

**Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der  
Ludwig-Maximilians-Universität München**



***Biokompatibilität und Randdichtigkeit  
neuartiger bioaktiver Füllungswerkstoffe –  
eine in vitro Untersuchung***

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Lisa Kohl

aus

Burghausen

Jahr

2025

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Erstes Gutachten: PD Dr. Maximilian Kollmuß

Zweites Gutachten: Prof. Dr. Christine Keul

Drittes Gutachten: Prof. Dr. Christoph Benz

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 08.04.2025

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>3</b>
<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>5</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>5</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>7</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>8</b>
1.1 Karies – Prävalenz, Definition und Therapie .....	8
1.2 Füllungswerkstoffe – Überblick und Eigenschaften .....	8
1.2.1 Amalgam.....	9
1.2.2 Glasionomerezemente .....	10
1.2.3 Komposite.....	10
1.3 Notwendigkeit und Innovation von bioaktiven Restaurationsmaterialien .....	11
1.4 Bioaktive Materialien: Herstellerversprechen und aktueller Forschungsstand .....	13
1.4.1 Cention Forte .....	13
1.4.2 ACTIVA BioACTIVE Restorative.....	14
1.4.3 Surefil One.....	15
1.5 Ziel der Untersuchung .....	16
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>18</b>
2.1 Biokompatibilitätsprüfungen.....	18
2.1.1 Verwendeter Zelltypus und Kulturmedium.....	18
2.1.2 Vorbereitung der Zellen .....	18
2.1.3 Mediumwechsel .....	18
2.1.4 Passagieren und Zellzahlbestimmung .....	19
2.1.5 Herstellung der Eluate .....	20
2.1.6 Herstellung der Überstände für IL-6-ELISA sowie PGE <sub>2</sub> -EIA.....	21
2.1.7 Assays zur Untersuchung der Biokompatibilität.....	21
2.2 Mikrobiologische Untersuchungen .....	26
2.2.1 Verwendete Mikroorganismen .....	26
2.2.2 Agardiffusionstest zur Bestimmung einer potenziellen mikrobiellen Wachstumshemmung.....	27
2.3 Untersuchung der Füllungsranddichtigkeit an direkten Klasse II-Restaurationen humaner Molaren .....	29
<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>33</b>
3.1 Ergebnisse der Biokompatibilitätsprüfungen .....	33
3.1.1 Bestimmung der Anzahl von funktionsfähigen Zellen: CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay .....	33
3.1.2 Quantitative Bestimmung der Zellapoptose: Caspase-Glo 3/7 Assay .....	34
3.1.3 Bestimmung des oxidativen Zellstresses: Glutathion-Assay .....	35
3.1.4 Bestimmung der Prostaglandin E <sub>2</sub> -Konzentration mit EIA.....	36
3.1.5 Quantitativen Bestimmung von Interleukin-6 mit Quantikine ELISA .....	37
3.2 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen .....	37
3.2.1 Bestimmung des Hemmpotentials auf das Bakterienwachstum mittels Agardiffusionsversuchs .....	37

---

3.2.2	Bestimmung der Bakterienpenetration an natürlichen Zähnen.....	38
<b>4.</b>	<b>Diskussion der erzielten Ergebnisse.....</b>	<b>41</b>
<b>5.</b>	<b>Fazit .....</b>	<b>48</b>
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>49</b>
	<b>Anhang A.....</b>	<b>59</b>
	<b>Anhang B.....</b>	<b>62</b>
	<b>Anhang C.....</b>	<b>65</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>66</b>
	<b>Affidavit .....</b>	<b>67</b>
	<b>Erklärung zur Übereinstimmung .....</b>	<b>68</b>
	<b>Publikationsliste .....</b>	<b>69</b>

## Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, neuartige bioaktive Restaurationsmaterialien auf deren Biokompatibilität, Beeinflussung des Bakterienwachstums und Randdichtigkeit zu testen. Die untersuchten bioaktiven Materialien waren ACTIVA BioACTIVE-RESTORATIVE (AB), Cention Forte (CF) und Surefil One (SO), die Vergleichsgruppen Venus Diamond (VD), Equia Forte (EF) und Ketac Universal (KU). Für die Biokompatibilitätstestung wurden humane Gingivafibroblasten verwendet und Eluate aller getesteten Materialien angefertigt. Um zu untersuchen, ob durch die Eluate Entzündungsvorgänge in den Zellen ausgelöst werden, wurden ein Interleukin-6- und ein Prostaglandin E<sub>2</sub>-Assay durchgeführt. Zellvitalität und Apoptose wurden durch einen Cell-Viability- und einen Caspase-Assay erfasst. Mittels Glutathion-Assays wurde das Auftreten von oxidativem Stress der Zelle geprüft. Die Auswirkung der Materialien auf das Bakterienwachstum wurden mit einem Agardiffusionstest untersucht. Abschließend erfolgte die Testung der marginalen Integrität an extrahierten humanen Molaren. Hierfür wurden Klasse II-Füllungen in eine Bakteriensuspensionen eingelegt, angefärbt und Schnitte hergestellt. Die Auswertung erfolgte mikroskopisch.

Für die bioaktiven Materialien AB, CF und SO konnten vielversprechende Ergebnisse hinsichtlich ihrer Zellverträglichkeit erzielt werden. Dabei zeigten sich keine *in vivo* zu erwartenden toxischen Zellschäden.

Bei der Hemmung des Bakterienwachstums konnte lediglich für die Kontrollgruppe EF ein schwaches Hemmpotential für *F. nucleatum* festgestellt werden. Bei den weiteren Versuchsgruppen konnte keine Wachstumshemmung gemessen werden.

Beim Test der Randdichtigkeit zeigten die Materialien AB, CF und VD seltener das Auftreten einer bakteriellen Spaltpenetration. Bei Vorkommen einer solchen lagen die Penetrationstiefen meist im mittleren Tiefenbereich zwischen > 300-900 µm. Für KU, EF und SO konnte signifikant häufiger ein bakterielles Eindringen gemessen werden. Die gemessenen Werte waren allerdings deutlich niedriger und lagen meist zwischen 0 und 600 µm.

Insgesamt bieten die getesteten bioaktiven Materialien einen interessanten Ansatz zum Ersatz von Amalgam. Die positiven Ergebnisse zur Verträglichkeit müssen in klinischen Studien verifiziert werden. Eine direkte Hemmung des Bakterienwachstums konnte nicht festgestellt werden. Zu prüfen bleibt, ob der bioaktive Effekt durch eine Anregung der Zahnhartsubstanzbildung erreicht werden kann. Im Bakterienpenetrationstest konnte gezeigt werden, dass Materialien mit Zahnoberflächenkondition eine geringere Neigung zur bakteriellen Besiedelung im Randbereich aufweisen, allerdings die mittlere Eindringtiefe im Falle einer Spaltbildung höher war als bei Materialien ohne Konditionierung.

## Abstract

The aim of this study was to test new so-called bioactive restorative materials for their biocompatibility and marginal integrity. The bioactive materials tested were ACTIVA BioACTIVE-RESTORATIVE (AB), Cention Forte (CF) and Surefil One (SO), the comparison groups were Venus Diamond (VD), Equia Forte (EF) and Ketac Universal (KU). Human gingival fibroblasts were used for biocompatibility testing and eluates of all tested materials were prepared. An interleukin-6 and a prostaglandin E<sub>2</sub> assay were performed to investigate whether the eluates triggered inflammatory processes in the cells. Cell viability and apoptosis were determined using a cell viability and a caspase assay. The occurrence of oxidative stress in the cell was tested using a glutathione

assay. The effect of the materials on bacterial growth was examined using an agar diffusion test. Finally, the marginal integrity was tested on extracted human molars. For this purpose, class II fillings were prepared, placed in bacterial suspensions, stained and sections were made. The examination was carried out microscopically.

Promising results were obtained for the bioactive materials AB, CF and SO with regard to their cell compatibility. There was no toxic cell damage to be expected in vivo. Regarding the inhibition of bacterial growth, only the control group EF showed a weak inhibition potential for *F. nucleatum*. No growth inhibition could be measured for the bioactive test groups.

In the test of bacterial penetration the materials AB, CF and VD showed less frequent occurrence of bacterial fissure penetration. Where such penetration occurred, the penetration depths were mostly in the medium depth range between > 300-900  $\mu\text{m}$ . Bacterial penetration was measured significantly more frequently for KU, EF and SO. However, the measured values were significantly lower and were mostly between 0 and 600  $\mu\text{m}$ .

Overall, the bioactive materials tested offer an interesting approach to replacing amalgam. The positive results on tolerability must be verified in clinical studies. A direct inhibition of bacterial growth could not be determined. It remains to be investigated whether the bioactive effect can be achieved by stimulating the formation of dental hard tissue. The bacterial penetration test showed that materials with tooth surface conditioning have a lower tendency to bacterial colonization in the marginal area, but the average penetration depth in the case of gap formation was higher than in materials without conditioning.

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
AB	ACTIVA BioACTIVE-RESTORATIVE
BHI	Brain Heart Infusion Medium
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CHX	Chlorhexidin-Digluconat
CF	Cention Forte
C+M	Cells + Medium
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
EIA	Enzymimmunoassay
EF	EQUIA Forte
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FBS	Fetal bovine serum; Kälberserum
FDI	Fédération Dentaire Internationale
GSH	Glutathion-Tripeptid
GSSG	Glutathion-Disulfid
IL-6	Interleukin-6
KU	Ketac Universal Aplicap
PBS	Phosphate buffered saline
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
RLU	Relative Lichteinheit
SCENIHR	Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks
SO	Surefil One
SSP	Staurosporin
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
VD	Venus Diamond

# 1. Einleitung

## 1.1 Karies – Prävalenz, Definition und Therapie

Die in den Jahren 2013-2014 vom Institut der Deutschen Zahnärzte erhobene fünfte deutsche Mundgesundheitsstudie gibt einen Überblick über die Mundgesundheit der verschiedenen Altersgruppen in der Bundesrepublik. Es konnte festgestellt werden, dass heute 81 % der Zwölfjährigen kariesfrei sind. Auch bei der Gruppe der jüngeren Erwachsenen (35-45 Jahre) zeigt sich ein positiver Trend, sodass hier ein Rückgang der Karieserfahrung von über 30 % im Vergleich zu 1997 verzeichnet werden konnte. Deutschland belegt mit diesen Studienergebnissen im internationalen Vergleich mit den G7-Staaten eine Spitzenposition im Bereich der Karieserfahrung bei Kindern und ist somit nicht als internationaler Maßstab anwendbar. In anderen Industriestaaten ist im direkten Vergleich weiterhin eine größere Kariesprävalenz zu beobachten, sodass in Japan beispielsweise knapp dreimal so viel Karieserfahrung bei Kindern zu verzeichnen ist. Die Autoren der Studie bezeichnen somit, trotz der positiven Ergebnisse in Deutschland, Karies als häufigste chronische Erkrankung weltweit (Jordan et al., 2014). Diese Aussage wird durch mehrere Publikationen unterstützt (Ismail et al., 2001; Nedeljkovic et al., 2020). Auch die weltweit angelegte Global Burden of Disease Studie von 2017 beschreibt Karies als global herausfordernde Krankheit, da im Rahmen dieser 2,3 Milliarden Fälle von unbehandelter Karies in bleibenden Zähnen festgestellt wurden (Bernabe et al., 2020).

Generell kann Karies als multifaktorielle Erkrankung bezeichnet werden, welche mit dem Mineralisationsverlust der Zahnhartsubstanzen einhergeht. Dies wird durch säurebildende Bakterien im oralen Biofilm verursacht. Die Entwicklung einer Karies hängt unter anderem von der Ernährung, der Mundhygiene, dem Speichelfluss und weiteren Umweltfaktoren ab (Machiulskiene et al., 2020).

Die Arretierung des kariösen Demineralisationsprozesses und damit die Entfernung der Karies sowie die anschließende Versorgung mit einer geeigneten Restauration stellt eine der Hauptaufgaben des zahnärztlichen Berufs dar.

Zum Ersatz der verlorenen Zahnhartsubstanz stehen indirekte und direkte Verfahren zur Verfügung, zwischen welchen nach Berücksichtigung multipler Faktoren, wie beispielsweise Kavitätengröße, Lokalisation, Patientenwunsch und finanzieller Möglichkeit, gewählt werden muss. Unter den indirekten Behandlungsmöglichkeiten befinden sich neben größeren prothetischen Arbeiten die sogenannten Einlagefüllungen, auch Inlays oder Onlays genannt, welche häufig aus Gold oder Hochleistungskeramiken angefertigt werden. Um dem Prinzip der Minimalinvasivität gerecht zu werden, wird jedoch bei Defekten geringerer Ausdehnung meist die direkte Füllungstherapie gewählt.

## 1.2 Füllungswerkstoffe – Überblick und Eigenschaften

Der nachfolgende Absatz gibt Überblick über die derzeit am häufigsten eingesetzten direkten Füllungswerkstoffe. Zu diesen zählen Amalgame, Glasionomerzemente und Komposite.

### 1.2.1 Amalgam

Das Quecksilbergemisch Amalgam wird bereits seit 180 Jahren als Füllungsmaterial verwendet und war über 100 Jahre lang das Material der Wahl für Klasse I- und II-Kavitäten (Frankenberger et al., 2021; Roulet, 1997). Noch heute stellt Amalgam die von den gesetzlichen Krankenkassen übernommene Leistung für den Seitenzahnbereich dar. Die aktuell verwendeten Non-Gamma-2-Amalgame setzen aufgrund ihrer verbesserten Korrosionsfestigkeit weniger Quecksilber frei, weisen eine ausreichende Stabilität für den kaulasttragenden Bereich auf und sind technisch vergleichsweise praktikabel anzuwenden. Zudem handelt es sich um ein kostengünstiges Material (Kelly & Smales, 2004) und bietet eine langjährige klinische Erfahrung (Frankenberger et al., 2021; Shenoy, 2008). Nach Analyse diverser klinischer Studien wird in der Literatur eine mittlere jährliche Misserfolgsquote von nur 3 % für Amalgam angegeben (Manhart et al., 2004). Unterstützt wird dieses positive Ergebnis auch von Shenoy, welcher nach einem Vergleich mehrerer klinischer Daten Non-Gamma-2-Amalgamen eine klinische Lebenszeit von 12 Jahren zuschreibt (Shenoy 2008). Trotz hervorragender klinischer Langzeitergebnisse lässt sich bei der Verwendung von Amalgam ein starker Rückgang feststellen, sodass heute nur noch ca. 5,3 % der jährlich gelegten Füllungen in Deutschland aus Amalgam bestehen (Frankenberger et al. 2021). Dies hat multiple Ursachen. Zum Einen widerspricht die für die Amalgamversorgung notwendige ausge dehnte Kavitätenpräparation dem Prinzip der Minimalinvasivität und führt zur Schwächung der verbleibenden Zahnhartsubstanz, sodass die Anfertigung von Amalgamfüllungen nicht mehr im Fokus der zahnärztlichen Ausbildung an den deutschen Universitäten steht (Frankenberger et al., 2021; Zidan & Abdel-Keriem, 2003). Überdies wird die gräuliche Farbe des Amalgams nur von wenigen Patienten akzeptiert. Eine steigende Wichtigkeit von ästhetischen Materialien und somit der Nachfrage nach zahnfarbenen Füllungswerkstoffen ist trotz privat anfallender Zusatzleistung sogar im nichtsichtbaren Kieferbereich im klinischen Alltag zu verzeichnen (Frankenberger et al. 2021; Manhart et al. 2004).

Die langanhaltende Debatte über die Toxizität des Amalgams aufgrund seines hohen Quecksilbergehalts führte weiterhin zu weitreichender Verunsicherung bei Patienten sowie zu Kontroversen unter Zahnärzten. Kein anderes Füllungsmaterial wurde so hinreichend in Bezug auf Zytotoxizität und Pathogenität untersucht. Mehrere anerkannte internationale Fachgremien, wie das Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) sowie die International Association for Dental Research (IADR), haben die Sicherheit von dentalem Amalgam und dessen Tauglichkeit für die zahnmedizinische Versorgung jedoch bereits bestätigt (Ajiboye et al., 2020; Rodríguez-Farre et al., 2016).

Ein weiterer Grund für den stetigen Rückgang der Amalgamverwendung liegt auch in den gesetzlichen Vorgaben. Im Rahmen der Minamata-Konvention und des dort im Jahr 2013 verabschiedeten Vertrags, ratifizierten 128 Staaten Maßnahmen zur schrittweisen Reduktion der Verwendung von Amalgam, um die Umweltbelastung durch freiwerdendes Quecksilber zu verringern (Fisher et al., 2018; Frankenberger et al., 2021). Es folgte 2017 die Verabschiedung einer neuen Verordnung der Europäischen Union über Quecksilber, in welcher festgelegt wurde, dass ab 1. Juli 2018 Dentalamalgam nicht mehr für Kinder unter 15 Jahren, Schwangere und Stillende, außer in vom Behandler notwendig erachteten Fällen, verwendet werden darf. Neben der Pflicht, Amalgam nur noch in verkapselter Form anzuwenden, enthält die Verordnung noch eine Vielzahl an Anordnungen zur korrekten Entsorgung (Das Europäische Parlament und der Rat der Europäischen Union, 2017). Während in der Minamata-Konvention Maßnahmen für die Reduzierung von Amalgam, dem sogenannten „Phase down“, erarbeitet wurden, zielt der Ausschuss für Umweltfragen, öffentliche Gesundheit und Lebensmittelsicherheit der Europäischen Union auf einen

kompletten Verzicht von dentalem Amalgam ab. Erst kürzlich wurde hierzu ein Berichtsentwurf veröffentlicht, in welchem ein Verbot für die Verwendung von dentalem Amalgam bis 1. Januar 2025 gefordert wird. Dies wird als sogenanntes „Phase out“ bezeichnet. Ausnahmen sollen hierbei nur die als medizinisch hinreichend notwendig erachtete Fälle bilden (Ausschuss für Umweltfragen, öffentliche Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, 2023).

### 1.2.2 Glasionomerzemente

Aufgrund der fortschreitenden Einstellung von Amalgam als Füllungswerkstoff richtete sich die Aufmerksamkeit auf andere Werkstoffklassen, wie auch auf die Glasionomerzemente und deren Modifikationen. Klassische Glasionomerzemente verfügen über die Eigenschaft, eine eigene chemische Bindung an Schmelz und Dentin auszubilden. Das Ausbleiben der Konditionierung der Zahnhartsubstanz mit beispielsweise Phosphorsäure oder Adhäsiven macht Glasionomerzemente ähnlich dem Amalgam simpel und praktikabel in ihrer Anwendung. Zudem werden ihnen stets eine verträgliche Biokompatibilität zugeschrieben (Chumpraman et al., 2023; Frankenberger et al., 2021; Hickel et al., 1998; Manhart et al., 2002). Eine weiterer positiver Aspekt der Glasionomerzemente besteht in deren Fähigkeit, Fluoridionen freizusetzen, wodurch ein antikariogener Effekt und eine Remineralisierung der Zahnhartsubstanz erwartet wird (Hickel et al., 1998; Wiegand et al., 2007). Der Nachteil der Glasionomerzemente sind deren schwächere mechanischen Eigenschaften. In einer Analyse von mehreren Studien ergaben sich für Glasionomerzemente jährliche Misserfolgsquoten bis zu 14,3 % (mittlere Misserfolgsquote 7,2 %) für Restaurationen im Seitenzahnbereich (Manhart et al. 2004). Hohe Frakturnraten fanden sich auch in der Studie von Frankenberger et al., welche bei Klasse II-Kavitäten sogar eine jährliche Misserfolgsrate von 20 % für einen Glasionomerzement beschrieben (Frankenberger et al., 2009). Aus diesem Grund wird eine Versorgung mit klassischen Glasionomerzementen bei bleibenden Zähnen derzeit von vielen Experten nur als provisorische Lösung angesehen (Frankenberger et al., 2021; Manhart et al., 2002; Nedeljkovic et al., 2020).

### 1.2.3 Komposite

Auch in der Gruppe der Komposite sind rasche Fortschritte seit deren Entwicklung vor mehr als 50 Jahren festzustellen (Ferracane, 2011). Die aus einer organischen Kunststoffmatrix und anorganischen Füllern bestehenden Materialien stellen mittlerweile das am häufigsten verwendete Füllungsmaterial dar (Frankenberger et al. 2021). Komposite verfügen über eine Reihe wünschenswerter Eigenschaften. Ihre zahnähnliche Farbe ermöglicht die Erzielung ästhetisch zufriedenstellender Ergebnisse. Ein weiterer Vorteil gegenüber der etablierten Amalgamrestauration ist die Minimalinvasivität, die durch die Anwendung eines geeigneten Adhäsivsystems erreicht werden kann. Ein defektorientiertes Kavitätdesign ist somit durch eine schonende mikromechanische Verankerung an Schmelz und Dentin möglich (Frankenberger et al., 2021; Heck et al., 2018). Überdies bietet die direkte Restauration mit Komposit trotz privat anfallender Zuzahlung in einer Kosten-Nutzen-Abwägung eine preiswerte Versorgungsmöglichkeit. Gerade im Vergleich mit laborgefertigten indirekten Restaurationen schneiden sie in einer Langzeitbetrachtung von 15 Jahren überaus kosteneffektiv ab (Kelly und Smales 2004). Durch die ständigen Modifikationen der anorganischen Bestandteile konnten zudem die für den kaulasttragenden Bereich notwendi-

gen mechanischen Eigenschaften der Komposite erreicht werden (Rodríguez et al., 2019), so dass diese im Vergleich mit anderen Materialien immer wieder positive Studienergebnisse erzielen (Almuammar et al., 2001).

Studien und Metaanalysen zeigen vielversprechende Überlebens- und Misserfolgsraten für Komposit, welche circa in der gleichen Größenordnung des Amalgams liegen. So geben beispielsweise Manhart et al. eine mittlere jährliche Misserfolgsquote von 2,2 % für direkte Komposite (Amalgam 3 %) im Seitenzahnbereich an (Manhart et al. 2004). Unterstützt wird diese Aussage von Opdam et al., welche eine jährliche Misserfolgsrate von 1,78 % für Komposit und 1,25 % für Amalgam nach fünf Jahren als Ergebnis ihrer Studie präsentierten (Opdam et al., 2010). Im Vergleich mit Komposit-Inlays (2,5 % Misserfolgsrate) konnte nach fünf Jahren eine jährliche Misserfolgsrate von nur 1,6 % für direkte Restaurationen festgestellt werden (Cetin et al., 2013). Auch bei einer Beobachtungsdauer von 27 Jahren erreichten Komposite in Klasse II-Restaurationen vergleichbar gute Ergebnisse mit ebenfalls nur 1,6 % jährlichen Misserfolgs (Pallesen & van Dijken, 2015).

Diese positiven klinischen Daten setzen jedoch die korrekte Anwendung dieser Materialien voraus. Im Gegensatz zu Amalgam oder Glasionomermzement ist die Verarbeitung von Komposit aufgrund von Trockenlegung, Kavitäten-Konditionierung, Applikation in Inkrementen, Lichtpolymerisation und weiterer Arbeitsschritte sehr zeitintensiv und techniksensitiv. Zwar existieren bereits selbstadhäsive Komposite, diese werden jedoch wegen unzureichender klinischer Ergebnisse derzeit von den Fachgesellschaften nicht empfohlen. Dies setzt die Anwendung in Kombination mit geeigneten Dentinadhäsiven voraus. Um eine Zeitersparnis bei der Schichtung und Lichthärtung zu erreichen, wurden die sogenannten Bulk-Fill-Komposite auf den Markt gebracht, welche über eine Durchhärtungstiefe von mindestens 4 Millimeter verfügen (M. Federlin, U. Blunck, R. Frankenberger, H. Knüttel, F.X. Reichl, H. Schweikl, H. J. Staehle, R. Hickel, 2016). In zehnjähriger Beobachtungsdauer erzielen die Bulk-Fill-Komposite bereits hohe Erfolgsraten (Heck et al. 2018), der gesteigerte Aufwand der übrigen Arbeitsschritte bleibt jedoch gleich.

Als Nachteil von Kompositfüllungen ist die erhöhte Anfälligkeit zur Sekundärkariesbildung zu nennen. Wie einige Studien belegen, stellt die Bildung von Sekundärkaries die Hauptursache für den Misserfolg von Kompositrestaurationen dar (Eltahlah et al., 2018; Mjör, 1996; Nedeljkovic et al., 2020).

Zudem werden auch die biologischen Eigenschaften der Komposite, insbesondere der organischen Matrix, immer wieder diskutiert. Mehrere Studien konnten bereits belegen, dass einige teils als zytotoxisch geltenden Substanzen aus den Füllungsmaterialien eluiert werden können (Durner et al., 2009; Sevkusic et al., 2014). Auch wenn diese nicht die bekannten Grenzwerte für Zellschäden erreichen, wird hierdurch die Notwendigkeit einer zellbiologischen Prüfung eines jeden neuen Werkstoffs verdeutlicht.

### **1.3 Notwendigkeit und Innovation von bioaktiven Restaurationsmaterialien**

Auch wenn Komposite bei korrekter Anwendung bereits sehr gute Ergebnisse hinsichtlich Ästhetik und Langlebigkeit erzielen und den Ansprüchen moderner Zahnmedizin am nächsten kommen, ersetzen konventionelle Komposite jedoch lediglich die verlorengegangene Zahnhartsubstanz. Um die Vorteile der verschiedenen Werkstoffklassen miteinander zu verbinden, wurden in

der Vergangenheit bereits Kombinationen wie die Kompomere oder die kunststoffmodifizierten Glasionomere entwickelt, welche sich jedoch bis heute noch nicht im klinischen Alltag durchsetzen. Dieser Trend führte zur Einführung von sogenannten bioaktiven Restaurationsmaterialien. Für den Begriff der Bioaktivität existieren mehrere uneinheitliche Definitionen, welche unterschiedliche Anforderungen an die Eigenschaften des Materials stellen. Im weiteren Sinne wird Bioaktivität als die Fähigkeit, eine biologische Wirkung auszuüben, beschrieben. Im Kontext der Zahnmedizin beschreiben manche Autoren Bioaktivität als das Potential eines Werkstoffs, die Hydroxylapatitbildung induzieren zu können (Vallittu et al., 2018). Um das Ausnutzen des Bioaktivitätsbegriffs für Marketingzwecke seitens der Dentalhersteller zu verhindern, veröffentlichte die FDI ein Anforderungsprofil für Werkstoffe, welche nur bei Erfüllen aller Punkte als bioaktiv bezeichnet werden dürfen. Zunächst soll eine wissenschaftlich nachgewiesene bioaktive Wirkung vorliegen, welche zumindest in In-vitro-Studien bestätigt werden konnte. Der Mechanismus dieser Wirkung muss klar umschrieben sein, wobei die FDI hierbei zwischen rein biologischen, chemischen und gemischten Funktionsweisen unterscheidet. Weiterhin muss die Dauer des angegebenen bioaktiven Effekts bekannt sein. Überdies muss der Hauptzweck der Restaurationswerkstoffe, nämlich die Wiederherstellung verloren gegangener Zahnschubstanz erfüllt sein, wobei keine negativen biologischen Nebenwirkungen auftreten dürfen (Schmalz et al., 2022). Speziell für Füllungswerkstoffe fasst Ferracane den Begriff der Bioaktivität durch zwei Mechanismen zusammen. Zum einen soll durch Bioaktivität Sekundärkaries verhindert werden oder eine Remineralisation bereits angegriffener Zahnhartsubstanz erfolgen (Ferracane, 2024).

Während eine solche Zahnhartsubstanzbildung vor allem in der restaurativen Zahnheilkunde gewünscht wird, soll in der Endodontie der Einsatz von bioaktiven Sealern oder Wurzelfüllmaterialien auf eine Unterstützung der Knochenregeneration abzielen. Auch eine bessere Verträglichkeit im Unterschied zu herkömmlichen Sealern auf Epoxid-Harz-Basis wird bei Kontakt mit periapikalen Geweben oder pulpalen Zellen bei Überkappungen gewünscht. Durch ihr bioaktives Potential werden bioaktive Materialien überdies in der regenerativen Endodontie verwendet. Ein Beispiel für ein in dieser verwendetes Material ist Mineraltrioxidaggregat (MTA) (Estrela et al., 2023).

Gemäß den existierenden unterschiedlichen Definitionen kann Bioaktivität auf verschiedene Arten erreicht werden. Hierzu zählen unter anderem die Freisetzung von Fluoridionen oder die Zugabe bioaktiver Gläser. Dadurch kann die Gruppe der Glasionomere und dessen Modifikationen als erste bioaktive Materialien betrachtet werden (Lührs & Herrmann, 2020).

Als erstes bioaktives Glas gilt das Bioglass 45S5, welches aus 45 % Siliciumdioxid, 24,5 % Natriumoxid, 24,5 % Calciumoxid und zu 6 % aus Phosphorpentoxid besteht (Skallevold et al., 2019). Entwickelt wurde dieses von Hench und wird seit 1985 in der Zahnmedizin verwendet. (Lührs & Herrmann, 2020). Durch die Modifikation der prozentualen Gewichtsanteile sowie dem Zusatz weiterer Elemente wie Magnesium, Kalium oder auch Aluminium wurden weitere bioaktive Gläser für den klinischen Einsatz entwickelt (Lührs & Herrmann, 2020; Skallevold et al., 2019).

Durch die Verwendung von bioaktiven Gläsern konnten in der Zahnmedizin bereits vielversprechende Ergebnisse erzielt werden. Neben den in der Endodontie genutzten Vorteilen, lassen sich auch vielversprechende Ansätze für die restaurative Zahnheilkunde finden. So ist beispielsweise bekannt, dass bioaktive Gläser die Mineralisation von Dentin fördern, wohingegen sie der Demineralisation entgegen wirken (Forsback et al., 2004). In einer weiteren Studie war es möglich, mit Hilfe von bioaktiven Gläsern die bakterielle Penetration von Randspalten von Füllungen zu reduzieren und die Biofilmbildung zu verlangsamen (Khvostenko et al., 2016). Diese antibakterielle Wirkung konnte mehrfach belegt werden (Waltimo et al., 2007). Um die aktive Wirkung dieser

Gläser zu nutzen und den Defekt nicht nur passiv zu restaurieren, versuchen die Hersteller dentaler Materialien diese in die Füllungswerkstoffe zu integrieren.

## 1.4 Bioaktive Materialien: Herstellerversprechen und aktueller Forschungsstand

Nachfolgend wird bisherige Literatur zu in dieser Arbeit getesteten bioaktiven Materialien genauer vorgestellt sowie auf die Versprechen seitens der Hersteller eingegangen. Unter Punkt A.a. des Anhangs befindet sich eine genaue Übersicht zu den Herstellern und den Inhaltsstoffen aller getesteten Materialien.

### 1.4.1 Cention Forte

Bei Cention Forte handelt es sich um ein selbsthärtendes Pulver-Flüssigkeitsmaterial in Kapselform. Es zählt zur Materialgruppe der Alkasite und wird als Amalgam- und Glasionomerezement-Ersatz für Klasse I- und Klasse II-Restaurationen beworben. Weiterhin wird eine hohe Biegefestigkeit von  $> 100$  MPa sowie die Freisetzung von bioaktiven Hydroxid-, Calcium- und Fluorid-Ionen versprochen. Der patentierte alkalische Füller soll bei Säureangriffen den pH-Wert anheben und so einer Demineralisation entgegenwirken. Die Freisetzung der genannten Ionen soll zudem eine aktive Remineralisierung der Zahnhartsubstanz ermöglichen. Die Fähigkeit zur Bildung von Calciumphosphat-Kristallen und Calciumfluorid wird hierbei propagiert (Ivoclar Vivadent AG, 2020a).

Generell existiert zu Cention Forte bisher sehr wenig Literatur. Die meisten aktuell vorhandenen Studien beziehen sich auf den Vorgänger Cention N, welches jedoch nicht in Kapselform vorliegt und ohne das Cention Primer-System erhältlich ist. In keiner der bisher vorliegenden Untersuchungen wurde die Randdichtigkeit von Cention Forte überprüft. Lediglich die mitunter aus dieser Arbeit hervorgegangene Publikation beschäftigt sich mit der Biokompatibilität (Wuersching et al., 2023).

Sadeghyar et al. führten eine *in vitro* Studie zur Scherhaftfestigkeit von Amalgamersatzmaterialien durch, in welcher Cention Forte in Kombination mit der Verwendung des Cention Primer die höchsten Werte unter allen getesteten Materialien erreichte (17,4 MPa) (Sadeghyar et al., 2022).

In weiteren werkstoffkundlichen Untersuchungen unter anderem hinsichtlich Biegefestigkeit, E-Modul, Wasseraufnahme und Löslichkeit zeigten sich für Cention Forte bessere mechanische Eigenschaften als für Glasionomerezemente. Diese konnten durch die fakultative Lichthärtung des dualhärtenden Materials nochmals erhöht werden. Weiterhin reduzierte die Lichthärtung von Cention Forte dessen Löslichkeit und eine höhere Konversionsrate wurde erreicht. Die Autoren der Studie empfehlen Cention Forte daher nur mit Lichthärtung zu verwenden (Marovic et al., 2022).

Durch positive Ergebnisse hinsichtlich Biege- und Zugfestigkeit, welche die der getesteten Glasionomerezemente übertrafen, ziehen einige Autoren die Verwendung von Cention Forte im Seitenzahnbereich als Bulk-Fill-Kompositersatz bereits in Betracht (Lalovic et al., 2024).

Erst kürzlich erfolgte die Veröffentlichung einer weiteren Studie zur Fluoridfreisetzung von Cention Forte. Hier zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Fluoridabgabe in deionisiertem

Wasser bei fünfwöchiger Beobachtungsdauer (Banic Vidal et al., 2023). Auch in weiteren Studien zeigten sich erhöhte Fluoridwerte, sodass die Autoren eine potentielle Hemmung von Sekundärkaries in Betracht ziehen (Abouelleil et al., 2024).

Eine der wenigen Testungen zur Plaqueakkumulation führten Hamza et al. durch. Diese untersuchten die initiale Bakterienadhäsion sowie die Biofilmbildung an Cention Forte im Vergleich zu Komposit, Glasionomerzement, Equia Forte sowie Stahlkronen. Außer einer geringeren Biofilmbildung an Stahlkronen konnten keine signifikanten Unterschiede zu den anderen Materialgruppen festgestellt werden. Die Autoren schließen hieraus, dass ionenfreisetzende Materialien wie Cention Forte über keine besseren antibakteriellen Eigenschaften verfügen (Hamza et al., 2024).

Durch die mangelnde Literatur zur Zellbiokompatibilität, Plaqueakkumulation und den mikrobiologischen Faktoren wird die Notwendigkeit der Überprüfung dieser verdeutlicht.

#### **1.4.2 ACTIVA BioACTIVE Restorative**

Bei dem seit 2013 auf dem Markt erhältlichen ACTIVA BioACTIVE RESTORATIVE handelt es sich um ein Zwei-Pasten-Automix-System, welches licht- oder selbsthärtend angewendet werden kann. Es kann der Gruppe der kunststoffmodifizierten Glasionomerzemente zugeordnet werden. Eine Anwendung mit Phosphorsäure-Ätzung und Dentinadhäsiv wird vorgesehen. Der Hersteller verspricht eine hohe Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionenfreisetzung, was wiederum die Remineralisierung der Zahnhartsubstanz und die Apatitbildung ermöglichen und so eine höhere Bioaktivität im Vergleich zu herkömmlichen Glasionomerzementen erreicht werden soll. Die freigesetzten Ionen sollen sich von selbst wieder aufladen. Weiter wird eine chemische Verbindung mit dem Zahn propagiert, während das Material jedoch gleichzeitig mit einem geeigneten Adhäsiv verwendet werden soll. Zum bioaktiven Inhaltsstoff gibt Pulpdent lediglich an, ein bioaktives, ionisches Embrace-Harz mit reaktiven Glasfüllstoffen formuliert zu haben. In Wasser sollen bei Veränderung des Milieus durch einen Ionenaustausch die Wasserstoffionen des Harzes durch Kalzium ersetzt werden und so ein „Harz-Hydroxylapatit-Komplex“ entstehen. So soll eine verlässliche Abdichtung gegen Mikroleckage erzielt und Sekundärkaries verhindert werden. Der Hersteller verspricht außerdem, dass es sich bei dem Produkt um ein Bis-GMA und Bisphenol A freies Material handelt (Pulpdent Corporation, o. J.).

Bei Markteinführung von ACTIVA BioACTIVE RESTORATIVE wurde seitens des Herstellers keine zusätzliche Adhäsivanwendung empfohlen. Erst aufgrund mehrerer unzufriedenstellender Studienergebnisse wurde die Verwendung eines solchen im Jahr 2017 für nicht-retentive Kavitäten und 2019 in die Gebrauchsanweisung mit aufgenommen (Benetti et al., 2019). Aus diesem Grund bezieht sich die derzeit vorhandene Literatur oftmals auf die Anwendung ohne Adhäsiv.

So existieren bereits einige Veröffentlichungen, welche das Auftreten von Mikroleakage, die Scherhaftfestigkeit und die marginale Adaption bei Füllungen mit ACTIVA BioACTIVE RESTORATIVE untersuchen. Hier bestätigen sich die unzureichenden Ergebnisse bei der Anwendung ohne und die gravierenden Unterschiede in der Anwendung mit einem Dentinadhäsiv. Tohidkhah et al. zeigten in ihrer Studie, dass Activa in der Verwendung ohne Adhäsiv niedrigere Haftwerte als konventionelle Komposite sowie modifizierte Glasionomerzemente erzielte. Weiterhin ergab sich für Activa ohne Adhäsiv im Vergleich mit den anderen Materialgruppen häufiger das Auftreten von Mikroleakage. Unter Verwendung eines Bondings, erreichte Activa vergleichbar gute Ergebnisse wie die Kompositvergleichsgruppe (28,54 MPa Haftfestigkeit) (Tohidkhah et al., 2022).

Diese Erkenntnisse decken sich mit den Ergebnissen mehrere Studien, welche bei Adhäsiv-Verwendung mit Komposit ähnliche Eigenschaften erzielten (Benetti et al., 2019; Owens et al., 2018). Bereits die Durchführung einer selektiven Phosphorsäure-Schmelzätzung erzielte eine Verbesserung der Haftfestigkeit, jedoch stellte eine Volumenkontraktion von 2,9 % ein weiteres Problem bei der Verwendung ohne Adhäsiv dar, welches nur durch die Ätzung nicht ausgeglichen werden konnte (Benetti et al. 2019). Eine klinische Studie, welche die Versorgung von Klasse I- und Klasse II-Kavitäten mit Activa ohne Adhäsiv untersuchte, musste aufgrund der jährlichen Misserfolgsrate von 24,1 % sogar abgebrochen werden, wobei der häufigste Misserfolgsgrund der Verlust der Restauration war (van Dijken et al., 2019).

Einige andere Autoren untersuchten bereits die Fluoridfreisetzung des Materials. Im Gegensatz zur Angabe des Herstellers, dass Activa sogar noch bioaktiver wäre als Glasionomermaterial, konnte im Vergleich lediglich eine deutlich geringere Fluoridfreisetzung festgestellt werden (Garoushi et al., 2018; Porenczuk et al., 2019; Rifai et al., 2022). In allen aufgeführten Studien konnte zudem ein Abfall in der Fluoridfreisetzung nach 24 Stunden gemessen werden, wobei sich die Ionenabgabe auch in den darauffolgenden Tagen nicht mehr erhöhte. Das Argument des Herstellers bezüglich der Selbstaufladung des Materials ist somit in Frage zu stellen. Tiskaya et al. 2019 bescheinigen Activa ebenso eine Ionenfreisetzung, jedoch keine Fähigkeit apatitähnliche Strukturen zu bilden. Die Autoren kritisieren daher die Verwendung des Bioaktivitätsbegriffs (Tiskaya et al., 2019).

Hinsichtlich seiner mechanischen Eigenschaften erzielt Activa in den vorhandenen Studien unterschiedliche Ergebnisse. In der Studie von François et al. erreichte Activa den ISO-Standard von 80 MPa im Hinblick auf die Biegefestigkeit weder im lichterhärtenden noch selbsthärtenden Verwendungsmodus (François et al., 2021). Hinsichtlich der Bruchzähigkeit (1,1 MPa m<sup>1/2</sup>) und der Verschleißbeständigkeit konnten wiederum zufriedenstellende Werte erzielt werden (Garoushi et al., 2018).

Insbesondere im Bereich der Biokompatibilität liegt bisher wenig Literatur vor, die Vorhandene impliziert jedoch vielversprechende Ergebnisse. In einer Studie, welche humane Gingivafibroblasten den aus Activa gewonnenen Eluat aussetzte, bescheinigen die Autoren dem Material in Bezug auf die Zellviabilität eine gute Biokompatibilität (Roussou et al., 2021). Im Tierversuch mit Ratten, welchen ein mit Activa gefülltes Polyethylenröhrchen implantiert wurde, zeigten sich in der histopathologischen und immunhistologischen Untersuchung nur minimale Entzündungszeichen, ein schneller Entzündungsrückgang, physiologisches Geweberemodelling sowie eine bessere Heilungstendenz als in den Vergleichsgruppen. Die Studienautoren sprechen hier von hervorragender Biokompatibilität (Abou ElReash et al., 2019). Auch das dem hier getesteten Material verwandte ACTIVA Kids BioACTIVE Restorative wies im Versuch mit humanen pulpalen Stammzellen hinsichtlich Zellviabilität, Zellmigration, Zellmorphologie und Zellattachement in vitro keine Anzeichen für Zytotoxizität auf und erreichte die höchste Zelldichte und -verteilung im Gruppenvergleich (López-García et al., 2019).

### 1.4.3 Surefil One

Surefil One wird von seinem Hersteller Dentsply Sirona als selbstadhäsives Komposithybrid eingeordnet, welches in Kapselform zur Anwendung verfügbar ist. Durch den Verzicht auf Säureätzung der Schmelzoberfläche sowie die fehlende Notwendigkeit eines Dentinadhäsivs soll eine

Zeitersparnis und einfachere Verarbeitbarkeit erreicht werden. Der Schlüssel hierfür liegt in sogenannten modifizierten Polysäuren. Das Material ist dualhärtend anwendbar, wobei keine spezielle Schichtungsstärke beachtet werden muss, und die Bulk-Anwendung freigegeben ist. Weiterhin wird aufgrund der Verwendung eines reaktiven Glasfüllers eine Fluoridabgabe versprochen. Laut Hersteller enthält Surefil One weder Bisphenol A, Bis-GMA noch HEMA (Dentsply Sirona, 2020).

Aufgrund seiner erst kürzlichen Markteinführung ist die Datenlage zu Surefil One noch gering. Hinsichtlich der Biokompatibilität existiert bereits eine Studie, in welcher keine zytotoxischen Effekte auf Maus-Fibroblasten von Surefil One festgestellt werden konnten und diesem eine gute Verträglichkeit zugeschrieben wird (Marigo et al., 2022). Eine erneute Evaluierung der Biokompatibilität erfolgt in der vorliegenden Arbeit nicht.

Die vom Hersteller propagierten selbstadhäsiven Eigenschaften konnten bereits in Studien im Sinne einer hohen Scherhaftfestigkeit aufgezeigt werden (Sadeghyar et al. 2022; François et al. 2021). Weiterhin wird Surefil One eine gute Verschleißfestigkeit, Frakturstabilität und marginale Integrität zugeschrieben. Letztere lag in einer kürzlich publizierten Studie im Bereich von mit selbststänzendem Adhäsiv verwendeten Kompositen (Frankenberger et al., 2020). Die marginale Integrität wird auch in dieser Arbeit mithilfe einer Randdichtigkeitsprüfung untersucht.

Neben diesen in vitro Studien wurden bereits erste vielversprechende klinische Daten publiziert. In einer einjährigen klinischen Studie wurde für Klasse I-, II- und V-Kavitäten eine jährliche Misserfolgsquote von lediglich 2 % festgestellt. Auch hierbei wurde Surefil One selbstadhäsiv verwendet (Rathke et al., 2022).

## 1.5 Ziel der Untersuchung

Wie in mehreren aktuellen Studien aufgezeigt, stellt Karies trotz des Rückgangs der letzten Jahre nach wie vor eine weit verbreitete Infektionskrankheit dar. Die Entwicklungen der letzten Zeit im Bereich der dentalen Füllungswerkstoffe, insbesondere der Komposite, werden sowohl durch die Suche nach bioaktiven Materialien sowie nach einem praktikablen Amalgamersatz getrieben. Jedoch sind bisherige, konventionelle Komposite nicht in der Lage, bei Auftreten von Randundichtigkeiten die Entstehung von Sekundärkaries adäquat zu verhindern und ersetzen die Zahnhartsubstanz lediglich. Im Rahmen dieser Arbeit soll analysiert werden, ob die hier untersuchten Restaurationsmaterialien Cention Forte (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), ACTIVA BioACTIVE-RESTORATIVE (Pulpdent, Watertown, Massachusetts, USA) sowie Surefil One (Dentsply Sirona Deutschland GmbH, Bensheim, Deutschland) eine positive antibakterielle Wirkung erzielen und dabei keine zytotoxischen Einflüsse aufweisen. Aufgrund der wenig vorhandenen Literatur zu den neuartigen bioaktiven Materialien zeigt sich weiterer Forschungsbedarf. Daher ist es Ziel dieser Arbeit, grundlegende Untersuchungen hinsichtlich Biokompatibilität sowie Randdichtigkeit anzustellen. Als Vergleichsgruppen dienen ein konventionelles Nano-Hybridkomposit (Venus Diamond, Kulzer, Hanau, Deutschland), ein „glass-hybrid“-Glasionomerzement (EQUIA Forte, GC Europe, Löwen, Belgien) sowie ein herkömmlicher Glasionomerzement (Ketac Universal Aplicap, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Deutschland).

Die Untersuchungen zur Biokompatibilität erfolgen mithilfe eines Zellkulturmodells humaner Gingiva-Fibroblasten (hGF-1). Ob die ausgewählten Werkstoffe eine apoptoseeinleitende Wir-

kung auf die Zellen ausüben, soll mithilfe eines Caspase-Assays überprüft werden. Die Zellviabilität wird durch Messung des ATP-Gehalts im CellTiter-Assay bestimmt. Zur Untersuchung des erzeugten oxidativen Stresses wird ein Glutathion-Assay verwendet. Das entzündliche Potential der Füllungsmaterialien wird sowohl durch die Messung der Prostaglandin E<sub>2</sub>- als auch der Interleukin-6-Konzentration mithilfe eines EIAs und ELISAs bestimmt.

Um festzustellen, ob eine aktiv hemmende Wirkung auf das Bakterienwachstum vorliegt, wird ein Agardiffusionstest herangezogen, in welchem die potenzielle antibakterielle Wirkung mit der von CHX verglichen werden soll.

Zur Überprüfung der Randdichtigkeit der getesteten Restaurationsmaterialien, wird ein in vitro Bakterienmodell mit extrahierten Molaren, welche zuvor mit dem jeweiligem Füllungsmaterial versorgt wurden, verwendet. Die angefertigten Klasse II-Restaurationen wurden für sieben Tage in Bakteriensuspensionen eingelegt, anschließend mit Crystal Violet angefärbt und Schnitte durch die Füllungen angefertigt. Die Eindringtiefe wurde abschließend mikroskopisch bestimmt.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Biokompatibilitätsprüfungen

#### 2.1.1 Verwendeter Zelltypus und Kulturmedium

Für die *in vitro* Zellversuche dieser Arbeit wurden adhärente humane Gingiva-Fibroblasten (HGF-1; Gingival Fibroblast, Human (*Homo sapiens*), American Type Culture Collection, Bezug über LGC Standards, Wesel, Deutschland) verwendet, welche bei -196 °C in flüssigem Stickstoff gelagert wurden. Nach dem Auftauen wurden die Zellen in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Gibco by life technologies, Carlsbad, Kalifornien, USA) kultiviert. Zur Infektionsprophylaxe wurde das Medium zuvor mit 100 U/ml Penicillin G und 100 µl/ml Streptomycin (5 ml, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) versetzt. Zudem wurden zur Nährstofflieferung 50 ml fetales Kälberserum (FBS Bovine Serum Superior, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) hinzugefügt.

#### 2.1.2 Vorbereitung der Zellen

Nach Entnahme aus dem Kühlschrank wurde die Mediumflasche des DMEM im warmen Wasserbad für ca. fünf Minuten vorgewärmt. Unter einer Reinraumwerkbank (Safe 2020 biologische Sicherheitswerkbank, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) wurden je 18 ml des vorgewärmten Mediums in drei neue Zellkulturflaschen (Cellstar Cell Culture Flasks 250 ml, T75, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich) gegeben. Ein Gefäß mit ca. 500.000 hGF-1-Zellen wurden der Stickstoffkühlung entnommen und im warmen Wasserbad aufgetaut. Anschließend wurden die Zellen für fünf Minuten mit 300 g bei Raumtemperatur zentrifugiert (Allegra X-15R Centrifuge, Beckman Coulter GmbH, Brea, Kalifornien, USA), sodass sich am Boden des Reaktionsgefäßes ein Zellpellet bildete. Da beim Einfrieren der Zellen das zytotoxische Dimethylsulfoxid (DMSO) als Gefrierschutzmittel zur Vermeidung von Eiskristallbildung hinzugegeben wurde, wurde der gesamte verbleibende flüssige Überstand im Reaktionsgefäß abgesaugt. Das entstandene Zellpellet wurde mit ca. 3 ml DMEM vollständig resuspendiert und dann je 1 ml in die mit Medium vorbereiteten Kulturflaschen gegeben. Zur vollständigen Benetzung des Flaschenbodens wurden diese mehrfach per Hand leicht geschwenkt. Anschließend wurden die Zellen bei 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> und 100 % Luftfeuchtigkeit bis zur gewünschten Konfluenz von 70-80 % inkubiert (HERAcell 150i, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA).

#### 2.1.3 Mediumwechsel

Alle drei Tage erfolgte ein Mediumwechsel jeder Zellkulturflasche. Hierfür wurde das bisherige Medium in den Zellkulturflaschen mit sterilen Glassaugaufsätzen vollständig abgesaugt und anschließend mithilfe der serologischen Pipette erneut 19 ml vorgewärmtes DMEM hinzugefügt.

### 2.1.4 Passagieren und Zellzahlbestimmung

Zur Überprüfung des Wachstums und der Konfluenz erfolgte die regelmäßige lichtmikroskopische Begutachtung der Zellen (Mikroskop Axiovert 40C, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland). Ab einer Konfluenz von ca. 70-80 % wurden die Zellen entweder verwendet oder gesplittet. Hierfür wurde das vorhandene Medium abgesaugt und 5 ml gepufferte Kochsalzlösung (PBS, pH 7,4, Gibco by life technologies, Carlsbad, Kalifornien, USA) in die Zellkulturflasche hinzu pipettiert. Durch leichtes Schwenken der Flasche wurde das PBS gleichmäßig verteilt und die Flasche gewaschen. Beim erneuten Absaugen des PBS konnten so auch verbliebene Medium-Reste im Flascheninneren mitentfernt werden.

Nach Absaugen der gesamten Flüssigkeit in der Zellkulturflasche hafteten die Zellen weiterhin am Flaschenboden an. Um deren Bindung zu lösen, wurden 2 ml einer Trypsin-EDTA-Lösung (0,25 %, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) in die Kulturflasche pipettiert. Nach der Zugabe des Trypsins wurde die Flasche leicht geschwenkt, sodass der gesamte Boden gleichmäßig benetzt wurde. Eine zweiminütige Inkubationszeit erfolgte anschließend im Brutschrank (HERAcell 150i, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), da Trypsin sein Wirkoptimum bei 37 °C besitzt. Ob die Ablösung der Zellen vom Flaschenboden adäquat erfolgt ist, konnte im Anschluss durch eine lichtmikroskopische Kontrolle festgestellt werden. Zur Überführung der Zellen und Neutralisation der Trypsin-EDTA-Wirkung wurden daraufhin 3 ml vorgewärmtes DMEM in die Zellkulturflasche pipettiert und anschließend die gesamte Flüssigkeit in ein 15 ml-Falcon gegeben. Das Falcon wurde für fünf Minuten mit 300 g bei Raumtemperatur zentrifugiert (Allegra X-15R Centrifuge, Beckman Coulter GmbH, Brea, Kalifornien, USA), wodurch am Boden des Falcons ein Zellpellet entstand. Die Überstandsflüssigkeit, bestehend aus Trypsin-EDTA und Medium, wurde anschließend abgesaugt und das Zellpellet mit frischem Medium resuspendiert.

Die Menge des Mediums zum Resuspendieren des Zellpellets richtet sich nach dem gewünschten Split-Verhältnis. Dabei galt 1 ml Medium pro Kulturflasche, sodass in jede der mit 18 ml DMEM gefüllten Flaschen 1 ml der Zelllösung hinzugegeben werden konnte. Nach dem Splitten wurden alle neu befüllten Flaschen wieder bei 37 °C inkubiert.

Zur Verwendung der Zellen für ein bestimmtes Zellkultur-Assay ist es notwendig, die vom Hersteller empfohlenen Zellzahl pro Well einzuhalten. Die Zellzahlbestimmung wurde unter Zuhilfenahme eines Cell Counters und der zugehörigen Software (Innovatis Cedex XS, Roche Diagnostics International AG, Rotkreuz, Schweiz) vorgenommen. Hierfür wurde das entstandene Zellpellet mit 1 ml frischem Medium resuspendiert. Daraufhin wurden 25 µl Trypanblau (Trypanblau-Lösung 0,4 %, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) und 25 µl der erhaltenen Zelllösung in ein 1,5 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß pipettiert und vermischt. Der Farbstoff Trypanblau ermöglicht bei der Zählung die Unterscheidung von gesunden zu abgestorbenen Zellen, da nur funktionsuntüchtige Zellen diesen in sich aufnehmen (Crowley et al., 2016). Im Anschluss wurden 20 µl der angefärbten Zelllösung in eine kompatible gläserne Durchflusszelle (Smart Slide, ibidi GmbH, Gräfelfing, Deutschland) pipettiert und diese ausgelesen. Die erhaltene Zellanzahl wurde anschließend bis zur erforderlichen Konzentration mit frischem Medium verdünnt und gemäß den jeweiligen Plattenschemata ausgesät.

### 2.1.5 Herstellung der Eluate

Tabelle 1 gibt Überblick über die in diesem Versuchsteil untersuchten Materialien:

Material	Abkürzung	Hersteller	Materialklasse
ACTIVA BioACTIVE Restorative	AB	Puldent	Kunststoffmodifizierter GIZ
Cention Forte	CF	Ivoclar Vivadent	Bioaktives Alkazit
EQUIA Forte HT	EF	GC Europe	Glas-Hybrid GIZ
Venus Diamond	VD	Kulzer GmbH	Nanohybridkomposit

Zur Herstellung der Eluate wurden aus jedem Testmaterial je acht 1,5 cm breite und circa 2 mm dicke Plättchen gemäß den nachfolgenden empfohlenen Arbeitsschritten angefertigt, ausgearbeitet, poliert, in 80 % Ethanol gereinigt und luftgetrocknet. Alle Plättchen wurden in eigens angefertigten Silikonförmchen hergestellt.

#### ACTIVA BioACTIVE-RESTORATIVE

1. Verwerfen von 2 mm Material
2. Einbringen des Materials in die Silikonform mittels Mixing Tip
3. 3 Minuten selbsthärtend stehen lassen
4. Anschließend 20 Sekunden lichtgehärtet (Wellenlänge: 440 – 480 nm, Lichtleistung > 550 mW/cm<sup>2</sup>, Bluephase Style)
5. Ausarbeitung mit feinkörnigem Diamanten

#### Cention Forte

1. Kapsel aktivieren und für 15 Sekunden rütteln (4000 rpm)
2. Kapselinhalt mit der Applikationszange in die Form einbringen und modellieren
3. Aushärten lassen im Selbsthärtungsmodus
4. Ausarbeitung mit feinkörnigem Diamanten

#### EQUIA Forte

1. Kapsel aktivieren und für 10 Sekunden rütteln (4000 rpm)
2. Kapselinhalt mit der Applikationszange in die Form einbringen und modellieren
3. Aushärten lassen im Selbsthärtungsmodus
4. Ausarbeitung mit feinkörnigem Diamanten

#### Venus Diamond

1. Applizieren des Füllungsmaterials in maximal 2 mm dicken Inkrementen und Modellation in der Silikonform
2. Lichthärtung jedes Inkrements für 20 Sekunden (Wellenlänge: 440 – 480 nm, Lichtleistung > 550 mW/cm<sup>2</sup>, Bluephase Style)
3. Ausarbeitung mit feinkörnigem Diamanten
4. Politur mit Silikonpolierer

Direkt im Anschluss wurden die acht Plättchen in eine Petrischale (Cellstar ø 6 cm, Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland), gefüllt mit 8 ml phenolrotfreiem Medium (DMEM, no phenol red, Gibco by life technologies, Carlsbad, Kalifornien, USA), für sieben Tage eingelegt und bei 37 °C und 100 % Luftfeuchtigkeit inkubiert. Nach einer Woche wurde das Medium mit einer Spritze (Injekt 10 ml, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland) aufgezogen und mithilfe eines Membranfilters aus Polyethersulfon (Spritzenvorsatzfilter, 0,2 µm Porengröße, VWR International, Radnor, Pennsylvania, USA) gereinigt. Die gefilterten Eluate wurden anschließend in sterile 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäße in die für jeden Versuch benötigten Volumina aliquotiert. Die einzelnen Aliquote wurden dann bei -80 °C eingefroren.

### **2.1.6 Herstellung der Überstände für IL-6-ELISA sowie PGE<sub>2</sub>-EIA**

Zur Bestimmung des Interleukin-6-Spiegels und der Prostaglandin E<sub>2</sub>-Konzentration wurden in dieser Arbeit ein ELISA- und ein EIA-Test herangezogen. Für diese mussten bereits im Voraus Überstände der Testmaterialien AB, CF, EF und VD und der Kontrollgruppen (Zellen + Medium) angefertigt werden. Hierfür wurden die Zellen in drei 12-Well-Platten (Zellkultur Multiwellplatte, 12 Well, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich) ausgesät und über Nacht inkubiert. Am Folgetag wurden die vorgesehenen Eluate aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht. Das Medium des Vortags wurde aus allen drei 12-Well-Platten abgesaugt und anschließend nach entsprechendem Pipettierschema entweder 1 ml Eluat des Testmaterials oder 1 ml phenolrotfreies Medium (DMEM, Gibco by life technologies, Carlsbad, Kalifornien, USA) pro Well hinzugefügt. Aus den Wells, welche daraufhin nur Zellen und Medium enthielten, ergaben sich die Negativkontrollen. Alle drei Platten wurden im Anschluss erneut bei 37 °C für 24 Stunden inkubiert. Nach Abschluss der Inkubationszeit wurden die erhaltenen Überstände abpipettiert und in vorbereiteten 1,5-ml-Eppendorf-Reaktionsgefäßen bei -80 °C eingefroren.

### **2.1.7 Assays zur Untersuchung der Biokompatibilität**

#### **2.1.7.1 Bestimmung der Anzahl funktionsfähiger Zellen durch einen Cell**

##### **Viability Assay**

Zur Bestimmung der Anzahl von funktions- und überlebensfähigen Zellen nach der Exposition mit den Testsubstanzen wurde in dieser Arbeit der CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA) herangezogen, welcher auf dem Prinzip der Messung des ATP-Gehalts beruht. Vorab wurden hierfür in drei voneinander unabhängigen Versuchen Zellen auf weiß-opake 96er-Well-Platten (Nunc MicroWell 96-Well, Nunclon Delta-Treated, Flat-Bottom Microplate, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) ausgesät und über Nacht inkubiert (24 Stunden bei 37 °C). Am Folgetag wurde das Medium aus allen belegten Wells abgesaugt und die zuvor aufgetauten Eluate der Testkörper konnten zu den Zellen in die entsprechenden Wells hinzugefügt werden (100 µl/Well). Als Negativkontrolle dienten Wells, welchen in diesem Schritt keine Eluate, sondern nur 100 µl phenolrot-freies Medium (DMEM, no phenol red, Gibco by life technologies, Carlsbad, Kalifornien, USA) hinzu pipettiert wurde. Zur Messung der Hintergrundlumineszenz wurden jeweils drei Blank-Wells pro Platte angelegt, die keine Zellen enthielten und zu denen in diesem Schritt ebenfalls 100 µl phenolrotfreies Medium hinzugefügt wurde. Im Anschluss erfolgte eine erneute 24-stündige Inkubationszeit (37 °C) der

Platten. Am zweiten Versuchstag wurden Verdünnungen zum Erhalt einer ATP-Standard-Kurve hergestellt, welche bekannte ATP-Konzentrationen enthielten. Hierfür wurden 27,6 mg ATP-Dinatrium Salz (Adenosine-5'-triphosphate disodium salt hydrate, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) in 5 ml phenolrotfreiem Medium gelöst. 1 µl dieser 10 mM-Stammlösung, gelöst in 1 ml phenolrotfreiem Medium, ergab nun die erste 10 µM-Verdünnung. Von dieser ausgehend wurden drei weitere zehnfach Verdünnungen vorgenommen (1 µM, 100 nM und 10 nM). Nachdem auch diese aufgetragen wurden und die Platten Raumtemperatur erreicht haben, wurden 100 µl eines zuvor hergestellten CellTiter-Glo Reagent in jedes belegte Well pipettiert und für zwei Minuten sanft gerüttelt (MS1 Minishaker, IKA-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland).

Zehn Minuten nach Zugabe des CellTiter-Glo Reagents und Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Lumineszenzsignale der Platten gemessen (0,3 Sekunden Integrationszeit, GloMax Navigator System, Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA).

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, Washington, USA). Hierbei musste zunächst der Mittelwert der Hintergrundlumineszenz jeder Platte von den erhaltenen Werten subtrahiert werden. Durch graphisches Auftragen der Standardkurve konnte eine Linearfunktion abgeleitet werden. Anhand dieser ist es möglich, nach Umstellung der Gleichung mithilfe des gemessenen Lumineszenzwerts auch die ATP-Konzentrationen der restlichen Wells zu berechnen.

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software SPSS (SPSS Statistics, IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland). Im Rahmen der statistischen Auswertung wurde allen Versuchsgruppen mit Hilfe eines Shapiro-Wilk-Tests eine Normalverteilung bestätigt. Der Test auf Varianzhomogenität erfolgte mittels Levene-Tests. Als Testverfahren zur Prüfung der Gleichheit der Mittelwerte wurde eine Welch-ANOVA und als Post-Hoc-Test aufgrund ungleicher Varianzen anschließend der Dunnett-T3-Test durchgeführt.

### 2.1.7.2 Quantitative Beschreibung der Zellapoptose mithilfe eines Caspase-Assays

Ziel dieser Untersuchung war es, die durch die Materialeluate eingeleitete Zellapoptose zu bestimmen, wofür das Caspase-Glo 3/7 Assay (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA) herangezogen wurde. Zu Beginn des Versuchs wurden am Vortag bereits humane Gingivafibroblasten in die Wells weiß-opaker 96er-Well-Platten (zwei Platten pro Versuch, Nunc MicroWell 96-Well, Nunclon Delta-Treated, Flat-Bottom Microplate, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) ausgesät und über Nacht inkubiert (24 Stunden). In die vorgesehenen Blanko-Wells zur Bestimmung der Hintergrundlumineszenz wurden keine Zellen ausgesät. Am Versuchstag wurden zunächst 5 µl einer 1 mM Staurosporin-Lösung (Staurosporine, Protein kinase inhibitor, Abcam, Cambridge, Vereintes Königreich) in 1 ml phenolrotfreiem Medium (DMEM, no phenol red, Gibco by life technologies, Carlsbad, Kalifornien) verdünnt. Aufgrund der vielfach in der Fachliteratur nachgewiesenen apoptotischen Wirkung diente die erhaltene Staurosporin-Verdünnung als Positivkontrolle. Im nächsten Schritt wurde das vorhandene Medium aus allen Wells abgesaugt und 100 µl der Werkstoffeluat und 100 µl der Staurosporin-Lösung den vorgesehenen Wells hinzu pipettiert. Auf jeder Platte dienten Wells, welche nur Zellen und Medium enthielten, als Negativkontrolle, sodass in diese und in die Blanko-Wells jeweils noch 100 µl phenolrotfreies Medium pipettiert wurde. Anschließend wurden alle Platten für 4,5 Stunden

inkubiert (37 °C). Daraufhin wurden 100 µl eines zuvor hergestellten Caspase-Glo 3/7 Reagent (enthält nun das Caspase-Glo 3/7 Substrate), jedem belegtem Well hinzugefügt. Nach kurzem Rütteln (MS1 Minishaker, IKA-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland) der Platten erfolgte eine erneute 30-minütige Inkubationszeit bei Raumtemperatur. Abschließend wurde das Lumineszenzsignal aller Platten im Plattenlesegerät (0,3 Sekunden Integrationszeit, GloMax Navigator System, Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA) gemessen.

Die Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, Washington, USA). Hierbei mussten die erhaltenen Werte zur Hintergrundlumineszenz zunächst von den verbleibenden Messwerten subtrahiert werden. Die bereinigten Lumineszenzwerte wurden anschließend graphisch aufgetragen.

Für die statistische Auswertung wurde die Software SPSS (SPSS Statistics, IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland) verwendet. Der Shapiro-Wilk-Test zeigte für alle Gruppen eine Normalverteilung. Weiterhin wurden ein Levene-Test und eine Welch-ANOVA durchgeführt. Wegen fehlender Gleichheit der Mittelwerte und fehlender Varianzhomogenität wurde als Post-Hoc-Test der Dunnett-T3-Test durchgeführt.

### 2.1.7.3 Bestimmung des oxidativen Zellstresses mithilfe eines Glutathion-Assays

Um herauszufinden, ob die getesteten Füllungswerkstoffe ein erhöhtes Level an oxidativem Stress auf die Zellen ausüben, wurde ein Glutathion-Assay (GSH/GSSG-Glo Assay, Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA) verwendet.

Zur Assay-Durchführung wurden am Vortag des Versuchs Zellen in weiß-opake 96er-Well Platten (je 2 Platten pro Versuch, Nunc MicroWell 96-Well, Nunclon Delta-Treated, Flat-Bottom Microplate, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) ausgesät und für 24 Stunden im Brutschrank inkubiert. Am ersten Versuchstag wurde das vorhandene Medium auf allen Platten abgesaugt und anschließend 100 µl der aufgetauten Eluate und 100 µl phenolrottfreies Medium in die dafür vorherbestimmten Wells pipettiert. Die Wells, welche nur Zellen und Medium enthielten, dienten erneut als Negativkontrolle. Es folgte eine 24-stündige Inkubationszeit (37 °C). Am Versuchstag zwei fand zunächst die Herstellung von acht Lösungen zum Erhalt einer Glutathion-Standardkurve (SC1-SC8) statt. Hierfür wurden 6,4 µl einer 5 mM-GSH-Lösung in 93,6 µl Aqua ad iniectionem (Deltamedica GmbH, Reutlingen, Deutschland) in einem 1,5 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß verdünnt (=SC1). 50 µl dieser Stammlösung wurden nun erneut mit 50 µl Aqua ad iniectionem in einem neuen Gefäß verdünnt (=SC2). Äquivalent wurde diese 1:2 Verdünnungsreihe bis zum Erhalt der achten Lösung fortgeführt und die für den Versuch benötigten Reagents nach Herstellerangaben vorbereitet. Daraufhin wurden je 5 µl jeder hergestellten GSH-Verdünnung in die vorhergesehenen Wells pipettiert, welchen zuvor jeweils 50 µl des Total Glutathione Lysis Reagents hinzugefügt wurde. Die Testflüssigkeiten der vom Vortag belegten Wells wurden abgesaugt und in diese gemäß dem festgelegten Schema entweder je 50 µl Oxidized Glutathione Lysis Reagent oder 50 µl des Total Glutathione Lysis Reagent pipettiert, was die Lyse der Zellen zur Folge hatte. Die Platten wurden daraufhin jeweils für fünf Minuten gerüttelt (MS1 Minishaker, IKA-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland). Im Anschluss wurden 100 µl des Luciferin Generation Reagent, welches nun das Enzym der Glutathion-S-Transferase enthielt, in jedes belegte Well pipettiert und die Platten für 30 Sekunden erneut sanft gerüttelt. Dann wurden die mit einem Deckel verschlossenen Platten für 30 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert.

Anschließend wurden je 100 µl des Luciferin Detection Reagent mit der enthaltenen UltraGlo rLuciferase in alle Wells pipettiert, für 30 Sekunden gerüttelt und noch einmal für 15 Minuten bei Zimmertemperatur Licht geschützt inkubiert. Das durch die Reaktion entstehende Licht konnte mit dem Luminometer (GloMax Navigator System, Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA) gemessen werden.

Die Ergebnisauswertung erfolgte mit Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, Washington, USA). Durch das graphische Auftragen der gemessenen Lumineszenzwerte der Verdünnungsreihe zu deren bekannten Konzentrationen erhielt man eine lineare Funktion für das Gesamtglutathion. Indem die Skalierung der x-Achse, an welcher die Konzentrationen aufgetragen waren, durch zwei geteilt wurde, erhielt man eine zweite Funktion, welche dann zur Berechnung des oxidierten Glutathions diente (zwei Moleküle GSH erzeugen ein GSSG-Disulfid). Durch die Umstellung der Funktionsgleichungen konnten daraufhin die GSSG-Konzentrationen und das Gesamtglutathion für die Testkörper und die Negativkontrolle berechnet werden. Um den Wert der GSH-Konzentrationen zu bestimmen, mussten jeweils die Werte des oxidierten Glutathions mit zwei multipliziert und anschließend vom Gesamtglutathion abgezogen werden. Für die Berechnung des GSH/GSSG-Verhältnisses musste für jeden Werkstoff der berechnete GSH-Wert durch den gemessenen GSSG-Wert dividiert werden.

Für die statistische Auswertung wurde die Software SPSS (SPSS Statistics, IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland) verwendet. Im Shapiro-Wilk-Test konnte außer für das Material EF eine Normalverteilung bestimmt werden. Überdies wurden ein Levene-Test und anschließend eine Welch-ANOVA durchgeführt. Hierbei wurde ein Unterschied in den Varianzen festgestellt. Als Post-Hoc-Test wurde der Dunnett-T3-Test herangezogen.

#### 2.1.7.4 Bestimmung der Prostaglandin E<sub>2</sub>-Konzentration mittels EIA

Zur Bestimmung des Prostaglandin E<sub>2</sub>-Spiegels, welcher als Indikator für Entzündungsreaktionen im Körper dient, wurde ein PGE<sub>2</sub> high sensitivity EIA (Enzo Life Sciences by Enzo Biochem, Farmingdale, New York, USA) verwendet. Zur Versuchsdurchführung mussten vorab Überstände der jeweiligen Werkstoffe sowie der Negativkontrollen (Zellen + Medium) hergestellt werden (siehe Punkt 2.1.6). Am ersten Versuchstag wurde zunächst eine Verdünnungsreihe einer 50.000 pg/ml PGE<sub>2</sub>-Standard-Lösung hergestellt. Hierfür wurden 20 µl der aufgetauten Standardlösung mit 980 µl phenolrotfreiem Medium (DMEM, no phenol red, Gibco by life technologies, Carlsbad, Kalifornien, USAF) in einem 1,5 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß verdünnt und gründlich gevortext (Denley VirboMix, Thermo Electron Corporation, Waltham, Massachusetts, USA). In sieben weitere Gefäße wurden je 500 µl phenolrot-freies Medium pipettiert. Nun wurden 500 µl des Inhalts der ersten Lösung zu den 500 µl Medium im zweiten Gefäß zupipettiert und erneut gründlich gevortext. Äquivalent erfolgte die fortlaufende Verdünnung bis zum Erhalt von acht Lösungen, welche nun bekannte PGE<sub>2</sub>-Konzentrationen enthielten: 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, sowie 7,81 pg/ml (=Standards 1-8). Da es sich bei dem verwendeten Kit um ein hochsensitives EIA handelt, wurden nach Auftauen der Überstände je 50 µl sowohl der Eluat-Überstände als auch der Kontrollgruppen mit 200 µl phenolrotfreiem Medium verdünnt (1:5 Verdünnung). Anschließend wurden 100 µl phenolrotfreies Kulturmedium in die NSB- (=nicht-spezifische Bindung) und B<sub>0</sub>- (=maximale Bindung) Wells pipettiert. Im nächsten Schritt wurden je 100 µl der vorbereiteten Standards und 100 µl der verdünnten Überstände in die dafür vorhergesehenen Wells sowie 50 µl Assay-Buffer in die NSB-Wells pipettiert. 50 µl des aufgetauten Konjugats wurden anschließend in alle belegten Wells (außer in die Total-Activity- und Blanko-Wells)

pipettiert. Daraufhin wurden 50 µl der gelben Antikörperlösung in alle belegten Wells (außer in Total-Activity-, NSB-, und Blanko-Wells) hinzugefügt. Die Platte wurde mit den beigelegten Klebestreifen verschlossen und bei 4 °C über Nacht (18-24 Stunden) inkubiert. Am zweiten Versuchstag wurde der gesamte Platteninhalt geleert und die Wells mithilfe des hergestellten Waschpuffers dreimal gewaschen (in jedem Waschlauft 400 µl pro Well), um ungebundenes Konjugat und Antikörper zu entfernen. Durch Klopfen der Platte auf ein Zellstofftuch wurde die vollständige Entfernung des Waschpuffers erreicht. Nach Abschluss des Waschvorgangs wurden je 5 µl Konjugat in die Total-Activity-Wells hinzugefügt. Anschließend wurden 200 µl der pNpp-Substrate-Lösung in alle Wells pipettiert und die mit einem frischen Klebestreifen verschlossene Platte erneut für eine Stunde inkubiert (37 °C). Sobald die Inkubationszeit abgeschlossen war, wurden 50 µl einer Trinatriumphosphat-Stopp-Lösung in jedes Well pipettiert, wodurch die Farbentwicklung angehalten wurde. Nach der Zugabe erfolgte die sofortige Messung der optischen Dichte im Plattenlesegerät (405 nm, Varioskan, Thermo Electron Corporation, Waltham, Massachusetts, USA).

Die Ergebnisauswertung erfolgte mit Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, Washington, USA). Nachdem die Mittelwerte aller Proben, Kontrollen und Standards gebildet worden waren, wurde der Mittelwert der NSB-Wells von diesen subtrahiert. Mit der somit erhaltenen durchschnittlichen optischen Dichte wurde der Anteil am Wert der maximalen Bindung ( $B_0$ ) prozentual für alle Standards und Proben bestimmt. Dieser Anteil wurde für die Standards gegen deren Konzentration graphisch aufgetragen, wodurch sich eine logarithmische Funktion ermitteln ließ. Durch Interpolation konnten nun auch unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors die PGE<sub>2</sub>-Konzentrationen für die Proben und Kontrollen bestimmt werden.

Die Software SPSS (SPSS Statistics, IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland) wurde zur statistischen Auswertung herangezogen. Ein Shapiro-Wilk-Test bestätigte die Normalverteilung in allen Versuchsgruppen. Mittels Levene-Tests konnte Varianzhomogenität festgestellt werden. Im Anschluss wurde eine ANOVA sowie ein Tukey-HSD- und Bonferroni-Post-Hoc-Test durchgeführt. Der Bonferroni-Test hat aufgrund der hier eher geringen Menge an Vergleichspaaren eine größere Teststärke. Dennoch konnten in beiden Tests signifikante Unterschiede zur Negativkontrolle für die gleichen Vergleichspaare ermittelt werden.

#### 2.1.7.5 Immunassay zur quantitativen Bestimmung der Interleukin-6-Konzentration

Für die Bestimmung der Konzentration von Interleukin-6 wurde ein Sandwich-ELISA (Quantikine ELISA: Human IL-6 Immunoassay, R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA) herangezogen. Zur Assay-Durchführung wurden vorab Überstände der getesteten Füllungsworkstoffe und Kontrollen, wie unter 2.1.6 beschrieben, hergestellt. Am Versuchstag wurde zunächst eine Verdünnungsreihe einer humanen IL-6-haltigen Standard-Lösung vorbereitet. Hierfür wurden sechs 1,5 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäße der Reihe nach durchnummeriert. Anschließend wurden 667 µl der Calibrator-RD5T-Lösung und 333 µl der IL-6-Standard-Lösung in das erste Gefäß pipettiert. Die restlichen fünf wurden mit 500 µl der Calibrator-RD5T-Lösung befüllt. Weiter wurden 500 µl aus dem ersten in das zweite Gefäß transferiert und dort mit der Calibrator-RD5T-Lösung sorgfältig vermengt. Für die weiteren Verdünnungen wurde dies fortlaufend durchgeführt. Die unverdünnte Standardlösung diente in diesem Versuch als höchste Referenz mit 300 pg/ml (High-Standard), wohingegen die reine Calibrator-RD5T-Lösung (0 pg/ml; Zero-Standard) als niedrigste Referenz verwendet wurde. Nach Herstellung dieser Verdünnungsreihe wurden je 100 µl der

RD1W-Assay-Lösung in alle verwendeten Wells pipettiert. Im nächsten Schritt wurden 100 µl der Standard-Lösungen (inklusive High- und Zero-Standard) sowie der aufgetauten Überstände aller Kontrollgruppen und Werkstoffeluate in die entsprechenden Wells hinzugefügt. Anschließend folgte eine zweistündige Inkubationszeit der verschlossenen Platte bei Raumtemperatur. Anschließend wurde der Inhalt der Platte geleert und mit einem Waschpuffer viermal gewaschen (je 400 µl Wasch-Lösung pro Well). Hierdurch wird die Entfernung aller nicht durch einen Antikörper gebundenen Substanzen erreicht. Nach Abschluss dieses Vorgangs wurde die verbleibende Waschpufferlösung durch Ausklopfen auf ein Zellstofftuch entfernt. Nun wurden 200 µl der Konjugat-Lösung in jedes Well pipettiert, die Platte erneut verschlossen und zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Nach erfolgter Inkubationszeit wurde der beschriebene Waschvorgang abermals wiederholt (vier Waschvorgänge), wodurch die ungebundenen Antikörper entfernt werden. Als Nächstes wurden 200 µl einer kurz zuvor hergestellten Substrat-Lösung in jedes Well pipettiert und für 20 Minuten bei Raumtemperatur lichtgeschützt inkubiert. Abschließend führt das Hinzufügen von je 50 µl einer Stopplösung in jedes Well zur Beendigung der Farbreaktion und zu einem Farbumschlag von blau nach gelb. Nach der Zugabe dieser erfolgte die sofortige Messung der optischen Dichte jedes Wells im Plattenlesegerät (450 nm, Varioskan, Thermo Electron Corporation, Waltham, Massachusetts, USA).

Die Ergebnisauswertung erfolgte mit Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, Washington, USA). Zur Auswertung wurde zunächst der Mittelwert des Zero-Standards (=Blindwert) von allen anderen Messwerten subtrahiert. Nach dieser Bereinigung wurden die Mittelwerte der optischen Dichte der Standards gegen deren Konzentration aufgetragen. Mithilfe der dadurch erhaltenen linearen Funktionsgleichung konnten nach Umstellung nun die IL-6-Konzentrationen für die Kontrollgruppen und die getesteten Werkstoffe berechnet werden.

Die statistischen Tests wurden mit Hilfe der Software SPSS (SPSS Statistics, IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland) durchgeführt. Auf Normalverteilung wurde mittels Shapiro-Wilk-Tests geprüft, welche für alle Materialien gegeben ist. Im Levene-Test konnte keine Varianzhomogenität berechnet werden. Folgend wurde eine Welch-ANOVA (keine Gleichheit der Mittelwerte) sowie ein Dunnett-T3-Test durchgeführt.

## 2.2 Mikrobiologische Untersuchungen

### 2.2.1 Verwendete Mikroorganismen

Als klassische Vertreter der oralen Flora wurden folgende Spezies für die Untersuchungen verwendet, Tab. 2:

Bakterium	Gram-Färbung	Morphologie	Stoffwechsel	DSM
<i>Streptococcus mutans</i>	grampositiv	Kokken	fakultativ anaerob	20523
<i>Streptococcus oralis</i>	grampositiv	Kokken	fakultativ anaerob	20627
<i>Streptococcus sanguinis</i>	grampositiv	Kokken	fakultativ anaerob	20068
<i>Actinomyces naeslundii</i>	grampositiv	Stäbchen	fakultativ anaerob	17233
<i>Lactobacillus paracasei</i>	grampositiv	Stäbchen	fakultativ anaerob	4905
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	gramnegativ	Stäbchen	obligat anaerob	19507

Zudem wurde im Agardiffusionsversuch der Hefepilz *Candida albicans* (MYA-273) verwendet.

Zur besseren Vergleichbarkeit wurden zwei weitere Materialien zu den Testgruppen hinzugefügt. Insgesamt wurden folgende Füllungsmaterialien im Rahmen der mikrobiologischen Betrachtungen untersucht, Tab. 3:

Kürzel	Material	Hersteller	Materialklasse
VD	Venus Diamond	Kulzer GmbH	Nanohybridkomposit
KU	Ketac Universal	3M	GIZ
EF	Equia Forte	GC Europe	Glas-Hybrid GIZ
CF	Cention Forte	Ivoclar Vivadent	Bioaktives Alkasil
AB	Activa BioactiveRestorative	Pulpdent	Kunststoffmodifizierter GIZ
SO	Surefil One	Dentsply	Selbstadhäsives Komposithybrid

### 2.2.2 Agardiffusionstest zur Bestimmung einer potenziellen mikrobiellen Wachstumshemmung

Um herauszufinden, ob die getesteten Materialien eine aktive antimikrobielle Wirkung besitzen, wurde ein Agardiffusionstest durchgeführt. Als Indikator wird hierbei die Wachstumshemmung der Bakterien herangezogen. Für diesen Versuch wurden sieben Tage vor Versuchsbeginn zehn Plättchen (ca. 6 mm x 2 mm) eines jeden Testmaterials gemäß den Herstellerangaben (siehe Anhang A.c.) hergestellt. Nach der Herstellung wurden diese abgedampft und in 70 %-Isopropanol desinfiziert. Anschließend wurden die Plättchen mit 2,5 ml destilliertem Wasser in 3,5 ml-Petrischalen (Petrischale, PS, 35/10 MM, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich) für eine Woche bei 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> und 100 % Luftfeuchtigkeit inkubiert. Weiterhin wurden Monospezies Kulturen der Bakterien *S. mutans*, *L. paracasei*, *A. naeslundii* und *F. nucleatum* sowie vom Pilz *C. albicans* als typische Vertreter der humanen Mundflora angelegt. Hierfür wurden tiefgefrorene Bakterienstämme, welche zuvor bei -196 °C in flüssigem Stickstoff gelagert wurden, aufgetaut. Diese wurden dann auf Agarplatten (BD BBL Stacker Plates, Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5 % Sheep Blood, Becton, Dickinson and Company, Sparks, Maryland, USA) mit Impfösen (Hard Loop 10 µl sterile, VWR International, Radnor, Pennsylvania, USA) im Verdünnungsausstrich angezüchtet. Alle zwei Tage wurden die Bakterien auf frische Agarplatten überimpft. Die Inkubation erfolgte bei 37 °C, 5,7 % CO<sub>2</sub> und 65 % Luftfeuchtigkeit. Um ein anaerobes Milieu für *F. nucleatum* zu schaffen, wurde im Rahmen des Überimpfens alle zwei Tage ein Gas-Pack (BD GasPak EZ, Anaerobe Container System, Becton, Dickinson and Company, Sparks, Maryland, USA) ausgetauscht und die Inkubation im luftdichten Behälter fortgeführt.

Am Versuchstag wurden die Eluate der Plättchen zunächst einzeln in eine 12-Well-Platte (Zellkultur Multiwellplatte, 12 Well, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich) mithilfe eines Membranfilters (Spritzenvorsatzfilter, 0,2 µm Porengröße, VWR International, Radnor, Pennsylvania, USA) sterilfiltriert. Als Positivkontrolle dienten eine Chlorhexidin-Digluconat-Lösung (Chlorhexamed FORTE alkoholfrei 0,2 % Mundspüllösung, GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH & Co. KG, München, Deutschland) sowie reines PBS (PBS, pH 7.4, Gibco by life technologies, Carlsbad, Kalifornien, USA) als Negativkontrolle. Diese wurden ebenfalls in je ein Well pipettiert. Jede Bakterienspezies und *C. albicans* wurden mit einer Impföse von der Agarplatte in 1 ml PBS (PBS, pH 7.4, Gibco by life technologies, Carlsbad, Kalifornien, USA) in einem 15er-Falcon gelöst und anschließend erneut 9 ml PBS hinzugefügt. So ergaben sich 10 ml Bakteriensuspension pro Spezies.

Weiter wurden je fünf neue Agarplatten pro Bakterium und Candida nach dem folgenden Schema am Plattenboden mit den Materialien und Kontrollgruppen beschriftet und so in acht Sektionen unterteilt.

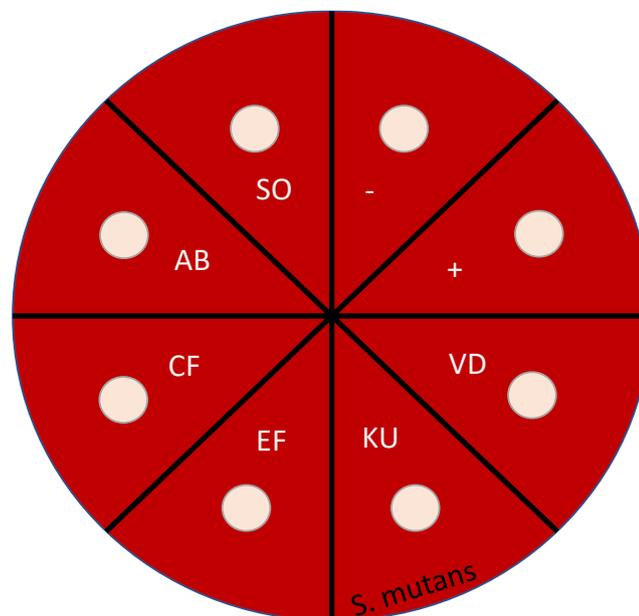


Abb.1: Schema für die Agarplatten-Beschriftung am Beispiel von *S. mutans*

Nun wurden die erhaltenen Bakteriensuspensionen mit Hilfe von Wattestäbchen (Wattestäbchensteril, NOBAMED Paul Danz AG, Wetter/Ruhr, Deutschland) auf die Agarplatten über den gesamten Plattenbereich ausgestrichen. Pro Sektion auf der Platte wurde nun ein Filterpapierplättchen (Whatman Grade AA Discs 6 mm, GE Healthcare Life Sciences/ Cytiva, Marlborough, Massachusetts, USA) mit einer sterilen Pinzette in das jeweilige Materialeluat eingetaucht und auf das beschriftete Feld platziert. Gleiches erfolgte für die Kontrollgruppen mit CHX und PBS. Im Anschluss wurden alle Platten bei 37 °C, 5,7 % CO<sub>2</sub> und 65 % Luftfeuchtigkeit inkubiert, wobei für die Inkubation der Platten mit *F. nucleatum* erneut Gas-Packs verwendet wurden. Eine Kontrolle des Versuchs erfolgte nach 24 Stunden sowie eine Messung der entstandenen Hemmhöfe nach 48 Stunden. Das Ergebnis wurde fotografisch dokumentiert und ausgewertet. Die entsprechenden Abbildungen können dem Anhang B entnommen werden.

## 2.3 Untersuchung der Füllungsranddichtigkeit an direkten Klasse II-Restorationen humaner Molaren

Ziel dieser Untersuchung war es, die Bakterienpenetration am Füllungsrand der untersuchten Materialien bei natürlichen Zähnen zu erforschen. Die Verwendung humaner Molaren wurde vorab durch ein Votum der Ethikkommission der LMU München genehmigt (siehe Ethikvotum Anhang C). Zunächst wurden 48 extrahierte Molaren von organischen Resten manuell gesäubert und pro Zahn eine okklusale-mesiale und eine okklusale-distale Kavität, welche bis ins Dentin reichte, präpariert. Bis zum jeweiligen Versuchsdurchlauf erfolgte die Lagerung der Zähne in destilliertem Wasser.

Weiterhin wurden sieben Tage vor Versuchsbeginn Monospezieskulturen von *S. mutans*, *S. sanguinis*, *A. naeslundii*, *S. oralis* und *L. paracasei* auf Agar-Platten (BD BBL Stacker Plates, Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5 % Sheep Blood, Becton, Dickinson and Company, Sparks, Maryland, USA) analog zur Vorgehensweise im Agardiffusionstest angezchtet.

Am Tag vor Versuchsbeginn erfolgte die Herstellung von zweimal 300 ml BHI-Bakteriennährmedium (BACTO Brain Heart Infusion 500 g, Becton, Dickinson and Company, Sparks, Maryland, USA) in sterilen 500 ml-Flaschen. Die genaue Herstellungsweise kann dem Anhang A.b. entnommen werden. Das hergestellte Medium wurde gemeinsam mit zwölf einzelnen in Alufolie (Aluminiumfolie ROTILABO, 12 µm, 295 mm, 150 m, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) verpackten Zähnen im Dampfautoklaven (VARIOKLAV Dampfsterilisator, HP Labortechnik GmbH, Oberschleißheim, Deutschland) sterilisiert (121 °C für 20 min).

Am Versuchstag wurden pro Testmaterial je zwei Zähne unter möglichst sterilen Arbeitsbedingungen gefüllt. Das Anfertigen der Füllungen erfolgte nach den folgenden Arbeitsschritten, welche von den Herstellern so empfohlen werden:

### ACTIVA BioACTIVE-RESTORATIVE

1. Durchführen einer selektiven Schmelzätzung für 15 Sekunden (Total Etch 37 %, Ivoclar Vivadent GmbH, Schaan, Liechtenstein)
2. Absprühen und sanftes Trocknen der präparierten Zahnoberfläche mit dem Luft-Wasser-Puster
3. Auftragen und Einmassieren eines Dentinadhäsivs (3M Scotchbond Universal Adhesive, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Deutschland), leichtes Verpusten sowie Lichthärtung für 15 Sekunden
4. Einbringen von maximal 4 mm dicke Schichten ACTIVA BioACTIVE-RESTORATIVE in die Kavität
5. Jede Schicht 20 Sekunden lichthärten

### Cention Forte

1. Absprühen und sanftes Trocknen der präparierten Zahnoberfläche mit dem Luft-Wasser-Puster
2. Cention Primer im lichtgeschützten Gefäß für 5 Sekunden mischen und mit den enthaltenen Microbrushes in die Kavität einbringen, 10 Sekunden einmassieren und anschließend sanft verpusten
3. Kapsel aktivieren und für 15 Sekunden rütteln (4000 rpm)
4. Kapselinhalt mit der Applikationszange in die Kavität einbringen und modellieren
5. Lichthärtung für 20 Sekunden

**EQUIA Forte**

1. Absprühen und sanftes Trocknen der präparierten Zahnoberfläche mit dem Luft-Wasser-Puster
2. Kapsel aktivieren und für 10 Sekunden rütteln (4000 rpm)
3. Kapselinhalt mit der Applikationszange in die Kavität einbringen und modellieren (nicht gehärtet, da kein Coating aufgetragen wurde)

**Ketac Universal Aplicap**

1. Absprühen und sanftes Trocknen der präparierten Zahnoberfläche mit dem Luft-Wasser-Puster
2. Kapsel aktivieren und für 10 Sekunden rütteln
3. Kapselinhalt mit der Applikationszange in die Kavität einbringen und modellieren

**Surefil One**

1. Absprühen und sanftes Trocknen der präparierten Zahnoberfläche mit dem Luft-Wasser-Puster
2. Kapsel aktivieren und für 10 Sekunden rütteln (4.200-5.000 rpm)
3. Kapselinhalt mit der Applikationszange in die Kavität einbringen und modellieren (nicht mehr gehärtet, da keine sofortige Bearbeitung)

**Venus Diamond**

1. Durchführen einer selektiven Schmelzätzung für 15 Sekunden (Total Etch 37 %, Ivoclar Vivadent GmbH, Schaan, Liechtenstein)
2. Absprühen und sanftes Trocknen der präparierten Zahnoberfläche mit dem Luft-Wasser-Puster
3. Auftragen und Einmassieren eines Dentinadhäsivs (3M Scotchbond Universal Adhesive, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Deutschland), leichtes Verpusten sowie Lichthärtung für 15 Sekunden
4. Applizieren des Füllungsmaterials in maximal 2 mm dicken Inkrementen und Modellation
5. Lichthärtung jedes Inkrements für 20 Sekunden (Wellenlänge: 440 – 480 nm; Lichtleistung > 550 mW/cm<sup>2</sup>, Bluephase Style)

Nach dem Aushärten der Materialien wurde die Oberfläche des jeweiligen Zahnes mit einem handelsüblichen Nagellack (Trend it up nail polish, dm-Drogeriemarkt, Karlsruhe, Deutschland) überzogen, wobei ein Abstand von 1 mm in alle Richtungen um die Füllungen ausgespart wurde. Weiterhin erfolgte am Versuchstag das Überimpfen der angezüchteten Bakterienstämme von der Agar-Platte in ein BHI-Flüssigmedium. Hierfür wurden fünf 50er-Falcons mit der jeweiligen Bakterienart beschriftet und 20 ml Medium hineinpipettiert. Anschließend wurde je eine Kolonie mit der Impföse von der Agarplatte aufgenommen und durch Drehbewegungen und Vortexen (Denley VirboMix, Thermo Electron Corporation, Waltham, Massachusetts, USA) im Medium resuspendiert. Die Bakteriensuspensionen wurden dann über Nacht inkubiert (37 °C, 5,7 % CO<sub>2</sub> und 65 % Luftfeuchtigkeit).

Nach 24 Stunden erfolgte das Einlegen der gefüllten Zähne in die Bakteriensuspension. Hierfür wurden zunächst die fünf über Nacht angesetzten Monospeziessuspensionen mit je 20 ml frischem BHI-Medium verdünnt und dann in einer sterilen 500 ml-Flasche zu einer Multispeziessuspension zusammengeführt. Anschließend fand die Beschriftung von zwölf 50er-Falcons mit dem jeweiligen Testmaterial und dem Versuchsdurchlauf statt. In jedes Falcon wurden nun 15 ml der

erhaltenen Bakteriensuspension pipettiert und der Zahn mit dem entsprechenden Füllungsmaterial hinzugefügt. Die Zähne wurden für sieben Tage bei 37 °C, 5,7 % CO<sub>2</sub> und 65 % Luftfeuchtigkeit inkubiert. Alle 48 Stunden wurde ein Mediumwechsel vorgenommen, wobei 7,5 ml in jedem Falcon zunächst abpipettiert und anschließend erneut 7,5 ml frisches Medium zugegeben wurden.

Nach einer Woche endete die Inkubationszeit der Zähne in der Bakteriensuspension. Zum weiteren Vorgehen wurden nun vier 12 Well-Platten (Zellkultur Multiwellplatte, 12 Well, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich) nach folgendem Schema befüllt, wobei jedes Well 4 ml der jeweiligen Flüssigkeit enthielt:

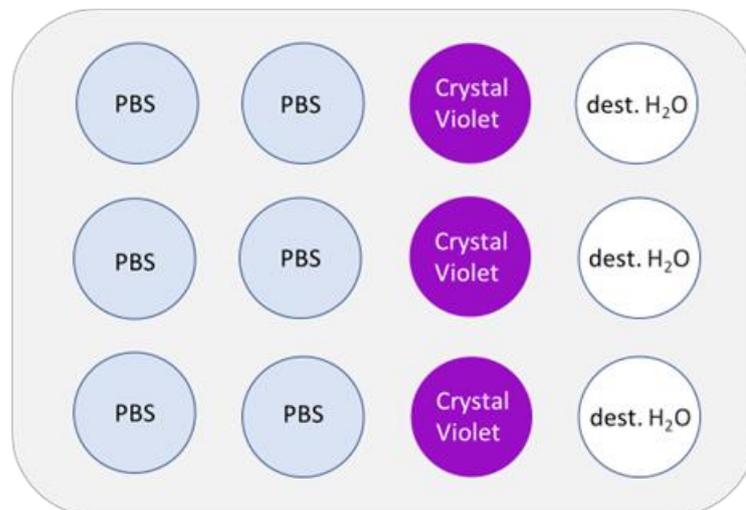


Abb. 2: Pipettierschema der 12-Well Platte im Rahmen der Färbung

Die Zähne wurden nacheinander mit einer sterilen Pinzette aus der Bakteriensuspension entnommen und zunächst in PBS gewaschen. Im Anschluss erfolgte die vorsichtige mechanische Entfernung des Nagellacks mithilfe einer zahnärztlichen Kürette. Nachdem dieser komplett entfernt wurde, wurde der Zahn für je 30 Sekunden in Crystal Violet (1 % in destilliertem Wasser) angefärbt und danach mit destilliertem Wasser gewaschen. Hierauf schloss sich eine Trocknungsdauer auf einem sterilen Zellstofftuch (WypAll X70 Reinigungstücher, KIMBERLY-CLARK PROFESSIONAL, Koblenz/Rheinhafen, Deutschland) an.

Nach Trocknung der Zähne erfolgte das Einbetten der angefärbten Zähne in durchsichtigem Kunststoff (Technovit 4004, Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland). Sobald dieser auspolymerisiert war, konnten pro Zahn zwei Schnitte mit einer Säge (Vari Cut VC-50, Leco Corporation, Michigan, USA), welche zentral durch die Füllungen gesetzt wurden, angefertigt werden. Die Aufbewahrung der Schnitte erfolgte in mit destilliertem Wasser gefüllten 50er-Falcons.

Zur Bewertung der Eindringtiefe der Bakterien wurden die angefertigten Schnitte mit Hilfe eines Stereomikroskops (Stemi 508, Carl Zeiss Microscopy Deutschland GmbH, Oberkochen, Deutschland) ausgewertet und die Tiefe der angefärbten Bakterienpenetration visualisiert. Die fotografische Dokumentation und Messung erfolgte digital mittels Software (AxioVision SE64 Rel. 4.9.1 Software, Carl Zeiss Microscopy Deutschland GmbH, Oberkochen, Deutschland). Für die grafische Darstellung wurde Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, Washington, USA) genutzt.

Die statistische Auswertung wurde mit SPSS (SPSS Statistics, IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland) durchgeführt. Statistisch konnte im Shapiro-Wilk-Test bei keinem Material eine Normalverteilung bestätigt werden. Als nicht-parametrischer Test zur Untersuchung der Gruppenränge wurde ein Kruskal-Wallis-Test herangezogen, wobei signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden konnten ( $p < 0,001$ ). Mittels eines Dunn's-Post-Hoc-Tests konnten signifikante Unterschiede bei entsprechenden Paarvergleichen untersucht werden.

### 3. Ergebnisse

Die Darstellung der Ergebnisse aller Versuche erfolgte graphisch und deskriptiv.

Zur einfacheren graphischen Darstellung wurde jedem Testmaterial eine Abkürzung zugeordnet, welche bereits im jeweiligen Methodikabschnitt eingeführt wurden.

Ein Teil der Ergebnisse der Biokompatibilitätsuntersuchungen wurde bereits in der Publikation mit dem Titel „*Leaching components and initial biocompatibility of novel bioactive restorative materials*“ veröffentlicht (Wuersching et al., 2023).

#### 3.1 Ergebnisse der Biokompatibilitätsprüfungen

##### 3.1.1 Bestimmung der Anzahl von funktionsfähigen Zellen: CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay

Um festzustellen, ob die Testsubstanzen die Zellviabilität beeinflussen, wurde der ATP-Gehalt mittels Lumineszenz für alle Testmaterialien und Kontrollgruppen bestimmt und verglichen. Abb. 3 zeigt die Ergebnisse nach 24-stündiger Eluatinkubation bei 37 °C. Die Werteerhebung erfolgte in drei voneinander unabhängigen Versuchen.

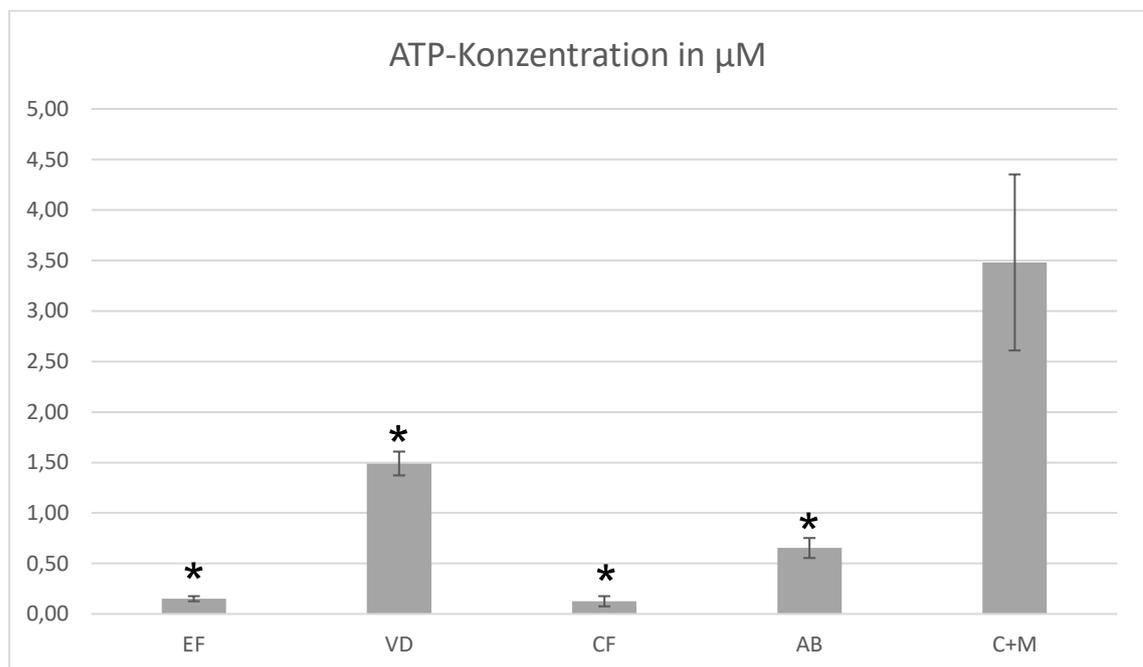


Abb. 3: Ergebnisse des CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay: Darstellung des ATP-Gehalts der Proben und der Kontrolle; \* signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zur Negativkontrolle C+M

Es zeigte sich im Vergleich eine deutlich höhere ATP-Konzentration von beinahe 3,5  $\mu\text{M}$  für die Negativkontrolle (Zellen und Medium). Alle anderen Werkstoffeluate wiesen einen statistisch signifikant verminderten ATP-Gehalt auf ( $p < 0,01$ ). Venus Diamond, dessen ATP-Level der zweithöchste war, folgte mit weniger als 50 % des Kontrollwertes mit knapp 1,5  $\mu\text{M}$ . AB schloss sich

mit ca. 0,65  $\mu\text{M}$  ATP der absteigenden Reihenfolge nach an und wies somit nur noch ca. ein Sechstel des Negativkontrollwertes auf. Die geringsten Werte zeigten sich für EQUIA Forte und für Cention Forte, welche sich mit 0,15  $\mu\text{M}$  (EF) und 0,13  $\mu\text{M}$  (CF) in einer vergleichbaren Größenbereich befanden und nur noch ca. 4 % des ATP-Gehalts der Negativkontrolle erreichten.

### 3.1.2 Quantitative Bestimmung der Zellapoptose: Caspase-Glo 3/7 Assay

Im Rahmen des Caspase-Assays wurde untersucht, inwieweit nach 4,5-stündiger Eluatinkubation (37 °C) die Effektorcaspasen 3 und 7 exprimiert und somit die Apoptose der hGF-1-Zellen eingeleitet wurde. Die Caspase-Aktivität konnte hierbei mithilfe einer Lumineszenzmessung bestimmt werden, weshalb die nachfolgenden Messwerte in der relativen Lichteinheit (RLU) dargestellt werden. Die Werterhebung erfolgte in drei unabhängigen Versuchen.

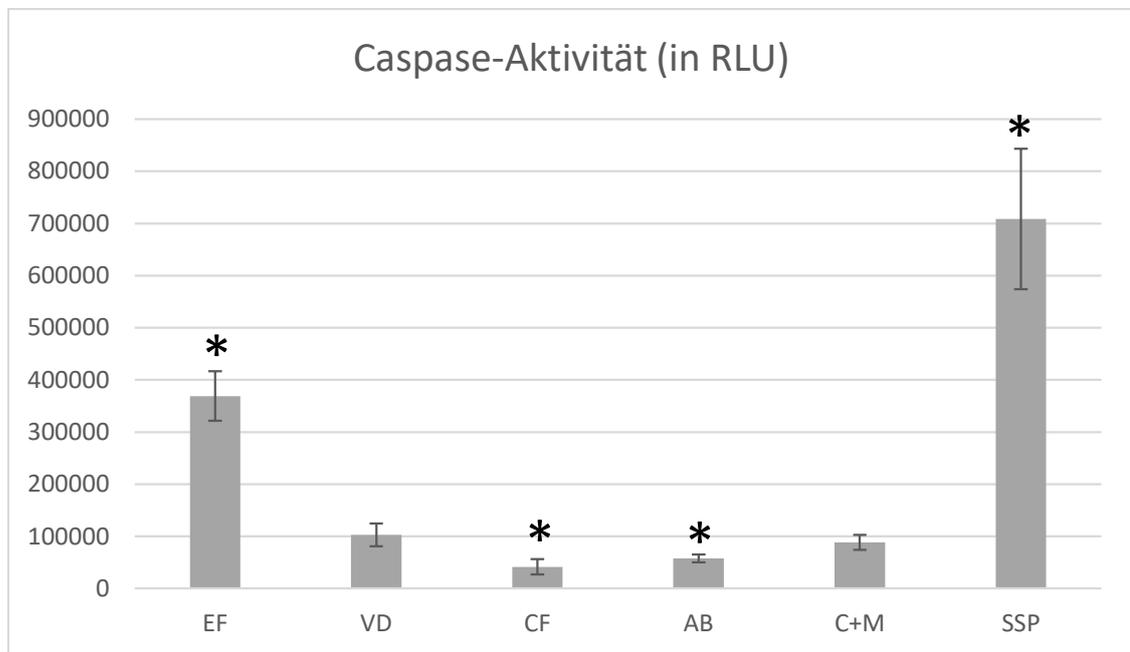


Abb. 4: Ergebnisse des Caspase-Glo 3/7 Assays: Darstellung der Caspase-Aktivität anhand des gemessenen Lumineszenzsignals in RLU; \* signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zur Negativkontrolle C+M

Die Staurosporin-Positivkontrolle (SSP) zeigte mit über 700.000 RLU die signifikant höchste Caspase-Aktivität. Nachfolgend erreichte EQUIA Forte 369.000 RLU und erzeugte somit immerhin rund 53 % der Apoptoserate der Positivkontrolle. Mit ca. 100.000 RLU wies Venus Diamond keinen statistisch signifikanten Unterschied zur Negativkontrolle auf ( $p > 0,8$ ). Die beiden bioaktiven Komposite Cention Forte (41.500 RLU) und Activa (57.900 RLU) zeigten ein in der Größenordnung vergleichbares, jedoch statistisch signifikant geringeres Apoptosevorkommen ( $p < 0,01$ ).

### 3.1.3 Bestimmung des oxidativen Zellstresses: Glutathion-Assay

Zur Bestimmung, ob die humanen Gingivafibroblasten oxidativem Stress ausgesetzt waren, wurde ein Glutathion-Assay durchgeführt. Die nachfolgenden Diagramme zeigen die erhaltenen GSH- und GSSG-Konzentrationen.

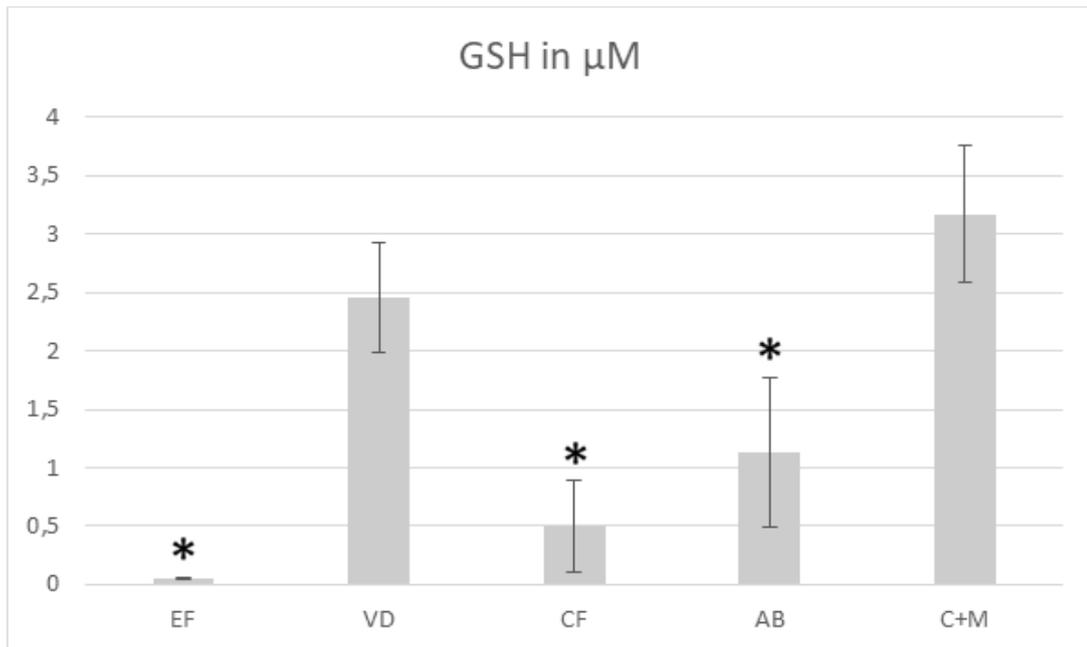


Abb. 5: Ergebnisse des Glutathion-Assays – Darstellung der GSH-Konzentrationen; \* signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zur Negativkontrolle C+M

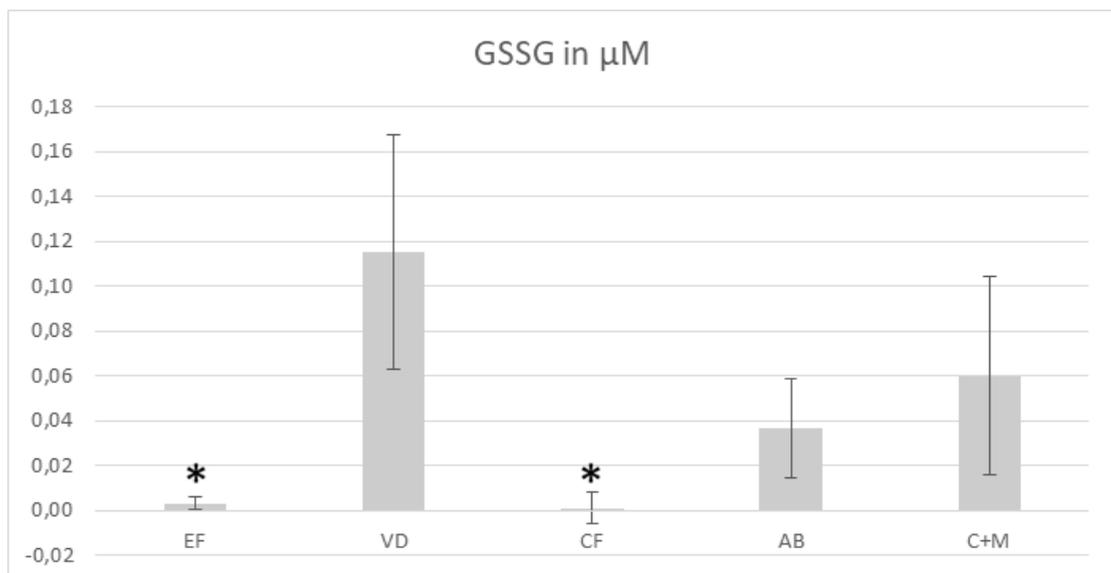


Abb.6: Ergebnisse des Glutathion-Assays – Darstellung der GSSG-Konzentrationen; \* signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zur Negativkontrolle C+M

Bei der Bestimmung der GSH-Konzentration zeigen sich für die Materialien CF, EF ( $p < 0,001$ ) und AB ( $p < 0,027$ ) signifikant verminderte GSH-Levels. VD wies mit durchschnittlich  $2,46 \mu\text{M}$  nur

einen leicht erniedrigten GSH-Wert im Vergleich zur Kontrolle auf, welcher statistisch nicht signifikant war.

Einzig bei VD war eine erhöhte GSSG-Konzentration messbar (Mittelwert 0,12  $\mu\text{M}$ ). Für C+M zeigte sich lediglich eine im Durchschnitt halb so große Konzentration von 0,06  $\mu\text{M}$ . Bei VD konnte im Post-Hoc-Test kein signifikanter Unterschied zwischen C+M und VD berechnet werden ( $p > 0,05$ ). Auch für AB zeigte sich keine signifikante Veränderung im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $p = 0,4$ ). Bei den Materialien EF und CF hingegen betrug die gemessene GSSG-Konzentration nahezu 0, wodurch eine signifikante GSSG-Reduktion vorlag ( $p < 0,05$ ).

### 3.1.4 Bestimmung der Prostaglandin E<sub>2</sub>-Konzentration mit EIA

Zur Bestimmung des entzündungsfördernden Potentials der getesteten Werkstoffe wurde ein Prostaglandin E<sub>2</sub>-EIA durchgeführt. Die ermittelten Konzentrationen werden in Abbildung 7 dargestellt.

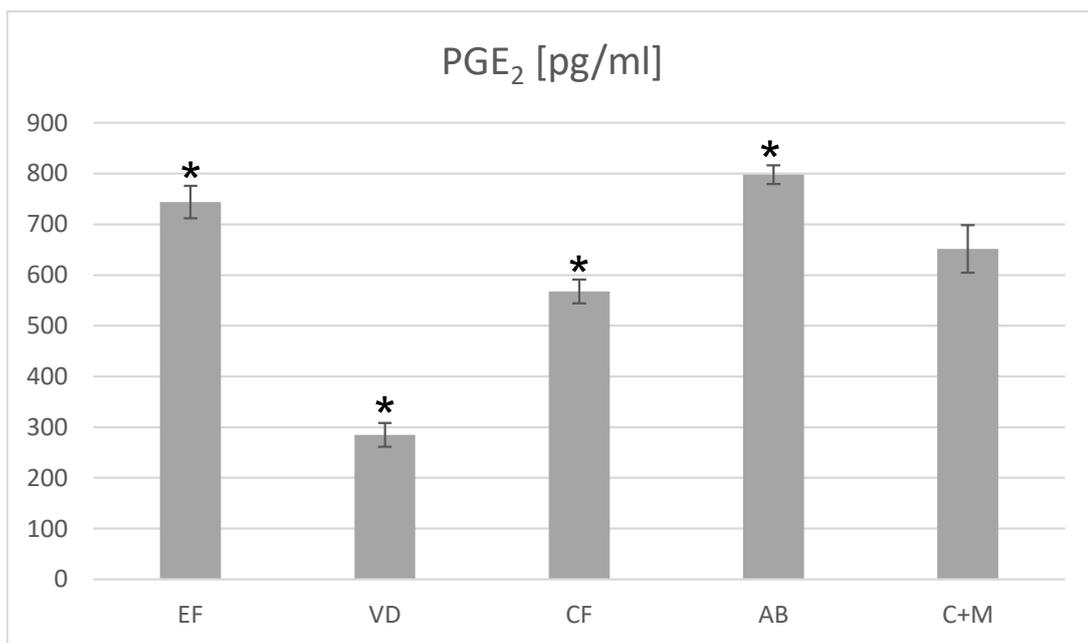


Abb. 7: Ergebnisse des PGE<sub>2</sub>-EIAs – Darstellung der Konzentrationen; \* signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zur Negativkontrolle C+M

Alle Versuchsgruppen weisen statistisch signifikant unterschiedliche Werte hinsichtlich der PGE<sub>2</sub>-Konzentrationen im Vergleich zur Kontrollgruppe auf ( $p < 0,05$ ). Mit 798 pg/ml waren bei AB die höchsten Konzentrationen messbar. Mit 744 pg/ml folgt EF in absteigender Reihenfolge. Beide Materialien erzeugten somit ein signifikant höheres PGE<sub>2</sub>-Level als die Kontrollgruppe C+M (652 pg/ml) ( $p < 0,01$ ). CF mit 568 pg/ml konnte ein im Vergleich zur Negativkontrolle vergleichbares, statistisch signifikant geringeres PGE<sub>2</sub>-Level erreichen ( $p < 0,01$ ). Mit nur rund 285 pg/ml PGE<sub>2</sub> und damit nur 43 % der Konzentration der Negativkontrolle erreichte VD das signifikant niedrigste Level ( $p < 0,01$ ).

### 3.1.5 Quantitative Bestimmung von Interleukin-6 mit Quantikine ELISA

Die Bestimmung der ausgeschütteten IL-6-Konzentrationen und der damit einhergehenden Entzündungsreaktion wurde ein Interleukin-6-ELISA durchgeführt. Die ermittelten Werte werden in Abbildung 8 dargestellt.

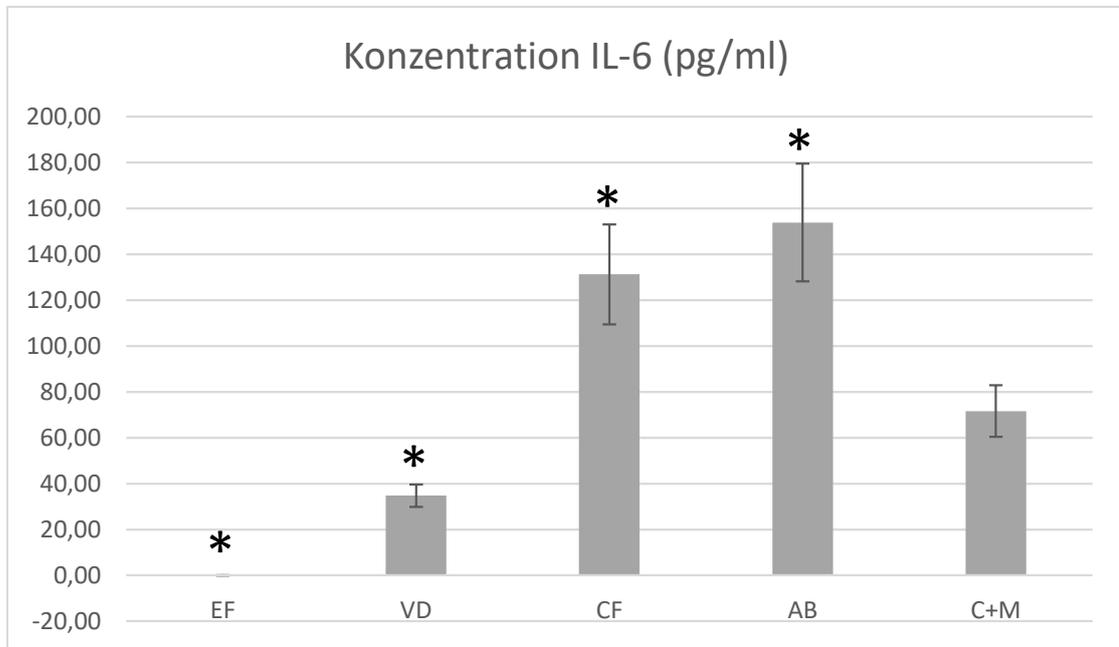


Abb. 8: Ergebnisse des ELISAs: IL-6-Konzentration der einzelnen Werkstoffe und Kontrollen, \* signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zur Negativkontrolle C+M

Es lässt sich feststellen, dass die beiden bioaktiven Komposite AB mit ca. 154 pg/ml und CF mit ca. 131 pg/ml die höchsten IL-6-Level unter den Werkstoffen erreichten ( $p < 0,01$ ). Die Negativkontrolle aus Zellen und Medium lag hier nur bei ca. 50 % der IL-6-Konzentration der bioaktiven Komposite (rund 72 pg/ml). Venus Diamond wies mit 35 pg/ml statistisch signifikant geringere IL-6-Konzentrationen im Vergleich zur Negativkontrolle auf ( $p < 0,01$ ).

EQUIA Forte wies nach Abzug des Blindwertes eine optische Dichte  $< 0$  auf. Dementsprechend ließ sich für dieses Material keine Konzentration berechnen, sodass diese hier folglich mit 0 pg/ml angenommen werden kann.

## 3.2 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen

### 3.2.1 Bestimmung des Hemmpotentials auf das Bakterienwachstum mittels Agardiffusionsversuchs

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt tabellarisch und deskriptiv. Die Tabelle zeigt die durchschnittliche Hemmhofgröße nach 48 Stunden in Millimeter pro Material und Bakterienspezies.

	<i>A. naeslundii</i>	<i>C. albicans</i>	<i>L. paracasei</i>	<i>S. mutans</i>	<i>F. nucleatum</i>
<b>AB</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>CF</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>EF</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	4,4
<b>KU</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>SO</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>VD</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>+</b>	6,0	4,0	7,0	8,2	4,5
<b>-</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tab. 4: Durchschnittliche Hemmhofgröße nach 48 Stunden in Millimeter

Bei Betrachtung der Ergebnisse konnte zunächst festgestellt werden, dass in der Gruppe der Positivkontrolle mit 0,2 % CHX eine Wachstumshemmung bei allen getesteten Spezies stattgefunden hat. Der größte hemmende Einfluss konnte hier bei *S. mutans* mit durchschnittlich 8,2 mm Hemmhofgröße verzeichnet werden. Nur 4,0 mm Hemmhof im Durchschnitt konnte CHX jedoch in der Gruppe von *C. albicans* erreichen, wodurch dessen Hemmpotential hier nicht einmal 50 % der Hemmung bei *S. mutans* entspricht.

In der Gruppe der Negativkontrolle mit PBS fand bei keiner der getesteten Bakterienpezies eine Wachstumshemmung statt.

Auch die Eluate aller getesteter Restaurationsmaterialien zeigten keinen wachstumshemmenden Effekt auf das Bakterien- und Pilzwachstum. Eine Ausnahme bildete Equia Forte bei *F. nucleatum*. Die eluierten Substanzen erzielten hier eine mit der Positivkontrolle vergleichbare Hemmhofgröße von durchschnittlich 4,4 mm. In der Fotoanalyse wird allerdings deutlich, dass der Hemmhof von EF im Vergleich mit dem von CHX optisch schlechter abgrenzbar war. Die aufgeworfene Oberflächenstruktur innerhalb des EF-Hemmhofes lässt auf ein vorhandenes, einsetzendes Bakterienwachstum in dem Bereich schließen.

### 3.2.2 Bestimmung der Bakterienpenetration an natürlichen Zähnen

Die Bestimmung der Randdichtigkeit erfolgte durch Messung der bakteriellen Eindringtiefe mithilfe eines Penetrationstests. Dargestellt wird die Häufigkeit bestimmter Eindringtiefen in festgelegten Mikrometerbereichen in Prozent.

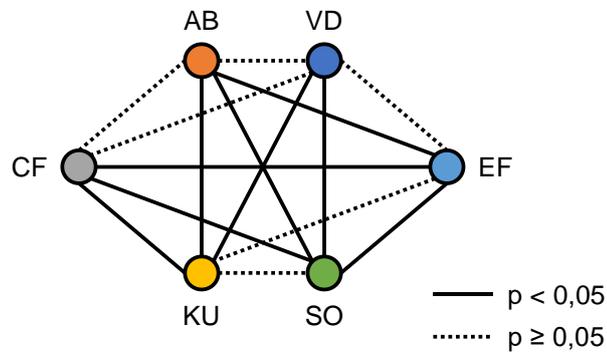
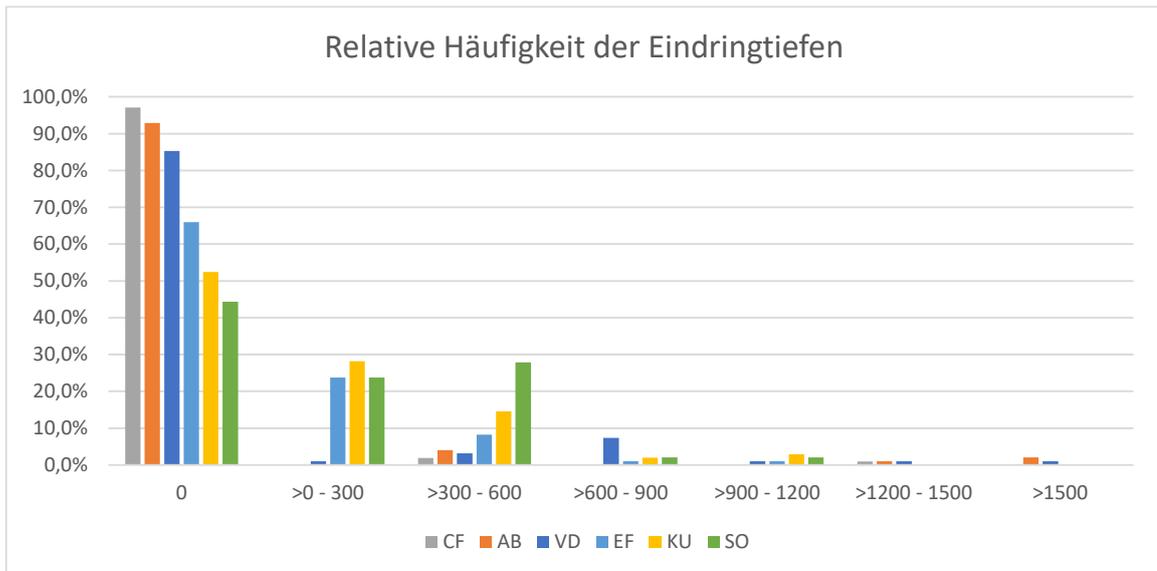


Abb. 9: Messung der Eindringtiefen in Mikrometer und Darstellung der Signifikanzen

μm	VD	AB	CF	KU	EF	SO
0	85,3 %	92,9 %	97,1 %	52,4 %	66,0 %	44,3 %
> 0-300	1,1 %	0,0 %	0,0 %	28,2 %	23,7 %	23,7 %
> 300-600	3,2 %	4,0 %	1,9 %	14,6 %	8,2 %	27,8 %
> 600-900	7,4 %	0,0 %	0,0 %	1,9 %	1,0 %	2,1 %
> 900-1200	1,1 %	0,0 %	0,0 %	2,9 %	1,0 %	2,1 %
> 1200-1500	1,1 %	1,0 %	1,0 %	0,0 %	0,0 %	0,0 %
> 1500	1,1 %	2,0 %	0,0 %	0,0 %	0,0 %	0,0 %

Tab. 5: Relative Eindringhäufigkeiten in Prozent tabellarisch

Bei Betrachtung des Diagramms kann festgestellt werden, dass in 97,1 % der Fälle kein messbarer Spalt (0 μm) beim Material CF vorlag und dieses somit am häufigsten keine Bakterienpenetration aufwies. In 2,9 % der Fälle konnte ein Eindringen gemessen werden, welches sich auf die mittleren bis höheren Mikrometerintervalle beschränkte (1,9 % > 300-600 μm und 1 % > 1200-1500 μm).

Auch die Materialien AB und VD wiesen in 92,9 % und 85,3 % der Messungen Spaltfreiheit auf.

AB zeigte ähnlich zu CF, dass beim Auftreten einer Bakterienpenetration diese im mittleren Tiefenbereich beginnt (4 % in > 300-600  $\mu\text{m}$ ) und vereinzelt bis in den höheren Bereich auftritt (1 % zwischen 1200-1500  $\mu\text{m}$ , 2 % > 1500  $\mu\text{m}$ ).

Für VD konnte in den Bereichen > 300-600  $\mu\text{m}$  (3,2 %) und > 600-900  $\mu\text{m}$  (7 %) die häufigste bakterielle Penetration gemessen werden.

Die beiden Materialien CF und AB zeigten kein Eindringvorkommen in den Bereichen zwischen > 0-300  $\mu\text{m}$ . Mit 1,1% konnte auch für VD hier kaum Penetration festgestellt werden.

EF erreichte nur in 66 % der Fälle kein Bakterieneindringen, wies jedoch im Bereich > 600-1200  $\mu\text{m}$  nur 2 % Penetration auf und in den höchsten beiden Intervallstufen gar keine. Hat eine Bakterienpenetration stattgefunden, konnte diese hauptsächlich im niederen Mikrometerbereich festgestellt werden (23,7 % in 0-300  $\mu\text{m}$  und 8,2 % in > 300-600  $\mu\text{m}$ ).

Bei KU konnte in 47,6 % der Fälle ein bakterielles Eindringen gemessen werden. Meist beschränkte dieses sich auf den niederen bis mittleren Intervallbereich (28,2 % in > 0-300  $\mu\text{m}$ ; 14,6 % in > 300-600  $\mu\text{m}$ ; 1,9 % in > 600-900  $\mu\text{m}$ ; 2,9 % in > 900-1200  $\mu\text{m}$ ).

In weniger als der Hälfte der Fälle (44,3 %) erreichte SO Spaltfreiheit (0  $\mu\text{m}$ ). Bei Auftreten einer Bakterienpenetration konnte diese jedoch in über 40 % der Messungen im niederen Eindringbereich ermittelt werden (23,7 % in > 300-600  $\mu\text{m}$ ; 27,8 % in > 600-900  $\mu\text{m}$ ). Als einziges Material wies SO keinen Spalt mit über 1010  $\mu\text{m}$  Tiefe auf.

## 4. Diskussion der erzielten Ergebnisse

Um die Auswirkungen der getesteten Füllungswerkstoffe für den klinischen Einsatz beurteilen zu können, wurde in dieser Arbeit eine *in vitro* Zellkultur verwendet. In diesem Fall handelt es sich um humane Gingivafibroblasten. Sie stellen den häufigsten Zelltypus der Mundhöhle dar und sind für Umbauprozesse am Bindegewebsgerüst der Schleimhaut verantwortlich (Naruishi, 2022).

Um die Biokompatibilität eines Materials beurteilen zu können, muss die Reaktion der Zelle auf dieses untersucht werden. Der Zelle stehen bei Kontakt mit toxischen Substanzen verschiedene Abwehr- und Reaktionsmechanismen zur Verfügung. Durch Immunzellen vermittelt kann ein Entzündungsvorgang eingeleitet werden, wodurch sich die IL-6 und die PGE<sub>2</sub>-Level erhöhen. Bei irreparablen Schäden wird durch Aktivierung der Caspase-Kaskade der programmierte Zelltod eingeleitet. Oxidativer Stress in Form von freien Sauerstoffradikalen wird durch das Enzym Glutathion-Peroxidase reguliert und beseitigt.

Das indirekt gemessene ATP-Level beim Cell Viability Assay ließ bei hohen Werten auf eine hohe Zellzahl mit funktionierendem Metabolismus schließen. Da in den Medium-Vergleichsgruppen kein Einfluss auf die Gingivafibroblasten stattgefunden hat, bedeutet eine signifikant reduzierte Zellzahl im Vergleich zur Mediumgruppe, dass ein Teil der enthaltenen Zellen durch Zugabe der Materialeluate geschädigt worden ist, beziehungsweise deren Stoffwechsel negativ beeinträchtigt wurde. Eine Reduktion der metabolischen Aktivität konnte für alle Versuchsgruppen im Vergleich zur Negativkontrolle festgestellt werden. Den geringsten Einfluss zeigte hierbei VD. Ein Grund könnte hierfür in der Menge der freigesetzten Materialbestandteile liegen. VD bindet über die radikalische Polymerisation ab, wodurch nach ausreichender Lichthärtung ein möglichst unlösliches Polymerketten-Netzwerk entsteht. VD ist im Gegensatz zu CF, AB und EF nicht dazu konzipiert, Ionen freizusetzen und mit dessen Umgebung zu kommunizieren, sondern lediglich die Zahnhartsubstanz passiv zu ersetzen. Dieses intentionale passive Verhalten nach vollständiger Aushärtung könnte somit ein Grund für die geringere Beeinflussung des Zellstoffwechsels sein.

Bei irreversiblen Zellschäden kann der Zelltod durch die Caspase-vermittelte Apoptose oder durch die unregulierte Nekrose stattfinden. Bei der Nekrose kommt es zu einem Verlust der Zellmembranstruktur durch unvermittelte Zellschwellung, wodurch intrazelluläre Substanzen in den extrazellulären Raum austreten können. Auf diese ausgetretenen Partikel reagiert das Immunsystem mit einer Entzündungsreaktion. Durch den kontrollierten Abbau der Zelle bei der Apoptose durch Phagozyten bleibt eine solche Entzündungsreaktion hier aus (Martin & Henry, 2013). Es kann vermutet werden, dass bei CF und AB der Zelltod hauptsächlich durch Nekrose verursacht war. Die damit einhergehende Entzündungsreaktion zeigte sich für CF und AB in signifikant erhöhten IL-6-Spiegeln sowie einem erhöhten PGE<sub>2</sub>-Level bei AB. Überdies zeigen beide Materialien im Caspase-Assay Werte im Bereich der Negativkontrolle. Weiterhin zeigten sowohl AB als auch CF niedrigere GSH-Werte, wobei GSSG nicht erhöht war. Im Rahmen der Zellapoptose kommt es zum Auftreten der sogenannten GSH-Extrusion. Hierbei wird die reduzierte Form des Glutathions bereits vor Beginn der Apoptose aus der Zelle ausgeschleust (Ghibelli et al., 1998). So kommt es zu einer Reduktion des GSH-Spiegels und ausbleibendem Anstieg des GSSG-Levels. EF hingegen wies mehr als die vierfache Caspase-Konzentration der Mediumsgruppe auf. Hier kann davon ausgegangen werden, dass ein Teil der Zellen apoptosevermittelt zu Grunde ging. Mithilfe der vorliegenden Assays kann jedoch nicht genau bestimmt werden, welchen Prozentanteil am Zelltod der Gingivafibroblasten die Apoptose und welchen die Nekrose trug.

VD erzielte mit ca. 1,5  $\mu$ M die höchste ATP-Konzentration unter den getesteten Materialien. Weiterhin wies es als einziges Material einen Anstieg, wenn auch nicht statistisch signifikant, unter

den GSSG-Molekülen auf. Es kann also angenommen werden, dass durch den Kontakt der VD-Eluate mit den Zellen freie Sauerstoffradikale entstanden sind, welche dann durch die Glutathion-Reduktase abgefangen wurden. Die Entfernung der Radikale durch dieses Puffersystem könnte eine Erklärung für die geringere Caspase- und somit Apoptoserate in den Zellen sein.

Laut den Herstellerangaben ist das Methacrylat UDMA in den Werkstoffen CF und VD enthalten. Studien fanden dieses zudem in AB (Roussou et al., 2021). VD enthält überdies das Methacrylat TEGDMA. Hierbei handelt es sich um Bestandteile multipler dentaler Werkstoffe, welche aus diesen eluiert werden können und in der Literatur als zytotoxisch anerkannt sind (Beltrami et al., 2021; Chang et al., 2014; Chang et al., 2020; Kurt et al., 2018; Reichl et al., 2006). Im Versuch mit Fibroblasten konnte bereits gezeigt werden, dass TEGDMA zunächst zu einem intrazellulärem GSH-Abfall führt und es daraufhin zur Bildung freier Sauerstoffradikale kommt (Stanislawski et al., 2003). Auch für UDMA ist die Bildung freier Sauerstoffradikale belegt (Chang et al., 2020). Die erhöhte Konzentration an GSSG bei VD könnte also durch TEGDMA und UDMA verursacht sein. Eine weitere Studie zeigte, dass ab einer Konzentration von 0,1–0,35 mM UDMA, die Zellvitalität pulpaler Zellen bereits um 29-49 % verringert war. Zudem wiesen die Zellen in der mikroskopischen Analyse bereits morphologische Veränderungen auf (Chang et al., 2014). Der Gehalt an freigesetztem UDMA könnte also ein Grund für die verringerten ATP-Konzentrationen bei AB und CF sein und anschließend zur Nekrose geführt haben. Auch für die oben genannte GSH-Extrusion der HGF-1-Zellen könnte das Methacrylat ursächlich sein. Eine starke GSH-Reduktion für TEGDMA und UDMA bei Fibroblasten wurde in Studien bereits nach 4 Stunden Expositionszeit beschrieben (Volk et al., 2006). Die konzentrationsabhängige Toxizität auf Fibroblasten wird ebenfalls mehrfach in der Literatur bestätigt. Je höher der Anteil der eluierten Monomere, desto größer wird der negative Einfluss auf die Zellen ausfallen in Form von Apoptose oder Nekrose (Beltrami et al., 2021; Reichl et al., 2006). Eine Konzentrationsbestimmung der eluierten Substanzen könnte hier Aufschluss bringen. Autoren in der Literatur geben einen unteren Grenzwert von 10 µM UDMA zur Entstehung von Zytotoxizität, Genotoxizität und Radikalentstehung an, wobei darauf hingewiesen wird, dass solch eine Nekrose verursachenden Konzentrationen in vivo nicht zu erwarten sind (Chang et al. 2020; Reichl et al. 2006). Metaanalysen haben gezeigt, dass eine direkte Korrelation zwischen Probenvolumen und der aus ihnen freigesetzten Menge von Monomeren existiert (Angelis et al., 2022). Die in dieser Studie angefertigten Plättchen bestanden aus einer vielfach größeren Menge Material, als es für eine Restauration in der menschlichen Mundhöhle üblich wäre. Die Herstellung der Eluate erfolgte zudem mit acht dieser Plättchen. Durch die im Mund geringer eingesetzte Menge sowie der Verdünnung durch den Speichel, kann davon ausgegangen werden, dass sich die negativen Auswirkungen der eluierten Monomere aufgrund der geringeren Konzentrationen relativieren.

Generell muss für alle getesteten Materialien auf die Versuchsdurchführung in vitro hingewiesen werden. Im Gegensatz zum oralen Milieu findet hierbei keine Verdünnung der freigesetzten Substanzen durch den Speichel statt. Weiter finden keinerlei Interaktionen mit Fremdstoffen wie der Nahrung statt, welche Einfluss auf die Füllungsmaterialien nehmen könnten. So müssen die in dieser Studie erhobenen Werte für EF ebenfalls mit Vorsicht interpretiert werden. EF zeigte im Rahmen dieser Untersuchungen eine geringe Zellvitalität, erhöhte Caspase-Werte und das Ausbleiben des Glutathion-Reduktase-Puffersystems durch die Komplettextrusion von GSH. Die niedrigen Konzentrationen für IL-6 könnten auf eine bereits zu geringe Zellvitalität während des ELISAs schließen lassen. Im Gegensatz zu den anderen getesteten Materialien finden sich für EF keine genaueren Informationen zur Zusammensetzung von Seiten des Herstellers. Man

könnte also drei Ansätze zur Erklärung dieser Ergebnisse verfolgen: Die Reduktion der Zellvitalität aufgrund zu hoher Ionenfreisetzung, aufgrund von organischen Zusätzen oder aufgrund des pH-Abfalls.

Dass Glasionomermemente über eine hohe Ionenfreisetzung verfügen und so ihr Remineralisationspotential entsteht, ist bekannt. In der Vergangenheit wurde jedoch über das toxische Potential der freigesetzten Ionen berichtet. Im Vergleich von mehreren Glasionomermementen berichteten (Kanjevaca et al., 2012), dass sich das Material mit der höchsten Fluoridfreisetzung am zytotoxischsten auf pulpale Zellen auswirkte (Kanjevaca et al. 2012). Trotz dieser Korrelation zwischen Konzentration und Zytotoxizität wird mehrfach über die geringe Konzentration der freigesetzten Ionen bei Glasionomermementen berichtet, welche zu gering sei, um einen tatsächlichen Zellschaden zu verursachen (Chen et al., 2016; Stanislawski et al., 1999). Die reduzierte Zellvitalität bei EF ist also sehr unwahrscheinlich auf dessen Ionenfreisetzung zurückzuführen. Um dies jedoch zu verifizieren, kann eine Ionen-Konzentrationsmessung empfohlen werden.

Wie im Falle von VD, CF und AB könnte das Ergebnis von EF auch auf organische Zusätze wie TEGDMA oder UDMA zurückzuführen sein. Zytotoxische Auswirkungen wurden für mit Methacrylaten modifizierte Glasionomermemente bereits beschrieben (Chen et al. 2016; Stanislawski et al. 1999). Da aber keines dieser Monomere für EF als Inhaltsstoff angegeben wurde und auch in weiteren Untersuchungen dieser Arbeitsgruppe nicht als Materialbestandteil mittels Gaschromatographie und Massenspektrometrie gefunden werden konnte, ist auch diese Hypothese abzulehnen (Wuersching et al. 2023).

Klassische Glasionomermemente binden nicht wie Komposite über Polymerisation ab, sondern über eine Säure-Base-Reaktion. Flüssiger und gleichzeitig saurer Bestandteil dieser ist die Polyacrylsäure. In dieser Studie wurde der pH-Abfall bei Zugabe der EF-Plättchen zum DMEM-Medium deutlich. Bereits nach einer Nacht Inkubationszeit war eine Entfärbung des Mediums von rot nach gelb erfolgt. Der Grund hierfür liegt in der Zusammensetzung des Mediums, welches den pH-Indikator Phenol-Rot enthält. Phenol-Rot zeigt ab einem pH-Wert von 6,4 oder darunter einen Farbumschlag von Rot nach Gelb (Morgan et al., 2019). Dass ein zu saures Milieu zytotoxisch für Fibroblasten sein kann, wurde erst kürzlich beschrieben. Lang et al. testeten in ihrer Studie den Effekt von Glasionomermementen auf Fibroblasten. In Übereinstimmung mit dieser Arbeit erfolgte auch hierbei ein pH-Abfall unter 6, wodurch es zum Absterben von Zellen kam (Lang et al., 2019). Da im ersten Teil dieser Arbeit von den getesteten Materialien lediglich EF diesem Reaktionsmechanismus zugeordnet werden kann, ist die Vergleichbarkeit der gemessenen Parameter unter den Füllungsmaterialien schwierig. Es sollte auch noch einmal betont werden, dass es sich hierbei um in vitro Bedingungen handelt. Gerade ein saures Milieu kann im Mund durch die Puffersysteme im Speichel abgefedert werden. Der menschliche Speichel verfügt über drei Puffersysteme, dem Bikarbonatpuffer, dem Phosphatpuffer und dem Proteinpuffer, von denen ersterer den Hauptanteil der Pufferfunktion übernimmt (Lenander-Lumikari & Loimaranta, 2000). Eine für den Patienten gefährliche Zytotoxizität in vivo ist also nicht zu erwarten.

Bei den Entzündungsindikatoren IL-6 und PGE<sub>2</sub> konnten ebenfalls abweichende Werte im Vergleich zur Negativkontrolle festgestellt werden. So zeigten die Materialien CF und AB erhöhte Werte für IL-6 und VD sowie EF niedrigere IL-6-Konzentrationen. Bei PGE<sub>2</sub> wiesen EF und AB erhöhte Werte auf, wohingegen bei VD und CF reduzierte Konzentrationen im Vergleich zur C+M-Gruppe festgestellt werden konnten. Wie bereits beschrieben enthalten die Materialien VD, AB und CF das Methacrylat UDMA. Gingivafibroblasten gehören zu den Zellen mit der Fähigkeit IL-6 zu synthetisieren (Bartold & Haynes, 1991). Neben den oben genannten zytotoxischen Effekten

ist UDMA in der Lage, in Kontakt mit vitalen Zellen eine verstärkte IL-6-Ausschüttung zu verursachen. Neben IL-6 werden zudem weitere proinflammatorische Faktoren wie IL8, IL12 und TNF- $\alpha$  verstärkt emittiert (Diomedea et al., 2014). Dies könnte eine Erklärung für die erhöhten Konzentrationen an IL-6 bei CF und AB sein. VD enthält zwar auch UDMA, wies jedoch bei keinem der beiden gemessenen Entzündungsmarkern erhöhte Werte auf. Ein Grund könnte in der freigesetzten Konzentration des UDMA liegen. Wie bereits besprochen existiert eine direkt proportionale Korrelation zwischen Menge des UDMA und dessen Zytotoxizität. Eine Erklärung könnte also eine geringere UDMA-Freisetzung bei VD aufgrund besserer Polymerisation als bei AB und CF sein. Dass durch eine höhere Polymerisationsrate insgesamt weniger Restmonomere freigesetzt werden, ist in der Literatur bereits belegt (Mulla et al., 2023). Es könnte eine gewünschte geringe Löslichkeit bei AB und CF vorliegen, damit diese durch Ionenfreisetzung bioaktiv wirken können. Eine Verifizierungsmöglichkeit dieses Erklärungsansatzes läge in der Konzentrationsbestimmung des freigesetzten UDMA. Interessant wäre außerdem eine weitere Versuchsgruppe, in welcher CF lichterhärtend angewendet wird. Eine weitere Begründung für die geringen Entzündungswerte bei VD könnte im Ursprung der freigesetzten Entzündungsfaktoren liegen. Im vorliegenden Assay wurde stets die Gesamtkonzentration der Probe bestimmt, nicht jedoch der Ursprung von IL-6 und PGE<sub>2</sub>. Diese könnten von den verbliebenen vitalen Zellen nach Kontakt mit den Eluaten aktiv ausgeschüttet worden sein oder ihren Ursprung in den nekrotisierten Zellresten der Gingivafibroblasten haben. Wie bereits erläutert wird als primäre Todesursache der Zellen bei AB und CF die Nekrose angenommen. Da bei VD ebenfalls eine signifikant geringere Zellvitalität, jedoch keine erhöhte Apoptoseaktivität stattgefunden hat, kann angenommen werden, dass auch hier Zellen durch Nekrose devital wurden. Die dennoch geringeren Entzündungswerte bei VD im Vergleich zu AB und CF könnten daran liegen, dass bei VD generell weniger Zellen verloren gegangen sind und so weniger Nekrosepartikel vorlagen. Je geringer die Anzahl der Nekrosepartikel, desto geringer wäre die Ausschüttung an Entzündungsmediatoren.

Im Agardiffusionsversuch zeigte sich lediglich für das Material EF eine Wachstumshemmung auf *F. nucleatum*. Ein Grund könnte der oben beschriebene Abfall des pH-Werts in ein saures Milieu sein, der durch EF-Eluate potenziell verursacht wird. In Versuchen konnte bereits ein optimaler pH-Wert von 7-8 für das Wachstum von *F. nucleatum* beschrieben werden (Rogers, 1998). Eine weitere Arbeit, welche den Einfluss antimikrobieller Peptide auf das Bakterienwachstum untersuchte, konnte eine pH-Wert-abhängige Überlebensrate von *F. nucleatum* feststellen. Diese war bei pH 5 und 6 im Vergleich zu pH 7 bereits deutlich verringert (Laubmeier, 2022). Um dies zu verifizieren, kann eine pH-Wert-Messung aller Eluate vor Eintauchen der Filterpapierplättchen empfohlen werden. Ein in vivo Effekt durch den pH-Abfall auf *F. nucleatum* ist aufgrund der oben genannten Speichelpuffersysteme sowie durch die Verdünnung mit diesem in Frage zu stellen. Die in der Literatur mehrfach beschriebene hemmende Wirkung von Fluorid auf den Bakterienstoffwechsel konnte in diesem Versuch nicht gezeigt werden (Liao et al., 2017). Eine Hemmung durch diesen Mechanismus hätte hier nur bei den von Herstellern propagierten fluoridfreisetzenden Materialien AB, CF, SO, EF und KU erwartet werden können. Ein Grund hierfür könnte eine zu niedrige Fluoridabgabe oder eine zu hohe Verdünnung bei der Eluatherstellung sein. Aufschluss darüber könnte eine Messung der freigesetzten Ionenkonzentration in den Eluaten geben.

Der geringe Einfluss eluierter Monomere wie UDMA und Bis-GMA zeigte sich bereits in Studien mit dem Bakterium *S. sobrinus*. Keine dieser organischen Substanzen hemmte oder förderte dessen Wachstum (Hansel et al., 1998).

Neben den Untersuchungen zur Biokompatibilität ist die Beurteilung der Randintegrität von direkten Restaurationsmaterialien aus mehreren Gründen sinnvoll. Zum einen wird in der Literatur ein erhöhtes Aufkommen von Sekundärkaries beschrieben (Nedeljkovic et al., 2015). Die Bakterien penetrieren hierbei den Spalt zwischen Zahn und Füllung und können so an für die Zahnhygiene unerreichbaren Stellen Demineralisationsvorgänge starten. Weiterhin kann diese bakterielle Besiedlung zu Randverfärbungen führen. Zum anderen ist ein dichter Restaurationsabschluss auch wichtig, um postoperative Hypersensibilitäten zu vermeiden. Die Spaltbildung zwischen Füllung und Kavität wird hier als häufigste Ursache für eben solche genannt (Boroziniat et al., 2021). Eine stabile Verbindung zur Zahnschmelzsubstanz ist überdies wichtig, um einen Verlust der Restauration vorzubeugen, da eine makroretentive Kavitätenpräparation wie bei Amalgam aufgrund ihrer Invasivität heute abzulehnen ist.

In dieser Untersuchung wurden klassische Vertreter der humanen Mundflora gewählt. *S. mutans* stellt durch seine starke Säureresistenz und verschiedenen Anhaftungsmechanismen, wie der Einsatz von Glucosyltransferasen, den Hauptkeim bei der Kariesentstehung dar. Die weiteren verwendeten Streptokokken *S. oralis* und *S. sanguinis* sowie *A. naeslundii* und *L. paracasei* gehören zu den Frühbesiedlern bei der Bildung des oralen Biofilms. Nach einer Woche geht die Anzahl der Streptokokken im Biofilm zurück, wobei die von *F. nucleatum* anwächst, welcher im Agardiffusionsversuch verwendet wurde. *F. nucleatum* ermöglicht anschließend als Brückenkeim die Anhaftung der Spätbesiedler-Spezies (Krzyściak et al., 2013).

Bei der Betrachtung der Penetrationstiefen kann festgestellt werden, dass die Materialien, bei denen eine Vorbehandlung der Zahnschmelzsubstanz mit Scotchbond Universal oder dem Cention Primer erfolgt ist, viel häufiger keine messbare Bakterienpenetration aufweisen. In diesem Versuch sind das die Gruppen CF, AB und VD. Der Cention Primer wird von den Herstellern als selbstätzend und selbsthärtend angegeben. Vergleicht man die Inhaltsstoffe von diesem mit denen von Scotchbond Universal, können einige Übereinstimmungen festgestellt werden (siehe Anhang A.a.). In Folge kann davon ausgegangen werden, dass beide die Zahnoberfläche auf ähnliche Weise konditionieren und die Verwendung des Cention Primers der eines gängigen Universaladhäsivs gleicht, auch wenn bei diesem auf den Schritt der Lichthärtung verzichtet werden kann. Auch der positive Effekt der selektiven Schmelzätzung bei AB und VD kann durch die vorliegende Untersuchung bestätigt werden. Der Vorteil einer selektiven Schmelzätzung mit Phosphorsäure wurde in der Literatur bereits vielfach untersucht (Frankenberger et al., 2008; Szesz et al., 2016). Keiner der Schnitte von CF und AB wies eine Spaltbildung im Bereich von > 0-300 µm auf, dafür in den Bereichen von > 300-600 µm und vereinzelt höher. Ein Grund hierfür könnte im Kavitäten-design des Versuchs liegen. Die Klasse II-Kavitäten wurden so präpariert, dass immer eine zirkuläre Schmelzbegrenzung erhalten blieb. Es ist in der Literatur anerkannt, dass ein adhäsiver Verbund an Schmelz leichter zu erreichen ist als an Dentin. Ein Grund hierfür liegt in den strukturellen Unterschieden dieser beiden Zahnbestandteile. Dentin enthält mehr anorganische Bestandteile wie Kollagen und ist aufgrund seines höheren Wassergehalts feuchter (Cardoso et al., 2019). Bei Überwindung der wertvollen Schmelz-Adhäsiv-Begrenzung könnte eine tiefere Bakterienpenetration aufgrund der geringeren Haftwerte zu Dentin möglich gewesen sein. Dies würde auch erklären, warum bei deren Erhalt in den meisten Fällen gar keine Bakterienpenetration vorlag. Unterstützt wird diese Vermutung durch die Ergebnisse von Meshram et al., welche in ihrer Studie das Auftreten von Randspalten an Klasse V-Kavitäten untersuchten. In allen getesteten Gruppen zeigte sich hier ein größeres Auftreten von Spaltbildung im Dentin im Vergleich zu den schmelzbegrenzten Kavitäten (Meshram et al., 2019). Die Ergebnisse decken sich ebenfalls mit

einer weiteren Studie, welche auch Activa Bioactive Restaurative mittels Farbstoffpenetrations-tests auf Randdichtigkeit testete. Die Autoren geben hier für AB größere Mikrosplattiefen im Dentin als im Schmelz an (Ebaya et al., 2019).

Ein weiterer Faktor für die marginale Integrität ist die sogenannte Polymerisationsschrumpfung. Über radikale Polymerisation aushärtende Materialien verkleinern durch die Entstehung von Polymerketten ihre atomaren Abstände, wodurch eine Volumenschrumpfung des Materials entsteht. Die Schrumpfungstendenz des Materials erfolgt zur Mitte hin, wodurch gerade an den Restaurationsrändern Stress entsteht. Entscheidenden Einfluss auf die Höhe des Schrumpfungsstresses hat hierbei der sogenannte C-Faktor. Der C-Faktor beschreibt das Verhältnis zwischen der gebundenen und der freien Oberfläche des Komposits. Ein niedriger C-Faktor ist hier günstig (Da Moreira Silva et al., 2007). Studien konnten den direkten Zusammenhang zwischen Polymerisationsstress und Spaltbildung nachweisen (Ferracane & Mitchem, 2003). Eine ausreichende Haftung an der Zahnhartsubstanz ist also notwendig, um den auftretenden Zugkräften entgegenzuwirken. Untersuchungen zeigten, dass die Konditionierung der Zahnschmelze zu höheren Haftwerten beiträgt (Erickson et al., 2009). Die Verwendung eines Adhäsivs beziehungsweise des Cention Primers könnte für die geringen Penetrationstiefen bei AB und CF trotz Bulk-Anwendung eine Erklärung sein. SO hingegen wird vom Hersteller als selbstadhäsives Komposit hybrid beworben, bei welchem als tatsächlicher Amalgamersatz auf eine Vorbehandlung des Zahns und auf inkrementelle Schichtungstechnik verzichtet werden kann. Die selbstadhäsive Wirkung soll wie bei den konventionellen Glasionomern über Polyacrylsäuren erreicht werden. Da Polyacrylsäuren normalerweise nicht in ein Polymernetzwerk eingebaut werden können, wurde die sogenannte radikalisch polymerisierbare Polysäure MOPO entwickelt, sodass eine konventionelle Härtung über Polymerisation möglich sein soll (Dentsply Sirona, o. J.). Ein Grund für die Spaltbildung in über 55 % der Fälle könnte bei SO also in der Polymerisationsschrumpfung liegen. Überdies kann vermutet werden, dass die modifizierte Polysäure nicht stark genug ist, um ausreichend Ionen zu lösen, welche dann wiederum für eine echte chemische Haftung an der Zahnschmelze verantwortlich sind. Aufschlussreich könnte hier eine Verbundfestigkeitsmessung sein.

Im Gegensatz zu den auf Polymerisation basierenden Abbindungsmechanismen, liegt bei der Säure-Base-Reaktion der Glasionomere keine Polymerisationsschrumpfung vor, sofern diese nicht kunststoffmodifiziert sind. In dieser Arbeit trifft dies auf EF und KU zu. Studien haben außerdem gezeigt, dass Glasionomere, welche nicht kunststoffmodifiziert sind, eine höhere Anfälligkeit hinsichtlich ihrer Löslichkeit aufweisen (Bharali et al., 2017; Karkera et al., 2016). Der gewünschte Effekt der Glasionomere, die Fluoridionenfreisetzung, geht mit einer gewissen Freisetzung- und somit Löslichkeitsrate einher. Im Gegensatz zu AB, VD und SO wäre also hier nicht die Verbundfestigkeit zur Zahnoberfläche eine potenzielle Schwachstelle, sondern die Interaktion des Materials mit der Umgebung. Dies wäre eine Erklärung, warum zwar häufige, aber eher oberflächliche bakterielle Penetrationen gemessen werden konnten. In dieser Arbeit wurde EF ohne das vom Hersteller mitgelieferte Coating angewendet. Aufschlussreich hinsichtlich der Löslichkeit wäre eine weitere Versuchsgruppe mit EF + Coating, um festzustellen, ob so eine geringere Penetrationshäufigkeit feststellbar wäre. In der menschlichen Mundhöhle sind die Restaurationen durch den Speichel ständig einem feuchten Milieu ausgesetzt. Die Löslichkeit der Materialien kann langfristig ebenso Einfluss auf die marginale Randintegrität haben. Um dies zu verifizieren, könnte ein künstliches Altern durch längere Aufbewahrung in Wasser vor Anfärben vorgenommen werden. Dass dadurch negative Effekte hinsichtlich Randintegrität auftreten können, zeigen Ebaya et. al in ihrer Studie. Hierbei konnten für ein Material nach sechs monatiger

Aufbewahrung in Wasser und mechanischem Belastungstest tiefere Eindringtiefen der Bakterien nachgewiesen werden als bei den sofort gemessenen Gruppen (Ebaya et al., 2019).

Generell müssen die aufgezeigten Ergebnisse vor dem Hintergrund einer in vitro Testung betrachtet werden. Um die marginale Integrität auch bei Kaubelastung zu testen, könnten die Proben nach mehreren Zyklen im Kausimulator beurteilt werden. Dass hierbei noch tiefere Penetrationstiefen erwartet werden könnten, zeigen Khvostenko et al. in ihrer Studie, welche die Eindringtiefen von Bakterien bei Komposit-Restorationen nach mechanischer Belastung und ohne dieser verglichen. Hierbei konnten signifikant häufigere und höhere Eindringtiefen bei den im Kausimulator getesteten Proben festgestellt werden (Khvostenko et al., 2015). Eine Testung im Kausimulator birgt jedoch eine erhöhte Kontaminationsgefahr mit anderen Bakterienspezies, so dass aufgrund dieser technischen Limitation in diesem Versuch davon abgesehen wurde.

Weiterhin muss bedacht werden, dass die Schnitte jeweils durch die Zahn- und somit Füllungsmitte angefertigt wurden. Bei der Aufnahme handelt es sich also nicht um eine dreidimensionale Darstellung der Restauration. Dementsprechend kann die Eindringtiefe am Füllungsrand in vestibulär-oralen Richtung nicht beurteilt werden. Aufgrund der hohen Anzahl an geschnittenen Proben lässt sich dennoch eine grundlegende Bewertung der Randdichte ableiten.

Die bei der Materialentwicklung beabsichtigte bioaktive Wirkung, bei welcher die Zahnschmelzsubstanz nicht nur passiv ersetzt werden sollte, kann in dieser Studie nicht über die direkte Hemmung oraler Mikroorganismen bestätigt werden. Zudem bleibt zu prüfen, ob eine bioaktive Wirkung über die Anregung der Zahnhartsubstanzbildung erzielt werden kann. Hierfür sind jedoch weitere in vitro und in vivo Studien nötig. Ruengrungsom et al. konnten in einer Studie bereits vielversprechende Ergebnisse für Cention N erzielen. Hierbei wurde eine hohe Fluoridfreisetzung sowie eine vorhandene Ionen-Wiederaufladungskapazität festgestellt (Ruengrungsom et al., 2020). Dies könnte einen langfristigen Ansatz in der Bekämpfung von Sekundärkaries darstellen. Hinsichtlich der Biokompatibilität der bioaktiven Materialien konnten vielversprechende Ergebnisse festgestellt werden. Für eine vollumfängliche Untersuchung der Biokompatibilität wären zudem weitere Studien unter anderem hinsichtlich der Mutagenität, Genotoxizität, sowie des Irritations- und Sensibilisierungspotenzials notwendig. Die Ergebnisse zur Randintegrität zeigen für die Materialien CF und AB vergleichbare Werte zu den meist im klinischen Alltag eingesetzten Kompositen. Eine Überprüfung der Langzeiteffekte in vitro und in vivo ist jedoch auch hier für eine abschließende Beurteilung notwendig.

## 5. Fazit

Ein wichtiger Aspekt bei der Entwicklung neuer Materialien für die direkte Füllungstherapie ist eine mögliche Bioaktivität des verwendeten Restaurationsmaterials. Zudem kommen wirtschaftliche Gesichtspunkte zum Tragen, die einen Vergleich mit herkömmlichen Materialien wie Komposit oder Amalgam ermöglichen. Hierbei soll die Praktikabilität und Langlebigkeit imitiert werden. Gleichzeitig soll ein makroretentives Kavitätendesign vermieden werden. Eine Konditionierung oder absolute Trockenlegung der Zahnoberfläche ist bei Amalgam, im Gegensatz zu Komposit, nicht notwendig. Überdies wird angestrebt, die Zahnhartsubstanz nicht nur zu ersetzen, sondern auch effektiv gegen Sekundärkaries vorzubeugen.

Die vorliegende Arbeit zeigt vielversprechende Ergebnisse hinsichtlich der Biokompatibilität der getesteten Materialien. Vor dem Hintergrund der häufigen Spaltbildungen und bakterieller Besiedelung in den Versuchsgruppen ohne vorherige Konditionierung muss die klinische Relevanz dieses Ergebnisses in weiteren Untersuchungen geprüft werden. Zudem müssen die Mechanismen der „Bioaktivität“ genauer untersucht und beschrieben werden.

Insgesamt bietet das Feld der bioaktiven Komposite einen interessanten Ansatz zur Entwicklung neuer Füllwerkstoffe. Die stetige Weiterentwicklung dieser und die damit einhergehende Verbesserung lassen einen standardisierten klinischen Einsatz in der restaurativen Zahnheilkunde nicht unwahrscheinlich erscheinen.

## Literaturverzeichnis

### Quellenverzeichnis

- 3M Deutschland GmbH (2015) *Ketac™ Universal Aplicap™ Liquid: Sicherheitsdatenblatt nach Verordnung (EU) 1907/2006 (REACH)* [Online]. Verfügbar unter [https://schuk-med-dent.de/mediafiles/Sonstiges/Kapseln\\_Ketac\\_Universal\\_Aplicap\\_A1-A4.pdf](https://schuk-med-dent.de/mediafiles/Sonstiges/Kapseln_Ketac_Universal_Aplicap_A1-A4.pdf) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- 3M Deutschland GmbH (2020) *Ketac™ Universal Aplicap™ Powder: Sicherheitsinformationsblatt für Medizinprodukte* [Online]. Verfügbar unter [https://multimedia.3m.com/mws/media-webserver?mwslid=SSSSSu9n\\_zu8IzU9m8tvl8mxNv7zg17zHvu9IxB7xteeVSSSSSS-](https://multimedia.3m.com/mws/media-webserver?mwslid=SSSSSu9n_zu8IzU9m8tvl8mxNv7zg17zHvu9IxB7xteeVSSSSSS-) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Abou ElReash, A., Hamama, H., Abdo, W., Wu, Q., Zaen El-Din, A. & Xiaoli, X. (2019) "Biocompatibility of new bioactive resin composite versus calcium silicate cements: an animal study", *BMC oral health*, Vol. 19, No. 1, S. 194.
- Abouelleil, H., Attik, N., Chiriac, R., Toche, F., Ory, A., Zayakh, A., Grosogoeat, B. & Pradelle-Plasse, N. (2024) "Comparative study of two bioactive dental materials", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 40, No. 2, S. 297–306.
- Ajiboye, A. S., Mossey, P. A. & Fox, C. H. (2020) "International Association for Dental Research Policy and Position Statements on the Safety of Dental Amalgam", *Journal of dental research*, Vol. 99, No. 7, S. 763–768.
- Almuammar, M. F., Schulman, A. & Salama, F. S. (2001) "Shear bond strength of six restorative materials", *The Journal of clinical pediatric dentistry*, Vol. 25, No. 3, S. 221–225.
- Angelis, F. de, Sarteur, N., Buonvivere, M., Vadini, M., Šteffl, M. & D'Arcangelo, C. (2022) "Meta-analytical analysis on components released from resin-based dental materials", *Clinical oral investigations*, Vol. 26, No. 10, S. 6015–6041.
- Ausschuss für Umweltfragen, öffentliche Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (2023) *ENTWURF EINES BERICHTS über den Vorschlag für eine Verordnung des Europäischen Parlaments und des Rates zur Änderung der Verordnung (EU) 2017/852 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. Mai 2017 über Quecksilber im Hinblick auf Dentalamalgam und andere mit Quecksilber versetzte Produkte, die Herstellungs-, Einfuhr- und Ausfuhrbeschränkungen unterliegen (COM(2023)0395 – C9-0309/2023 – 2023/0272(COD))* [Online], 2023/0272(COD), S. 1–10. Verfügbar unter [www.europarl.europa.eu/doceo/document/ENVI-PR-753554\\_DE.pdf](http://www.europarl.europa.eu/doceo/document/ENVI-PR-753554_DE.pdf) (Abgerufen am 4 Februar 2024).
- Banic Vidal, L. S., Veček, N. N., Šalinović, I., Miletić, I., Klarić, E. & Jukić Krmek, S. (2023) "Short-Term Fluoride Release from Ion- Releasing Dental Materials", *Acta stomatologica Croatica*, Vol. 57, No. 3, S. 229–237.
- Bartold, P. M. & Haynes, D. R. (1991) "Interleukin-6 production by human gingival fibroblasts", *Journal of periodontal research*, Vol. 26, No. 4, S. 339–345.
- Beltrami, R., Colombo, M., Rizzo, K., Di Cristofaro, A., Poggio, C. & Pietrocola, G. (2021) "Cytotoxicity of Different Composite Resins on Human Gingival Fibroblast Cell Lines", *Biomimetics (Basel, Switzerland)*, Vol. 6, No. 2.

- Benetti, A. R., Michou, S., Larsen, L., Peutzfeldt, A., Pallesen, U. & van Dijken, J. W. V. (2019) "Adhesion and marginal adaptation of a claimed bioactive, restorative material", *Biomaterial investigations in dentistry*, Vol. 6, No. 1, S. 90–98.
- Bernabe, E., Marcenes, W., Hernandez, C. R., Bailey, J., Abreu, L. G., Alipour, V., Amini, S., Arabloo, J., Arefi, Z., Arora, A., Ayanore, M. A., Bärnighausen, T. W., Bijani, A., Cho, D. Y., Chu, D. T., Crowe, C. S., Demoz, G. T., Demsie, D. G., Dibaji Forooshani, Z. S., Du, M., El Tantawi, M., Fischer, F., Folayan, M. O., Futran, N. D., Geramo, Y. C. D., Haj-Mirzaian, A., Hariyani, N., Hasanzadeh, A., Hassanipour, S., Hay, S. I., Hole, M. K., Hostiuc, S., Ilic, M. D., James, S. L., Kalhor, R., Kemmer, L., Keramati, M., Khader, Y. S., Kisa, S., Kisa, A., Koyanagi, A., Laloo, R., Le Nguyen, Q., London, S. D., Manohar, N. D., Massenburg, B. B., Mathur, M. R., Meles, H. G., Mestrovic, T., Mohammadian-Hafshejani, A., Mohammadpourhodki, R., Mokdad, A. H., Morrison, S. D., Nazari, J., Nguyen, T. H., Nguyen, C. T., Nixon, M. R., Olagunju, T. O., Pakshir, K., Pathak, M., Rabiee, N., Rafiei, A., Ramezanzadeh, K., Rios-Blancas, M. J., Roro, E. M., Sabour, S., Samy, A. M., Sawhney, M., Schwendicke, F., Shaahmadi, F., Shaikh, M. A., Stein, C., Tovani-Palone, M. R., Tran, B. X., Unnikrishnan, B., Vu, G. T., Vukovic, A., Warouw, T. S. S., Zaidi, Z., Zhang, Z. J. & Kassebaum, N. J. (2020) "Global, Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study", *Journal of dental research*, Vol. 99, No. 4, S. 362–373.
- Bharali, K., Das, M., Jalan, S., Paul, R. & Deka, A. (2017) "To Compare and Evaluate the Sorption and Solubility of Four Luting Cements after Immersion in Artificial Saliva of Different pH Values", *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, Vol. 9, Suppl 1, S103-S106.
- Boruziniat, A., Alizadeh, S., Gifani, M., Cehreli, Z. C. & Khazaei, Y. (2021) "The effect of ethanol wet bonding technique on postoperative hypersensitivity of Class II composite restorations: A randomized trial", *Dental research journal*, Vol. 18, S. 97.
- Cardoso, G. C. de, Nakanishi, L., Isolan, C. P., Jardim, P. D. S. & Moraes, R. R. de (2019) "Bond Stability of Universal Adhesives Applied To Dentin Using Etch-And-Rinse or Self-Etch Strategies", *Brazilian dental journal*, Vol. 30, No. 5, S. 467–475.
- Cetin, A. R., Unlu, N. & Cobanoglu, N. (2013) "A five-year clinical evaluation of direct nanofilled and indirect composite resin restorations in posterior teeth", *Operative dentistry*, Vol. 38, No. 2, E1-11.
- Chang, C.-Y., Chiang, C.-Y., Chiang, Y.-W., Lee, M.-W., Lee, C.-Y., Chen, H.-Y., Lin, H.-W. & Kuan, Y.-H. (2020) "Toxic Effects of Urethane Dimethacrylate on Macrophages Through Caspase Activation, Mitochondrial Dysfunction, and Reactive Oxygen Species Generation", *Polymers*, Vol. 12, No. 6.
- Chang, H.-H., Chang, M.-C., Wang, H.-H., Huang, G.-F., Lee, Y.-L., Wang, Y.-L., Chan, C.-P., Yeung, S.-Y., Tseng, S.-K. & Jeng, J.-H. (2014) "Urethane dimethacrylate induces cytotoxicity and regulates cyclooxygenase-2, hemeoxygenase and carboxylesterase expression in human dental pulp cells", *Acta biomaterialia*, Vol. 10, No. 2, S. 722–731.
- Chen, S., Mestres, G., Lan, W., Xia, W. & Engqvist, H. (2016) "Cytotoxicity of modified glass ionomer cement on odontoblast cells", *Journal of materials science. Materials in medicine*, Vol. 27, No. 7, S. 116.

- Chumpraman, A., Tannukit, S., Chotigeat, W. & Kedjarune-Leggat, U. (2023) "Biocompatibility and mineralization activity of modified glass ionomer cement in human dental pulp stem cells", *Journal of dental sciences*, Vol. 18, No. 3, S. 1055–1061.
- Crowley, L. C., Marfell, B. J., Scott, A. P., Boughaba, J. A., Chojnowski, G., Christensen, M. E. & Waterhouse, N. J. (2016) "Dead Cert: Measuring Cell Death", *Cold Spring Harbor protocols*, Vol. 2016, No. 12.
- Da Moreira Silva, E., dos Santos, G. O., Guimarães, J. G. A., Barcellos, A. d. A. L. & Sampaio, E. M. (2007) "The influence of C-factor, flexural modulus and viscous flow on gap formation in resin composite restorations", *Operative dentistry*, Vol. 32, No. 4, S. 356–362.
- Dentsply Sirona (o. J.) *Wissenschaftliches Kompendium Surefil one: Selbstadhäsives Komposit hybrid* [Online]. Verfügbar unter [chrome-extension://efaidnbnmnibpcajpcglclefindmkaj/https://assets.dentsplysirona.com/flagship/de-de/explore/restauration/surefill\\_one/RES-Wissenschaftliches-Kompendium-Surefil-one-DE-web.pdf](chrome-extension://efaidnbnmnibpcajpcglclefindmkaj/https://assets.dentsplysirona.com/flagship/de-de/explore/restauration/surefill_one/RES-Wissenschaftliches-Kompendium-Surefil-one-DE-web.pdf).
- Dentsply Sirona (2019) *Surefil One: Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31* [Online]. Verfügbar unter [https://www.dentsplysirona.com/content/dam/dentsply/pim/de\\_DE/Restorative/Direct\\_Restoration/Composites\\_\\_Flowables/Bulk\\_Fill\\_Composites/Surefil\\_one/Surefil\\_one.pdf](https://www.dentsplysirona.com/content/dam/dentsply/pim/de_DE/Restorative/Direct_Restoration/Composites__Flowables/Bulk_Fill_Composites/Surefil_one/Surefil_one.pdf) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Dentsply Sirona (2020) *Surefil one™: Selbstadhäsives Komposit hybrid* [Online]. Verfügbar unter [https://assets.dentsplysirona.com/flagship/de-de/explore/restauration/surefill\\_one/RES-Brochure-Surefil-one.pdf](https://assets.dentsplysirona.com/flagship/de-de/explore/restauration/surefill_one/RES-Brochure-Surefil-one.pdf) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Diomede, F., Caputi, S., Merciaro, I., Frisone, S., D'Arcangelo, C., Piattelli, A. & Trubiani, O. (2014) "Pro-inflammatory cytokine release and cell growth inhibition in primary human oral cells after exposure to endodontic sealer", *International endodontic journal*, Vol. 47, No. 9, S. 864–872.
- Durner, J., Kreppel, H., Zaspel, J., Schweikl, H., Hickel, R. & Reichl, F. X. (2009) "The toxicokinetics and distribution of 2-hydroxyethyl methacrylate in mice", *Biomaterials*, Vol. 30, No. 11, S. 2066–2071.
- Ebaya, M. M., Ali, A. I. & Mahmoud, S. H. (2019) "Evaluation of Marginal Adaptation and Microleakage of Three Glass Ionomer-Based Class V Restorations: In Vitro Study", *European journal of dentistry*, Vol. 13, No. 4, S. 599–606.
- Eltahlah, D., Lynch, C. D., Chadwick, B. L., Blum, I. R. & Wilson, N. H. F. (2018) "An update on the reasons for placement and replacement of direct restorations", *Journal of dentistry*, Vol. 72, S. 1–7.
- Erickson, R. L., Barkmeier, W. W. & Latta, M. A. (2009) "The role of etching in bonding to enamel: a comparison of self-etching and etch-and-rinse adhesive systems", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 25, No. 11, S. 1459–1467.
- Estrela, C., Cintra, L. T. A., Duarte, M. A. H., Rossi-Fedele, G., Gavini, G. & Sousa-Neto, M. D. (2023) "Mechanism of action of Bioactive Endodontic Materials", *Brazilian dental journal*, Vol. 34, No. 1, S. 1–11.
- Ferracane, J. L. (2011) "Resin composite--state of the art", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 27, No. 1, S. 29–38.

- Ferracane, J. L. (2024) "A Historical Perspective on Dental Composite Restorative Materials", *Journal of Functional Biomaterials*, Vol. 15, No. 7.
- Ferracane, J. L. & Mitchem, J. C. (2003) "Relationship between composite contraction stress and leakage in Class V cavities", *American journal of dentistry*, Vol. 16, No. 4, S. 239–243.
- Fisher, J., Varenne, B., Narvaez, D. & Vickers, C. (2018) "The Minamata Convention and the phase down of dental amalgam", *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 96, No. 6, S. 436–438.
- Forsback, A.-P., Areva, S. & Salonen, J. I. (2004) "Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro", *Acta odontologica Scandinavica*, Vol. 62, No. 1, S. 14–20.
- Francois, P., Fouquet, V., Attal, J.-P. & Dursun, E. (2020) "Commercially Available Fluoride-Releasing Restorative Materials: A Review and a Proposal for Classification", *Materials (Basel, Switzerland)*, Vol. 13, No. 10.
- François, P., Remadi, A., Le Goff, S., Abdel-Gawad, S., Attal, J.-P. & Dursun, E. (2021) "Flexural properties and dentin adhesion in recently developed self-adhesive bulk-fill materials", *Journal of oral science*, Vol. 63, No. 2, S. 139–144.
- Frankenberger, R., Dudek, M.-C., Winter, J., Braun, A., Krämer, N., Stein-Lausnitz, M. von & Roggendorf, M. J. (2020) "Amalgam Alternatives Critically Evaluated: Effect of Long-term Thermomechanical Loading on Marginal Quality, Wear, and Fracture Behavior", *The journal of adhesive dentistry*, Vol. 22, No. 1, S. 107–116.
- Frankenberger, R., Garcia-Godoy, F. & Krämer, N. (2009) "Clinical Performance of Viscous Glass Ionomer Cement in Posterior Cavities over Two Years", *International journal of dentistry*, Vol. 2009, S. 781462.
- Frankenberger, R., Lohbauer, U., Roggendorf, M. J., Naumann, M. & Taschner, M. (2008) "Selective enamel etching reconsidered: better than etch-and-rinse and self-etch?", *The journal of adhesive dentistry*, Vol. 10, No. 5, S. 339–344.
- Frankenberger, R., Winter, J. & Schmalz, G. (2021) "Amalgam und Alternativen – Diskussionen zur Quecksilberreduktion in der Umwelt", *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*, Vol. 64, No. 7, S. 847–855.
- Garoushi, S., Vallittu, P. K. & Lassila, L. (2018) "Characterization of fluoride releasing restorative dental materials", *Dental materials journal*, Vol. 37, No. 2, S. 293–300.
- GC EUROPE N.V. (2019a) *GC EQUIA Forte HT Fil liquid: Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31* [Online]. Verfügbar unter [https://www.gc.dental/europe/sites/europe.gc.dental/files/products/downloads/equiaforteht/sds/SDS\\_EQUIA\\_Forte\\_HT\\_Fil\\_liquid\\_DE.pdf](https://www.gc.dental/europe/sites/europe.gc.dental/files/products/downloads/equiaforteht/sds/SDS_EQUIA_Forte_HT_Fil_liquid_DE.pdf) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- GC EUROPE N.V. (2019b) *GC EQUIA Forte HT Fil powder: Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31* [Online]. Verfügbar unter [https://www.gc.dental/europe/sites/europe.gc.dental/files/products/downloads/equiaforteht/sds/SDS\\_EQUIA\\_Forte\\_HT\\_Fil\\_powder\\_DE.pdf](https://www.gc.dental/europe/sites/europe.gc.dental/files/products/downloads/equiaforteht/sds/SDS_EQUIA_Forte_HT_Fil_powder_DE.pdf) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Ghibelli, L., Fanelli, C., Rotilio, G., Lafavia, E., Coppola, S., Colussi, C., Civitareale, P. & Ciriolo, M. R. (1998) "Rescue of cells from apoptosis by inhibition of active GSH extrusion", *FASEB*

- journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, Vol. 12, No. 6, S. 479–486.
- Hamza, B., Eliades, T., Attin, T., Schwendener, S. & Karygianni, L. (2024) "Initial bacterial adherence and biofilm formation on novel restorative materials used in paediatric dentistry", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 40, No. 3, S. 573–579.
- Hansel, C., Leyhausen, G., Mai, U. E. & Geurtsen, W. (1998) "Effects of various resin composite (co)monomers and extracts on two caries-associated micro-organisms in vitro", *Journal of dental research*, Vol. 77, No. 1, S. 60–67.
- Heck, K., Manhart, J., Hickel, R. & Diegritz, C. (2018) "Clinical evaluation of the bulk fill composite QuiXfil in molar class I and II cavities: 10-year results of a RCT", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 34, No. 6, e138-e147.
- Hickel, R., Dasch, W., Janda, R., Tyas, M. & Anusavice, K. (1998) "New direct restorative materials. FDI Commission Project", *International dental journal*, Vol. 48, No. 1, S. 3–16.
- Ismail, A. I., Hasson, H. & Sohn, W. (2001) "Dental caries in the second millennium", *Journal of dental education*, Vol. 65, No. 10, S. 953–959.
- Ivoclar Vivadent AG (2020a) *Cention® Forte: Das bioaktive Pulver-Flüssigkeits-Füllungsmaterial* [Online]. Verfügbar unter [https://www.ivoclar.com/de\\_DE/downloadcenter/?dc=de&lang=de#search-text=cention%20forte&search-info-272=103982%2C1&details=17186](https://www.ivoclar.com/de_DE/downloadcenter/?dc=de&lang=de#search-text=cention%20forte&search-info-272=103982%2C1&details=17186).
- Ivoclar Vivadent AG (2020b) *Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31: Cention Forte Liquid* [Online]. Verfügbar unter [https://www.ivoclar.com/de\\_DE/downloadcenter/?dc=de&lang=de#search-info-272=103982%2C1&search-text=cention%20forte&details=32216](https://www.ivoclar.com/de_DE/downloadcenter/?dc=de&lang=de#search-info-272=103982%2C1&search-text=cention%20forte&details=32216) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Ivoclar Vivadent AG (2020c) *Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31: Cention Forte Powder* [Online]. Verfügbar unter [https://www.ivoclar.com/de\\_DE/downloadcenter/?dc=de&lang=de#search-info-272=103982%2C1&search-text=cention%20forte&details=32217](https://www.ivoclar.com/de_DE/downloadcenter/?dc=de&lang=de#search-info-272=103982%2C1&search-text=cention%20forte&details=32217) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Ivoclar Vivadent AG (2021) *Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31: Cention Primer* [Online]. Verfügbar unter [https://www.ivoclar.com/de\\_DE/downloadcenter/?dc=de&lang=de#search-info-272=103982%2C1&search-text=cention%20forte&details=32218](https://www.ivoclar.com/de_DE/downloadcenter/?dc=de&lang=de#search-info-272=103982%2C1&search-text=cention%20forte&details=32218) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Jordan, R. A., Bodechtel, C., Hertrampf, K., Hoffmann, T., Kocher, T., Nitschke, I., Schiffner, U., Stark, H., Zimmer, S. & Micheelis, W. (2014) "The Fifth German Oral Health Study (Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie, DMS V) - rationale, design, and methods", *BMC oral health*, Vol. 14, S. 161.
- Kanjevac, T., Milovanovic, M., Volarevic, V., Lukic, M. L., Arsenijevic, N., Markovic, D., Zdravkovic, N., Tesic, Z. & Lukic, A. (2012) "Cytotoxic effects of glass ionomer cements on human dental pulp stem cells correlate with fluoride release", *Medicinal chemistry (Sharjah (United Arab Emirates))*, Vol. 8, No. 1, S. 40–45.
- Karkera, R., Raj, A. P. N., Isaac, L., Mustafa, M., Reddy, R. N. & Thomas, M. (2016) "Comparison of the Solubility of Conventional Luting Cements with that of the Polyacid Modified Composite Luting Cement and Resin-modified Glass Ionomer Cement", *The journal of contemporary dental practice*, Vol. 17, No. 12, S. 1016–1021.

- Kelly, P. G. & Smales, R. J. (2004) "Long-term cost-effectiveness of single indirect restorations in selected dental practices", *British dental journal*, Vol. 196, No. 10, 639-43; discussion 627.
- Khvostenko, D., Hilton, T. J., Ferracane, J. L., Mitchell, J. C. & Kruzic, J. J. (2016) "Bioactive glass fillers reduce bacterial penetration into marginal gaps for composite restorations", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 32, No. 1, S. 73–81.
- Khvostenko, D., Salehi, S., Naleway, S. E., Hilton, T. J., Ferracane, J. L., Mitchell, J. C. & Kruzic, J. J. (2015) "Cyclic mechanical loading promotes bacterial penetration along composite restoration marginal gaps", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 31, No. 6, S. 702–710.
- Krzyściak, W., Jurczak, A., Kościelniak, D., Bystrowska, B. & Skalniak, A. (2013) "The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms", *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, Vol. 33, No. 4, S. 499–515.
- Kulzer GmbH (2022) *Venus Diamond: Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31* [Online]. Verfügbar unter [https://kulzerus.com/media/msds/MSDS40066\\_-\\_Venus\\_Diamond\\_\(A\)\\_4.pdf](https://kulzerus.com/media/msds/MSDS40066_-_Venus_Diamond_(A)_4.pdf) (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Kurt, A., Altintas, S. H., Kiziltas, M. V., Tekkeli, S. E., Guler, E. M., Kocyigit, A. & Usumez, A. (2018) "Evaluation of residual monomer release and toxicity of self-adhesive resin cements", *Dental materials journal*, Vol. 37, No. 1, S. 40–48.
- Lalovic, M., Kolak, V., Melih, I., Nikitovic, A., Trajkovic, I., Milosevic, M., Pejanovic, D. & Pesic, D. (2024) "Mechanical properties of ion-releasing restorative materials", *American journal of dentistry*, Vol. 37, No. 1, S. 13–18.
- Lang, O., Kohidai, L., Kohidai, Z., Dobo-Nagy, C., Csomo, K. B., Lajko, M., Mozes, M., Keki, S., Deak, G., Tian, K. V. & Gresz, V. (2019) "Cell physiological effects of glass ionomer cements on fibroblast cells", *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, Vol. 61, S. 104627.
- Laubmeier, S. C. (2022) *Untersuchung der Wirkung von antimikrobiellen Peptiden auf die Formation von parodontalpathogenen Biofilmen in-vitro: Abhängigkeit von Konzentration, Ionenstärke und pH-Wert*, Dissertation, München, Ludwig-Maximilians-Universität [Online]. Verfügbar unter [https://edoc.ub.uni-muenchen.de/31073/1/Laubmeier\\_Sophie\\_Charlotte.pdf](https://edoc.ub.uni-muenchen.de/31073/1/Laubmeier_Sophie_Charlotte.pdf) (Abgerufen am 22 Juni 2024).
- Lenander-Lumikari, M. & Loimaranta, V. (2000) "Saliva and dental caries", *Advances in dental research*, Vol. 14, S. 40–47.
- Liao, Y., Brandt, B. W., Li, J., Crielaard, W., van Loveren, C. & Deng, D. M. (2017) "Fluoride resistance in *Streptococcus mutans*: a mini review", *Journal of Oral Microbiology*, Vol. 9, No. 1.
- López-García, S., Pecci-Lloret, M. P., Pecci-Lloret, M. R., Oñate-Sánchez, R. E., García-Bernal, D., Castelo-Baz, P., Rodríguez-Lozano, F. J. & Guerrero-Gironés, J. (2019) "In Vitro Evaluation of the Biological Effects of ACTIVA Kids BioACTIVE Restorative, Ionolux, and Riva Light Cure on Human Dental Pulp Stem Cells", *Materials (Basel, Switzerland)*, Vol. 12, No. 22.

- Lührs, A.-K. & Herrmann, P. (2020) "Bioaktive Restaurationsmaterialien-Wunsch oder Wirklichkeit?", *Quintessenz Zahnmedizin*, Vol. 71, No. 7, S. 728–741.
- M. Federlin, U. Blunck, R. Frankenberger, H. Knüttel, F.X. Reichl, H. Schweikl, H. J. Staehle, R. Hickel (2016) *Kompositrestaurationen im Seitenzahnbereich: S1-Handlungsempfehlung (Langversion)* [Online] (AWMF-Registernummer 083-028). Verfügbar unter [https://epub.uni-regensburg.de/35031/2/083-028\\_S1\\_Kompositrestaurationen\\_Seitenzahnbereich\\_2016-12.pdf](https://epub.uni-regensburg.de/35031/2/083-028_S1_Kompositrestaurationen_Seitenzahnbereich_2016-12.pdf) (Abgerufen am 4 Februar 2024).
- Machiulskiene, V., Campus, G., Carvalho, J. C., Dige, I., Ekstrand, K. R., Jablonski-Momeni, A., Maltz, M., Manton, D. J., Martignon, S., Martinez-Mier, E. A., Pitts, N. B., Schulte, A. G., Splieth, C. H., Tenuta, L. M. A., Ferreira Zandona, A. & Nyvad, B. (2020) "Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR", *Caries research*, Vol. 54, No. 1, S. 7–14.
- Manhart, J., Chen, H., Hamm, G. & Hickel, R. (2004) "Buonocore Memorial Lecture. Review of the clinical survival of direct and indirect restorations in posterior teeth of the permanent dentition", *Operative dentistry*, Vol. 29, No. 5, S. 481–508.
- Manhart, J., García-Godoy, F. & Hickel, R. (2002) "Direct posterior restorations: clinical results and new developments", *Dental clinics of North America*, Vol. 46, No. 2, S. 303–339.
- Marigo, L., Triestino, A., Castagnola, R., Vincenzoni, F., Cordaro, M., Di Stasio, E., Mordente, A. & Nocca, G. (2022) "Cytotoxic Evaluation of the New Composite Resin through an Artificial Pulp Chamber", *BioMed research international*, Vol. 2022, S. 5100816.
- Marovic, D., Par, M., Posavec, K., Marić, I., Štajdohar, D., Muradbegović, A., Tauböck, T. T., Atin, T. & Tarle, Z. (2022) "Long-Term Assessment of Contemporary Ion-Releasing Restorative Dental Materials", *Materials (Basel, Switzerland)*, Vol. 15, No. 12.
- Martin, S. J. & Henry, C. M. (2013) "Distinguishing between apoptosis, necrosis, necroptosis and other cell death modalities", *Methods (San Diego, Calif.)*, Vol. 61, No. 2, S. 87–89.
- Meshram, P., Meshram, V., Palve, D., Patil, S., Gade, V. & Raut, A. (2019) "Comparative evaluation of microleakage around Class V cavities restored with alkasite restorative material with and without bonding agent and flowable composite resin: An in vitro study", *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research*, Vol. 30, No. 3, S. 403–407.
- Mjör, I. A. (1996) "Glass-ionomer cement restorations and secondary caries: a preliminary report", *Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)*, Vol. 27, No. 3, S. 171–174.
- Morgan, A., Babu, D., Reiz, B., Whittal, R., Suh, L. Y. K. & Siraki, A. G. (2019) "Caution for the routine use of phenol red - It is more than just a pH indicator", *Chemico-biological interactions*, Vol. 310, S. 108739.
- Mulla, S. A., Kondkari, S. A., Patil, A., Jain, A., Mali, S., Jaiswal, H. C., Jakhar, A., Ansari, Z. M., Agarwal, S. & Yadav, P. (2023) "A Look Into the Cytotoxicity of Composite Fillings: Friend or Foe?", *Cureus*, Vol. 15, No. 10.
- Naruishi, K. (2022) "Biological Roles of Fibroblasts in Periodontal Diseases", *Cells*, Vol. 11, No. 21.

- Nedeljkovic, I., Munck, J. de, Vanloy, A., Declerck, D., Lambrechts, P., Peumans, M., Teughels, W., van Meerbeek, B. & van Landuyt, K. L. (2020) "Secondary caries: prevalence, characteristics, and approach", *Clinical oral investigations*, Vol. 24, No. 2, S. 683–691.
- Nedeljkovic, I., Teughels, W., Munck, J. de, van Meerbeek, B. & van Landuyt, K. L. (2015) "Is secondary caries with composites a material-based problem?", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 31, No. 11, e247-77.
- Opdam, N. J. M., Bronkhorst, E. M., Loomans, B. A. C. & Huysmans, M. C. D. N. J. M. (2010) "12-year survival of composite vs. amalgam restorations", *Journal of dental research*, Vol. 89, No. 10, S. 1063–1067.
- Owens, B. M., Phebus, J. G. & Johnson, W. W. (2018) "Evaluation of the marginal integrity of a bioactive restorative material", *General dentistry*, Vol. 66, No. 3, S. 32–36.
- Pallesen, U. & van Dijken, J. W. V. (2015) "A randomized controlled 27 years follow up of three resin composites in Class II restorations", *Journal of dentistry*, Vol. 43, No. 12, S. 1547–1558.
- Porenczuk, A., Jankiewicz, B., Naurecka, M., Bartosewicz, B., Sierakowski, B., Gozdowski, D., Kostecki, J., Nasitowska, B. & Mielczarek, A. (2019) "A comparison of the remineralizing potential of dental restorative materials by analyzing their fluoride release profiles", *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*, Vol. 28, No. 6, S. 815–823.
- Pulpdent Corporation (o. J.) *ACTIVA™ Überblick - Produktübersicht* [Online]. Verfügbar unter <https://pulpdent.de/activa-bioactive-uebersicht/#bioactive-properties> (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Pulpdent Corporation (2015) *Safety Data Sheet: ACTIVA BioACTIVE PRODUCT LINE* [Online]. Verfügbar unter <https://www.adsystems.de/shop/fuellungs-aufbau-und-verbundmaterial/komposit/pulpdent-activa-bioactive-restorative/> (Abgerufen am 11 Februar 2024).
- Rathke, A., Pfefferkorn, F., McGuire, M. K., Heard, R. H. & Seemann, R. (2022) "One-year clinical results of restorations using a novel self-adhesive resin-based bulk-fill restorative", *Scientific reports*, Vol. 12, No. 1, S. 3934.
- Reichl, F.-X., Esters, M., Simon, S., Seiss, M., Kehe, K., Kleinsasser, N., Folwaczny, M., Glas, J. & Hickel, R. (2006) "Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts", *Archives of toxicology*, Vol. 80, No. 6, S. 370–377.
- Rifai, H., Qasim, S., Mahdi, S., Lambert, M.-J., Zarazir, R., Amenta, F., Naim, S. & Mehanna, C. (2022) "In-vitro evaluation of the shear bond strength and fluoride release of a new bioactive dental composite material", *Journal of clinical and experimental dentistry*, Vol. 14, No. 1, e55-e63.
- Rodríguez, H. A., Kriven, W. M. & Casanova, H. (2019) "Development of mechanical properties in dental resin composite: Effect of filler size and filler aggregation state", *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, Vol. 101, S. 274–282.
- Rodríguez-Farre, E., Testai, E., Bruzell, E., Jong, W. de, Schmalz, G., Thomsen, M. & Hensten, A. (2016) "The safety of dental amalgam and alternative dental restoration materials for patients and users", *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, Vol. 79, S. 108–109.

- Rogers, A. H. (1998) "Studies on fusobacteria associated with periodontal diseases", *Australian dental journal*, Vol. 43, No. 2, S. 105–109.
- Roulet, J. F. (1997) "Benefits and disadvantages of tooth-coloured alternatives to amalgam", *Journal of dentistry*, Vol. 25, No. 6, S. 459–473.
- Roussou, K., Nikolaidis, A. K., Ziouti, F., Arhakis, A., Arapostathis, K. & Koulaouzidou, E. A. (2021) "Cytotoxic Evaluation and Determination of Organic and Inorganic Eluates from Restorative Materials", *Molecules*, Vol. 26, No. 16.
- Ruengrungsom, C., Burrow, M. F., Parashos, P. & Palamara, J. E. A. (2020) "Evaluation of F, Ca, and P release and microhardness of eleven ion-leaching restorative materials and the recharge efficacy using a new Ca/P containing fluoride varnish", *Journal of dentistry*, Vol. 102, S. 103474.
- Sadeghyar, A., Lettner, S., Watts, D. C. & Schedle, A. (2022) "Alternatives to amalgam: Is pre-treatment necessary for effective bonding to dentin?", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 38, No. 11, S. 1703–1709.
- Schmalz, G., Hickel, R., Price, R. B. & Platt, J. A. (2022) "Bioactivity of Dental Restorative Materials: FDI Policy Statement", *International dental journal*, Vol. 73, No. 1, S. 21–27.
- Sevkusic, M., Schuster, L., Rothmund, L., Dettinger, K., Maier, M., Hickel, R., van Landuyt, K. L., Durner, J., Högg, C. & Reichl, F.-X. (2014) "The elution and breakdown behavior of constituents from various light-cured composites", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 30, No. 6, S. 619–631.
- Shenoy, A. (2008) "Is it the end of the road for dental amalgam? A critical review", *Journal of conservative dentistry : JCD*, Vol. 11, No. 3, S. 99–107.
- Skallevold, H. E., Rokaya, D., Khurshid, Z. & Zafar, M. S. (2019) "Bioactive Glass Applications in Dentistry", *International journal of molecular sciences*, Vol. 20, No. 23.
- Stanislawski, L., Daniau, X., Lauti, A. & Goldberg, M. (1999) "Factors responsible for pulp cell cytotoxicity induced by resin-modified glass ionomer cements", *Journal of biomedical materials research*, Vol. 48, No. 3, S. 277–288.
- Stanislawski, L., Lefeuvre, M., Bourd, K., Soheili-Majd, E., Goldberg, M. & Périanin, A. (2003) "TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species", *Journal of biomedical materials research. Part A*, Vol. 66, No. 3, S. 476–482.
- Szesz, A., Parreiras, S., Reis, A. & Loguercio, A. (2016) "Selective enamel etching in cervical lesions for self-etch adhesives: A systematic review and meta-analysis", *Journal of dentistry*, Vol. 53, S. 1–11.
- Tiskaya, M., Al-Eesa, N. A., Wong, F. S. L. & Hill, R. G. (2019) "Characterization of the bioactivity of two commercial composites", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 35, No. 12, S. 1757–1768.
- Tohidkhal, S., Kermanshah, H., Ahmadi, E., Jalalian, B. & Ranjbar Omrani, L. (2022) "Marginal microleakage and modified microtensile bond strength of Activa Bioactive, in comparison with conventional restorative materials", *Clinical and experimental dental research*, Vol. 8, No. 1, S. 329–335.

- Vallittu, P. K., Boccaccini, A. R., Hupa, L. & Watts, D. C. (2018) "Bioactive dental materials-Do they exist and what does bioactivity mean?", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 34, No. 5, S. 693–694.
- van Dijken, J. W. V., Pallesen, U. & Benetti, A. (2019) "A randomized controlled evaluation of posterior resin restorations of an altered resin modified glass-ionomer cement with claimed bioactivity", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 35, No. 2, S. 335–343.
- (2017) "VERORDNUNG (EU) 2017/852 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 17. Mai 2017 über Quecksilber und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1102/2008", in *Amtsblatt der Europäischen Union*, L 137/1-21.
- Volk, J., Engelmann, J., Leyhausen, G. & Geurtsen, W. (2006) "Effects of three resin monomers on the cellular glutathione concentration of cultured human gingival fibroblasts", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 22, No. 6, S. 499–505.
- Waltimo, T., Brunner, T. J., Vollenweider, M., Stark, W. J. & Zehnder, M. (2007) "Antimicrobial effect of nanometric bioactive glass 45S5", *Journal of dental research*, Vol. 86, No. 8, S. 754–757.
- Wiegand, A., Buchalla, W. & Attin, T. (2007) "Review on fluoride-releasing restorative materials-fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 23, No. 3, S. 343–362.
- Wuersching, S. N., Högg, C., Kohl, L., Reichl, F.-X., Hickel, R. & Kollmuss, M. (2023) "Leaching components and initial biocompatibility of novel bioactive restorative materials", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 39, No. 3, S. 293–304.
- Zidan, O. & Abdel-Keriem, U. (2003) "The effect of amalgam bonding on the stiffness of teeth weakened by cavity preparation", *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, Vol. 19, No. 7, S. 680–685.

## Anhang A

### a. Inhaltsstoffe der getesteten Materialien

Die Tabelle gibt einen Überblick über die in dieser Arbeit getesteten bioaktiven Materialien und Vergleichsgruppen sowie deren Inhaltsstoffe.

Material	Inhaltsstoffe
<b>Cention Forte</b>	<p><b>Liquid</b> (Ivoclar Vivadent AG, 2020b)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>25-50 % Urethandimethacrylat (UDMA)</li> <li>10-25 % Aromatisches aliphatisches Urethandimethacrylat</li> <li>10-25 % Polyethylenglycol</li> <li>10-&lt;20 % Tricyclodocandimethanoldimethacrylat</li> <li>1-&lt;2,5 % <math>\alpha,\alpha</math>-Dimethylbenzylhydroperoxid</li> <li>0,25-&lt;1 % 2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-benzotriazol</li> <li>0,25-&lt;1 % 2-(2HBenzotriazol-2-yl)-p-kresol</li> </ul> <p><b>Powder</b> (Ivoclar Vivadent AG, 2020c)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2,5-&lt;10 % Ytterbiumtrifluorid</li> </ul> <p><b>Primer</b> (Ivoclar Vivadent AG, 2021)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>10-25 % 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA)</li> <li>10-25 % Bis-GMA</li> <li>10-25 % Ethanol</li> <li>10-25 % Methacrylatphosphorsäureester</li> <li>2,5-&lt;10 % 1,10-Decandioldimethacrylat</li> <li>2,5-&lt;10 % Polyacrylsäure Glycidylmethacrylat</li> <li>&lt;2,5 % Campherchinon</li> <li>0,1-&lt;1 % 2-Dimethylaminoethylmethacrylat</li> </ul>
<b>ACTIVA BioACTIVE Restorative</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>44,6 % Diurethan, Methacrylate, modifizierter Polyacrylsäure</li> <li>6,7 % Amorphe Kieselsäure</li> <li>0,75 % Natriumfluorid (Pulpdent Corporation, 2015)</li> <li>Silanisiertes bioaktives Glas und Kalzium * (Francois et al., 2020)</li> <li>Wasser * (Francois et al., 2020)</li> <li>1,4-Butandiol-Dimethacrylat * (Roussou et al., 2021)</li> <li>UDMA * (Roussou et al., 2021)</li> <li>Bis-GMA * (Roussou et al., 2021)</li> </ul>
<b>Surefil One</b>	<p><b>Liquid</b> (Dentsply Sirona, 2019)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>25-50 % Acrylsäure</li> <li><math>\geq 20 - \leq 25</math> % modifizierte Polysäure</li> <li>10-25 % Bisacrylamid 2</li> <li>Campherchinon</li> <li>Wasser (dem wissenschaftlichen Kompendium entnommen)</li> </ul> <p><b>Powder</b> (Dentsply Sirona, 2019)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><math>\geq 2,5 - &lt; 10</math> % Ytterbiumtrifluorid</li> </ul>

<b>EQUIA Forte HT</b>	<b>Powder</b> (GC EUROPE N.V., 2019b) Keine Angabe im Sicherheitsdatenblatt <b>Liquid</b> (GC EUROPE N.V., 2019a) Weinsäure 5 -< 10 %
<b>Venus Diamond</b>	Ba-Al-B-F Silikat-Glas Tricyclodecan-Urethanacrylat ≥ 2.5-< 5 % UDMA ≥ 1-≤ 5 % TEGDMA ≥ 0,25-< 1 % 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon Silizium (Kulzer GmbH, 2022)
<b>Ketac Universal Aplicap</b>	<b>Liquid</b> (3M Deutschland GmbH, 2015) 40-60 % Wasser 30-50 % Acrylsäure-Maleinsäure Copolymer 1-10 % Weinsäure < 0,2 % Benzoesäure <b>Powder</b> (3M Deutschland GmbH, 2020) > 95 % Glas, Oxide

Die Inhaltsstoffe wurden den angegebenen Sicherheitsdatenblättern der Hersteller entnommen. Die mit einem Sternchen gekennzeichneten Inhaltsstoffe im Feld von ACTIVA Bio-ACTIVE wurden in den aufgeführten Publikationen veröffentlicht.

#### b. Mediumrezept für 300 ml BHI-Medium

1. Abwiegen von 11,1 g Bakteriennährmedium-Pulver (BACTO Brain Heart Infusion 500 g, Becton, Dickinson and Company, Sparks, Maryland, USA) und Umfüllen in eine sterile 500 ml-Flasche
2. Abwiegen von 150 mg L-Cystein (L-Cystein, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) und Hinzufügen zum Mediapulver
3. Abwiegen und Einfüllen von 300 g destilliertem Wasser in die Glasflasche
4. Flasche mit geschlossenem Deckel schwenken, bis sich das Pulvergemisch von den Gefäßwänden löst und in Suspension übergeht
5. Erhitzen der Suspension für 120 Sekunden in der Mikrowelle
6. Überprüfen, ob sich Pulverreste vollständig aufgelöst haben
7. Hinzufügen von 60 µl Vitamin-K1-Stammlösung und 3 ml Hemin-Stammlösung
8. Durch sanftes Schwenken vermischen
9. Autoklavieren des Mediums im Flüssigkeitenprogramm (VARIOKLAV Dampfsterilisator, HP Labortechnik GmbH, Oberschleißheim, Deutschland)
10. Lagerung im Kühlschrank (7 °C)

**c. Herstellung der Eluate für den Agardiffusionsversuch**

Die Plättchenherstellung für den Agardiffusionsversuch erfolgte für die Materialien AB, CF, EF und VD äquivalent zur Eluatherstellung für den zellbiologischen Versuchsteil.

Ketac Universal Aplicap

1. Kapsel aktivieren und für 10 Sekunden rütteln
2. Kapselinhalt mit der Applikationszange in die Silikonform einbringen und modellieren
3. Ausarbeitung mit feinkörnigem Diamanten

Surefil One

1. Kapsel aktivieren und für 10 Sekunden rütteln (4.200-5.000 rpm)
2. Kapselinhalt mit der Applikationszange in die Silikonform einbringen und modellieren
3. Ausarbeitung mit feinkörnigem Diamanten

## Anhang B

### Ergebnisse des Agardiffusionstests – Fotobeispiele

#### *A. naeslundii*



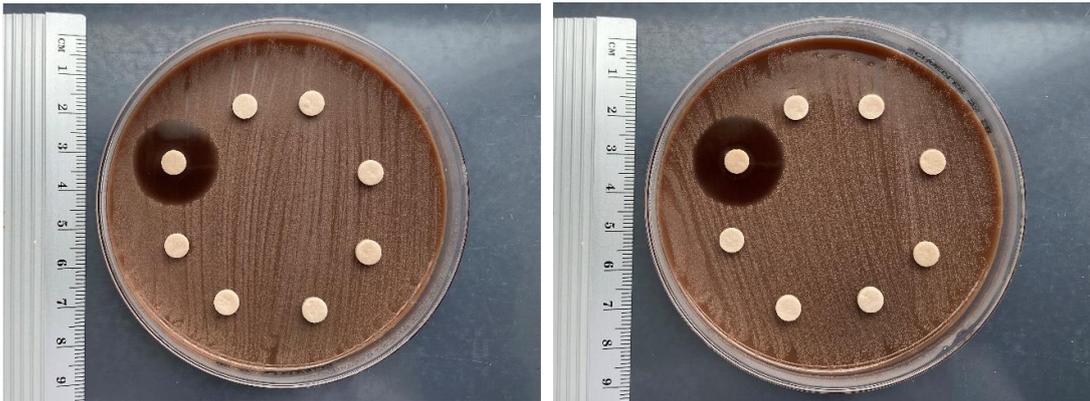
#### *C. albicans*



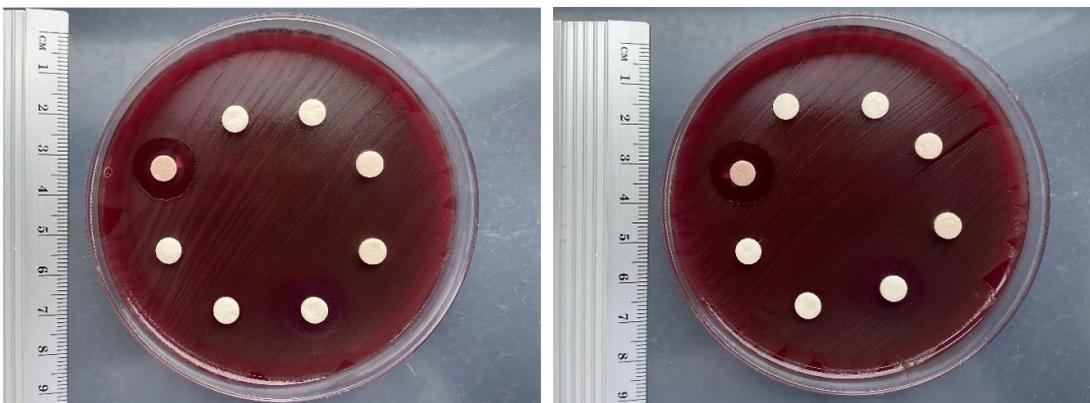
#### *L. paracasei*



*S. mutans*

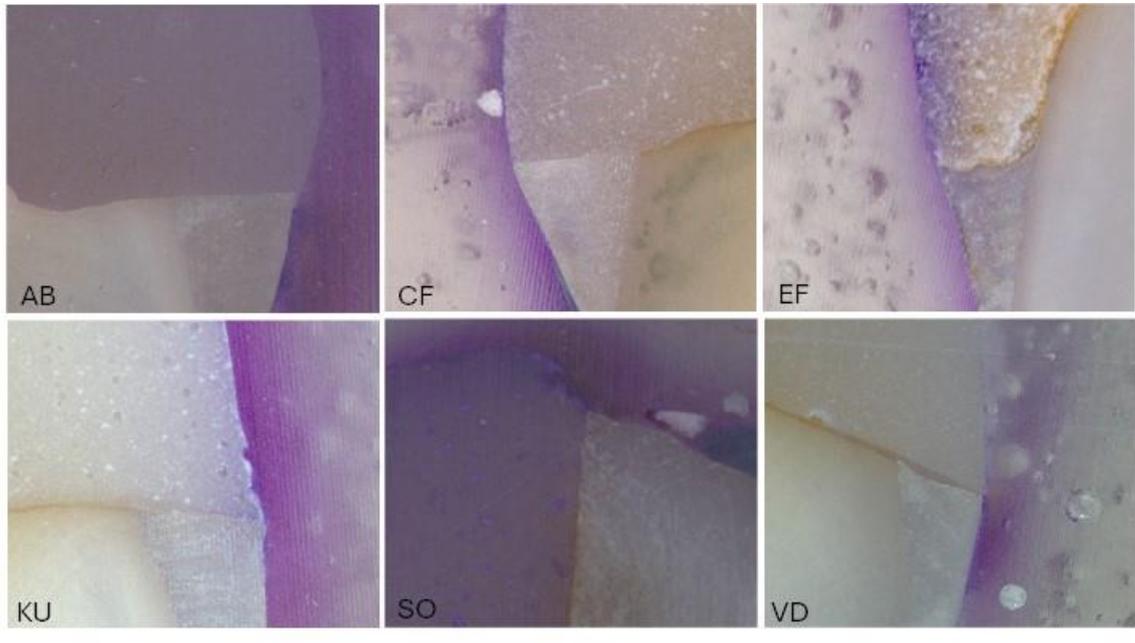


*F. nucleatum*

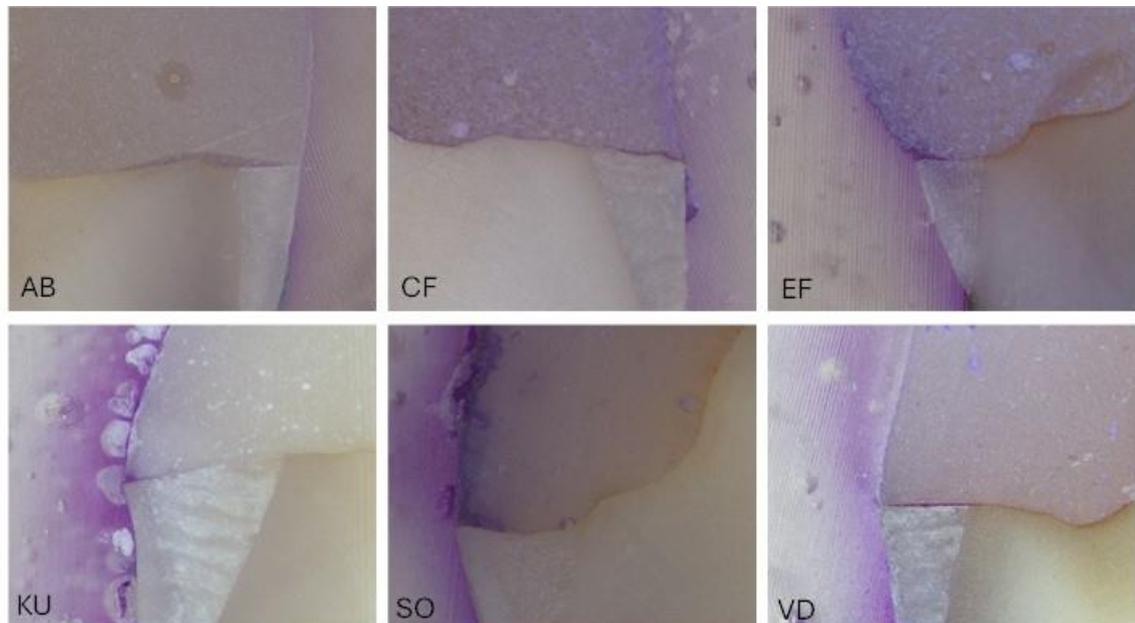


**Mikroskopische Aufnahmen aus dem Randdichtigkeitsversuch**

Beispielaufnahmen mit fehlender bakterieller Penetration



Beispielaufnahmen mit erfolgter bakterieller Penetration



## Anhang C

Ethikvotum für den Randdichtigkeitsversuch an natürlichen Zähnen



Ethikkommission · Pettenkofenstr. 8 · 80336 München  
 Klinikum der Universität München  
 Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie  
 Dr. Maximilian Kollmuß  
 Goethestr. 70  
 80336 München

Vorsitzender:  
 Prof. Dr. W. Eisenmenger  
 Telefon+49 (0)89 440055191  
 Telefax+49 (0)89 440055192  
 Ethikkommission@  
 med.uni-muenchen.de  
[www.ethikkommission.med.uni-muenchen.de](http://www.ethikkommission.med.uni-muenchen.de)

29.09.2021 Hb

Projekt Nr: 21-0976 KB (bitte bei Schriftwechsel angeben)

### Keine Beratungspflicht

Projekt: Biokompatibilitäts- sowie Plaqueakkumulationsprüfung neuartiger bioaktiver Füllungswerkstoffe  
 Antragsteller: Dr. Maximilian Kollmuß, Klinikum der Universität München, Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, Goethestr. 70, 80336 München  
 Untersucher: Dr. Maximilian Kollmuß, Klinikum der Universität München, Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, Goethestr. 70, 80336 München

Sehr geehrter Herr Dr. Kollmuß,

besten Dank für Ihr Schreiben (per E-Mail) vom 29.09.2021, mit dem Sie um eine Stellungnahme zum o.g. Projekt bitten.

Die Ethikkommission der LMU bestätigt, dass für das o.g. Forschungsvorhaben keine Beratungspflicht durch die Ethikkommission besteht.

Für Ihre Untersuchungen wünsche ich Ihnen viel Erfolg.

Mit freundlichen Grüßen



Prof. Dr. W. Eisenmenger  
 Vorsitzender der Ethikkommission

#### Mitglieder der Kommission:

Prof. Dr. W. Eisenmenger (Vorsitzender), Prof. Dr. R. M. Huber (stellv. Vorsitzender), Prof. Dr. C. Wendtner (stellv. Vorsitzender), Prof. Dr. H. Angstwurm, Dr. G. Alzeni, Prof. Dr. S. Böck, J. Eckert, Prof. Dr. B. Emmerich, Prof. Dr. S. Endres, Prof. Dr. R. Fischer, Prof. Dr. R. Gärtner, Prof. Dr. O. Genzel-Boroviczeny, Prof. Dr. K. Hahn, Prof. Dr. N. Harbeck, Dr. B. Henrikus, Prof. Dr. C. Heumann, Prof. Dr. R. Hohlfeld, Prof. Dr. A. Holstege, Prof. Dr. V. Klaus, Dr. F. Kohlmayer, Dr. K. Köhlmeier, Prof. Dr. J. Lindner, Prof. Dr. S. Lorenzi, Prof. Dr. U. Mansmann, Prof. Dr. G. Marckmann, Dr. V. Mönch, Prof. Dr. H. Mudra, Prof. Dr. R. Penning, Prof. Dr. J. Peters, Prof. Dr. K. Pfeifer, Dr. R. Ratzel, Prof. Dr. H. Schardey, Prof. Dr. M. Schmauss, Prof. Dr. U. Schroth, Prof. Dr. O. Steinlein, PD Dr. G. Stöben, Dr. B. Vogl, Prof. Dr. H. Waldner, PD Dr. U. Wandl, Prof. Dr. M. Wörnie, Dr. A. Yassouridis, Dr. C. Zach

## Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei PD Dr. Maximilian Kollmuß für die Bereitstellung dieses Forschungsthemas und die stetige Betreuung bedanken. Vielen Dank für den persönlichen Einsatz, die zahlreichen Feedback-Gespräche, die Anleitung im Labor und beim wissenschaftlichen Arbeiten sowie die Beantwortung sämtlicher Fragen. Dankeschön für die vielen konstruktiven Anmerkungen und kritischen Verbesserungsvorschläge.

Weiterhin gilt mein Dank Dr. Sabina Würsching für die Hilfestellung zum Erlernen multipler Laborarbeitsweisen, hilfreiche Ratschläge und das gemeinsame Publizieren dieser Ergebnisse. Danke für das offene Ohr bei Fragen zur Statistik und bei der Methodensuche.

Vielen Dank an Prof. Dr. Reinhard Hickel, der uns nicht nur die Ressourcen und Räumlichkeiten zur Verfügung gestellt hat, sondern in der Rolle als Mitbetreuer auch hilfreiche Korrekturvorschläge eingebracht hat.

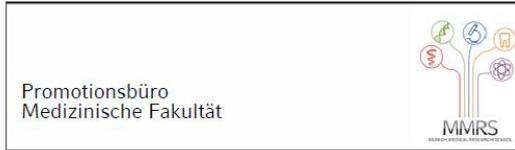
Dank gilt zudem Prof. Dr. Falk Schwendicke, Direktor der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, dass ich die Forschung in seinem Hause durchführen durfte.

Ich danke außerdem Prof. Dr. Christine Keul, die durch ihr aufgeschlossenes Interesse an der interdisziplinären Forschung sich freundlicherweise bereit erklärt hat, ebenfalls diese Arbeit zu betreuen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern Beate und Christian Greinsberger und meinem Mann Markus, ohne deren unermüdliche Unterstützung über Jahre hinweg der Abschluss dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Vielen Dank für eure Ermutigungen und euren Glauben in mich.

Diese Studie wurde durch eine Förderung der Deutschen Gesellschaft für Restaurative und Regenerative Zahnheilkunde (DGR<sup>2</sup>Z) und GC im Rahmen des DGR<sup>2</sup>Z-Kulzer-Start-Programms unterstützt.

## Affidavit



### Eidesstattliche Versicherung

Kohl, Lisa

\_\_\_\_\_  
Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:  
Biokompatibilität und Randsichtigkeit neuartiger bioaktiver Füllungswerkstoffe – eine in vitro Untersuchung

.....

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Burghausen, 09.04.2025

\_\_\_\_\_  
Ort, Datum

Lisa Kohl

\_\_\_\_\_  
Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

## Erklärung zur Übereinstimmung



Erklärung zur Übereinstimmung der gebundenen Ausgabe der Dissertation mit der elektronischen Fassung

Kohl, Lisa

\_\_\_\_\_  
Name, Vorname

\_\_\_\_\_  
Straße, Hausnummer

\_\_\_\_\_  
PLZ, Ort

Hiermit erkläre ich, dass die elektronische Version der eingereichten Dissertation mit dem Titel  
**„Biokompatibilität und Randsichtigkeit neuartiger bioaktiver Füllungswerkstoffe – eine in vitro Untersuchung“**

in Inhalt und Formatierung mit den gedruckten und gebundenen Exemplaren übereinstimmt.

Burghausen, 09.04.2025

Lisa Kohl

\_\_\_\_\_  
Ort, Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

## Publikationsliste

Wuersching, Sabina Noreen; Högg, Christof; Kohl, Lisa; Reichl, Franz-Xaver; Hickel, Reinhard; Kollmuss, Maximilian (2023): Leaching components and initial biocompatibility of novel bioactive restorative materials. In: *Dental materials: official publication of the Academy of Dental Materials* 39 (3), S. 293–304. DOI: [10.1016/j.dental.2023.01.008](https://doi.org/10.1016/j.dental.2023.01.008).