

Diplomarbeit

PROTHETISCHE KLEBETECHNIKEN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DES PARODONTS

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Zahnheilkunde
(Dr. med. dent)

an der

Medizinischen Universität Wien

ausgeführt an der Abteilung für Prothetik
der Bernhard-Gottlieb-Universitätszahnklinik Wien

unter der Anleitung von
Univ. Prof. DDr. Eva Piehslinger
Univ. Prof. DDr. Peter Solar
Ass. Prof. Dr. Anna Knaus

eingereicht von
Nikolaus Otto Budas
Mat.Nr.: 0003077
Adresse: Roseggergasse 25
3400 Klosterneuburg

Wien, am

.....

Danksagung

Ich bedanke mich recht herzlich bei Univ. Prof. DDr. Eva Piehslinger, für ihre Unterstützung im Rahmen dieser Arbeit.

Weiters danke ich Univ. Prof. DDr. Peter Solar, der mir durch seine anfängliche Betreuung geholfen hat, wichtige Kriterien der Abhandlung einer Diplomarbeit, sowie die Bedeutung des Themas zu erkennen.

Mein besonderer Dank gilt Ass. Prof. Dr. Anna Knaus, deren engagierte Betreuung und zeitliche Erreichbarkeit eine wichtige Voraussetzung für die Durchführung dieser Arbeit darstellten.

Schließlich bedanke ich mich bei meinen Eltern und Großeltern, sowie all meinen Freunden, welche mir während meines gesamten Studiums eine wichtige Stütze waren.

Diese Arbeit ist meinem Großvater gewidmet, der schon früh mein Interesse an der Zahnmedizin geweckt hat.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	5
Abstract	6
1. Einleitung	7
1.1. Historisches.....	7
1.2. Anwendungsmöglichkeiten der Adhäsivtechnik	9
1.3. Zusammensetzung moderner Adhäsivsysteme	10
1.4. Toxizität der Monomere	12
1.4.1. Auswaschung von Monomeren.....	12
1.4.2. Die Bedeutung von Glutathion.....	13
1.4.3. Der Unterschied zwischen Apoptose und Nekrose	14
1.4.4. Auswirkungen auf Aktivität, Stoffwechsel und Struktur der Zelle.....	15
1.4.5. Mutagene Wirkung von Monomeren	16
1.4.6. Synergistische und antagonistische Effekte	17
1.4.7. Die Schutzwirkung von Antioxidantien.....	18
2. Material und Methode	19
2.1. Verwendete Zellkulturen	19
2.2. Verwendete Testverfahren und Analysemethoden	22
2.3. Einflüsse auf Testergebnisse und klinische Situation.....	25
2.3.1. Interaktion von Zellkultur und Probe	25
2.3.2. Aussetzungszeit und Konzentration	25
2.3.3. Chemische Eigenschaften	27
2.3.3.1. Molekülstruktur	27

2.3.3.2. Molekularmasse.....	27
2.3.3.3. Lipophilie.....	28
2.3.4. Art der Aushärtung.....	29
2.3.5. Sauerstoffinhibitionsschicht.....	30
2.3.6. Extraktionsmedium.....	30
3. Ergebnisse.....	32
3.1. Zytotoxizität verschiedener Monomere.....	32
3.2. Glutathionverminderung durch Monomere.....	34
3.3. Apoptose durch Glutathionverminderung und ROS.....	36
3.4. Auswirkungen auf Aktivität, Stoffwechsel und Struktur der Zellen.....	37
3.5. Mutagene Wirkung von Monomeren.....	38
3.6. Die Schutzwirkung von Antioxidantien.....	40
4. Diskussion.....	42
Anhang.....	47
Tabellen.....	47
Abbildungen.....	62
Literaturverzeichnis.....	65

Zusammenfassung

Die Nachfrage nach zahnfarbenen Restaurationen nimmt deutlich zu und damit auch die Forschung über die mögliche Toxizität von Inhaltsstoffen auf orales Gewebe.

Die vorliegende Arbeit bietet einen Überblick über Studien der letzten 10 Jahre, die die prothetischen Kleber und deren Auswirkungen auf das parodontale Gewebe beleuchten.

Zunächst wurden die historische Entwicklung und die Anwendungsmöglichkeiten der Adhäsivtechnik umrissen.

Von den Inhaltsstoffen wurden die Monomere als die wichtigste Gefahrenquellen identifiziert. Die unterschiedlichen Mechanismen, die zu Zellschädigung führen können, wurden vorgestellt. Die Verminderung des intrazellulären Glutathiongehaltes spielt dabei eine wesentliche Rolle.

Es wurde auch auf die möglichen synergistischen Effekte zwischen Monomeren und anderen Inhaltsstoffen, wie zum Beispiel Fotoinitiatoren, aber auch Bleaching-Produkten hingewiesen.

Nach Beleuchtung all dieser negativen Einflüsse wurden Möglichkeiten zur Risikoreduktion, wie zum Beispiel die Verwendung von dualhärtenden Materialien, beziehungsweise die weitere Forschung auf dem Gebiet der Antioxidantien von Seiten der Industrie, vorgestellt.

Abstract

Aim of this study was to critically review the past ten years of research on adverse effects of ingredients of dental bonding substances on periodontal tissues.

First, an overview was given of the evolution of adhesive techniques in dental prosthetics. Resin monomers were identified as the most critical source of danger for oral tissues. Most of the reviewed articles were mentioning the elution of monomers, followed by glutathione reduction as the main mechanism of adverse effects on cells. The influence on metabolism and mutagenic effects were also explored. Several influences on toxicity, as well as possible synergisms were elucidated.

Finally recommendations for minimizing of risk were given and it was emphasized that further studies of counteragents, such as antioxidants, are needed, to enhance the biocompatibility of adhesives in the future.

1. Einleitung

1.1. Historisches

Prothetische Adhäsive auf Methacrylat-Basis finden seit über 50 Jahren Anwendung in der Zahnmedizin. Ihre Verbreitung wurde vor allem durch die Diskussion über die Toxizität der Amalgame und den Trend zur ästhetischen Zahnheilkunde vorangetrieben (Gregson, 2008).

Entscheidend für die Entwicklung der Adhäsivtechnik war die Entdeckung der Schmelz-Ätz-Technik. Dabei wird Schmelzhaftung durch einfaches Ätzen erreicht (Buonocore, 1955). Dies ist eine wichtige Grundlage, ohne die die Adhäsivtechnik, wie wir sie heute kennen, nicht möglich wäre. Die Dentinhaftung stellte ein größeres Problem dar, da eine mikromechanische Haftung, welche im Schmelz durch Ätzen ermöglicht wird, im hydrophilen Dentin nicht erreicht werden kann. Dies machte eine Dentinkonditionierung notwendig. Mittels Dentinhaftvermittlern sollte eine chemische Bindung mit den organischen und anorganischen Bestandteilen des Dentins hergestellt werden.

Zunächst kamen Dentinhaftvermittler der ersten Generation zur Anwendung (Hellwig, 2006). Die Klassifikation nach Generationen ist die häufigste Art der Einteilung, sie ist jedoch nicht mit der chronologischen Entwicklung der Adhäsivsysteme gleichzusetzen (Janda, 2008).

Wurde bei den Systemen der zweiten Generation lediglich die Schmierschicht modifiziert, so wurde in der dritten Generation durch Demineralisieren des Dentins eine mikromechanische Verankerung mit der feuchten Dentinoberfläche ermöglicht. Auf das demineralisierte Dentin wird ein Primer aufgetragen, welcher hydrophile Monomere enthält, und durch ein Dentinadhäsiv mit amphiphilen (das ist die Kombination von hydrophilen und hydrophoben Eigenschaften) Monomeren stabilisiert. Dies führt zur Entwicklung einer Hybridschicht, bestehend aus dem freigelegten Kollagen mit dem Primer und Dentinadhäsiv.

Die vierte Generation ist besser bekannt als die Gruppe der Total-Etch-Adhäsive (Tab. 1). Hier wird die Ätzung bzw. Konditionierung von Schmelz und Dentin in einem Schritt vorgenommen. Danach werden nach wie vor Primer und Adhäsiv aufgetragen.

Dies ändert sich bei den Adhäsivsystemen der fünften Generation, bei denen nach der Ätzung ein Primer-Adhäsiv-Gemisch aufgetragen wird.

Die sechste Generation ist schließlich die der sogenannten Einflaschen-Produkte, welche den separaten Einsatz von Säure und Primer überflüssig machen. Man nennt sie daher auch selbstätzende Adhäsive (Tab. 2) (Hellwig, 2006).

Obwohl oft diskutiert wird, ob man durch den Einsatz eines weniger zeitaufwendigen Systems Einschränkungen in der Qualität in Kauf nehmen muss, so bleibt zu sagen, dass ein 3-Schritt-System nicht zwangsweise einem 2-Schritt-System überlegen ist. Viel wichtiger ist die richtige Indikationsstellung und Verarbeitung (Janda, 2008).

1.2. Anwendungsmöglichkeiten der Adhäsivtechnik

Die häufigste Indikation ist die Befestigung von Keramikrestorationen. Das Adhäsivsystem ist hier eigentlich die Kombination aus Dentinadhäsiv und einem Befestigungskomposit (Tab. 3). Das Befestigungskomposit hat die Aufgabe den adhäsiven Verbund zwischen Krone und konditionierter Zahnoberfläche herzustellen und den Randspalt komplett auszufüllen. Eine Sonderform ist der kunststoffmodifizierte Glasionomer-Zement. Er stellt eine Mischform aus Komposit und Glasionomer-Zement dar und wird daher auch gerne als Hybrid-Ionomer bezeichnet. Die meisten Adhäsivsysteme eignen sich für die Befestigung von Kronen und Brücken aus Komposit, Keramik und Metall.

Eine weitere Indikation ist die Adhäsivbrücke. Es handelt sich dabei um eine gering invasive festsitzende Versorgung. Im Gegensatz zur traditionellen Brückenpräparation werden hier im nicht sichtbaren Bereich der Pfeilerzähne lediglich 0,5 bis 1mm tiefe Auflagen für die Retentionsflügel präpariert, welche mittels Adhäsivtechnik befestigt werden. Die größten Vorteile dieser Technik sind der verringerte Behandlungsstress für die Patienten und die Schonung der Zahnschubstanz.

Ähnliche Vorteile bieten auch die Veneers, welche eine weitere Anwendungsmöglichkeit der Adhäsivtechnik darstellen. Aufgrund der substanzschonenden Präparation findet diese Behandlungsmethode gerade in der ästhetischen Zahnheilkunde eine häufige Anwendung. Dentinadhäsive werden auch gerne als Fissurenversiegler bzw. zur Behandlung freistehender, überempfindlicher Zahnhälse verwendet (Geurtsen, 2000).

Schließlich sind noch die Befestigung von Brackets im Zuge einer kieferorthopädischen Behandlung, sowie von Schienen nach einem Trauma zu nennen (Tab. 4) (Kerschbaum, 1995).

Die Aushärtung erfolgt über eine Netzwerkbildung der Monomere zu Polymeren (Polymerisation). Sie erfolgt entweder chemisch (Selbsthärtung), lighthärtend oder dualhärtend (Kombination aus Selbsthärtung und Lighthärtung) (Hellwig, 2006).

1.3. Zusammensetzung moderner Adhäsivsysteme

Die drei Hauptkomponenten eines Adhäsivsystems sind Ätzmittel, Primer und Adhäsiv (Craig, 2006). Abhängig von der Generation des Systems sind diese Komponenten auf mehrere Flaschen aufgeteilt, oder sogar in einer Flasche vereint.

1.3.1. Konditionierer

Der am Häufigsten angewendete Konditionierer ist eine 37-prozentige Phosphorsäure. Handelt es sich um ein Adhäsivsystem der Total-Etch-Technik, werden Schmelz und Dentin in einem Schritt geätzt, wobei zunächst der Schmelz (ca. 30 Sekunden) und anschließend das Dentin (ca. 15 Sekunden) geätzt wird (Schmalz, 2005).

1.3.2. Primer

Der Primer hat die Aufgabe, das hydrophile Dentin so zu modifizieren, dass es eine Bindung mit dem hydrophoben Adhäsiv eingehen kann. Seine wichtigsten Bestandteile sind ein Lösungsmittel (z.B. Ethanol) und hydrophile Monomere. Bei Primern moderner Adhäsivsysteme ist der Konditionierer bereits integriert. Entweder als Säure (z.B. Maleinsäure) oder als saures Monomer (z.B. HEMA-Phosphat) (Schmalz, 2006). Weitere Bestandteile eines Primers sind Initiatoren (z.B. Kampferchinon) und Stabilisatoren.

1.3.3. Adhäsiv

Das Adhäsiv sorgt für den Verbund zwischen dem, durch Konditionierer und Primer vorbehandelten, Dentin und dem hydrophoben Werkstück. Daher sind die wichtigsten Bestandteile des Adhäsivs amphiphile, sowie hydrophobe Monomere und Lösungsmittel (Heidemann, 2001). Des Weiteren beinhalten Adhäsive auch Initiatoren, Stabilisatoren und Katalysatoren.

1.3.4. Befestigungskomposite und orthodontische Kleber

Diese zwei Gruppen teilen den Großteil der Inhaltsstoffe der Adhäsive. Der entscheidende Unterschied liegt in den Füllkörpern (z.B. Aluminium-Silikat-Glas), welche für die meist hohe Viskosität dieser pastenartigen Materialien verantwortlich sind. Für die Brückenbildung zwischen den organischen und anorganischen Bestandteilen werden Haftvermittler, meist Silane, beigemischt (Ferracane, 1995). Durch den Zusatz verschiedener Pigmente wird außerdem eine farbliche Anpassung an den Zahn bzw. das Werkstück ermöglicht.

Eine Übersicht über typische Inhaltsstoffe von Adhäsiven und Befestigungskompositen bietet Tabelle 6.

1.4. Toxizität der Monomere

Die größte Gefahrenquelle für das Parodont stellen die Monomere dar. Monomere bzw. Co-Monomere in Adhäsivsystemen sind zum Beispiel TEGDMA, HEMA, UDMA und Bis-GMA (Reichl *et al.*, 2006). Es handelt sich dabei um Methacrylate bzw. Dimethacrylate. Bei einem Großteil der in-vitro-Studien über toxische Auswirkungen von Adhäsiven auf diverse Zellkulturen kommen Monomere statt der eigentlichen Produkte zum Einsatz.

Die meisten Studien befassen sich mit den Auswirkungen der Co-Monomere TEGDMA und HEMA auf Gewebe beziehungsweise Zellen. TEGDMA wird hauptsächlich als Verdünner eingesetzt, um eine bessere Verarbeitung der Basismonomere (z.B. Bis-GMA, UDMA) zu erreichen. HEMA dagegen ermöglicht hydrophoben Komponenten wie TEGDMA oder UDMA die Penetration in das hydrophile Dentin (Reichl, 2007). Der Gehalt an HEMA und TEGDMA in adhäsiven Dentalmaterialien beträgt zwischen 10 und 50 Prozent (Walther, 2004). Diese Tatsache hilft zu verstehen, warum diesen beiden Comonomeren in Studien so viel Aufmerksamkeit zuteil wird.

1.4.1. Auswaschung von Monomeren

Eines der größten Probleme in der Adhäsivtechnik stellt die Elution, also die Auswaschung, von Restmonomeren dar. Sie ist eine Folge der unvollständigen Polymerisation der Materialien in der Aushärtungsphase. Da die Polymerisation niemals komplett ist, sind immer Restmonomere vorhanden, welche für die unerwünschten Wirkungen auf Parodont und Pulpa verantwortlich sind (Goldberg, 2008). Meist handelt es sich dabei um TEGDMA. Da TEGDMA ein hydrophiles Monomer ist und einen hohen Prozentsatz der Zusammensetzung moderner Adhäsive ausmacht, kann es durch hydrolytische Spaltung bzw. durch Esterasen des Speichels dazu kommen, dass Abbauprodukte wie das toxische Methacrylat oder Ethylenglykol herausgelöst werden (Ortengren, 2000). Diese biologisch aktiven Substanzen werden über den Speichel transportiert und diffundieren in Gewebe mit reaktionsfähigen Zellen, wie zum Beispiel der Gingiva (Hume, 1996).

Ferracane (1994) beschrieb, dass zwischen 15 und 50 Prozent der Methacrylgruppen nicht reagieren. Auch wenn der Anteil an ungebundenen Monomeren in den letzten Jahren

immer weiter reduziert werden konnte, ist dieses Problem weiterhin vorhanden. Die komplette Umsetzung ist nach wie vor nicht erreichbar. Auch wenn nach der initialen Polymerisation die meisten Restmonomere mit dem Netzwerk reagieren, so ist nach wie vor mit 1,5 bis 5 Prozent verbleibenden Methacrylgruppen zu rechnen, und damit genug, um zu unerwünschten Effekten zu führen (Stanislawski *et al.*, 1999). Zahlreiche Studien zeigten, dass das Entfernen von auswaschbaren Monomeren die Toxizität um 90 Prozent verringern würde, da dadurch nur die gebundenen Monomere zurückbleiben, die nur in sehr geringen Mengen aus ihrem Netzwerk losgelöst werden können (Rathburn *et al.*, 1991).

Es ist zu beachten, dass die Hydrophilie eines Monomers einen großen Einfluss auf das Ausmaß der Auswaschung hat. So war in in-vitro Studien die Abgabe von hydrophobem Bis-GMA an Wasser weitaus geringer als die von hydrophilen Monomeren wie HEMA und TEGDMA (Hamid *et al.*, 1998; Gerzina *et al.*, 1996; Spahl *et al.* 1998).

Auch wenn die Konzentration der ausgewaschenen Restmonomere unter subletalen Werten bleibt, so kann sich die Wirkung durch synergistische Effekte verschiedener Monomergruppen überproportional steigern (Ratanasathien *et al.*, 1995).

In den Eluaten verschiedenster Materialien wurden meist TEGDMA, HEMA, UDMA und Bis-GMA identifiziert (Spahl *et al.*, 1998; Geurtsen, 1998). Mazzaoui *et al.* (2002) entdeckten, dass die Herstellerangaben über enthaltene Monomere oft nicht vollständig sind. In ihren Untersuchungen wurde in den Eluaten einiger Adhäsive das Monomer Bisphenol-A gefunden, welches in der Auflistung der Inhaltsstoffe nicht zu finden war. Es wurde angenommen, dass dies die Folge einer Unreinheit im Herstellungsverfahren bei der Synthese von Bis-GMA sei. Auch UDMA ist ein üblicher Bestandteil vieler moderner Adhäsivsysteme, obwohl es nicht immer in den Herstellerangaben aufscheint. Es ist anzunehmen, dass der Grund dafür in den wirtschaftlichen Überlegungen der Hersteller zu finden ist, welche die exakte Zusammensetzung ihrer Produkte nicht preisgeben wollen.

Diese Tatsachen unterstreichen die Wichtigkeit von Verfahren wie der Massenspektrometrie zur Aufklärung der Zusammensetzung verschiedener Produkte.

1.4.2. Die Bedeutung von Glutathion

Das Tripeptid Glutathion besteht aus den drei Aminosäuren Cystein, Glutaminsäure und Glycin, sowie einem Thiol (-SH) als aktive Gruppe. Es wird in allen Organen produziert,

ganz besonders in der Leber, und ist so gut wie in allen Geweben zu finden. Der intrazelluläre Glutathiongehalt ist weit höher als der von Cystein und Cystin. Es scheint also als Speicherform von Cysteinresten zu dienen (Pastore *et al.*, 2003). Glutathion ist hauptsächlich in seiner reduzierten Form vorhanden. Diese kann zum Beispiel durch oxidativen Stress in seine oxidierte Form (GSSG) übergeführt werden und durch Glutathionreduktase wieder in die reduzierte Form umgewandelt werden. Die Veränderung des Verhältnis GSH/GSSG in Zellen spielt eine zentrale Rolle in der Toxikologie der Adhäsive.

Glutathion wird rasch regeneriert und bietet dadurch einen effektiven Schutz gegen toxische Fremdstoffe und endogene Stoffwechselprodukte wie zum Beispiel reaktive Sauerstoffspezies (ROS). Somit ist Glutathion ein wirkungsvolles Antioxidans (Dickinson *et al.*, 2002). Auch die Entgiftung von Wasserstoffperoxid und anderen Peroxiden ist ein wichtiges Aufgabengebiet des Glutathion. Des Weiteren schützt es die Zellmembranen vor oxidativen Einflüssen und hilft, die Thiolgruppen vieler Proteine in ihrer reduzierten Form zu halten. Daher kommt es auch bei Verringerung des Gehaltes an Glutathion in den Zellen zu irreversiblen Zellschädigungen.

All die Schadstoffe, die mit Glutathion interagieren, werden über den Harn oder Kot in Form von Ableitungen des Cysteins ausgeschieden (Pastore *et al.*, 2003).

Eine Folge der Glutathionverminderung stellt die Apoptose dar.

1.4.3. Der Unterschied zwischen Apoptose und Nekrose

Erstmals benannt wurde die Apoptose 1972 von Kerr. Das Wort Apoptose wird aus dem Griechischen hergeleitet und bedeutet so viel wie „Herabfallen“ (*apo* bedeutet „von“ und *ptosis* „der Fall“). Im alten Griechenland wurde dieser Begriff für die Beschreibung der herabfallenden Blätter im Herbst verwendet. Dieses Bild erleichtert das Erkennen der Apoptose als einen programmierten Zelltod. Der Körper ist dabei, im Gegensatz zur Nekrose, darauf bedacht, keine Nachbarzellen zu beschädigen. Es handelt sich also um einen bewussten Selbstzerstörungsmechanismus von beschädigten Zellen. Ein weiterer wesentlicher Unterschied zur Nekrose liegt darin, dass die Zellmembran bei der Apoptose intakt bleibt, sodass es zu keinem Austritt schädlicher Substanzen aus der Zelle kommen kann (Abb. 1).

Wenn eine Zelle eine Apoptose durchläuft, so schrumpft sie und verdichtet ihr Chromatin (*Pyknose*). Der Zellkern kann aufbrechen (*Karyorhexis*) und die Zelle bildet Fortsätze (engl. *budding*). Aus biochemischer Sicht zerbricht auch die DNA in Segmente. Schließlich bilden sich apoptotische Körper, welche dann phagozytiert werden können. Dadurch wird eine Entzündungsreaktion vermieden.

In Toxizitätsstudien kommt es dann meist noch zu einer sogenannten „apoptotischen Nekrose“. Dies geschieht, weil in den Zellkulturen keine Phagozyten vorhanden sind, welche die apoptotischen Körper phagozytieren könnten.

Der apoptotische Prozess wird genetisch gesteuert und kann entweder intern geregelt werden, oder durch extrazelluläre Substanzen ausgelöst werden. An diesem Punkt kommen die Monomere der Adhäsivsysteme ins Spiel, welche über den Speichel zu den Zellen des Parodonts gelangen.

Unter einer Nekrose versteht man hingegen eine starke Beschädigung von Zellen, in Kombination mit einer Entzündungsreaktion und klinischen Symptomen. Es kommt zu einer Schwellung der Zelle und einer Zerstörung der Zellmembran. (Majno *et al.*, 1995)

Reichl *et al.* (2006) beobachteten in ihrer Studie mit vier verschiedenen Monomeren, dass HEMA, BisGMA und UDMA in HGF-Zellen eher einen nekrotischen Zelltod, TEGDMA jedoch eher einen apoptotischen Zelltod bewirken.

1.4.4. Auswirkungen auf Aktivität, Stoffwechsel und Struktur der Zelle

Neben der Glutathionverminderung haben Monomere noch andere Auswirkungen auf den Metabolismus der Zelle.

TEGDMA hat einen membrangebunden Anteil, sowie einen freien Anteil und kann in allen Zellkompartimenten gefunden werden (Fujisawa *et al.*, 1988). Somit kann es Einfluss auf eine Vielzahl von Zellfunktionen nehmen. Zum Beispiel wurde entdeckt, dass TEGDMA in den Energiestoffwechsel von 3T3-Fibroblasten eingreifen kann. Dies machte sich durch eine Verminderung von Phosphokreatin (PCr) und Nukleosidtriphosphat (NTP) bemerkbar. Die Autoren schlossen daraus, dass die Detoxifikation von TEGDMA einen hohen Energieaufwand voraussetzt, der durch die Verminderung von zellulären Energiereserven erreicht werden kann (Engelmann *et al.*, 2001).

Der MTT-Test, der in zahlreichen toxikologischen Untersuchungen von Monomeren verwendet wird, gibt Aufschluss über die Aktivität der Mitochondrien und damit über den Metabolismus der Zelle (Issa *et al.*, 2004).

Eine Konsequenz der Veränderung der Zellaktivität stellt auch die Modifikation der Oberflächenbeschaffenheit dar. Speziell bei subtoxischen Monomerkonzentrationen kann es zu Veränderungen der Zellstruktur kommen, die im Elektronenmikroskop sichtbar werden. Zum Beispiel kann die typische Fibroblastenform verloren gehen (Chang *et al.*, 2005; Falconi *et al.*, 2007).

1.4.5. Mutagene Wirkung von Monomeren

Um mutagene Wirkungen von Chemikalien zu untersuchen, wird meist der Mikronukleustest verwendet. So wurde beispielsweise beobachtet, dass TEGDMA die Produktion von Mikronuklei induziert, was als Hinweis auf Mutagenität zu werten ist (Schweikl *et al.*, 1999).

Noch nicht vollständig geklärt sind die Mechanismen, welche mutagene beziehungsweise genotoxische Auswirkungen auf Zellen haben. Schweikl *et al.* (2007) nahmen zunächst an, dass TEGDMA über eine Michael-Addition direkt mit der DNA reagieren könne. In einer Untersuchung konnte jedoch ein Zusammenhang zwischen der Erhöhung des intrazellulären ROS-Gehaltes und der Induktion von Mutationen nachgewiesen werden. Ausserdem beobachteten sie, dass subtoxische Konzentrationen von TEGDMA und HEMA zu einer Zellzyklus-Verzögerung führen können. Dies kann als Hinweis auf eine Beschädigung der DNA gewertet werden, da diese Verzögerung der Zelle Zeit zur Reparatur bietet, um die Replikation von beschädigten Chromosomen zu verhindern (Abb. 2).

Samuelsen *et al.* (2008) zeigten, dass Monomere in subletalen Konzentrationen, im Falle ihrer Untersuchung HEMA, die Zellproliferation einschränken und dadurch Apoptose induzieren können. Sie stellten auch die Vermutung auf, dass dies die Ausbildung von oralen lichenoiden Läsionen, zum Beispiel in Gingiva-Bereichen, in deren Nähe die Adhäsivtechnik zum Einsatz kam, zur Folge haben kann.

1.4.6. Synergistische und antagonistische Effekte

Wie schon erwähnt stellt beispielsweise Bis-GMA trotz seiner hohen Toxizität keine große Gefährdung für das parodontale Gewebe dar, da es nur in sehr geringen Mengen aus Adhäsivsystemen ausgewaschen werden kann. Solche Monomere können jedoch über synergistische (griech. „zusammen wirkend“) Effekte mit anderen Monomeren zu einer erhöhten Gesamttoxizität führen, beziehungsweise die Anfälligkeit benachbarter Gewebe auf toxische Einflüsse erhöhen (Geurtsen *et al.*, 1998). Speziell die häufige Kombination von TEGDMA und Bis-GMA kann zu einer Gesamttoxizität akkumulieren, welche zu irreversiblen Zellschäden führen kann (Engelmann *et al.*, 2004).

Interessanterweise kann es auch zu antagonistischen Effekten bezüglich der Toxizität kommen. Ratanasathien *et al.* (1995) beobachteten, dass Bis-GMA in geringen Konzentrationen (< 5 µmol/l) die zytotoxischen Auswirkungen von HEMA auf 3T3-Fibroblasten um 8-20% verringert. In hoher Konzentration (25 µmol/l) hingegen kam es zu einer Steigerung der Zytotoxizität um 10%. Auch die Inkubationszeit spielte hier eine große Rolle. Die Autoren gingen davon aus, dass es in den ersten 24 Stunden eher zu antagonistischen Effekten kommt, wogegen die synergistischen Effekte nach 72 Stunden vorherrschen.

Pagoria *et al.* (2005) entdeckten einen synergistischen Effekt zwischen Kampferchinon (einem Fotoinitiator in lichthärtenden und dualhärtenden Kompositen) und Hydrogen Peroxid (H₂O₂), welches einen Bestandteil von Bleaching-Produkten darstellt.

Volk *et al.* (2007) beschreiben ein ähnliches Phänomen für die kombinierte Anwendung von TEGDMA-haltigen Adhäsivsystemen und H₂O₂.

1.4.7. Die Schutzwirkung von Antioxidantien

Das Streben nach Linderung der Toxizität von Monomeren führte zahlreiche Autoren zur näheren Betrachtung von Antioxidantien. Das sind Oxidationshemmer, die als Radikalfänger wirken können, beziehungsweise einer Glutathionverminderung entgegenwirken können. Natürliche Antioxidantien sind zum Beispiel Glutathion, oder die Vitamine C und E (Walther *et al.*, 2004).

In der Literatur wird N-Acetylcystein (NAC) als ein mögliches Mittel gegen erhöhte ROS-Bildung und Glutathionverminderung erwähnt. NAC ist ein stabileres Cystein-Derivat als Glutathion. Es kann Cystein für die intrazelluläre Glutathion-Synthese zur Verfügung stellen und dadurch den zellulären GSH-Spiegel stimulieren (Spagnuolo *et al.*, 2006).

Auch die schützende Wirkung von Trolox (ein Vitamin-E-Derivat) und Ascorbat (das Säurerest-Ion der Ascorbinsäure) wurde besprochen (Stanislawski *et al.*, 2003).

2. Material und Methode

2.1. Verwendete Zellkulturen

Um Studien über die Auswirkungen von Monomeren auf das Parodont vergleichen zu können, ist es wichtig, dass die Rahmenbedingungen der verschiedenen Untersuchungen möglichst ähnlich sind. Das fängt an bei der Entscheidung, ob eine Dauerzelllinie oder eine humane primäre Fibroblastenzelllinie verwendet wird. Dauerzelllinien kommen gerne aufgrund ihrer reproduzierbaren Wachstumsraten und biologischen Reaktionsfreudigkeit zum Einsatz (Thonemann *et al.*, 2002). Humane Primärzellen hingegen haben den Nachteil, dass sie sich, abhängig vom jeweiligen Spender, im Wachstum und den zellulären Parametern unterscheiden (Geurtsen *et al.*, 1998). Weiters reagieren beispielsweise Balb/c 3T3- und L929-Fibroblasten empfindlicher auf toxische Einflüsse als primäre humane Fibroblasten (Hanks *et al.*, 1981, Schweikl *et al.*, 1996). Der Vorteil von aus Zielgewebe entnommenen Zellen ist jedoch eine Testumgebung, welche der in-vivo Situation näher kommt.

Schedle *et al.* (1995) erhielten bei einem Toxizitätstest ähnliche Ergebnisse für L-929-Fibroblasten und humane Gingivafibroblasten. Dies führte sie zu der Annahme, dass L-929-Fibroblasten eine für in-vitro Toxizitätstests zufriedenstellende Zelllinie darstellen. Auch Geurtsen *et al.* (1998) erhielten bei einer äußerst umfangreichen Toxizitätsstudie von 35 verschiedenen Inhaltsstoffen von Kompositmaterialien sehr ähnliche Ergebnisse mit 3T3-Fibroblasten und humanen Gingivafibroblasten.

Lehmann *et al.* (1993) verglichen vier verschiedene Zellarten. Zwischen der Dauerzelllinie (3T3-Fibroblasten) und den primären humanen Fibroblasten (aus Wurzelhaut, Gingiva und Pulpa) bestand ein deutlicher Unterschied bei den ED₅₀-Werten nach Inkubation mit verschiedenen Monomeren. Das betraf allerdings hauptsächlich die absoluten Werte. Die relativen Unterschiede des zytotoxischen Potenzials der verschiedenen Monomere waren bei allen Zelllinien sehr ähnlich. Dies wurde auch durch andere Studien bestätigt (Geurtsen *et al.*, 1998; Schweikl *et al.*, 1996; Wataha *et al.*, 1994). Auch Moharamzadeh *et al.* (2007) kamen zu diesem Ergebnis und schlossen daraus, dass eine Rangliste der relativen Toxizität, welche das Verhältnis der Toxizitätswerte der Monomere zueinander angibt, einen besser reproduzierbaren Parameter darstellt als absolute Parameter wie z.B. der TC₅₀-Wert.

Die Meisten der genannten Autoren empfehlen für Toxizitätsstudien Kulturen aus dem jeweiligen Zielgewebe. Jedoch wurden in der Literatur, hauptsächlich aus praktischen Gründen, immer wieder Dauerzelllinien von Maus- bzw. Hamsterfibroblasten verwendet. Der Nachteil ist, dass die Ergebnisse nicht 1:1 auf die in vivo Situation übertragen werden können.

Vande Vannet et al. (2007) testeten 2 Adhäsivsysteme mittels der 3-dimensionalen Zellkultur RHOE (reconstituted human oral epithelium), welche es ermöglichte, die orale Mukosa noch exakter nachzustellen. Außerdem bot diese Methode die Möglichkeit der histologischen Untersuchung mittels Licht- bzw. Elektronenmikroskop.

Auch Schmalz et al. (2000) verwendeten die RHOE-Zellkultur. Sie vermuteten, dass die Zellen der obersten Zellschicht und die interzelluläre Matrix die darunterliegenden Zellschichten vor toxischen Einflüssen beschützen würden.

In den in dieser Arbeit zitierten Untersuchungen wurden folgende Zellkulturen verwendet:

- 11Lu-Zellen

Dabei handelt es sich um eine fibroblastenähnliche Zelllinie aus menschlichem Lungengewebe.

- Humane Gingivafibroblasten (HGF)

Die meisten Studien griffen auf humane Gingivafibroblasten zurück, welche, nach Einverständnis der Patienten, mittels einer Biopsie im Rahmen von Routineeingriffen an Molaren und Prämolaren gewonnen wurden.

- L929-Fibroblasten

Es handelt sich hier um Mausfibroblasten, welche einfach zu kultivieren sind und reproduzierbare Ergebnisse liefern. Außerdem handelt es sich um eine sehr sensible Zellkultur. Aufgrund dieser Eigenschaften wird diese Kultur speziell für routinemäßige Toxizitätstests gerne verwendet.

- (Balb/c) 3T3-Fibroblasten

3T3-Fibroblasten (oder auch Swiss-Albino-Zellen) haben ähnliche Eigenschaften und Einsatzgebiete wie L929-Fibroblasten. In manchen Studien ist von Balb/c 3T3-Fibroblasten die Rede. Der Zusatz Balb/c steht hier für einen anderen Mäusestamm, welcher in den USA gezüchtet wurde.

- L2-Zellen

Dabei handelt es sich um eine Zelllinie aus dem Lungengewebe (Alveolarepithel) der Ratte.

- V79-Fibroblasten

Die V79-Zellen stammen aus dem Lungengewebe des chinesischen Hamsters. Seit 1986 werden sie auf gentechnologischem Wege mit Enzymen von Ratten und Menschen ausgestattet, um bei toxikologischen Untersuchungen vom Metabolismus abhängige Effekte unter definierten Bedingungen untersuchen zu können (Doehmer *et al.*, 1994).

- Smulow-Glickman-Zellen (S-G)

Die S-G-Zelllinie stammt aus menschlichem Gingivaepithel.

2.2. Verwendete Testverfahren und Analysemethoden

In den zitierten Untersuchungen wurden folgende Testverfahren verwendet:

- Annexin-Test

Während der Apoptose wird das Phospholipid Phosphatidylserin (PS), welches sich normalerweise auf der Innenseite der Zellmembran befindet, auf die Außenseite der Zellmembran transloziert. Annexin V bindet dann an PS, das nach entsprechender Markierung durchflusszytometrisch nachgewiesen werden kann.

- APOPercentageTM-Test

Der APOPercentageTM-Test der Firma Biocolor beruht auf demselben Prinzip, wie der Annexin-Test.

- DCFH-DA-Test

DCFH-DA steht für Dichlorofluorescein-Diacetat. Dieser Test wird für die Bestimmung der ROS-Produktion (ROS = reaktive Sauerstoffspezies) in einer Probe verwendet.

- Durchflusszytometrie (Flow Cytometry)

Bei dieser Methode werden Zellen nach Passieren eines Laserstrahls zu einer Emission bestimmter optischer Signale angeregt und von einem Detektor erfasst. Ein Farbstoff wird von den Zellen aufgenommen. Die Identifizierung der Zellen (z.B. nach Größe) erfolgt aufgrund ihrer Fluoreszenz.

- FEISEM-Analyse (field emission in-lens scanning electron microscopy)

Die Untersuchung der Proben erfolgt mit einem speziellen Elektronenmikroskop.

- Glutathionreduktase-Recycling-Assay

Dieses Verfahren ist eine enzymatische Recycling-Methode, die Glutathionreduktase zur quantitativen Bestimmung von Glutathion verwendet. Dieses wird in der Probe eingefärbt und photometrisch ausgewertet.

- HPLC (Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie)

HPLC steht für High Pressure Liquid Chromatography. Es handelt sich dabei um eine Sonderform der Säulenchromatographie zur Auftrennung und Analyse von Stoffgemischen.

- LDH-Test

LDH steht für Laktatdehydrogenase. Gemessen wird bei diesem Test die Aktivität der Laktatdehydrogenase, welche aus dem Zytosol von beschädigten Zellen an das Zellkulturmedium abgegeben wird. In zwei Redoxreaktionen entsteht ein rotgefärbtes Formazan-Salz. Die Messung wird kolorimetrisch mit einem Photometer bei einer Wellenlänge um die 500 nm durchgeführt.

- MBCL-Test

MBCL steht für Monochlorobiman. Bei dieser Methode geht Monochlorobiman eine Reaktion mit Glutathion ein und bildet ein fluoreszierendes Konjugat. Anhand der Intensität der Fluoreszenz kann so der Glutathiongehalt der Probe ermittelt werden.

- Mikronukleustest

Der Mikronukleustest gibt Aufschluss über genotoxische Effekte in einer Probe. Als Mikronukleus bezeichnet man kleine zusätzliche Kerne, welche während der Zellteilung neben den eigentlichen Zellkernen entstehen. Diese Mikrokerne werden dann ausgezählt und geben Auskunft über eine DNA-Beschädigung.

- MTT-Test

MTT steht für den Farbstoff 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid. Durch Reduktion entsteht aus diesem gelben Farbstoff ein blau-violettes Formazan-Derivat. Dies geschieht durch mitochondriale Dehydrogenase.

Somit ist die Verfärbung ein Indiz für Zellvitalität. Die Auszählung erfolgt spektrophotometrisch bei einer Wellenlänge von 570 nm.

- NMR-Spektroskopie

NMR steht für "Nuclear Magnetic Resonance". Die Kernspinresonanzspektroskopie ist eine Untersuchungsmethode zur Strukturaufklärung organischer Moleküle.

Sie basiert auf der kernmagnetischen Resonanz, die entsteht, wenn Atomkerne in einem statischen Magnetfeld einem zweiten oszillierenden Magnetfeld ausgesetzt werden. Die dadurch entstehende Resonanz der Atomkerne kann gemessen werden. Die NMR-Spektroskopie kann somit für den Nachweis von Inhaltsstoffen in einer Probe, sowie für die Bestimmung von Molekülstrukturen verwendet werden.

- Spektrophotometrie

Darunter versteht man die Konzentrationsbestimmung einer lichtabsorbierenden Substanz in einer flüssigen, festen oder gasförmigen Phase durch eine Vergleichsmessung mit einer Probe bekannter Konzentration. Je nach Stoff wird Licht bestimmter Wellenlänge von der Probe absorbiert. Die Intensität dieser Absorption gibt Aufschluss über die Konzentration des Stoffes.

- XTT-Test

XTT steht für 2,3-Bis(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-5-((Phenylamino)Carbonyl)-2H-Tetrazoliumhydroxid. Es ist ein, dem MTT ähnliches, Tetrazoliumsalz und wird beim XTT-Test in lebenden Zellen in ein oranges Formazan umgewandelt. Der Test wird daher häufig für die Bestimmung der Überlebensrate einer Probe angewendet.

2.3. Einflüsse auf Testergebnisse und klinische Situation

Eine weitere wichtige Rahmenbedingung von Toxizitätstests ist ein geeignetes Testverfahren. Da die Testung von Adhäsivbestandteilen ausschließlich in-vitro stattfindet, wurde in der Literatur auf verschiedene standardisierte Systeme zurückgegriffen. Um der in-vivo Situation möglichst nahe zu kommen wurden immer wieder kleine Modifikationen angedacht.

2.3.1. Interaktion von Zellkultur und Probe

Die internationale Organisation für Standardisierung empfiehlt, nicht nur die Endprodukte zu testen, sondern auch die Extrakte dieser Produkte. Daher ist es notwendig, ein System zu verwenden, welches die dynamische Abgabe und den indirekten Zellkontakt simuliert. Zum Beispiel kann man sich der indirekten Abgabe von Monomeren in-vivo, mittels eines Filterpapiers oder einer Agarplatte zwischen Zellkultur und Probe, annähern (Hanks *et al.*, 1996).

Auch die Lagebeziehung von Zellkultur und Probe hat einen Einfluss auf das Testergebnis. Um dies zu demonstrieren, haben Tang *et al.* (1999) in einem Toxizitätstest von verschiedenen Adhäsiven die Zellkultur einmal direkt auf die Probe gelegt und in einer umgekehrten Versuchsanordnung die Probe direkt auf die Zellkultur. Interessanterweise waren nach einem Tag diejenigen Proben toxischer, welche unter den Zellkulturen platziert waren. Diese Tatsache wurde vom Autor nicht näher kommentiert.

2.3.2. Aussetzungszeit und Konzentration

Eines der wichtigsten Kriterien in der Toxikologie ist die Frage, wie lange und in welcher Konzentration das Zellsystem der toxischen Substanz ausgesetzt wird. Das hängt auch davon ab, ob Grenzwerte gefunden werden sollen oder eine klinische Situation simuliert werden soll. Da die Auswaschung von allen Monomeren in relativ geringen Mengen stattfindet, ist zumindest eine akute Toxizität auszuschließen (Geurtsen, 1988). Jedoch können die lokalen Auswirkungen sehr vielseitig sein.

Ein wichtiger Wert in der Toxikologie von Monomeren ist der TC_{50} -Wert. TC steht für „toxic concentration“. Er gibt die Konzentration an, bei der 50 Prozent der Zellen in der Probe einen, oder mehrere toxische Effekte erkennen lassen. Die Meisten, der im weiteren Verlauf zitierten Untersuchungen greifen in der Auswertung auf diesen Wert zurück.

Ferracane et al. (1990) waren der Meinung, dass die initiale Monomerabgabe innerhalb weniger Tage abgeschlossen sei und somit die meisten toxischen Effekte innerhalb dieser ersten Tage wirksam werden. Andere Autoren wiederum fanden in ihren Untersuchungen zytotoxische Konzentration in einem Zeitraum von bis zu acht Wochen (Schedle *et al.*, 1998; Bouillaguet *et al.*, 2002). Diese Werte sind stark abhängig von den gewählten Testmethoden (Moharamzadeh *et al.*, 2007).

Man kann also sagen, dass je nach Methode und Zellkultur messbare Monomer-Konzentrationen auf eine sehr große Zeitspanne verteilt sein können.

2.3.3. Chemische Eigenschaften

Während die zwei vorangehenden Faktoren die Unterschiede in Untersuchungsmethode und Anwendung prothetischer Kleber betreffen, sollte nun ein Blick auf die Unterschiede zwischen den Monomeren geworfen werden. Neben der Molekülstruktur sind auch die zwei Parameter Molekularmasse und Hydrophilie hauptverantwortlich für die unterschiedliche toxische Potenz verschiedener Monomere.

2.3.3.1. Molekülstruktur

Yoshii (1997) untersuchte 39 Acrylate und Methacrylate bezüglich ihrer Toxizität. Dabei erkannte er, dass Acrylate einen größeren toxischen Effekt hatten als Methacrylate. Eine Hydroxylgruppe verstärkt die Toxizität beider Gruppen weiter. Weiters steigt die Toxizität mit der Größe der Alkylkette.

2.3.3.2. Molekularmasse

Viele Autoren betonen, dass die Toxizität einzelner Monomere stark von der molekularen Masse abhängig ist. Je größer die Molekularmasse, desto größer ist auch die Zytotoxizität der Substanz (Geurtsen *et al.*, 1998; Issa *et al.*, 2004; Reichl *et al.*, 2006). Die meisten Autoren, welche in ihren Untersuchungen verschiedene Monomere verwendeten, kamen zur selben Rangordnung der Toxizität. Für die vier häufigsten Monomere ergab sich meist folgende Rangordnung: HEMA < TEGDMA < UDMA < Bis-GMA, wobei Bis-GMA die größte Molekularmasse aufweist. Issa *et al.* (2004) beschrieben die negative Korrelation zwischen den TC₅₀-Werte von HEMA, TEGDMA und Bis-GMA und den jeweiligen Molekularmassen (Tabelle 6).

Tanaka *et al.* (1991) entdeckten, dass Monomere mit einer kleinen Molekularmasse (z.B. HEMA) in größeren Mengen ausgewaschen werden als solche mit großer Molekularmasse (z.B. Bis-GMA). Da Monomere also nicht im gleichen Ausmaß aus Adhäsivsystemen und Befestigungskomposits ausgewaschen werden, darf man die Rangordnung der Molekularmasse nicht mit der Gefährdung für die Zellen des Parodonts gleichsetzen. Diese

Tatsache macht deutlich, dass die Toxikologie von Monomeren eine multifaktorielle Wissenschaft ist.

2.3.3.3. Lipophilie

Schon 1972 wurde darauf hingewiesen, dass die akute Toxizität von Acrylaten und Methacrylaten mit der Lipophilie korreliert (Lawrence *et al.*, 1972).

Yoshii (1997) beschreibt eine negative Korrelation zwischen dem IC₅₀-Wert und dem logP-Wert. Der IC₅₀-Wert (IC steht für „inhibition concentration“) beschreibt diejenige Monomerkonzentration, welche benötigt wird, um im MTT-Test die Formazan-Produktion um 50 Prozent herabzusetzen. Je höher der IC₅₀-Wert, desto geringer ist also die Toxizität. Der logP-Wert beschreibt die Aufteilung eines Monomers auf eine Octanol-Phase und eine wässrige Phase:

$$\log P = \log \frac{C_{\text{Octanol}}}{C_{\text{Wasser}}}$$

Ein Blick auf die Werte dreier Monomere soll diese negative Korrelation näher bringen (Tab. 7).

Der Grund für die Steigerung der Toxizität mit steigender Lipophilie dürfte darin liegen, dass lipophile Monomere die Lipidschichten von Zellmembranen umbilden können und dadurch die Permeabilität der Zellmembran beeinflussen können (Lefebvre *et al.*, 1996). Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird darauf näher eingegangen.

An dieser Stelle soll aber noch einmal bekräftigt werden, dass die hohe Toxizität von lipophilen, massigen Monomeren wie Bis-GMA durch die relativ geringe Auswaschung relativiert wird.

2.3.4. Art der Aushärtung

Wie schon zuvor beschrieben, steigt die Toxizität von Adhäsiven und Kompositen mit der Anzahl der freien Monomere. Daher spielt die korrekte Aushärtung eine wichtige Rolle in der Verarbeitung dieser Materialien. Es ist daher verständlich, dass dualhärtende Systeme (licht- und selbsthärtend) im Allgemeinen weniger toxisch wirken als selbsthärtende (chemisch härtende) Systeme. Es wurde weiters entdeckt, dass die Dualhärtung, in Hinblick auf die Polymerisation, meist bessere Ergebnisse liefert als die reine Lichthärtung.

Caughman *et al.* (2001) testeten sechs dualhärtende Befestigungskomposite mit verschiedenen Aushärtungsmethoden. Als Kontrolle verwendeten sie jeweils die Dualhärtung durch eine 0,08 mm starke Polyesterfolie. Bei dem Befestigungskomposit Calibra™ (Dentsply DeTrey) führte die Dualhärtung (40 Sekunden Lichthärtung) durch eine 3mm dicke Keramik zu einer Monomerkonversion von 97 Prozent im Vergleich zur Kontrolle. Wurde jedoch der Aktivator für die chemische Härtung nicht beigemischt, betrug die Konversion nur noch 74 Prozent. Beim Produkt Nexus® (Kerr) entsprach die Konversion bei Dualhärtung der Kontrolle und ohne Aktivator 90 Prozent. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass die Konversion nach Dualhärtung im Normalfall größer ist als nach reiner Lichthärtung. Außerdem empfehlen sie, den Einsatz von rein lichthärtenden Zementen auf Situationen zu beschränken, in denen das darüber liegende Material eine Schichtdicke von weniger als 3mm aufweist.

Auch die Wahl der Polymerisationslampe und die Dauer ihrer Anwendung wird oft diskutiert. Am Häufigsten kommen Halogenlampen zum Einsatz, jedoch ist die LED-Technik („light emitting diode“) immer mehr im Vormarsch (Spagnuolo *et al.*, 2004). Ergün *et al.* (2007) verglichen die Auswirkungen dieser beiden Techniken auf die zytotoxischen Effekte von sechs verschiedenen Adhäsivsystemen. Bei fünf dieser Systeme ergaben sich höhere Überlebensraten nach Aushärtung mittels der LED-Lampe. Man kann also davon ausgehen, dass die LED-Technik eine vernünftige Alternative zur altbewährten Halogenlampe darstellt.

2.3.5.Sauerstoffinhibitionsschicht

Eine klinische Besonderheit stellt die Sauerstoffinhibitionsschicht dar. Es handelt sich um eine Schicht von unpolymerisierten Monomeren auf der Oberfläche des Adhäsivs oder Komposits. Sie entsteht aufgrund des Sauerstoffzutrittes an der Oberfläche des auszuhärtenden Materials. Klinisch sollte diese Schicht entfernt werden (Swift *et al.*, 1994). Um die Auswirkungen des Verbleibs dieser Schicht zu testen, führten Franz *et al.* (2008) einen Toxizitätstest einmal in Anwesenheit von Sauerstoff und einmal unter Sauerstoffentzug durch. Die Ergebnisse zeigten, dass der Sauerstoffentzug zu einem Konversionsverlust zwischen 37,9% und 46,2% führte.

2.3.6. Extraktionsmedium

Das meistverwendete Medium in Studien zur Monomertoxizität ist zweifellos Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), benannt nach dem Biologen Renato Dulbecco und dem Mediziner Harry Eagle. Neben Glucose enthält es hauptsächlich anorganische Salze, Aminosäuren und Vitamine (www.sigmaaldrich.com).

Aufgrund der zahlreichen organischen und anorganischen Substanzen in einem solchen Nährmedium kann es zu einer Beeinflussung der Ergebnisse kommen. Moharamzadeh *et al.* (2007) verwendeten beispielsweise für einen Toxizitätstest mit TEGDMA das Medium DMEM einmal mit und einmal ohne fetalem Kälber-Serum. Sie beobachteten, dass bei Verwendung des serumhaltigen Mediums, nach 7 Tagen TEGDMA in der HPLC nicht mehr aufzufinden war. Dies führten die Autoren darauf zurück, dass TEGDMA an Serum-Albumin bindet und damit dessen Wert im Chromatogramm erhöht. Dies zeigt, dass das Extraktionsmedium unter Umständen zu falsch-negativen toxikologischen Werten führen kann.

Lee *et al.* (1998) empfehlen eine beständige Abgabe an ein und dasselbe Medium. Mazzaoui *et al.* (2002) sind der Meinung, dass bei einem Wechsel des Mediums zwischen den Messungen, die Konzentrationen der aliquoten Teile zu gering wären, um signifikante Änderungen der Elutionsrate in einem bestimmten Zeitraum beobachten zu können. Außerdem sind die Autoren der Meinung, dass der Wechsel des Mediums eine höhere Fehleranfälligkeit und eine reduzierte Präzision bedeuten würde.

Das Streben nach Berücksichtigung all dieser Punkte führt zu dem Schluss, dass idealerweise eine Kombination verschiedener Testmethoden und Versuchsanordnungen durchgeführt werden sollte, um möglichst relevante Ergebnisse zu erhalten. Tang et al. (1999) beispielsweise empfehlen sensible Methoden wie den ^3H -TdR-Test für das Festlegen von Sicherheitsbereichen während der weniger sensible MTT-Test bessere Information über Toxizität liefert.

3. Ergebnisse

3.1. Zytotoxizität verschiedener Monomere

Ziel der Studien: Untersuchung der Zytotoxizität von Monomeren. Vergleich der zytotoxischen Potentiale.

Proben: BisGMA, GMA, HEMA, TEGDMA, UDMA

Zellkulturen: 3T3-Fibroblasten, humane Gingivafibroblasten, V79-Fibroblasten

Testmethoden: LDH-Test, MTT-Test, XTT-Test

Ergebnis:

- Folgende Reihung wurde für das zytotoxischen Potential von vier häufig in Adhäsivsystemen beinhaltenen Monomeren gefunden: HEMA < TEGDMA < UDMA < Bis-GMA

Geurtsen et al. (1998) testeten die zytotoxischen Auswirkungen verschiedener Monomere auf 3T3-Fibroblasten, sowie auf eine HGF-Probe. Nach 24 Stunden Inkubation mit den 3T3-Fibroblasten ergab sich folgende Reihung bezüglich der Zytotoxizität, in der Klammer stehen die ED₅₀-Werte in mM: Die ED₅₀-Werte stehen hier für diejenige Dosis, welche die Zahl der überlebenden Zellen auf 50% der Kontrolle reduziert haben.

HEMA (1,77) < TEGDMA (0,19) < Bis-GMA (0,11) < UDMA (0,10). Nach 48 Stunden Inkubation mit der HGF-Probe ergab sich folgende Reihung bezüglich der Zytotoxizität: HEMA (2,38) < TEGDMA (0,23) < UDMA (0,13) < Bis-GMA (0,10).

Issa et al. (2004) verwendeten den LDH-Test und den MTT-Test in Verbindung mit einer HGF-Probe für ihren Toxizitätstest verschiedener Monomere. Für den LDH-Test ergab sich folgende Reihung bezüglich der Zytotoxizität (in Klammer sind in Folge die TC₅₀-Werte in mM angegeben): HEMA (5,8) < TEGDMA (1,78) < Bis-GMA (0,32). Für den

MTT-Test ergab sich folgende Reihung bezüglich der Zytotoxizität: HEMA (6,7) < TEGDMA (2,08) < Bis-GMA (0,36). Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

Lee et al. (2006) verwendeten die Monomere GMA, TEGDMA und HEMA für ihren Zytotoxizitätstest. Als Probe kamen V79-Fibroblasten zum Einsatz. Der MTT-Test ergab für alle drei Monomere einen Dosis-abhängigen Effekt. Nach 24 Stunden Inkubation ergab sich folgende Reihung bezüglich der Zytotoxizität: HEMA (5,8) < TEGDMA (2,0) < GMA (0,49).

Reichl et al. (2006) verwendeten eine HGF-Probe und den LDH-Test für ihren Toxizitätstest von vier verschiedenen Monomeren. Für das zytotoxische Potential nach 24 Stunden Inkubation ergab sich folgende Reihung (in Klammer die relative Toxizität): HEMA (1) < TEGDMA (4) < UDMA (47) < BisGMA (136). Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

In einem weiteren Test verwendeten Reichl et al. (2006) wieder eine HGF-Probe, diesmal unter Anwendung des XTT-Tests. Für das zytotoxische Potential nach 24 Stunden Inkubation ergab sich folgende Reihung (in Klammer die relative Toxizität): HEMA (1) < TEGDMA (3) < UDMA (109) < BisGMA (133). Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

Stanislawski et al. (2003) testeten TEGDMA in Verbindung mit einer HGF-Probe. Der MTT-Test ergab einen TC_{50} -Wert von $1,2\text{mM} \pm 0,9$ ($n = 20$). Ausserdem beschrieben sie einen proportionalen Zusammenhang zwischen dem Anstieg der TEGDMA-Konzentration und der Zytotoxizität.

3.2. Glutathionverminderung durch Monomere

Ziel der Studien: Untersuchung der Auswirkungen verschiedener Monomere auf den Glutathiongehalt der Zellkulturen.

Proben: TEGDMA, HEMA, UDMA, BisGMA

Zellkulturen: 3T3-Fibroblasten, humane Gingivafibroblasten, 11Lu-Zellen, L2-Zellen

Testmethoden: Glutathionreduktase-Recycling-Assay, Monobromobiman-Methode, NMR-Spektroskopie, LDH-Test

Ergebnisse:

- HEMA, TEGDMA und UDMA induzieren eine signifikante Glutathionverminderung in Fibroblasten:

Engelmann et al. (2001) testeten den Einfluss von TEGDMA auf die intrazelluläre GSH-Konzentration von 3T3-Fibroblasten. Die TEGDMA-Konzentration entsprach dem, in einem Vorversuch ermittelten, ED₂₀-Wert (0,5mM). Nach 24 Stunden wurde eine Glutathionreduktion von 85 ± 15 % registriert.

Walther et al. (2004) testeten HEMA und TEGDMA in Verbindung mit 11Lu-Zellen und L2-Zellen, wobei beide Zelllinien ähnliche Ergebnisse lieferten. Nach 16 Stunden kam es zu einem nahezu kompletten GSH-Verlust bei 0,2 – 0,5mM HEMA bzw. 0,02 – 0,2 mM TEGDMA. Das Verhältnis GSSG/GSH wurde durch den GSH-Verlust leicht erhöht.

Lefeuvre et al. (2004) testeten die Auswirkungen von TEGDMA auf eine HGF-Probe. Es kam zu einem starken, zeitabhängigen, GSH-Abfall bei einer TD₅₀-Konzentration von 0,3mM. Nach 15 Minuten kam es zu einem Abfall von 17%, nach einer Stunde 84% und nach drei Stunden zu einer fast vollständigen Erschöpfung. Nach einstündiger direkter Inkubation von TEGDMA mit GSH (zellfreies System) kam es zu einem 25-prozentigen GSH-Abfall.

Lefevre et al. (2005) testeten wieder die Auswirkungen von TEGDMA auf eine HGF-Probe. Die TEGDMA-Konzentration betrug 0,5mM (TC₅₀-Wert). Hier kam es zu einem GSH-Abfall von 32% nach 15 Minuten ($p < 0,05$) und einer vollständigen Erschöpfung nach einer Stunde Inkubationszeit ($p < 0,01$).

Auch Stanislawski et al. (2003) verwendeten TEGDMA und eine HGF-Probe. Die TEGDMA-Konzentration betrug 1,2mM (TC₅₀-Wert). Nach 30 Minuten kam es zu einem 30-prozentigen Abfall, nach vier Stunden kam es zu einer nahezu vollständigen Erschöpfung. Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

Volk et al. (2006) testeten die Auswirkungen von drei verschiedenen Methacrylaten (UDMA, TEGDMA, HEMA) auf den GSH-Gehalt einer HGF-Probe bei jeweils sechs verschiedenen Konzentrationen. Die Inkubationszeit betrug jedesmal vier Stunden. UDMA verringerte den GSH-Gehalt am stärksten. Hier wurde ab einer Konzentration von 0,05 mM ein signifikanter Abfall beobachtet (. Bei TEGDMA war dies ab 0,1mM der Fall und bei HEMA erst ab 0,5mM. Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,01$).

- Bis-GMA induziert eine signifikante Glutathionverminderung in Fibroblasten:

Bei Engelmann et al. (2004) führte Bis-GMA nach 4 Stunden Inkubation mit HGF und einer Konzentration von 0,1mM zu einer Reduzierung des GSH-Gehaltes auf 69% bzw. bei 0,25mM auf 53%. Nach 18 Stunden (bei 0,1mM) bzw. 24 Stunden (0,25mM) war der GSH-Vorrat vollständig aufgebraucht. Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

Zusammenfassend ergibt sich aus den Studien folgende Reihung bezüglich des Potentials zur Glutathionverminderung: HEMA < TEGDMA < UDMA < Bis-GMA

3.3. Apoptose durch Glutathionverminderung und ROS

Ziel der Studien: Untersuchung der apoptotischen Auswirkungen von Monomeren auf Zellkulturen.

Proben: Bis-GMA, TEGDMA

Zellkulturen: humane Gingivafibroblasten

Testmethoden: Annexin-Test, APOPercentage™-Test

Ergebnisse:

- Bis-GMA und TEGDMA induzieren apoptotische Prozesse in humanen Gingivafibroblasten.

Janke et al (2003) testeten die apoptotischen Auswirkungen von TEGDMA auf eine HGF-Probe. Im APOPercentage™-Test zeigten die Zellen nach 24 Stunden Inkubation mit 5mM TEGDMA typische Anzeichen von Apoptose, wie ein verkleinertes Zellvolumen und eine Chromatin-Verdichtung. Im Annexin-Test waren nach 24 Stunden Inkubation mit 5mM, bzw. 7,5mM 28%, bzw. 49% der Zellen apoptotisch. Die Ergebnisse waren signifikant ($p < 0,05$).

Engelmann et al (2004) testeten die apoptotischen Auswirkungen von Bis-GMA auf eine HGF-Probe. Im Annexin-Test waren 50% der Zellen nach 24 Stunden Inkubation mit 0,1mM Bis-GMA apoptotisch. Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

3.4. Auswirkungen auf Aktivität, Stoffwechsel und Struktur der Zellen

Ziel der Studien: Untersuchung der Auswirkungen von Monomeren auf Struktur und Energiestoffwechsel in verschiedenen Zellkulturen.

Proben: HEMA, TEGDMA

Zellkulturen: S-G-Zellen, humane Gingivafibroblasten, 3T3-Fibroblasten

Testmethoden: FEISEM-Analyse, NMR-Spektroskopie

Ergebnisse:

- HEMA verändert die Struktur von Fibroblasten:

Chang et al. (2005) beobachteten Strukturveränderungen in S-G-Zellen nach Behandlung mit 5mM HEMA für 24 Stunden. Die zuvor quaderförmigen Zellen nahmen unregelmäßige Formen an. Nach Behandlung mit 10mM HEMA verstärkte sich der Effekt und die Zellbegrenzungen wurden undeutlich.

Falconi et al. (2007) beschrieben leichte Oberflächenveränderungen an humanen Gingivafibroblasten nach 72-stündiger Einwirkung von HEMA. Nach 96 Stunden war auch hier eine unregelmäßige Zellstruktur zu beobachten.

- Monomere beeinflussen den Energiestoffwechsel von Fibroblasten

Engelmann et al. (2001) beobachteten nach der Inkubation von 3T3-Fibroblasten mit TEGDMA, dass das Verhältnis PCr/NTP um 23% und das Verhältnis NTP/Gesamtphosphat um 17% im Vergleich zur Kontrolle verringert wurde.

3.5. Mutagene Wirkung von Monomeren

Ziel der Studien: Untersuchung der Auswirkungen von Monomeren auf das Genmaterial in Fibroblasten. Zusammenhang mit ROS und Apoptose.

Proben: TEGDMA, HEMA

Zellkulturen: V79-Fibroblasten, SM 10-12-Zellen

Testmethoden: Mikronukleustest, Durchflusszytometrie

Ergebnisse:

- TEGDMA und HEMA induzieren Mikronuklei in Fibroblasten:

Lee et al. (2006) testeten die mutagene Wirkung von TEGDMA und HEMA auf V79-Fibroblasten mittels des Mikronukleustests. Es wurden jeweils Objektträger mit 1000 V79-Fibroblasten untersucht. Für 1mM TEGDMA ergab sich ein Mittelwert von 160 Mikronuklei, was dem 22-fachen der Kontrolle entsprach. HEMA zeigte eine geringere mutagene Wirkung. Hier wurde selbst bei 5mM ein Mittelwert von 76,3 gemessen. Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

Schweickl et al. (1999) führten ebenfalls den Mikronukleustest, mit derselben Versuchsanordnung wie Lee et al. (2006), durch, jedoch verwendeten sie nur TEGDMA. In zwei voneinander unabhängigen Durchgängen ergaben sich, bei einer Konzentration von 1mM TEGDMA, Mittelwerte von 128,3 bzw. 202,7.

- TEGDMA und HEMA hemmen Zellproliferation und Zellzyklus

Samuelsen et al. (2008) untersuchten die Zelldichte von SM 10-12-Zellen, welche für 24 Stunden mit 600 μ M HEMA inkubiert wurden. Da kein Zelltod zu beobachten war, gingen sie davon aus, dass eine Hemmung der Zellproliferation stattgefunden hat. Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

Schweickl et al. (2007) zeigten, dass HEMA und TEGDMA nach Inkubation mit V79-Fibroblasten den Ablauf des Zellzyklus stören. Bei 1,5mM TEGDMA etwa wurden 60% der Zellen in der G2-Phase des Zyklus festgehalten, während sich nur noch wenige Zellen in der G1-Phase befanden. Bei einer Konzentration von 3mM hingegen gab es kein gehäuftes Vorkommen von Zellen in der G2-Phase, was darauf zurückzuführen ist, dass bei höheren Konzentrationen toxische Effekte zu einer geringen Zellvitalität führen. Das Ergebnis war signifikant.

3.6. Die Schutzwirkung von Antioxidantien

Ziel der Studien: Evaluierung der schützenden Wirkung verschiedener Antioxidantien

Proben: TEGDMA, HEMA

Zellkulturen: 11Lu-Zellen, humane Gingivafibroblasten, L2-Zellen

Testmethoden: DCFH-DA-Test, mBCL-Test

Ergebnisse:

- NAC, Ascorbat und Trolox stellen einen wirksamen Schutz vor Zytotoxizität und monomer-induzierter Glutathionverminderung dar. Der Schutz gegen die erhöhte ROS-Bildung ist weniger effektiv.

Stanislawski et al. (2003) testeten die Schutzwirkung dreier verschiedener Antioxidantien in Verbindung mit einer HGF-Probe. Für die Untersuchung der Auswirkungen auf die Glutathionverminderung kam der mBCL-Test zur Anwendung, während für Beleuchtung der Auswirkungen auf die ROS-Bildung der DCFH-DA Test verwendet wurde. Die Inkubation von 1-5mM NAC mit TEGDMA in TC_{50} -Konzentration für sechs Stunden führte zu einer kompletten Wiederherstellung der Lebensfähigkeit der Zellen. Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

Ascorbat und Trolox zeigten eine konzentrationsabhängige Schutzwirkung gegen TEGDMA. 50 μ M Trolox boten einen nahezu vollständigen Schutz vor Toxizität ($p < 0,001$), während dies bei Ascorbat erst bei einer Konzentration von 250 μ M der Fall war ($p < 0,05$).

Alle drei Antioxidantien erhöhten den intrazellulären GSH-Spiegel.

Die TEGDMA-induzierte ROS-Bildung wurde durch 5-10 μ M Trolox komplett verhindert. Die Behandlung von Zellen mit 0,2 mM Ascorbat hingegen veränderte die ROS-Bildung nicht signifikant.

Bei Walther et al. (2004) wurde HEMA- und TEGDMA-induzierte Methionininkorporation in L2-Zellen durch Vorbehandlung mit Vitamin-C, Vitamin-E und Vitamin-A signifikant vermindert.

HEMA-induzierte Glutathionverminderung in 11Lu-Zellen wurde nach Vorbehandlung mit Vitamin-C und Vitamin-E signifikant vermindert. Bei TEGDMA-induzierter Glutathionverminderung war dies nur nach Vorbehandlung mit Vitamin-C der Fall.

Spagnuolo et al. (2006) testeten die Wirkung von NAC in Zusammenhang mit HEMA und einer HGF-Probe. 5-10mM NAC konnten bei HEMA-Konzentrationen unter 12mM (für 24 Stunden) die mitochondriale Aktivität wiederherstellen. 10mM NAC konnten bei sämtlichen HEMA-Konzentrationen (0-12mM für 24 Stunden) einen Komplettschutz vor Zytotoxizität bieten. Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

Um die ROS-Produktion, die durch 10mM HEMA induziert wurde, nach 4 Stunden Inkubation zu verhindern, wurden 10mM NAC benötigt. Nach 6 Stunden war dies auch mit höheren Konzentrationen nicht mehr möglich. Interessanterweise erhöhte der Zusatz von 1mM NAC bei einer Inkubationszeit von 6 Stunden den ROS-Spiegel sogar mehr, als dies ohne NAC der Fall war. Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

4. Diskussion

Entsprechend der wachsenden Verbreitung der Adhäsivtechnik, werden immer mehr Studien durchgeführt, in denen die Toxizität prothetischer Kleber untersucht wird. Besonderes Augenmerk gilt den Monomeren, die das größte Risiko für das parodontale Gewebe darstellen.

Für die vier häufigsten in Adhäsivsystemen beinhalteten Monomere wurde in zahlreichen Untersuchungen folgende Reihung bezüglich ihrer Zytotoxizität gefunden: HEMA < TEGDMA < UDMA < Bis-GMA. In der Literatur werden mehrere Mechanismen beschrieben, die zu toxischen Effekten in Zellen des parodontalen Gewebes führen können (Geurtsen *et al.*, 1998; Issa *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2006; Reichl *et al.*, 2006).

Der wichtigste Mechanismus läuft über die Glutathionverminderung ab.

Die Bedeutung von Glutathion (GSH) in der Evaluierung von Toxizität rechtfertigt es, dieses Tripeptid näher zu beleuchten. Dabei werden drei unterschiedliche Prozesse beschrieben. Die direkte Interaktion von Monomeren mit GSH, die Oxidation von GSH durch ROS und die Interaktion mit Glutathion-Transferase.

Engelmann *et al.* (2001) testeten den Einfluss von TEGDMA auf die intrazelluläre GSH-Konzentration permanenter 3T3-Fibroblasten. Mittels NMR-Spektroskopie wurde festgestellt, dass bereits subletale Konzentrationen an TEGDMA einen nahezu vollständigen Aufbrauch an intrazellulärem GSH zur Folge hatte. Das wurde sowohl in der Nährlösung, als auch im Zytosol und in Membranlipiden beobachtet. Es wurde angenommen, dass dies die Folge einer Michael-Addition von TEGDMA und GSH sei (Abb. 3). Die Autoren schlossen daraus, dass bereits niedrige Konzentrationen das Detoxifikationspotential der Zelle stark beeinflussen.

Walther *et al.* (2004) beschrieben, dass GSH allein kein guter Parameter für Toxizität sei. Vielmehr sollte das Verhältnis GSSG/GSH beobachtet werden. In ihrer Studie konnten sie keinen Anstieg an GSSG verzeichnen, jedoch schien die GSSG-Reduktase-Aktivität erhöht zu sein. Es dürfte sich dabei um einen Kompensationsmechanismus handeln, welcher, zumindest bei niedrigen Monomerkonzentrationen, versucht, das Verhältnis GSSG/GSH im Gleichgewicht zu halten. Die Autoren beschreiben, dass ein Abfall des Glutathiongehaltes noch kein toxisches Ereignis darstellt. Erst ein Abfall weit unter 50 Prozent der Kontrollgruppe ist als ein solches zu werten.

Einen besonders schnellen Abfall des GSH-Gehaltes bewirkt Bis-GMA. Bereits 0,1mM reichten aus, den Gehalt so stark zu senken, dass eine beginnende Apoptose in

einer HGF-Probe zu beobachten war (Engelmann *et al.*, 2004). Im Gegensatz dazu wurde für ein ähnliches Ergebnis in einer weiteren Studie (Janke *et al.*, 2003) mit der gleichen Zelllinie die 50-fache TEGDMA-Konzentration benötigt. Auf die Apoptose als Folge der Glutathionverminderung wird in Folge noch näher eingegangen.

Lefeuvre *et al.* (2004) testeten die Auswirkungen von TEGDMA auf eine HGF-Probe mittels Glutathionreduktase-Recycling-Assay. Dabei kam es zu einem starken GSH-Abfall. Nach einer Stunde betrug dieser 85%. Interessanterweise kam es nach einer ebenfalls einstündigen, jedoch direkten Inkubation von TEGDMA mit GSH (zellfreies System) nur zu einem 25-prozentigen GSH-Abfall. Die Autoren gingen daher davon aus, dass Glutathion-Transferase (GST) am GSH-Abfall beteiligt ist. Dabei handelt es sich um ein Enzym, das die Konjugation von reduziertem Glutathion an diverse Substrate katalysiert (Zimniak *et al.*, 1994).

Lefeuvre *et al.* (2005) testeten wieder die Auswirkungen von TEGDMA auf eine HGF-Probe. Dabei verwendeten sie eine mBCL-Lösung um den GSH-Gehalt fluorometrisch zu bestimmen. Die TEGDMA-Konzentration betrug 0,5mM (TC₅₀-Wert). Es kam zu einer vollständigen GSH-Erschöpfung nach einer Stunde Inkubationszeit. Stanislawski *et al.* (2003) lieferten zuvor mit der gleichen Versuchsanordnung ähnliche Ergebnisse.

Volk *et al.* (2006) verwendeten die Monobromobiman-Methode (mBBr) zur Bestimmung der intrazellulären GSH-Konzentration. Sie testeten die drei Methacrylate UDMA, TEGDMA und HEMA. Für das Potential, Glutathion zu vermindern, ergab sich folgende Reihung: HEMA < TEGDMA < UDMA.

Diese Reihung wird auch durch die Ergebnisse der zuvor genannten Untersuchungen unterstützt, wobei BisGMA über das größte Potential zur Verminderung von Glutathion verfügt.

Die Art und Weise, wie es zur Glutathionverminderung kommt wird also in der Literatur unterschiedlich interpretiert und ist noch nicht vollständig geklärt. Die wichtigste Schlussfolgerung aller Autoren ist jedoch, dass Monomere, in der Adhäsivtechnik speziell TEGDMA, den GSH-Gehalt verringern, wodurch es zu Zellschädigungen kommt, welche in Folge näher besprochen werden.

Sowohl die Glutathionverminderung, als auch die Bildung von ROS sind häufige Ursachen für apoptotische Prozesse in Gingivafibroblasten.

Die Überproduktion von ROS stellt eine der größten Gefährdungen des Zellmetabolismus dar (Chang *et al.*, 2005). Die Literatur beschreibt den engen Zusammenhang zwischen der

Verminderung von Glutathion und der Bildung von ROS, bzw. der daraus resultierenden Apoptose. Lediglich die Reihenfolge dieser Prozesse wird unterschiedlich beschrieben.

Wie schon besprochen bietet GSH einen Schutz gegen reaktive Sauerstoffspezies. Stanislawski et al. (2003) beobachteten, dass, neben der Erschöpfung des GSH-Gehaltes innerhalb von 4 Stunden, in der gleichen Zeit die ROS-Produktion stark anstieg. Daraus schlossen sie, dass die ROS-Produktion eine Folge des frühen GSH-Abfalls sei.

Im Gegensatz dazu kamen Chang et al. (2005) bei einer ähnlichen Studie zu dem Ergebnis, dass der Glutathion-Abfall umgekehrt das Resultat einer vermehrten ROS-Produktion sei, welche reduziertes Glutathion (GSH) in seine oxidierte Form (GSSG) überführt, bzw. eine direkte Anbindung von GSH an toxische Zwischenprodukte ermöglicht. Zu diesem Ergebnis kamen sie, weil bei ihrer Studie die ROS-Produktion bereits bei einer Monomerkonzentration von 1mM einsetzte, der GSH-Gehalt jedoch erst ab einer Konzentration von 5mM absank.

Lee et al. (2006) beschrieben ebenfalls den Zusammenhang zwischen ROS bzw. oxidativem Stress und apoptotischen Prozessen. Sie bezeichneten die Glutathionverminderung als primäre Ursache von monomer-induzierter Apoptose in Fibroblasten.

Auch bei der Induktion von Apoptose in HGF-Zellen kann man einen monomer-abhängigen Unterschied bei den auslösenden Konzentrationen beobachten.

So beobachteten Engelmann et al. (2004) in HGF-Zellen eine GSH-Erschöpfung und die Induktion von Apoptose bei einer BisGMA-Konzentration von 0,1mM (S.4576).

Im Gegensatz dazu war ein ähnlicher Effekt in zwei weiteren Studien mit TEGDMA erst ab einer Konzentration von 3mM (Reichl *et al.*, 2006b), bzw. sogar 5mM (Janke *et al.*, 2003) zu erkennen.

Diese Tatsache macht wieder deutlich, warum BisGMA ein hohes zytotoxisches Potential besitzt, obwohl es, wie zuvor besprochen, in weit geringeren Konzentrationen aus Adhäsivsystemen ausgewaschen wird.

Eine weitere Gefahr im Zusammenhang mit der Auslösung von Apoptose ist die Akkumulation der subtoxischen Konzentrationen verschiedener Adhäsiv-Komponenten, welche zusammen einen toxischen Effekt ergeben können.

Die Glutathionverminderung stellt sicherlich den wichtigsten Einfluss von Monomeren auf den Zellstoffwechsel dar. Jedoch werden in der Literatur auch andere Auswirkungen auf den Metabolismus beschrieben. Beispielsweise kann auch der Energiestoffwechsel

betroffen sein, da für die Detoxifikation von Monomeren auf die Energiereserven der Zelle zurückgegriffen wird (Engelmann *et al.*, 2001). Ausserdem haben Monomere Auswirkungen auf die Struktur von Fibroblasten (Chang *et al.*, 2005; Falconi *et al.*, 2007), und auf die Aktivität der Mitochondrien (Issa *et al.*, 2004).

Noch nicht vollständig geklärt sind die Mechanismen, die zu mutagenen bzw. genotoxischen Auswirkungen von Monomeren führen. Es wurde besprochen, dass Monomere über eine Michael-Addition, ähnlich wie mit Glutathion, direkt mit der DNA reagieren können (Schweikl *et al.*, 2007), beziehungsweise in subtoxischen Konzentrationen zu einer Zellzyklus-Verzögerung führen können. Eine indirekte Schädigung der DNA ist über die Bildung von ROS möglich (Abb. 2).

Zusammenfassend kann man davon ausgehen, dass Genotoxizität beziehungsweise mutagene Prozesse speziell in niedrigen Monomerkonzentrationen beobachtet werden können, da bei höheren Konzentrationen eher apoptotische Prozesse zu erwarten sind (Lee *et al.*, 2006).

Monomere in subtoxischen Konzentrationen können über synergistische Effekte mit anderen Monomeren oder unterschiedlichen Substanzen zu irreversiblen Zellschäden führen (Geurtsen *et al.*, 1998).

Besondere Aufmerksamkeit gilt dabei Bis-GMA, das nur in geringen Mengen aus Adhäsivsystemen ausgeschwemmt wird, jedoch eine hohe Toxizität aufweist (Engelmann *et al.*, 2004).

Synergistische Effekte wurden auch zwischen Bleaching-Produkten und TEGDMA (Volk *et al.*, 2007), beziehungsweise dem Fotoinitiator Kampferchinon (Pagoria *et al.*, 2005) gefunden.

Angesichts all dieser Gefahrenquellen für die Zellen des Parodonts, stellt sich die Frage, wie der Toxizität der Monomere, von Seiten der Industrie und des Behandlers, entgegengewirkt werden kann.

Bezüglich der Glutathionverminderung bieten Antioxidantien einen sehr guten Schutz. N-Acetylcystein (Spagnuolo *et al.*, 2006), sowie Trolox und Ascorbat (Stanislawski *et al.*, 2003) konnten in in-vitro-Untersuchungen sowohl die Glutathionverminderung, als auch die vermehrte ROS-Bildung hemmen. Jedoch ist noch unklar, wie man sich diese Erkenntnisse in der Praxis zunutze machen kann. Hier gibt es noch Forschungsbedarf.

Die gemeinsame Anwendung von Bleaching und TEGDMA-haltigen Adhäsivsystemen sollte von Seiten des Behandlers vermieden werden. Hier wurden synergistische Effekte mit Fotoinitiatoren und Monomeren von Adhäsivsystemen gefunden (Pagoria *et al.*, 2005; Volk *et al.*, 2007).

Eine weitere sinnvolle Maßnahme zur Reduktion des toxikologischen Risikos ist die Verwendung von dualhärtenden Befestigungskompositen. Diese sorgen, im Vergleich mit rein selbst- beziehungsweise licht-härtenden Materialien, für eine geringere Zahl an freien Monomeren, welche ja eine wichtige Rolle in der Toxikologie spielen (Caughman *et al.*, 2001). Schließlich bleibt dem Behandler anzuraten, alle Reste von Befestigungsmaterialien, zum Beispiel sofort nach der Zementierung von Kronen, gewissenhaft zu entfernen, da jeder Kontakt mit Gewebe ein potentiell Risiko darstellt (Schmid-Schwap *et al.*, 2008).

Anhang

Tabellen

Tab. 1: Marktübersicht Total-Etch Adhäsive

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
Admira® Bond (Voco)	Adhäsiv - Total-Etch - lichthärtend - 1-Komponenten-System - Ormocer® basierend	Direkte Restaurationen mit allen lichthärtenden Füllungsmaterialien (Ormocere, Komposite, Kompomere) für alle Füllungsklassen	- Versch. Dimethacrylate - Aceton 60 - HEMA 11-14 - Ormocer - Katalysatoren
Adper™ Scotchbond™ 1 XT Adhäsiv (3M ESPE)	Adhäsiv Total-Etch lichthärtend 1-Komponenten-System	Alle Klassen direkter Komposit-Restaurationen sowie Desensibilisierung der Wurzeloberfläche und Keramikverblendungen Indirekte Restaurationen nach Lichthärtung	Ethanol 25-35 Bis-GMA 10-20 Kieselsäure (silanisiert) 10-20 HEMA 5-15 Glycerol-DMA 5-10 Copolymer aus Itacon- und Acrylsäure 5-10 UDMA 1-5 H2O < 5
Clearfil™ New Bond (Kuraray-Dental)	Adhäsiv Total-Etch selbsthärtend 2-Komponenten-System	Direkte Restaurationen	<u>Clearfil New Bond Catalyst:</u> Bis-GMA MDP HEMA Hydrophobes aromatisches DMA Benzoil-Peroxid <u>Clearfil New Bond Universal:</u> N,N'-Diethanol-Toluidin Natriumbenzolsulfonat Äthylalkohol
ExciTE® (Ivoclar Vivadent)	Adhäsiv Total-Etch lichthärtend 1-Komponenten-System	Direkte Komposit- & Kompomer-Restaurationen mit Phosphorsäureätzung Adhäsive lichthärtende Eingliederung indirekter Restaurationen (Composite, Keramik)	Phosphorsäureacrylat < 11 HEMA < 15 Bis-GMA Dimethacrylate < 53 Bis-GMA UDMA Glycerol-DMA Hochdispertes Siliziumdioxid 0.5 Ethanol 19.5 Katalysatoren und Stabilisatoren 0.9

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
ExciTE® DSC (Ivoclar Vivadent)	Adhäsiv Total-Etch Dual-härtend 1-Komponenten- System	Befestigung von indirekten, metallfreien, transluzenten Restaurationen mit dual-oder selbsthärtenden Kompositmaterialien Direkte Restaurationen und Stumpfaufbauten mit dual- oder selbsthärtenden Kompositen	Phosphonsäureacrylat < 12 HEMA < 20 Dimethacrylate < 43 Bis-GMA GDMA Alkohol < 25
Gluma Comfort Bond (Heraeus Kulzer)	Adhäsiv Total-Etch lichthärtend 2-Komponenten- System	direkte Kompositrestaurationen. indirekte Restaurationen aus Keramik und Komposit Behandlung überempfindlicher Zahnbereiche.	UDMA HEMA 10-25 4-META 0-5 Ethanol 25-50 Glutanaldehyd Polymethacryl-oligo-acrylsäure 5- 10
GLUMA Solid Bond (Heraeus Kulzer)	Adhäsiv Total-Etch lichthärtend 2-Komponenten- System	Befestigung direkter und indirekter Restaurationen Haftverbesserung von Fissurenversiegelern an Schmelz und Dentin Versiegelung freiliegender Zahnhälse	<u>Primer:</u> HEMA 25-50 Ethanol 10-25 Polymethacryl-oligo-acrylsäure 0-5 Maleinsäure-mono-2-methacryloyl- oxyethylester 0-5 Maleinsäure 0-5 <u>Sealer:</u> Maleinsäure-mono-2-methacryloyl- oxyethylester 0-5 2,2-Dimethoxy-1,2-diphenyl-ethan- 1-on < 1
Prime & Bond® NT (Dentsply DeTrey)	Adhäsiv Total-Etch lichthärtend 2-Komponenten- System	adhäsive Verbindung von Kompositen und Kompomermaterialien mit Schmelz und Dentin einerseits und mit Metallen und Keramik andererseits. Als Schutzlack bei zervikaler Überempfindlichkeit.	Di- und Trimethacrylat-Harze Funktionalisiertes amorphes Siliciumdioxid PENTA Lichtinitiatoren Stabilisatoren Cetylaminhydrofluorid Aceton
Solobond M (Voco)	Adhäsiv Total-Etch lichthärtend 1-Komponenten- System	Direkte Restaurationen mit allen lichthärtenden Füllungsmaterialien, für alle Füllungsklassen	Versch. Dimethacrylate Esterkomponenten Aceton 60-65 Bis-GMA 10-12 Initiatoren

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
Solobond Plus (Voco)	Adhäsiv Total-Etch lichthärtend 2-Komponenten-System	Direkte Komposit-Restauration aller Füllungsklassen Adhäsive Befestigung von Kronen, Brücken, Inlays, Onlays und Veneers mit Komposit-Zementen Für licht- und selbsthärtende Komposite	Versch. Dimethacrylate Silikate Organische Säuren Bis-GMA 16-18 Aceton 60 Initiatoren
Syntac® + Heliobond (Ivoclar Vivadent)	Adhäsiv Total-Etch lichthärtend 2-Komponenten-System	Direkte Komposit- & Kompomer-Restaurationen im Front- und Seitenzahnbereich Adhäsive Befestigung indirekter Restaurationen aus Komposit und Keramik	<u>Primer:</u> H2O DMA Maleinsäure 4 Aceton < 42 <u>Adhesive:</u> H2O Polyethylenglycol-DMA Maleinsäure < 0,1 Glutaraldehyd 5 Heliobond: Bis-GMA < 60 TEGDMA < 40 Initiatoren Stabilisatoren
XP Bond™ (Dentsply DeTrey)	Adhäsiv Total-Etch Dual-härtend 2-Komponentensystem	in Kombination mit lichthärtenden, direkten Füllungsmaterialien oder lichthärtenden Kompositzementen	Carbonsäure-modifiziertes Dimethacrylat (TCB-Harz) Phosphorsäure-modifiziertes Acrylatharz (PENTA) UDMA TEGDMA HEMA Butyliertes Benzendiol (Stabilisator) Ethyl-4-Dimethylaminobenzoat Kampferchinon Funktionalisiertes amorphes Siliciumoxid t-Butanol

Tab. 2: Marktübersicht Selbstätzende Adhäsive

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
AdheSE® + AdheSE DC Activator (Ivoclar Vivadent)	Adhäsiv selbstätzend lichthärtend 2-Komponentensystem	Direkte lichthärtende Komposit- & Kompomer-Restaurationen in den Kavitätenklassen I-V Nach der Lichthärtung des AdheSE Bondings verwendbar für Aufbauten mit dual- oder selbsthärtenden Kompositen	<u>Primer:</u> DMA Phosphonsäureacrylat < 40 H2O Initiatoren Stabilisatoren <u>Bonding:</u> HEMA < 25 DMA < 75 SiO2 Initiatoren Stabilisatoren DC Activator: Ethanol < 80 Amin < 7 Initiatoren Lösemittel
Adper™ Prompt™ L-Pop™ (3M ESPE)	Adhäsiv selbstätzend lichthärtend 2-Komponenten-System	Befestigung von rein lichthärtenden Komposit- und Kompomer-Füllungsmaterialien	<u>Flüssigkeit 1:</u> Methacrylat-Phosphorester Bis-GMA Initiator auf Kampferchinon-Basis Stabilisatoren <u>Flüssigkeit 2:</u> H2O 70-80 HEMA 20-30 Polyalkensäure Stabilisatoren
Clearfil™ DC Bond (Kuraray-Dental)	Adhäsiv selbstätzend dual-härtend 2-Komponenten-System	direkte und indirekte, lichthärtende und selbsthärtende Restaurationen Behandlung freiliegender Wurzeloberflächen	<u>Flüssigkeit A:</u> MDP Bis-GMA HEMA dl- Kampferchinon Benzoi-Peroxid Kolloides Siliziumoxyd <u>Flüssigkeit B:</u> H2O Äthylalkohol
Clearfil™ S3 Bond (Kuraray-Dental)	Adhäsiv selbstätzend lichthärtend 1-Komponenten-System	direkte und indirekte, lichthärtende Restaurationen Behandlung freiliegender Wurzeloberflächen	MDP Bis-GMA HEMA Hydrophobes DMA dl- Kampferchinon Äthylalkohol H2O Kolloidales Siliziumoxyd

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
Clearfil™ SE Bond (Kuraray- Dental)	Adhäsiv selbstständig lichthärtend 2-Komponenten- System	direkte und indirekte, lichthärtende Restaurationen Behandlung freiliegender Wurzeloberflächen	<u>Primer:</u> MDP HEMA Hydrophiles DMA dl- Kampferchinon N,N-Diethanol-p-Toluidin H2O <u>Bondingagent:</u> MDP Bis-GMA HEMA Hydrophiles DMA dl- Kampferchinon N,N-Diethanol-p-Toluidin Kolloides Siliziumoxyd
Fuji Bond LC (GC)	Adhäsiv auf GI-Basis selbstständig lichthärtend 2-Komponenten- System	Direkte Haftung zu Dentin und Schmelz Zum Versiegeln von hypersensitiven zervikalen Bereichen und Wurzeloberflächen	<u>Liquid:</u> HEMA 25-35 Polyacrylsäure 20-30 H2O 20-30 UDMA < 10 <u>Powder:</u> Aluminium-Silikat-Glas 99
Futurabon d NR (Voco)	Adhäsiv Selbstständig lichthärtend 2-Komponenten- System	Direkte Restaurationen mit allen lichthärtenden Füllungsmaterialien	Versch. Dimethacrylate Phosphatester Ethanol 12-15 UDMA 12-14 Initiatoren Stabilisatoren
G-BOND (GC)	Adhäsiv selbstständig lichthärtend 1-Komponenten- System	Bonding von lichthärtenden Kompositmaterialien Bonding von dualhärtenden Befestigungs-und Stumpfaufbauzementen, wenn diese lichtgehärtet werden	Aceton 40 4-META 11 DMA-Komponente 10 UDMA 9 Kampferchinon < 1
iBOND® (Heraeus Kulzer)	Adhäsiv selbstständig lichthärtend 1-Komponenten- System	direkte Kompositrestaurationen. indirekte Restaurationen in Kombination mit lichthärtenden Befestigungszementen. Behandlung überempfindlicher Zahnbereiche.	UDMA 4-META Aceton H2O Füller

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
iCEM® (Heraeus Kulzer)	Adhäsiv selbstätzend dual-härtend 1-Komponenten- System	Befestigung von Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Zur Schienung	Methacrylate Methacrylsäureester 50-75
Optibond All In One (Kerr)	Adhäsiv Selbstätzend Lichthärtend 1-Komponenten- System	Direkte und indirekte Restaurationen aller Materialien	Aceton 35-45 Ethylalkohol 4-9 Unbehandelte Methylsäureester- Monomere 33-43
UniFil Bond (GC)	Adhäsiv selbstätzend lichthärtend 2-Komponenten- System	Bonding von lichthärtenden Kompositmaterialien	<u>Etching Primer:</u> Ethanol 42 HEMA 3 <u>Bonding Agent:</u> HEMA 20
Xeno® V (Dentsply DeTrey)	Adhäsiv selbstätzend lichthärtend 1-Komponenten- System	direkte Restaurationen mit lichthärtenden Kompositmaterialien	Bifunktionale Acrylate Saure Acrylate Phosphorsäureester Acrylsäure H2O Tertiäres Butanol Initiator Stabilisator

Tab. 3: Marktübersicht Befestigungskomposite

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
Bifix QM (Voco)	Befestigungskomposit dual-härtend Multi-Komponenten-System	Dauerhafte adhäsive Befestigung von Inlays, Onlays, Kronen, Brücken, Klebebrücken, Veneers und Stiften (alle Materialien)	Versch. Dimethacrylate Silikatfüller Bis-GMA 20-22 Initiatoren Pigmente
Calibra™ (Dentsply DeTrey)	Befestigungskomposit dual-härtend 2-Komponenten-System	Zementierung von: Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Stiften	<u>Paste:</u> Dimethacrylate Kampferchinon Photoinitiator Stabilisatoren Glas-Füller Quarzstaub Titandioxid Pigmente <u>Aktivator:</u> Dimethacrylate UDMA HEMA Katalysator Stabilisatoren Glas-Füller Quarzstaub
Clearfil™ Esthetic Cement (Kuraray-Dental)	Befestigungskomposit dual-härtend Multi-Komponenten-System	Zementierung von: Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Veneers Klebebrücken Ankern und Stiften aus Kunststoff oder Metall	<u>Paste A und B:</u> Bis-GMA TEGDMA Andere Methacrylat-Monomere Silanbehandeltes Glaspulver Silanbehandeltes Siliziumoxyd Kolloidales Siliziumoxyd Benzoil-Peroxid dl- Kampferchinon Pigmente <u>ED Primer II:</u> HEMA MDP Methacrylat-Monomere H2O Initiator Beschleuniger
Dyract®CE M plus (Dentsply DeTrey)	Befestigungskomponer selbsthärtend 2-Komponenten-System	Zementierung von: Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Klebebrücken Stiften	<u>Pulver:</u> Strontium-Aluminium-Natrium-Fluoro-Phosphor-Silikatglas Titandioxid (nur opake Version) Co-Initiator <u>Flüssigkeit:</u> Ammoniumsalz von phosphorsäuremodifiziertem Methacrylatharz Carbonsäuremodifiziertes Methacrylatharz DEGDMA Initiator Butylhydroxytoluol

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
FujiCEM Automix (GC)	Kunststoffverstärkter GIZ selbsthärtend 2-Komponenten-System	Zementierung von: Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Metall-, Keramik- und Faserstiften	<u>Paste A:</u> HEMA 10-20 UDMA < 10 Aluminium-Silikat-Glas 60-70 Kieselsäure (hydrophobiert, hochdispers) 6 <u>Paste B:</u> Polyacrylsäure 30-40 H2O 30-35 Quartz 20
Fuji PLUS EWT (GC)	Kunststoffverstärkter GIZ selbsthärtend Multi-Komponenten-System	Zementierung von: Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Metall-, Keramik- und Faserstiften	<u>Liquid:</u> HEMA 25-35 Polyacrylsäure 20-30 H2O 20-30 UDMA < 10 <u>Powder:</u> Aluminium-Silikat-Glas 99 Conditioner: Zitronensäure 10 Eisen(III)Chlorid 3
G-CEM (GC)	Befestigungskomposit t selbsthärtend 1-Komponenten-System	Zementierung von: Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Metall-, Keramik- und Faserstiften	4-META 6-10 UDMA 1,5 -3 Aluminium-Silikat-Glas 65-70 Dimethacrylate 15-20 Phosphorhaltiges Ester-Monomer 1-2 Initiator < 1 Kampferchinon < 1 H2O 1,5-3 Pigmente < 1
Meron Plus (Voco)	Kunststoffverstärkter GIZ selbsthärtend 2-Komponenten-System	Befestigung von: Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Wurzelstiften Kieferorthopädischen Vorrichtungen	Versch. Dimethacrylate Silikatfüller UDMA 5-8 Bis-GMA 5-8 Amine Initiatoren Pigmente

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
Multilink® Automix (Ivoclar Vivadent)	Befestigungskomposit selbsthärtend 1-Komponenten-System	Befestigung von indirekten Restaurationen (Inlays, Onlays, Kronen, Brücken, Wurzelstifte) aus: Metall und Metallkeramik Vollkeramik (Silikat) Verstärkte Vollkeramik (Zirkon- und Al-oxid) Komposit	Dimethacrylate 22-26 Bis-GMA UDMA Ethoxyliertes Bisphenol-A-DMA HEMA 6-7 Bariumglas- und Siliziumdioxidfüller 45.5 Ytterbiumtrifluorid 23.0 Katalysatoren und Stabilisatoren 1.0 Benzoylperoxide < 1 Pigmente < 0.01
Panavia™ 21 (Kuraray-Dental)	Befestigungskomposit selbsthärtend Multi-Komponenten-System	Zementierung von: Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Metallstiften Befestigung von: Klebebrücken Schienen	<u>ED Primer Liquid A:</u> Wie Panavia F 2.0 <u>ED Primer Liquid B:</u> Wie Panavia F 2.0 <u>Universal Paste:</u> Hydrophobes aromatisches DMA Hydrophobes aliphatisches DMA Hydrophiles aliphatisches DMA Silanisiertes Titandioxid Barium-Glasfüllstoff Initiatoren Beschleuniger Pigmente Catalyst Paste: MDP Hydrophobes aromatisches DMA Hydrophobes aliphatisches DMA Quarzfüllstoff Kolloidale Kieselerde Initiatoren

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
Panavia™ F 2.0 (Kuraray- Dental)	Befestigungskomposit dual-härtend Multi-Komponenten- System	Zementierung von: Inlays, Onlays, Kronen, Brücken aus Keramik, Komposit oder Metall Stiften Befestigung von: Klebebrücken	<u>ED Primer Liquid A:</u> HEMA MDP 5-NMSA Beschleuniger (N, N-Diethanol-p- Toluidin) H2O <u>ED Primer Liquid B:</u> N-Methacryloyl-5- Aminosalicylsäure H2O Initiatoren Beschleuniger <u>Paste A:</u> MDP Hydrophobes aromatisches DMA Hydrophobes aliphatisches DMA Hydrophiles aliphatisches DMA Silanierter Kieselerdefüller Silanierte und kolloidale Kieselerde dl- Kampferchinon Initiatoren <u>Paste B:</u> Natriumfluorid Hydrophobes aromatisches DMA Hydrophobes aliphatisches DMA Hydrophiles aliphatisches DMA Silanisieretes Bariumglas-Füllmittel Initiatoren Beschleuniger Pigmente
Variolink® II (Ivoclar Vivadent)	Befestigungskomposit dual-härtend	Befestigung von indirekten Restaurationen aus: Keramik Komposit	Dimethacrylate 26,3 Bis-GMA 10-14 TEGDMA 5-7 UDMA 5-7 Anorganische Füllstoffe, Ytterbiumfluorid 73,4 Katalysatoren und Stabilisatoren 0,3 Pigmente < 0,1

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
RelyX™ Unicem Aplicap (3M ESPE)	Befestigungskomposit t dual-härtend 2-Komponenten- System	Befestigung von: Inlays Onlays Brücken Kronen Stiften aus Metall, Komposit und Keramik	<u>Pulver:</u> Glaspulver (silanisiert) Initiator Kieselsäure (silanisiert) Subst. Pyrimidin Calciumhydroxid Peroxo-Verbindung Pigment <u>Flüssigkeit:</u> Dimethacrylat TEGDMA 20 – 40 Methacrylierter Phosphorsäureester Acetat Stabilisator Initiator

Tab. 4: Marktübersicht Orthodontische Kleber

Produkt	Typ	Indikationen	Zusammensetzung (Gew.%)
Fuji ORTHO (GC)	Orthodontischer GIZ selbsthärtend	Befestigen von Bändern und Brackets	<u>Liquid:</u> HEMA 25-35 Polyacrylsäure 20-30 H ₂ O 20-30 UDMA < 10 <u>Powder:</u> Aluminium-Silikat-Glas 99 Conditioner: Polyacrylsäure 25
Fuji ORTHO BAND (GC)	Orthodontischer GIZ selbsthärtend	Befestigen von Bändern	<u>Paste A:</u> HEMA 10-20 Aluminium-Silikat-Glas 60-70 UDMA < 10 <u>Paste B:</u> Polyacrylsäure 30-45 H ₂ O 30-35 Quartz 20
Fuji ORTHO LC (GC)	Orthodontischer GIZ lichthärtend	Befestigen von Bändern und Brackets	<u>Liquid:</u> HEMA 25-35 Polyacrylsäure 20-30 H ₂ O 20-30 UDMA < 10 <u>Powder:</u> Aluminium-Silikat-Glas 99 Conditioner: Polyacrylsäure 25
Transbond XT (3M Unitek)	Orthodontisches Adhäsiv lichthärtend	Befestigen von Brackets	Silanbehandeltes Quartz 70-80 Bisphenol A Diglycidyl EtherDMA 10-20 Bisphenol A Bis(2-Hydroxyethyl Ether) DMA 5-10 Silanbehandeltes Siliciumoxid < 2

Tab. 5: Typische Inhaltsstoffe im Überblick

Monomere	Chemische Bezeichnung
4-META	4-Methacryl-oxyethyl-Trimellitsäureanhydrid
5-NMSA	N-Methacryloyl-5-Aminosalicylsäure
Bis-GMA	Bisphenol-A-Glycidin-DMA
BPA	Bisphenol-A
DEGDMA	Diethylenglykoldimethacrylat
DMA	Dimethacrylat
GDMA	Glycerol-DMA
HEMA	2-Hydroxy-Ethyl-Methacrylat
MDP	10-Methacryloyloxydecyl-Dihydrogenphosphat
PENTA	Dipentaerytritolpentacrylat-Phosphorsäure-Monomer
TEGDMA	Triethylen-Glycol-DMA
UDMA	Urethan-DMA
Lösungsmittel	
Aceton	
Füllkörper	
Aluminium-Silikat-Glas	
Ytterbiumtrifluorid	
Initiatoren (Autopolymerisat)	
Benzoylperoxid	
Initiatoren (Photopolymerisat)	
Kampferchinon	
Katalysatoren	
N,N-Diethanol-p-Toluidin	
Ytterbiumtrifluorid	

Tab. 6: Negative Korrelation zwischen TC₅₀-Wert (nach MTT-Test) und molekularer Masse (Issa *et al.*, 2004)

Monomer	TC₅₀-Wert	Molekulare Masse (MM)
HEMA	754,4	130,142
TEGDMA	535,4	286,321
Bis-GMA	102,5	512,591

Tab. 7: Negative Korrelation zwischen IC₅₀-Wert (nach MTT-Test) und logP-Wert (Yoshii, 1997)

Monomer	IC₅₀ (Standardabweichung)	Log <i>P</i>
HEMA	10,07(0,47)	0,85
4META	5,11 (0,38)	2,13
UDMA	0,09 (0,004)	3,37

Abbildungen

Abb. 1: Apoptose und Nekrose. Diese Abbildung verdeutlicht zwei wesentliche Unterschiede der Apoptose zur Nekrose, nämlich die Integrität der Zellmembran, sowie die Verschonung der Nachbarzellen.

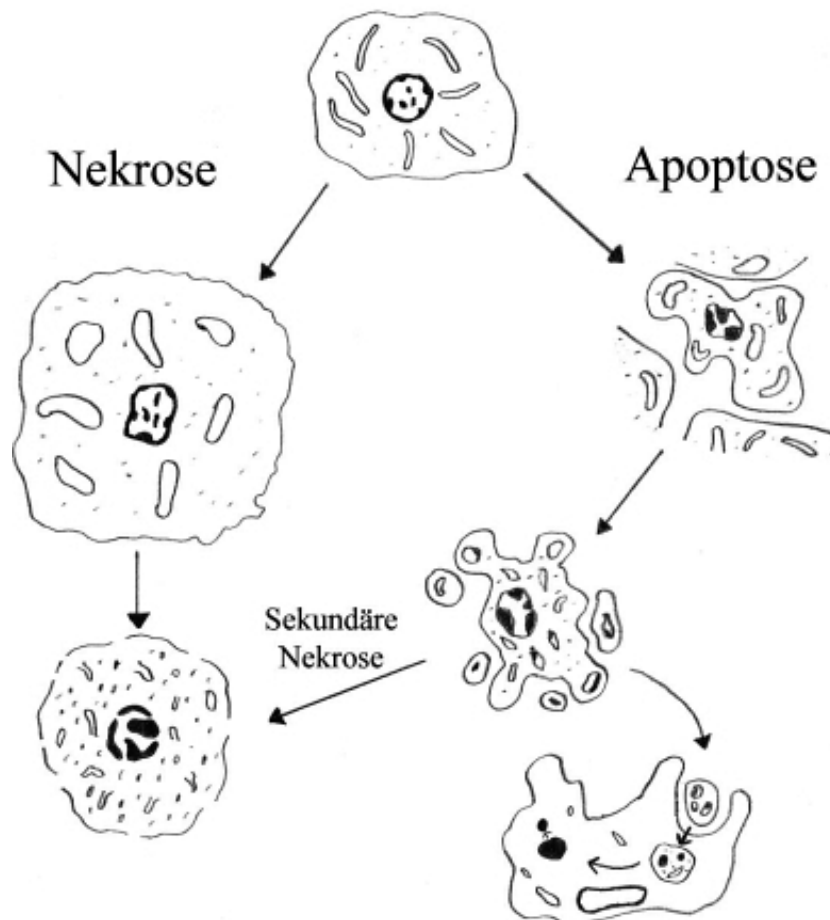


Abb. 2: Genotoxizität von TEGDMA. Diese Abbildung verdeutlicht die verschiedenen Möglichkeiten der genotoxischen Wirkung von Monomeren. Neben der direkten Reaktion von TEGDMA mit der DNA der Zelle gibt es die Möglichkeit der indirekten Schädigung über die Bildung von ROS. (Schweikl et al., 2006)

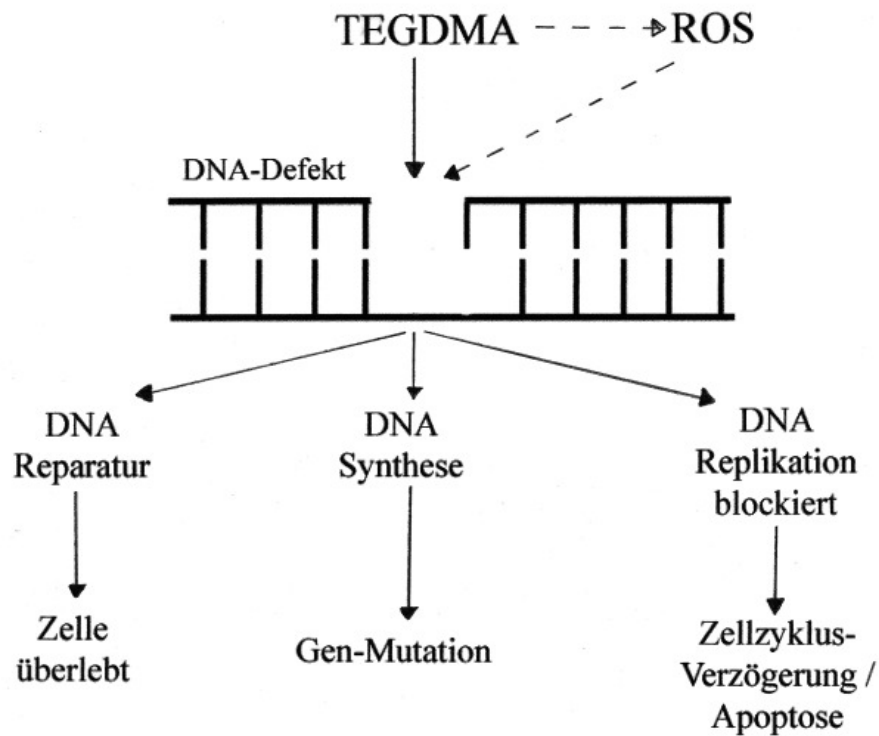
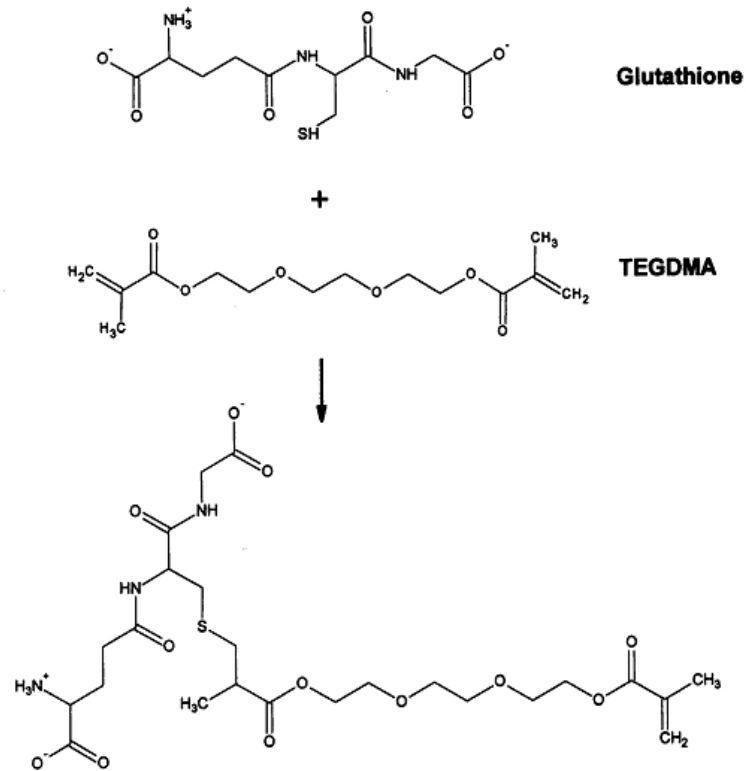


Abb. 3: Michael-Addition von TEGDMA und Glutathion zu einem detoxifizierendem TEGDMA/GSH-Konjugat. (Geurtsen et al., 2001)



Literaturverzeichnis

Bouillaguet S, Shaw L, Gonzalez L, Wataha JC, Krejci I. Long-term cytotoxicity of resin-based dental restorative materials. *J Oral Rehabil.* 2002;29(1):7-13

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res.* 1955;34(6):849-853

Caughman WF, Chan DC, Rueggeberg FA. Curing potential of dual-polymerizable resin cements in simulated clinical situations. *J Prosthet Dent.* 2001;85(5):479-84.

Chang HH, Guo MK, Kasten FH, Chang MC, Huang GF, Wang YL, Wang RS, Jeng JH. Stimulation of glutathione depletion, ROS production and cell cycle arrest of dental pulp cells and gingival epithelial cells by HEMA. *Biomaterials.* 2005;26(7):745-53

Craig RG. *Zahnärztliche Werkstoffe: Eigenschaften und Verarbeitung.* 8. Auflage, Urban&Fischer, 2006

Dickinson DA, Forman HJ. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol.* 2002;64:1019-26

Doehmer J, Jacob J. Gentechnisch engineered V79 cell lines in combination with analytical-chemical procedures for replacing and refining animal experimentations. *ALTEX.* 1994;11(3):141-147

Engelmann J, Leyhausen G, Leibfritz D, Geurtsen W. Metabolic Effects of Dental Resin Components in vitro Detected by NMR Spectroscopy. *J Dent Res.* 2001;80(3):869-875

Engelmann J, Janke V, Volk J, Leyhausen G, Von Neuhoff N, Schlegelberger B, Geurtsen W. Effects of BisGMA on glutathione metabolism and apoptosis in human gingival fibroblasts in vitro. *Biomaterials.* 2004;25(19):4573-80

Falconi M, Teti G, Zago M, Pelotti S, Breschi L, Mazzotti G. Effects of HEMA on type I collagen protein in human gingival fibroblasts. *Cell Biol Toxicol.* 2007;23(5):313-22

Ferracane JL, Condon JR. Rate of elution of leachable components from composite. *Dent Mater.* 1990;6(4):282-7

Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil.* 1994;21(4):441-452

Ferracane JL. Current trends in dental composites. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1995;6(4):302-318

Franz A, König F, Lucas T, Watts DC, Schedle A. Cytotoxic effects of dental bonding substances as a function of degree of conversion. *Dental Materials.* 2008; DOI: 10.1016/j.dental.2008.07.003

- Fujisawa S, Kadoma Y, Komoda Y. ¹H and ¹³C NMR studies of the interaction of eugenol, phenol, and triethyleneglycol dimethacrylate with phospholipid liposomes as a model system for odontoblast membranes. *J Dent Res.* 1988;67(11):1438-41
- Gerzina W, Schoeler U. Diffusion of monomers from bonding resin - resin composite combinations through dentine in vitro. *J Dent.* 1996;24(1-2):125-128
- Geurtsen W. Die zelluläre Verträglichkeit zahnärztlicher Komposite. Hanser Fachbuchverlag. 1988
- Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *Journal Of Biomedical Materials Research.* 1998 Sep 5;41(3):474-80.
- Geurtsen W. Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2000;11(3):333-355
- Geurtsen W, Leyhausen G. Chemical-biological interactions of the resin monomer triethyleneglycol-dimethacrylate (TEGDMA). *J Dent Res.* 2001 Dec;80(12):2046-50.
- Goldberg M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clin Oral Invest.* 2008;12(1):1-8
- Gregson KS. In vitro induction of hydrolytic activity in human gingival and pulp fibroblasts by triethylene glycol dimethacrylate and monocyte chemotactic protein-1. *Dent Mater.* 2008;24(11):1461-7
- Hamid A, Okamoto A, Iwaku M, Hume WR. Component release from light-activated glass ionomer and compomer cements. *J Oral Rehabil.* 1998;25(2):94-99
- Hanks CT, Anderson M, Craig RG. Cytotoxic effects of dental cements on two cell culture systems. *J Oral Pathol.* 1981 Apr;10(2):101-12
- Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: A review. *Dent Mater.* 1996;12(3):186-193
- Heidemann D. Amalgamfreie Füllungstherapie. Urban&Fischer. 2001
- Hellwig E. Einführung in die Zahnerhaltung. 4. Auflage, Urban&Fischer, 2006
- Hume WR. Bioavailability of components of resin-based materials which are applied to teeth. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1996;7(2):172-9
- Issa Y, Watts DC, Brunton PA, Waters CM, Duxbury AJ. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent Mater.* 2004;20(1):12-20
- Janda R. Schmelz-Dentin-Adhäsive – Stand der Entwicklung. *DFZ.* 2008;01:37-46
- Janke V, von Neuhoff N, Schlegelberger B, Leyhausen G, Geurtsen W. TEGDMA causes apoptosis in primary human gingival fibroblasts. *J Dent Res.* 2003;82(10):814-8

Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972;26(4):239-57

Kerschbaum Th. Adhäsivprothetik. Urban & Schwarzenberg, 1995

Lawrence WH, Bass GE, Purcell WP, Autian J. Use of mathematical models in the study of structure-toxicity relationships of dental compounds. I. Esters of acrylic and methacrylic acids. *J Dent Res*. 1972;51(2):526-35

Lee SY, Huang HM, Lin CY, Shih YH. Component release from light-activated glass ionomer and compomer cements. *J Oral Rehabil*. 1998 Feb;25(2):94-9

Lee DH, Lim BS, Lee YK, Ahn SJ, Yang HC. Involvement of oxidative stress in mutagenicity and apoptosis caused by dental resin monomers in cell cultures. *Dent Mater*. 2006;22(12):1086-92

Lefebvre CA, Schuster GS, Rueggeberg FA, Tamareselvy K, Knoernschild KL. Responses of oral epithelial cells to dental resin components. *J Biomater Sci Polym Ed*. 1996;7(11):965-76

Lefeuvre M, Bourd K, Lorient MA, Goldberg M, Beaune P, Périanin A, Stanislawski L. TEGDMA Modulates Glutathione Transferase P1 Activity in Gingival Fibroblasts. *J Dent Res*. 2004;83(12):914-919

Lefeuvre M, Amjaad W, Goldberg M, Stanislawski L. TEGDMA induces mitochondrial damage and oxidative stress in human gingival fibroblasts. *Biomaterials*. 2005 Sep;26(25):5130-7.

Lehmann F, Leyhausen G, Spahl W, Geurtsen W. Vergleichende Zellkultur-Untersuchungen von Kompositbestandteilen auf Zytotoxizität. *Dtsch Zahnärztl Z*. 1993;48(10):651-653

Mazzaoui SA, Burrow MF, Tyas MJ, Rooney FR, Capon RJ. Long-Term Quantification of the Release of Monomers from Dental Resin Composites and a Resin-Modified Glass Ionomer Cement. *J Biomed Mater Res*. 2002;63(3):299-305

Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook IM, Scutt AM. HPLC analysis of components released from dental composites with different resin compositions using different extraction media. *J Mater Sci Mater Med*. 2007;18(1):133-7

Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook IM, Scutt AM. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *Dent Mater*. 2007;23(1):40-4

Ortengren U. On composite resin materials – degradation, erosion and possible adverse effects in dentists. *Swed Dent J*. 2000;141:1-61

Pagoria D, Geurtsen W. The effect of N-acetyl-l-cysteine and ascorbic acid on visible-light-irradiated camphorquinone/N,N-dimethyl-p-toluidine-induced oxidative stress in two immortalized cell lines. *Biomaterials*. 2005;26(31):6136-42

- Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta*. 2003;333:19-39
- Ratanasathien S, Wataha JC, Hanks CT, Dennison JB. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *J Dent Res*. 1995;74(9):1602-6
- Rathburn MA, Craig RG, Hanks CT et al. Cytotoxicity of a Bis-GMA dental composite before and after leaching in organic solvents. *J Biomed Mater Res*. 1991;25(4):443-57
- Reichl FX, Simon S, Esters M, Seiss M, Kehe K, Kleinsasser N, Hickel R. Cytotoxicity of dental composite (co)monomers and the amalgam component Hg(2+) in human gingival fibroblasts. *Arch Toxicol*. 2006;80(8):465-72.
- Reichl FX, Esters M, Simon S, Seiss M, Kehe K, Kleinsasser N, Folwaczny M, Glas J, Hickel R. Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. *Arch Toxicol*. 2006;80(6):370-7
- Reichl FX. Taschenatlas der Pharmakologie und Toxikologie für Zahnmediziner. Thieme, 2007
- Samuelsen JT, Holme JA, Becher R, Karlsson S, Morisbak E, Dahl JE. HEMA reduces cell proliferation and induces apoptosis in vitro. *Dent Mater*. 2008;24(1):134-40
- Schedle A, Samorapoompichit P, Rausch-Fan XH, Franz A, Füreder W, Sperr WR, Sperr W, Ellinger A, Slavicek R, Boltz-Nitulescu G, Valent P. Response of L-929 fibroblasts, human gingival fibroblasts, and human tissue mast cells to various metal cations. 1995;74(8):1513-20
- Schedle A, Franz A, Rausch-Fan XH, Spittler A, Lucas T, Samorapoompichit P, Sperr W, Boltz-Nitulescu G. Cytotoxic effects of dental composites, adhesive substances, compomers and cements. *Dent Mater*. 1998;14(6):429-40.
- Schmalz G, Schweikl H, Hiller KA. Release of prostaglandin E2, IL-6 and IL-8 from human oral epithelial culture models after exposure to compounds of dental materials. *Eur J Oral Sci*. 2000 Oct;108(5):442-8
- Schmalz G. Biokompatibilität zahnärztlicher Werkstoffe. Urban&Fischer, 2005
- Schmalz G. Die Biokompatibilität von Komposit-Kunststoffen. *Zahnärztliche Mitteilungen*. 2006;96(3):34-42
- Schmid-Schwap M, Franz A, König F, Bristela M, Lucas T, Piehslinger E, Watts DC, Schedle A. Cytotoxicity of four categories of dental cements. *Dent Mater*. 2008; doi: 10.1016/j.dental.2008.08.002
- Schweikl H, Schmalz G. Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. *Eur J Oral Sci*. 1996 Jun;104(3):292-9
- Schweikl H, Schmalz G. Triethylene glycol dimethacrylate induces large deletions in the hprt gene of V79 cells. *Mutat Res*. 1999;438(1):71-8

- Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *J Dent Res.* 2006;85(10):870-7
- Schweikl H, Hartmann A, Hiller KA, Spagnuolo G, Bolay C, Brockhoff G, Schmalz G. Inhibition of TEGDMA and HEMA-induced genotoxicity and cell cycle arrest by N-acetylcysteine. *Dent Mater.* 2007;23(6):688-95
- Spagnuolo G, Annunziata M, Rengo S. Cytotoxicity and oxidative stress caused by dental adhesive systems cured with halogen and LED lights. *Clin Oral Investig.* 2004;8(2):81-5
- Spagnuolo G, D'Antò V, Cosentino C, Schmalz G, Schweikl H, Rengo S. Effect of N-acetyl-L-cysteine on ROS production and cell death caused by HEMA in human primary gingival fibroblasts. *Biomaterials.* 2006;27(9):1803-9
- Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W. Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography mass spectrometry. *J Dent.* 1998;26(2):137-145
- Stanislawski L., Daniau X, Lauti A, Goldberg M. Factors responsible for pulp cell cytotoxicity induced by resin-modified glass ionomer cements. *J Biomed Mater Res.* 1999;48(3):277-288
- Stanislawski L, Lefeuvre M, Bourd K, Soheili-Majd E, Goldberg M, Perianin A. TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species. *J Biomed Mater Res A.* 2003;66(3):476-82.
- Swift EJ, Hammel SA, Perdigao J, Wefel JS. Prevention of root surface caries using dental adhesive. *J Am Dent Assoc.* 1994;124:571-76
- Tang AT, Li J, Ekstrand J, Liu Y. Cytotoxicity tests of in situ polymerized resins: Methodological comparisons and introduction of a tissue culture insert as a testing device. *J Biomed Mater Res.* 1999;45(3):214-22
- Thonemann B, Schmalz G, Hiller KA, Schweikl H. Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. *Dental Materials.* 2002;18(4):318-23
- Vande Vannet BM, Hanssens JL. Cytotoxicity of two bonding adhesives assessed by three-dimensional cell culture. *Angle Orthod.* 2007;77(4):716-22
- Volk J, Engelmann J, Leyhausen G, Geurtsen W. Effects of three resin monomers on the cellular glutathione concentration of cultured human gingival fibroblasts. *Dent Mater.* 2006; 22(6):499-505.
- Volk J, Leyhausen G, Dogan S, Geurtsen W. Additive effects of TEGDMA and hydrogenperoxide on the cellular glutathione content of human gingival fibroblasts. *Dent Mater.* 2007;23(8):921-6
- Walther UI. Antioxidative vitamins decrease cytotoxicity of HEMA and TEGDMA in cultured cell lines. *Arch Oral Biol.* 2004;49(2):125-31

Wataha JC, Hanks CT, Sun Z. Effect of cell line on in vitro metal ion cytotoxicity. *Dent Mater.* 1994;10(3):156-61

www.sigmaaldrich.com/life-science/cell-culture/classical-media-salts/dmem.html ,
09.12.08

Yoshii E. Cytotoxic effects of acrylates and methacrylates: relationships of monomer structures and cytotoxicity. *J Biomed Mater Res.* 1997;37(4):517-24

Zimniak P, Nanduri B, Pikula S, Bandorowicz-Pikula J, Singhal SS, Srivastava SK, Awasthi S, Awasthi YC. Naturally occurring human glutathione S-transferase GSTP1-1 isoforms with isoleucine and valine in position 104 differ in enzymic properties. *Eur J Biochem.* 1994;224(3):893-9.