. **Waidyasekera K, Nikaido T, Weerasinghe DS, Ichinose S, Tagami J (2009)** Reinforcement of dentin in self-etch adhesive technology: a new concept. *J Dent* 37(8): 604-609
259. **Walter R, Swift EJ, Boushell LW, Braswell K (2011)** Enamel and dentin bond strengths of a new self-etch adhesive system. *J Esthet Restor Dent* 23(6): 390-396
260. **Wang L, Magalhães AC, Francisconi-Dos-Rios LF, Calabria MP, Araújo D, Buzalaf M, Lauris J, Pereira JC (2016)** Treatment of Dentin Hypersensitivity Using Nano-Hydroxyapatite Pastes: A Randomized Three-Month Clinical Trial. *Oper Dent* 41(4): E93-E101
261. **Wang R, Shi Y, Li T, Pan Y, Cui Y, Xia W (2017)** Adhesive interfacial characteristics and the related bonding performance of four self-etching adhesives with different functional monomers applied to dentin. *J Dent* 62: 72-80
262. **Wang RZ, Weiner S (1997)** Strain-structure relations in human teeth using Moiré fringes. *J Biomech* 31(2): 135-141
263. **Weir MD, Ruan J, Zhang N, Chow LC, Zhang K, Chang X, Bai Y, Xu HHK (2017)** Effect of calcium phosphate nanocomposite on in vitro remineralization of human dentin lesions. *Dent Mater* 33(9): 1033-1044
264. **Williams VD, Svare CW (1985)** The effect of five-year storage prior to bonding on enamel/composite bond strength. *J Dent Res* 64(2): 151-154
265. **Wilson J, Pigott GH, Schoen FJ, Hench LL (1981)** Toxicology and biocompatibility of bioglasses. *J Biomed Mater Res* 15(6): 805-817
266. **Wu X-T, Cao Y, Mei ML, Chen J-L, Li Q-L, Chu CH (2014)** An Electrophoresis-Aided Biomineralization System for Regenerating Dentin- and Enamel-Like Microstructures for the Self-Healing of Tooth Defects. *Crystal Growth & Design* 14(11): 5537-5548
267. **Xia Y, Zhang F, Xie H, Gu N (2008)** Nanoparticle-reinforced resin-based dental composites. *J Dent* 36(6): 450-455

268. **Xu HHK, Weir MD, Sun L, Moreau JL, Takagi S, Chow LC, Antonucci JM (2010)** Strong nanocomposites with Ca, PO(4), and F release for caries inhibition. *J Dent Res* 89(1): 19-28
269. **Xu HHK, Moreau JL, Sun L, Chow LC (2011)** Nanocomposite containing amorphous calcium phosphate nanoparticles for caries inhibition. *Dent Mater* 27(8): 762-769
270. **Yamauchi K, Tsujimoto A, Jurado CA, Shimatani Y, Nagura Y, Takamizawa T, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2019)** Etch-and-rinse vs self-etch mode for dentin bonding effectiveness of universal adhesives. *J Oral Sci* 61(4): 549-553
271. **Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Yoshioka M, Snauwaert J, Abe Y, Lambrechts P, Vanherle G, Okazaki M (2001)** Adhesion to and decalcification of hydroxyapatite by carboxylic acids. *J Dent Res* 80(6): 1565-1569
272. **Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B (2004)** Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res* 83(6): 454-458
273. **Yoshida Y, Yoshihara K, Nagaoka N, Hayakawa S, Torii Y, Ogawa T, Osaka A, Meerbeek BV (2012)** Self-assembled Nano-layering at the Adhesive interface. *J Dent Res* 91(4): 376-381
274. **Yoshihara K, Yoshida Y, Nagaoka N, Fukegawa D, Hayakawa S, Mine A, Nakamura M, Minagi S, Osaka A, Suzuki K, Van Meerbeek B (2010)** Nano-controlled molecular interaction at adhesive interfaces for hard tissue reconstruction. *Acta Biomater* 6(9): 3573-3582
275. **Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, Van Landuyt KL, Osaka A, Suzuki K, Minagi S, Van Meerbeek B (2011)** Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater* 7(8): 3187-3195
276. **Yoshihara K, Nagaoka N, Okihara T, Kuroboshi M, Hayakawa S, Maruo Y, Nishigawa G, De Munck J, Yoshida Y, Van Meerbeek B (2015)** Functional monomer impurity affects adhesive performance. *Dent Mater* 31(12): 1493-1501
277. **Yoshihara K, Nagaoka N, Hayakawa S, Okihara T, Yoshida Y, Van Meerbeek B (2018)** Chemical interaction of glycerophosphate dimethacrylate (GPDM) with hydroxyapatite and dentin. *Dent Mater* 34(7): 1072-1081

-
278. **Yoshioka M, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Vanherle G, Nomura Y, Okazaki M, Shintani H, Van Meerbeek B (2002)** Adhesion/decalcification mechanisms of acid interactions with human hard tissues. *J Biomed Mater Res* 59(1): 56-62
279. **Yoshiyama M, Tay FR, Doi J, Nishitani Y, Yamada T, Itou K, Carvalho RM, Nakajima M, Pashley DH (2002)** Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin. *J Dent Res* 81(8): 556-560
280. **Yubao L, De Groot K, De Wijn J, Klein CPAT, Meer SVD (1994)** Morphology and composition of nanograde calcium phosphate needle-like crystals formed by simple hydrothermal treatment. *J Mater Sci Mater Med* 5(6-7): 326-331
281. **Zafar MS, Ahmed N (2015)** The effects of acid etching time on surface mechanical properties of dental hard tissues. *Dent Mater* 34(3): 315-320
282. **Zavala-Alonso V, Aguilera-Flores R, Patiño-Marin N, Martinez-Castañon GA, Anusavice KJ, Loyola-Rodriguez JP (2011)** Nanostructure evaluation of healthy and fluorotic dentin by atomic force microscopy before and after phosphoric acid etching. *Dent Mater* 30(4): 546-553
283. **Zero DT, Lussi A (2005)** Erosion – chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J* 55: 285-290
284. **Zhang L, Wang D, Fan J, Li F, Chen Y, Chen J (2014)** Stability of bonds made to superficial vs. deep dentin, before and after thermocycling. *Dent Mater* 30(11): 1245-1251
285. **Zhang L, Weir MD, Hack G, Fouad AF, Xu HHK (2015)** Rechargeable dental adhesive with calcium phosphate nanoparticles for long-term ion release. *J Dent* 43(12): 1587-1595
286. **Zhang M, He LB, Exterkate R a. M, Cheng L, Li JY, Ten Cate JM, Crielaard W, Deng DM (2015)** Biofilm layers affect the treatment outcomes of NaF and Nano-hydroxypapatite. *J Dent Res* 94(4): 602-607
287. **Zhang X, Neoh KG, Lin CC, Kishen A (2012)** Remineralization of partially demineralized dentine substrate based on a biomimetic strategy. *J Mater Sci Mater Med* 23(3): 733-742

288. **Zhao S-J, Zhang L, Tang L-H, Chen J-H (2010)** Nanoleakage and microtensile bond strength at the adhesive-dentin interface after different etching times. *Am J Dent* 23(6): 335-340
289. **Zhou Z, Ge X, Bian M, Xu T, Li N, Lu J, Yu J (2020)** Remineralization of dentin slices using casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate combined with sodium tripolyphosphate. *Biomed Eng Online* 19(1): 18

7 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Matthias Hannig für die Möglichkeit, dieses spannende Thema weiter erforschen zu können, für seine immer konstruktiven Anregungen und seine Zeit im Rahmen der Betreuung dieser Arbeit.

Herrn Norbert Pütz danke ich für die Einweisung und die Betreuung in vielen Stunden am Rasterelektronenmikroskop und Frau Dr. Lilia Lemke für die wertvolle Unterstützung beim experimentellen Teil der Arbeit. Ich danke dem gesamten Team des Forschungslabors für die Unterstützung und die spannende Zeit während der Durchführung der Untersuchungen.

Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei meinen Eltern, meiner Schwester Elena und meinem Partner Tobias für das mühevollen Korrekturlesen, ihr Verständnis und die liebevolle Unterstützung und Motivation auf meinem bisherigen Weg.

8 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

9 Anhang

9.1 Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---|--|
| AAP | Adhäsivapatitpaste/n |
| AD-Konzept | Adhäsion-Dekalzifikations Konzept |
| ACP | Amorphes Calciumphosphat |
| Bis-GMA | Bisphenol A-Glycidyl Methacrylat |
| BSE | Backscattered electrons |
| CaCl ₂ | Summenformel Calciumchlorid |
| (Ca(C ₂ H ₃ O ₂) ₂) | Calciumacetat |
| Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O | Calciumnitrat |
| Ca(OEt) ₂ | Calciumdiethoxid |
| Ca ₅ (OH)(PO ₄) ₃ | Summenformel Hydroxylapatit |
| C ₆ H ₅ PCl ₂ | Phenyldichlorphosphit |
| CPP | Casein-Phosphopeptid |
| CQ | Campherchinon |
| DC | Grad der Umwandlung (degree of conversion) |
| DH | Dentinhypersensibilität |
| DMS V | Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie |
| DMFT | Decayed/Missing/Filled Teeth; Kariesindex |
| DPP | dentin phosphoprotein or phosphophoryn |
| DSP | dentin sialoprotein |
| EDAB | Ethyl-4-dimethylaminobenzoat |
| EDTA | Ethylendiamintetraacetat |

Anhang

| | |
|--|---|
| EDX | energy dispersive X-ray spectroscopy |
| F | Fluorid |
| FAP | Fluorapatit |
| FAP1 | Fluorapatit von S&C Polymer |
| Gew. % | Gewichtsprozent |
| GPDM | Glycerophosphat Dimethacrylat |
| H ₂ O | Summenformel Wasser |
| HAP | Hydroxylapatit |
| HAP1 | Hydroxylapatit Kalident first |
| HAP2 | Hydroxylapatit von Sigma Aldrich |
| HEMA | 2-Hydroxyethylmethacrylat |
| MIX | 50% BSE, 50% SE |
| MMA | Methylmethacrylat |
| MTA | Mineral Trioxid Aggregat |
| nACP | Nanopartikel von amorphem Calciumphosphat |
| NaF | Summenformel Natriumfluorid |
| Na ₂ HPO ₄ | Summenformel Dinatriumhydrogenphosphat |
| NCP | Non Collagenous Proteins |
| nHAP | Nano-Hydroxylapatit |
| (NH ₄) ₂ HPO ₄ | Ammoniumhydroxid |
| NPG-GMA | N-phenylglycine glycidyl methacrylate |
| nSiO ₂ | Nano-Silikat-Lösung |
| OH ⁻ | Hydroxid-Ionen |

| | |
|-------------------------------|--|
| Phenyl-P | 2-Methacryloxyethyl-Phenyl-Hydrogenphosphat |
| PO ₄ ³⁻ | Summenformel Phosphat |
| PO(OEt) ₃ | Triethylphosphat |
| REM | Rasterelektronenmikroskop(ie) |
| SBF | simulated body fluid |
| SE | Sekundärelektronen |
| SIBLINGS | small integrin-binding ligand n-linked glycoproteins |
| SLRP | small leucin-rich proteoglycans |
| STMP | Sodiumtrimetaphosphat |
| TBB | Tri-n-Butylboran |
| TEGDMA | Triethylenglycoldimethacrylat |
| TEM | Transmissionselektronenmikroskop |
| TPP | Tripolyphosphat |
| TTCP | Tetracalciumphosphat-Partikel |
| VAS | visuelle Analogskala |
| WHO | Weltgesundheitsorganisation |
| Wt% | Massenprozentanteil |
| XRD | X-ray diffraction |
| 4-MET | 4-Methacryloxyethyl-Trimellitic-Säure |
| 10-MDP | 10-Methacryloyloxyethyl-Dihydrogenphosphat |

9.2 Materialliste

| Material | Hersteller |
|--|--|
| Adhese Universal | Ivoclar Vivadent AG, Liechtenstein |
| Analysewaage Sartorius CP 423 S | Sartorius AG, Göttingen, Deutschland |
| Anmischblock | Omni Dent GmbH, Rodgau, Deutschland |
| Anmischschale Clearfil | Kuraray Noritake, Hattersheim, Deutschland |
| Aqua dest. | Rotilabo, Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland |
| Clearfil Universal Bond Quick | Kuraray Noritake, Hattersheim, Deutschland |
| Diamantierter Separierer Nr. 859.104.010 VPE 5 | Komet, Lemgo, Deutschland |
| Druckluft Compressed Gas, Dust-Off | Falcon Safety Products, New Jersey |
| Drucksprühflasche | Bürkle GmbH & Co KG, Freiburg, Deutschland |
| Ethanol, 70% | Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland |
| FAP1 | S&C Polymer, Elmshorn, Deutschland |
| HAP1 | Sigma Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland |
| HAP2 Kalident first | Kalichem SRL, Brescia, Italien |
| Heidemannspatel PFIHS26 | Hu-Friedy Mfg. Co., LLC., Frankfurt am Main, Deutschland |
| Kohlepad EM-TEC CT12 | Micro to Nano, Haarlem, Niederlande |
| Kühlschrank, 4 °C | CT 29311, Liebherr GmbH, Ochsenhausen, Deutschland |
| Mikroapplikator Microbrush | Kerr Hawe SA, Bioggio, Schweiz |
| Mikropulverlöffel | VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland |

| | |
|---|---|
| Mikropulverspatel | VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| Optibond eXTRa Universal | Kerr Hawe SA, Bioggio, Schweiz |
| Phosphorsäure Gel Etchant 37,5% | Kerr Hawe SA, Bioggio, Schweiz |
| Polymerisationslampe Dentsply Smartlite PS, 5 W LED, 950 mW/cm ² | Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Deutschland |
| Rasterelektronenmikroskop ESEM XL 30 | FEI Eindhoven, Niederlande |
| Reaktionsgefäße, 0,5 ml | Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland |
| Schleif- und Poliermaschine Phoenix 3000 Variable Speed Grinder-Polisher | Buehler ITW Test & Measurement GmbH, Leinfelden-Echterdingen, Deutschland |
| Schleifpapier, Körnung 250 - 4000 | Buehler ITW Test & Measurement GmbH, Leinfelden-Echterdingen, Deutschland |
| Scotchbond Universal | 3M Espe AG, Landsberg am Lech, Deutschland |
| Sputtercoater Model SCD 030 | Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar, Deutschland |
| Stereomikroskop SMZ 168 Series | Motic Europe, Barcelona, Spanien |
| Steriles Wasser Ampuwa Plastipur | Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland |
| Thermocycler Willytec V 2.8 | SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen-Westerham, Deutschland |
| Thymol 0,1% | Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland |
| Trennschleifmaschine WOCO 50p | Conrad GmbH, Clausthal, Deutschland |
| Trennscheibe, diamantiert | Schott Diamantwerkzeuge, GmbH, Stadtoldendorf, Deutschland |
| Tücher Kimtech Science | Kimberly-Clark GmbH, Koblenz/Rheinhafen, Deutschland |

Winkelstück, rot, KaVo Gentle Power,
Lux 25 LP, SN 07-2017395

KaVo Dental GmbH, Biberach an der Riß,
Deutschland