

Aus der Poliklinik für Präventive Zahnmedizin, Parodontologie und Kariologie

(Prof. Dr. med. dent. A. Wiegand)

im Zentrum Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Entwicklung einer Methode zur Bestimmung von
Entzündungsmediatoren in Dentinliquor, Dentinspänen und
Pulpagewebe von Zähnen mit symptomatischer irreversibler oder
reversibler Pulpitis

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
für Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Gerold Steinmetz

aus

Leinefelde

Göttingen 2016

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

- I. Berichterstatter: Prof. Dr. Michael Hülsmann**
- II. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Nicolai Miosge**
- III. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Martin Oppermann**

Tag der mündlichen Prüfung: 26.07.2016

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1 Der Pulpa-Dentin-Komplex	3
2.2 Das Dentin-Fluid	4
2.3 Reaktion der Pulpa auf kariöse Reize	6
2.4 Entzündungsmediatoren	7
2.4.1 IL-1	10
2.4.2 IL-6	10
2.4.3 TNF- α	10
2.4.4 CGRP	11
2.4.5 MMP-8	11
2.4.6 Substanz P	12
2.4.7 Fibrinogen	12
2.4.8 PGE 2	13
2.5 Klinik der Pulpitiden	13
2.5.1 Reversible Pulpitis	13
2.5.2 Irreversible Pulpitis	14
2.6 Diagnostik	14
2.6.1 Schmerzanamnese	14
2.6.2 Sensibilitätstests	15
2.6.2.1 Thermischer Test mit Kälte	16
2.6.2.2 Thermischer Test mit Wärme	16
2.6.2.3 Elektrische Messung	17
2.6.2.4 Mechanischer Test	17
2.6.2.5 Laser-Doppler-Flussmessung	18
2.6.3 Perkussionstest	18
2.6.4 Röntgenologische Untersuchung	18

3. Ziele der Arbeit	20
4. Material und Methoden	21
4.1 Auswahl der Zähne und vorbereitende Maßnahmen	21
4.2 Probenentnahme	24
4.2.1 Irreversible Pulpitis	24
4.2.2 Reversible Pulpitis	25
4.3 Auswertung der Proben	25
4.3.1 Der ELISA Test	26
4.4 Statistische Auswertung	28
5. Ergebnisse	29
6. Diskussion	47
6.1 Bedeutung einer korrekten Pulpitisdiagnostik	47
6.2 Diskussion der Methode	50
6.2.1 Substrate der Proben	51
6.2.2 Stellung der Verdachtsdiagnose	52
6.2.3 Kontrollgruppe	54
6.2.4 Sammlung des Dentinliquor	54
6.2.5 Sammlung der Dentinspäne	56
6.2.6 Sammlung des Pulpagewebes	56
6.2.7 Analyse der Zytokine	56
6.2.8 Auswahl der Zytokine	58
6.3 Diskussion der Ergebnisse	61
6.3.1 Metalloproteinasen	62
6.3.2 Substanz P	63
6.3.3 CGRP	64
6.3.4 Interleukine	64
6.3.5 TNF- α	67
6.3.6 Fibrinogen	68
6.3.7 Prostaglandin E2	69

7. Schlussfolgerungen	71
7.1 Methodik	71
7.2 Zytokine	72
8. Zusammenfassung	75
9. Materialliste	77
10. Literaturverzeichnis	78

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1	Graphische Darstellung der Ergebnisse der IL-6-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml).....	33
Abb. 2	Graphische Darstellung der Ergebnisse der IL-6-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml)	34
Abb. 3	Graphische Darstellung der Ergebnisse der CGRP-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml)	35
Abb. 4	Graphische Darstellung der Ergebnisse der CRGP-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml)	36
Abb. 5	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Prostaglandin E2- Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml)	37
Abb. 6	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Prostaglandin E2- Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter..... irreversibler Pulpitis (pg/ml)	38
Abb. 7	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Substanz-P-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml)	39
Abb. 8	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Substanz-P-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml)	40
Abb. 9	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Fibrinogen-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml)	41
Abb. 10	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Fibrinogen- Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter..... irreversibler Pulpitis (pg/ml)	42

Abb. 11	Graphische Darstellung der Ergebnisse der IL-1 β -Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml)	43
Abb. 12	Graphische Darstellung der Konzentrationen von IL-1 β in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml)	44
Abb. 13	Graphische Darstellung der Ergebnisse der MMP-8-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml)	45
Abb. 14	Graphische Darstellung der Ergebnisse der MMP-8-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml)	46

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1	Zusammenfassende Übersicht über die Kriterien zur Unterscheidung zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis	23
Tab. 2	Mittlere Messwerte und Standardabweichungen im Dentin in pg/ml für alle untersuchten Zytokine. TNF- α ist nicht berücksichtigt	29
Tab. 3	Messwerte in pg/ml im Liquor für alle untersuchten Zytokine. TNF- α ist nicht berücksichtigt	30
Tab. 4	Messwerte in pg/ml im Pulpagewebe von Zähnen mit irreversibler Pulpitis für alle untersuchten Zytokine mit Ausnahme des nicht nachweisbaren TNF- α	31
Tab. 5	Messwerte für IL-6 (pg/ml)	32
Tab. 6	Werte der CGRP-Messungen	35
Tab. 7	Werte der PGE 2-Messungen	37
Tab. 8	Messwerte für die Substanz P (pg/ml)	39
Tab. 9	Messwerte für Fibrinogen (pg/ml)	41
Tab. 10	Konzentrationen von IL-1 β (pg/ml)	43
Tab. 11	Messwerte für MMP-8 (pg/ml)	45
Tab. 12	Nachweisgrenzen der gemessenen Zytokine nach Herstellerangaben (MMD: <i>mimum detectable dose</i>).....	57
Tab. 13	Unvollständige Übersicht über einige der bislang in der Literatur untersuchten Entzündungsparameter bei reversibler (RP) und irreversibler Pulpitis (IP)	60

1. Einleitung

Entzündungen der Pulpa können durch zahlreiche natürliche oder iatrogene Ursachen ausgelöst werden. In den meisten Fällen liegt ihnen eine pulpanahe Karies zugrunde. Aus der bakteriellen Penetration des Dentins resultiert zunächst eine Entzündungsreaktion der Pulpa, die im Anfangsstadium reversibel ist und erst im Laufe der Zeit bei Persistenz der kariösen Noxe in ein irreversibles Stadium übergeht.

Die exakte Diagnose einer irreversiblen Pulpitis und deren Differenzierung zur reversiblen Form stellt eine wichtige Voraussetzung für die Therapie und das Überleben einer Pulpa dar. Das Standardverfahren der Diagnostik besteht aus einer Sequenz von Anamnese, klinischen Tests und Röntgenaufnahmen, welche nach sorgfältiger Auswertung die Art der Therapie vorgeben (Mejäre et al. 2012).

Klinisch wird die Diagnose einer reversiblen Pulpitis dann gestellt, wenn die Schmerzempfindung v.a. bei thermischen Reizen die Reizdauer nicht oder nur kurz überdauert (Kokkas et al. 2007, Mejäre et al. 2012, Abd-Elmeguid et al. 2013). Die Schmerzqualität wird oft als stechend beschrieben und die Schmerzen können in der Regel einem bestimmten Zahn zugeordnet werden.

Bei einer irreversiblen Pulpitis wird die Schmerzqualität oft als anhaltend, dumpf, ausstrahlend, pulsierend oder bohrend beschrieben, eine exakte Lokalisierung des Schmerzes ist oft nicht möglich. Als besonders charakteristisch wird auch der reizunabhängig auftretende Nachtschmerz angegeben. Das subjektive Schmerzempfinden des Patienten ist somit zentraler Bestandteil der Diagnostik.

Eine sichere und objektive Differenzierung zwischen einer reversiblen und einer irreversiblen Pulpitis ist anhand der klinischen Untersuchungen und Kriterien bis heute nicht möglich, da die Genauigkeit dieser verwendeten Kriterien limitiert ist (Seltzer 1972, Klausen et al. 1985, Mejäre et al. 2012, Marending Soltermann 2014 a, b, Giuroiu et al. 2015). Entscheidende Unterschiede ergeben sich in Bezug auf die Therapie: bei reversibler Pulpitis kann die Pulpa vital erhalten werden, bei irreversibler Pulpitis sind die Entfernung der Pulpa und eine Wurzelkanalbehandlung indiziert. Eine fehlerhafte Diagnose kann so einerseits in einer Übertherapie mit unnötiger Opferung der vitalen Pulpa, andererseits aber auch in einer Untertherapie

mit Belassen irreversibel entzündeten und nicht mehr therapierbaren Pulpagewebes bestehen, das dann unweigerlich nekrotisch zerfällt und eine Infektion des Wurzelkanalsystems nach sich zieht. Hierdurch würde die Therapie unnötig erschwert und die Prognose des Zahnes erheblich verschlechtert (Ng et al. 2008).

Da es sich bei der Pulpitis um eine Entzündung handelt, die unterschiedliche Stadien durchläuft, ist es denkbar, durch eine Bestimmung der Konzentration der Entzündungsmediatoren bzw. durch eine Messung der Änderung der Zytokinkonzentrationen über die Zeit zu diagnostizieren, in welchem Stadium sich das entzündete Pulpagewebe befindet. Da die direkte Bestimmung der Zytokine eine Exposition der Pulpa voraussetzt, kommt diese Möglichkeit für die reversible Pulpitis, bei der ja die Möglichkeit einer Gesundung und Vitalerhaltung besteht, nicht in Betracht. Der indirekte Weg besteht aus der Messung der Zytokinkonzentration in besser zugänglichen Substraten, die auf nicht-pulpainvasivem Weg gewonnen werden können. Hierfür kommen die Dentinflüssigkeit (Dentinliquor, *dentinal fluid*) und die Sulkusflüssigkeit in Betracht. Erstere ist nur schwer in ausreichenden Konzentrationen zu gewinnen, wurde aber bereits in orientierenden Arbeiten diesbezüglich genutzt (Zehnder et al. 2011). Letztere wird bereits zur Bestimmung von Entzündungsmediatoren bei Parodontalerkrankungen eingesetzt (Mäntylä et al. 2003) und ist damit vermutlich für Pulpitiden nicht ausreichend spezifisch. Als weiteres Substrat wäre die Verwendung von (pulpanahen) Dentinspänen denkbar, die vergleichsweise einfach und in größerer Quantität zu gewinnen sind. Hierzu liegen unseres Wissens bislang keine Untersuchungen vor, dieses Substrat steht daher neben anderen Aspekten im Fokus dieser Studie.

Ziel dieser Studie ist es, zu überprüfen, ob sich Entzündungsmediatoren in einem klinisch nachweisbaren Stadium der irreversiblen Pulpitis im Dentinliquor und in Dentinspänen bei noch nicht eröffneter Pulpa nachweisen lassen. Es soll ferner überprüft werden, ob sich im Dentinliquor und in den Dentinspänen die gleichen Entzündungsmediatoren nachweisen lassen wie in der irreversibel entzündeten Pulpa. Zusätzlich soll ein Protokoll für weitere klinische Studien zur Beteiligung von Zytokinen an Pulpitiden entwickelt werden.

2. Literaturübersicht

2.1 Der Pulpa-Dentin-Komplex

Das Innenleben eines vitalen Zahnes besteht aus einem umfangreichen Gebilde, dem Pulpa-Dentin-Komplex. Beide Komponenten, Dentin und Pulpa, sind entwicklungs geschichtlich miteinander verknüpft und bilden eine funktionelle Einheit. Die Pulpa besteht aus Blut- und Lymphgefäßen, Nervenzellen und Bindegewebe und erfüllt formative, nutritive, sensorische und defensive Funktionen. Formative Funktionen der Pulpa bestehen typischerweise aus der Bildung von Dentin durch die Odontoblasten, welche neben Typ-I- und Typ-III-Kollagen auch nicht-kollagene Bausteine der organischen Dentinmatrix synthetisieren (Hellwig et al. 2003). Nutritive Aufgaben werden durch die Gefäßsysteme und die Nervenversorgung der Pulpa gewährleistet. Durch ihren Verlauf stellen sie ein funktionelles Endstromgebiet dar, in dem die Blutgefäße durch die apikalen Foramina oder auch durch akzessorische Kanäle in die Wurzel ein- oder aus ihr austreten. Charakteristisch für die Gefäße sind die Unterbrechungen in den Endothelwänden und gefensterte Kapillaren. Diese strukturellen Besonderheiten ermöglichen einen Austausch von Nähr- und Abbaustoffen zwischen der interstitiellen Gewebsflüssigkeit und dem Blutplasma (Mjör 2002). Eine weitere wichtige Aufgabe der Pulpa liegt in der sensorischen Funktion, welche den Zahn bzw. die Pulpa auf thermische, mechanische und chemische Reize reagieren lässt und somit auch zu einem Schmerzempfinden für den Patienten führt. Gewährleistet werden diese Funktionen durch myelinisierte A- und nicht-myelinisierte C-Fasern, die zusammen mit den Blutgefäßen über das Foramen apicale in die Wurzelkanäle und die Pulpakammer eintreten. Von dort aus ziehen sie in Richtung Krone des Zahnes, wo sich unterhalb der peripheren Randzone der Pulpa der sogenannte Raschkow-Plexus befindet. Nicht-myelinisierte Nervenfasern reichen vom Plexus über die Odontoblastenschicht bis in das Prädentin. Äußere Bereiche des Dentins reagieren sensibel auf exogene Reize. Diese Sensibilität beruht auf der Innervation mit Nervenfasern, welche sich durch die Dentintubuli bis an die Schmelz-Dentin-Grenze erstrecken. Die Dichte der Nervenfasern nimmt von zentral nach peripher immer mehr ab, das Schmerzempfinden erhöht sich, je mehr der Reiz sich der Pulpa nähert. Verantwortlich für die Dentinempfindlichkeit sind die A-Fasern (Mjör 2002, Hellwig et al. 2003).

Dentin kann als ein poröser biologischer Verbundstoff betrachtet werden, welcher aus Apatitkristallpartikeln besteht, die sich in einer Kollagenmatrix befinden (Pashley 1996). Es ist das einzige harte Gewebe des Zahnes, das innerviert wird (Byers 1984). Zu 70% besteht es aus anorganischem Material, zu 20% aus organischem Material, der Rest ist Wasser (Linde und Goldberg 1993). Dentin wird im vitalen Zahn das ganze Leben lang von den primären Odontoblasten gebildet. Zu den physiologischen Vorgängen gehört dabei die Ausbildung von Primär- und Sekundärdentin, während als Reaktion auf einen pathologischen Reiz, wie zum Beispiel eine Karies, zum Schutz der Pulpa Tertiärdentin produziert wird.

Die Übertragung externer Reize ist möglich über ein System von Dentintubuli, welche so angeordnet sind, dass sie sich über den gesamten Bereich der Pulpa-Dentin-Grenze erstrecken und von dort zum Schmelz ziehen. Gefüllt sind sie mit einer Flüssigkeit, dem Dentinliquor oder *dentinal fluid*. Dentintubuli haben an der Grenze zur Pulpa ihren größten Durchmesser, welcher im Verlauf zur Schmelz-Dentin-Grenze immer geringer wird. Durchschnittlich liegt der Durchmesser bei 3 μm (Garberoglio und Brännström 1976). Die Anzahl der Tubuli variiert dabei zwischen 15.000 bis zu 65.000 pro mm^2 (Garberoglio und Brännström 1976, Fosse et al. 1992, Dourda et al. 1994).

2.2 Das Dentin-Fluid

Das Dentin-Fluid (syn. Dentinliquor) ist eine Gewebsflüssigkeit, welche alle pulpalen Zellen umschließt und die Dentintubuli ausfüllt. In seiner Zusammensetzung ähnelt es dem Plasma, enthält aber weniger Proteine. Dem Fluid kommen wichtige Funktionen zu, da es als Verbindung zwischen den Zellen, dem Blut und der Lympheflüssigkeit agiert (Mjör 2002).

Wenn intakte Zähne einen thermischen Reiz erfahren oder das Dentin beim Beschleifen freigelegt wird, expandiert oder kontrahiert das Dentin-Fluid, wodurch eine hydrodynamische Druckveränderung innerhalb der Tubuli und damit verbunden eine Reizung der Odontoblastenfortsätze bewirkt wird, was wiederum zu einer Aktivierung der Nerven führt (Pashley 1996). Äste der sensorischen Nerven können an oder in der Nähe von Gefäßen enden und im Fall einer Stimulation vasoaktive Peptide freisetzen, es handelt sich also um eine neurogene Entzündung (Holland

und Botero 2014). Die Weiterleitung von Reizen ist eine Funktion des Fluids, es kommt ihr aber auch eine wichtige protektive Rolle bei der Abwehr exogener Noxen zu. So steht der nach innen gerichteten Diffusion von Materialien der nach außen gerichtete Strom entgegen, der durch den interstitiellen Fluid-Druck entsteht (Pashley und Matthews 1993). Unter normalen Verhältnissen wird die pulpawärts gerichtete Diffusion von Lipopolysacchariden (LPS) durch den Auswärtsfluss des Fluids neutralisiert (Puapichartdumrong et al. 2005). In einer In-vitro-Studie wurde demonstriert, dass Endotoxin bis zu 0,5 mm durch intaktes Dentin eindringen kann (Nissan et al. 1995). Um eindringende Noxen abzuschwächen, herrscht ein stetiger, nach außen gerichteter Fluid-Fluss, der bei bis zu $0,35 \mu\text{l}/\text{min}/\text{cm}^2$ liegt (Ciucchi et al. 1995). Im physiologischen Milieu entspricht der interstitielle Druck dem Gewebedruck und ist deutlich geringer als der in den Blutgefäßen herrschende Druck. Der Wert liegt etwa im Bereich von 5-10 mm Quecksilbersäule. Wird Dentin freigelegt oder entsteht ein exogener Reiz, so kann der Druck des Fluids deutlich ansteigen. Die Pulpa ist somit sogar in der Lage, den interstitiellen Druck gezielt in dem Gebiet ansteigen zu lassen, in welchem die Toxine präsent sind (Tonder und Kvinnsland 1983). Die Tubuli werden in dem Fall gespült, und mit dem austretenden Fluid sollen auch die Bakterien entfernt werden, jedoch kann die einwärts gerichtete bakterielle Diffusion durch diesen Mechanismus nicht komplett unterdrückt werden. Ein zusätzlicher Bestandteil des Fluids sind Plasmaproteine wie Albumin oder Globuline, welche eindringende Materialien binden oder agglutinieren können, um sie somit unschädlich zu machen (Pashley 1996).

Die Pulpa mit all ihren Bestandteilen reagiert empfindlich auf Veränderungen im Bereich des Fluid-Volumens oder auch des Gefäßdruckes (Heyeraas und Berggren 1999). So führt ein Anstieg des Fluid-Volumens zu einer Kompression der Blutgefäße, da die Pulpa sich aufgrund ihrer starren Ummantelung durch Hartsubstanz kaum ausdehnen kann. Weiterhin haben die apikalen Öffnungen der Wurzel auch nur einen geringen Durchmesser, so dass ein plötzlicher Anstieg des Flüssigkeitsdruckes nur unzureichend schnell ausgeglichen werden kann. Blutgefäße können durch die Kompression nicht mehr genug Nährstoffe transportieren, wodurch es innerhalb kürzester Zeit zu einer Ischämie bis hin zu einer Gewebenekrose kommt. Die Veränderung des Flüssigkeitsdruckes ist reversibel, sobald der störende Faktor entfernt wurde und die Toxine nicht mehr präsent sind. Die Menge des austretenden Fluids ist auch abhängig von der Lokalisation der eröffneten Dentin-

fläche am Zahn. Da die Dichte der Tubuli an der Pulpa-Dentin-Grenze viel höher ist als an der Schmelz-Dentin-Grenze, ergibt sich auch ein höherer Fluid-Fluss, je näher die Kavitation an die Pulpa heranreicht.

2.3 Die Reaktion der Pulpa auf kariöse Reize

Die Pulpa beginnt mit der Sezernierung von Entzündungsmediatoren, sobald sie den schädlichen Noxen der kariogenen Bakterien ausgesetzt ist. Diese Mediatoren setzen eine komplexe Entzündungsreaktion in Gang, welche bei Fortbestehen der auslösenden Reize über das Stadium der reversiblen zur irreversiblen Pulpitis führen kann. Die Zerstörung der Odontoblasten begünstigt die Produktion atubulären Tertiärdentins, welches aufgrund seiner Struktur für pathogene Substanzen schwer zu durchdringen ist. In diesem Stadium der Entzündung ist noch eine Heilungschance vorhanden, dafür müssen allerdings die kariöse Substanz entfernt und die Erkrankung begünstigende Faktoren möglichst eliminiert werden. Die Differenzierung neuer, sekundärer Odontoblasten-ähnlicher Zellen kann nach Ausbleiben der kariogenen Reize induziert und damit die Bildung von Reparaturdentin stimuliert werden (Smith et al. 1994). Wird allerdings nichts gegen ein Fortschreiten der kariösen Läsion unternommen, so kann die Pulpa infiziert und letztlich irreversibel geschädigt werden.

Als erste Reaktion auf einen Reiz findet sich im Gewebe eine Hyperämie, eine Dilatation der Gefäße. Wird der einwirkende Reiz jetzt nicht vermindert, folgen aufgrund erhöhter Permeabilität der postkapillären Venolen die Plasmaextravasation und damit die Schwellung des betroffenen Gewebes. Da eine räumliche Ausdehnung des Pulpagewebes nicht möglich ist, führen sowohl Vasodilatation wie auch Plasmaextravasation zu einem erhöhten Gewebedruck. Die zelluläre Phase wird zuerst von neutrophilen Granulozyten dominiert. Lymphozyten, Makrophagen und Plasmazellen erscheinen später, wenn die Entzündung einen eher chronischen Charakter annimmt (Mjör 2002, Fouad 2012).

Die vaskuläre Phase wird charakterisiert durch einen leichten Anstieg des Blutflusses, Dilatation und erhöhte Permeabilität der Kapillaren und durch die Ansammlung von Flüssigkeit im Gewebe. Die Wanderung der Leukozyten aus den Gefäßen an den Reaktionsort wird durch chemokinetische und chemotaktische Mediatoren

reguliert. Wenn zu diesem frühen Zeitpunkt der ursächliche Reiz entfernt werden kann, kommt es in der Regel zur Ausheilung.

Wenn der Reiz anhält, wandern möglicherweise mehr neutrophile Granulozyten ein. Diese Zellen haben eine kurze Lebensdauer und setzen nach ihrem Absterben toxische zelluläre Komponenten und proteolytische Enzyme frei, die ihrerseits dann andere Zellen, Bindegewebefasern und die Grundsubstanz der Pulpa zerstören können (Byers 1992, 1996). Substanzen wie TNF- α , Matrix-Metalloproteinasen (MMP) und andere konnten in kariös oder traumatisch angegriffenen Zähnen nachgewiesen werden. Ein direkter Zusammenhang zwischen den Entzündungsmarkern und den klinischen Symptomen wurde bereits vermutet, konnte bislang aber noch nicht bestätigt werden (Mejäre et al. 2012). In mehreren Studien wurde gezeigt, dass in den unterschiedlichen Stadien der Entzündung der Pulpa charakteristische Entzündungsmediatoren sezerniert werden (Bowles et al. 2003, Caviedes-Bucheli et al. 2008, Fristad et al. 2010).

2.4 Entzündungsmediatoren

Zum Schutz vor Infektionen dienen dem menschlichen Organismus die angeborene unspezifische und die spezifische Immunabwehr. Die unspezifische Immunabwehr bildet die erste Verteidigungslinie gegenüber eingedrungenen Fremdkörpern oder entarteten Körperzellen. Durch Phagozytose und Zytotoxizität sollen möglichst viele Erreger unschädlich gemacht werden. Nicht immer gelingt es jedoch, alle Erreger zu vernichten. In diesem Fall übernimmt die spezifische Immunabwehr die weitere Verteidigung. Die Aktivierung des Immunsystems als Reaktion auf eine pulpanahe kariöse Läsion lässt sich auf die Produktion von Lipoteichonsäure (LTA) und Lipopolysacchariden (LPS) in den Kariesbakterien zurückführen. LPS ist in der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien enthalten, während LTA in grampositiven Bakterien auftritt. Erhalten kariogene grampositive Bakterien eine große Menge an Saccharose, so produzieren sie LTA, welche bei einem niedrigen pH-Wert aus den Bakterien heraus transportiert wird (Rolla et al. 1980). Über Diffusion gelangt die LTA schließlich zur Pulpa, woraufhin eine Immunantwort induziert wird. Der Aktivierungsmechanismus der unspezifischen Immunabwehr wird durch das Anbinden von LPS und LTA an CD14 in Gang gesetzt. Odontoblasten reagieren auf den

Reiz durch LPS mit einer Produktion proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α oder IL-1, welche in einer gesunden Pulpa kaum oder gar nicht präsent sind (Farges et al. 2009). Toll-like Rezeptoren (TLR) induzieren daraufhin die Freisetzung pro- und anti-inflammatorischer Zytokine.

Die erste zelluläre Abwehrreihe des menschlichen Zahnes wird durch die Odontoblasten gebildet. Sobald sie mit Antigenen von Kariesbakterien in Kontakt treten, sezernieren sie geringe Mengen an Interleukin-8, Gen-spezifische Chemokine und Chemokinrezeptoren. In einer gesunden, nicht entzündlich veränderten Pulpa präsentieren die Odontoblasten Toll-ähnliche-Rezeptoren (*Toll-like-receptors*=TLRs) TLR2 und TLR4, welche der Erkennung von Krankheitserregern dienen, wobei die TLRs 1 bis 6 und 9 generell in der Lage sind, bakterielle Bestandteile zu registrieren. Sobald LTA auf die Odontoblasten trifft, werden verstärkt TLRs und Chemokine produziert, wodurch unreife Leukozyten und dendritische Zellen (DC) aktiviert werden (Durand et al. 2006). Den TLRs kommt in der Regulierung der angeborenen Immunabwehr eine Schlüsselrolle zu. Durch LPS wird TLR4 aktiviert, wodurch pro-inflammatorische Zytokine wie IL-1 β und TNF- α vermehrt gebildet werden. Ihre Wirkung besteht während der Entzündungsphase in der Unterstützung der Aktivierung antigenstimulierter T-Zellen und der Regulation der Antikörperproduktion (Kirchner et al. 1993). Des Weiteren spielen sie eine wichtige Rolle in der Regulierung der Osteocalcin-Produktion durch die Osteoblasten, indem das mRNA-Level reduziert wird. Dabei reduziert IL-1 β die Stabilität der mRNA, während TNF- α eine vermittelnde Funktion hat (Li und Stashenko 1992).

Weitere TLR4 produzierende Zellen sind Fibroblasten und auch dentale Pulpastammzellen. Neben TLR4 produzieren die Fibroblasten verschiedene Entzündungsmediatoren wie das Zytokin IL-6 (Nakanishi 2011). Dieses Zytokin nimmt eine zentrale Rolle in der Immunreaktion ein, da es an der Ausbildung und Produktion von Antikörpern beteiligt ist (Kirchner et al. 1993).

Eine wichtige Gruppe in der Entzündungsentstehung und Immunabwehr bilden die Neuropeptide. Zu ihnen gehören die *Calcitonin Gene-Related Peptide* (CGRP), welche in der Pulpa zusammen mit Substanz P (SP) die Arteriolen innervieren (Rodd und Boissonade 2003). Kommt es zu einem traumatischen Reiz auf die Pulpa, so findet als Reaktion eine vermehrte Innervation mit einem starken Anstieg der Neuropeptidkonzentration statt. Dabei konnte bei schmerzhaften Pulpitiden ein stark

erhöhter Anstieg der SP-Ausschüttung im Vergleich zu asymptomatischen kariösen Läsionen nachgewiesen werden (Rodd und Boissonade 2000). SP hat eine direkte Funktion in dem Anstieg von Entzündungszellen in der Pulpa und beeinflusst auch direkt die Sekretion von IL-8 (Patel et al. 2003). Im Stadium einer Pulpitis kommt es zu einem signifikanten Anstieg an B-Zellen, Plasmazellen, CD4/CD8 T-Zellen und weiterer proinflammatorischer Mediatoren (Nakanishi et al. 2011). Eine Hyperalgesie stellt sich ein, wenn freigesetzte Eikosanoide Bradykinin und darüber indirekt TNF- α und IL-6 aktivieren, was sich in Zahnschmerzen äußert.

Durch das weitere Voranschreiten der Karies erhöht sich auch die Menge an vasoaktivem intestinalem Peptid (VIP), einem Peptid mit immunmodulatorischen und entzündungshemmenden Eigenschaften. Die Reifung unfertiger dendritischer Zellen (DC) wird in Kooperation mit TNF- α beschleunigt, wodurch auch die Produktion von IL-12 erhöht wird (Delneste et al. 1999). CGRP und VIP zusammen hemmen die Migration ausgereifter DCs in regionale Lymphknoten, ebenso die T-Zell Proliferation (Lambrecht 2001).

Eine zentrale Rolle in der Entzündungsreaktion nehmen die Makrophagen ein. Im nicht-entzündeten Gewebe haben sie die Aufgabe, gealterte Zellen zu entfernen und wichtige Faktoren für die Kommunikation des Immunsystems zu produzieren. Durch Einwirkung eines schädlichen Reizes können die Makrophagen in einen aktivierten Zustand versetzt werden, in welchem sie durch Freisetzung von Zytokinen einen regulatorischen Einfluss auf die Immunreaktion nehmen. Die Erkennung von Fremdmaterial wird dabei durch Rezeptoren und Moleküle an der Oberfläche der Makrophagen bewerkstelligt. Zu dieser Gruppe gehören Rezeptoren für Zytokine wie IL-2, IFN- γ und auch CD14, ein Rezeptor für das Lipopolysaccharid gramnegativer Bakterien. Für die Regulation produzieren Makrophagen proteolytische Enzyme, zu denen MMP-8 gehört. Ihre Aufgabe besteht in der Produktion von Wachstumsfaktoren aus extrazellulärer Matrix oder dem Abbau selbiger in Entzündungsherden (Goetzl et al. 1996).

All diese Vorgänge sind Bestandteile des angeborenen unspezifischen Immunsystems. Reichen diese Reaktionen nicht aus, die Erreger aufzuhalten, so kommt verstärkt die spezifische Immunabwehr zum Einsatz, welche hauptsächlich durch die B- und T-Lymphozyten und die produzierten Antikörper bestimmt wird.

2.4.1 IL-1

Interleukin-1 ist ein Zytokin, welches in Entzündungsprozessen eine zentrale Rolle spielt. Gesteigert werden durch IL-1 der Stoffwechsel und die Bildung von Neutrophilen, die Freisetzung antibakterieller Substanzen und die Bildung von Granulozyten, welche wiederum IL-1 produzieren. Die Stimulation zur Bildung von IL-1 kann durch Lipopolysaccharide aus den Zellwänden gram-negativer Bakterien sowie den Tumornekrosefaktor α stimuliert werden. Zusammen mit TNF- α induziert IL-1 die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen und Granulozyten und reguliert die Antikörperproduktion von B-Zellen (Kirchner et al. 1993).

Ein signifikanter Anstieg sowohl von Interleukin-1 in der reversiblen als auch in der irreversiblen Pulpa im Vergleich zu einer nicht-entzündeten Pulpa konnte nachgewiesen werden (Abd-Elmeguid et al. 2013). Dabei war die Konzentration von IL-1 in der irreversiblen Gruppe im Vergleich zu der reversiblen Gruppe nicht signifikant erhöht.

2.4.2 IL-6

Interleukin-6 ist ein multifunktionales Zytokin, das eine zentrale Rolle in der immunologischen Abwehr spielt. Es wird im Laufe einer Entzündungsreaktion gebildet und beeinflusst in verstärktem Maße Wachstum und Differenzierung von B- und T-Zellen (Kirchner et al. 1993). Ein signifikanter Anstieg sowohl von Interleukin-6 in der reversiblen als auch in der irreversiblen Pulpa im Vergleich zu einer nicht-entzündeten Pulpa konnte nachgewiesen werden (Abd-Elmeguid et al. 2013). IL-6 war bei reversibler Pulpitis im Vergleich zur irreversiblen Pulpitis nicht-signifikant erhöht.

2.4.3 TNF- α

Der Tumornekrosefaktor- α ist ebenso wie das IL-1 ein wichtiges Zytokin im Ablauf von Entzündungsprozessen mit weitgehend identischen Funktionen. Er wird bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt der Entzündung gebildet und beeinflusst allein oder zusammen mit anderen Zytokinen wie IL-1 und IL-6 an einer Entzündung beteiligte Immunzellen (Kirchner et al. 1993). TNF- α wurde als Mediator identifiziert, welcher

die Differenzierung dentaler Pulpazellen in einen odontoblastischen Phänotypen unter proinflammatorischen Einflüssen stimuliert (Paula-Silva 2009). Es konnte gezeigt werden, dass Zellen, die mit TNF- α behandelt wurden, eine erhöhte Expression proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 und IL-6 aufwiesen (Wu et al. 2014).

2.4.4 CGRP

Calcitonin gene related peptide (CGRP) kommt vor allem in den primären afferenten Neuronen vor, welche in dem trigeminalen Ganglion enden. In einer vergleichenden Radiorezeptor-Analyse konnte gezeigt werden, dass die Expression von CGRP-Rezeptoren im Stadium der Entzündung im Vergleich zu einer Nicht-Entzündung signifikant erhöht ist (Caviedes-Bucheli et al. 2005). Ebenso wurde festgestellt, dass die Expression von CGRP im Stadium der akuten irreversiblen Pulpitis höher ausfällt als in einer reversiblen und wiederum höher als in einer nicht-entzündeten Pulpa. Dabei waren die Unterschiede zwischen den Gruppen signifikant (Caviedes-Bucheli et al. 2005).

2.4.5 MMP-8

Matrix-Metalloproteinasen werden von den Zellen des Bindegewebes wie Fibroblasten, Osteoblasten und Odontoblasten sezerniert und in die extrazelluläre Matrix abgegeben. Aktiviert wird MMP-8, eine Kollagenase, wenn der pH bedingt durch Laktatbildung kariogener Bakterien ein saures Milieu erreicht. Bei neutralem pH trägt MMP zur Remodellierung der extrazellulären Matrix bei, eine abnorme Expression von MMP bewirkt die Zerstörung von Gewebe. Die Aufgaben von MMP im Pulpa-Dentin-Komplex bestehen in der Organisation der Matrix vor Mineralisation, Kontrolle dieser, Formierung peritubulärem Dentins und Veränderung der Matrix während der Alterung (Emilia und Neelakantan 2015).

Ein Vorkommen der MMPs in entzündeten Pulpen, periapikalem Gewebe und Zystenflüssigkeit konnte bereits nachgewiesen werden (Shin et al. 2011). Mehrere Studien belegen auch einen direkten Zusammenhang zwischen dem erhöhten Vorkommen von MMP-8 in der Sulkusflüssigkeit und dem Auftreten chronischer Parodontitis (Shin et al. 2011). Avellán et al. (2008) zeigten, dass sich das Level von

MMP-8 in der Sulkusflüssigkeit schon erhöht, sobald Zähne einem schmerzhaften Reiz ausgesetzt werden.

2.4.6 Substanz P

Substanz P ist ein Neuropeptid, welches neben den Neuronen auch von eosinophilen Granulozyten produziert wird. Es entsteht in dem trigeminalen Ganglion und wird in unmyelinisierten C-Fasern und einigen A-delta Fasern freigesetzt (Emilia und Neelakantan 2015). Die Produktion geschieht auf eine Vielzahl von Reizen hin, wie thermale, mechanische und chemische Reizungen des Pulpa-Dentin-Komplexes (Caviedes-Bucheli et al. 2005). Es vermag die Freisetzung von IL-1 aus Monozyten anzuregen und die Bildung von Immunglobulinen zu stimulieren (Kirchner et al. 1993).

In einer Studie konnte im pulpalen Gewebe eine signifikante Erhöhung von Substanz P, Neurokinin A und CGRP im schmerzhaften Zahn im Vergleich zum nicht-schmerzhaften Zahn nachgewiesen werden (Awawdeh et al. 2002).

2.4.7 Fibrinogen

Fibrinogen ist ein Protein, welches am frühen Wundheilungsprozess nach einem Trauma der Pulpa beteiligt ist. Durch Fibrinogen ausgelöst bildet sich ein Fibrinnetzwerk, welches eine mechanische Barriere zum Schutz der Pulpa darstellt. Freies Fibrinogen aus dem Netzwerk wirkt als Mediator zwischen den Zelloberflächenrezeptoren und anderen Komponenten der Wundheilung (Izumi et al. 1998). Dadurch begünstigt wird die Ausbildung einer Dentinbarriere, welche die Pulpa vor schädlichen Noxen schützen und den Heilungsverlauf begünstigen soll. In einer frühen akuten Entzündungsphase vergrößert sich die vaskuläre Durchflussrate in den Gefäßen und fibrinogenhaltiges Serum sammelt sich im Gewebe an. Dadurch findet eine Verengung der Gefäße statt, wodurch die Permeabilität des Dentins reduziert wird. Dieser Effekt lässt sich auch noch 24 Stunden nach der Reizauslösung nachweisen, nach 3 Tagen ist allerdings kein Fibrinogen mehr zu finden (Izumi et al. 1998). Diese Vorgänge lassen die Vermutung zu, dass die Wirkung von Fibrinogen essentiell für den Heilungsprozess nach einer Kavitätenpräparation ist.

2.4.8 PGE 2

Zu den am Entzündungsprozess beteiligten Substanzen gehört auch die Gruppe der Prostaglandine, insbesondere PGE 2. Die Produktion dieser Stoffe stellt eine Reaktion des Zahnes auf externe Reize dar, wie z. B. ein Trauma. Eventuell ist PGE 2 durch die Ausschüttung von Hepatocyte Growth Factor nach einer Entzündung an der Regeneration der Pulpa beteiligt (Ohnishi et al. 2000). Ein signifikanter Anstieg der PGE 2-Konzentration ist zu beobachten, wenn sich die Pulpa von einem gesunden Stadium in ein Stadium der reversiblen Pulpitis verändert hat. Ebenso ist ein signifikanter Unterschied zwischen einem reversiblen und einem irreversiblen Stadium mit einer höheren Konzentration von PGE 2 im reversiblen Stadium zu erkennen. Hingegen liegt die Differenz in der Konzentration von PGE 2 zwischen irreversibel entzündeter und gesunder Pulpa im nicht-signifikanten Bereich (Petrini et al. 2012).

2.5 Klinik der Pulpitiden

2.5.1 Reversible Pulpitis

Die reversible Pulpitis ist gekennzeichnet durch eine Reaktion der Pulpa auf exogene Reize; nach Entfernung des Reizes wird die Pulpa aber innerhalb kurzer Zeit auch wieder nahezu beschwerdefrei. So kann die Zufuhr niedermolekularer Kohlenhydrate oder auch kühler Nahrung für eine kurzzeitige Schmerzsensation sorgen, auch eine leichte Kauempfindlichkeit ist möglich. Mediatoren einer frühen Entzündungsphase kommen in diesem Stadium vermehrt in der Pulpa vor, können aber, sobald der auslösende Reiz entfernt wurde, wieder auf die Normalkonzentration absinken. Sensibilitätstests verlaufen positiv mit einer normalen bis leicht verlängerten Empfindungszeit. Durch ihre reparative Kapazität ist die Pulpa selbst in der Lage, sich zu regenerieren und zu einer *restitutio ad integrum* zu kommen.

2.5.2 Irreversible Pulpitis

Wird die bestehende pathologische Ursache allerdings nicht behoben, so kann eine reversible Form der Pulpitis in eine irreversible Form übergehen. Die Schmerzen sind dabei moderater bis starker Natur, treten auch mit zunehmender Frequenz spontan auf und lassen im fortgeschrittenen Stadium von allein meist nicht mehr nach. Eine Verschärfung der Beschwerden tritt auf warme und kalte Temperaturen auf und lässt sich mit einem Kältetest reproduzieren (Asgary et al. 2013). Je nach Lage im Ober- oder Unterkiefer fällt es dem Patienten oftmals schwer, genau anzugeben, welcher Zahn ursächlich ist, da der Schmerz diffus ausstrahlen kann. Die Pulpa ist schon zu stark beschädigt, um sich selbst wieder zu regenerieren, auch wenn der Reiz entfernt wird. Eine Wurzelkanalbehandlung mit vollständiger Entfernung des Pulpagewebes ist dann die Therapie der Wahl.

2.6 Diagnostik

Eine exakte Diagnostik bildet die Grundlage für die Therapieplanung. Ein Großteil der Patienten kann die Region der Schmerzentstehung und den betreffenden Zahn meist selbst gut identifizieren. Ist die Erkrankung jedoch schon weiter fortgeschritten, so kann der Schmerz ausstrahlen und sich die Diagnostik schwieriger gestalten.

Hauptquellen für die Informationsbeschaffung sind die Berichte des Patienten über Zeitpunkt, Art und Dauer der Beschwerden, die klinischen Untersuchungen am Zahn und Röntgenaufnahmen des Zahnes.

2.6.1 Schmerzanamnese

Die Grundlage für eine vollständige Diagnostik bildet die Schmerzanamnese. Am Beginn steht die zahnärztliche Anamnese, in welcher der Zahnarzt Informationen über die Hauptbeschwerden, die medizinische und zahnärztliche Vorgeschichte, frühere Behandlungen, dentales Trauma oder kieferorthopädische Behandlungen in letzter Zeit in Erfahrung bringt. Der nächste Schritt besteht in der Erhebung der Schmerzanamnese: Eine wichtige Angabe des Patienten ist der Zeitpunkt des ersten Auftretens der Beschwerden. Weiterhin ist die Schmerzdauer nach Reizeinwirkung ein wichtiges Kriterium für die Differenzialdiagnose zwischen einer reversiblen oder

irreversiblen Form der Entzündung. Dabei können Informationen wie Charakter, Intensität, Lokalisation, Wiederauftreten und die Wirkung externer Einflüsse, welche die Beschwerden verstärken oder lindern, eine erste Diagnose ermöglichen.

Am Beginn der Befundaufnahme steht der extraorale Befund, bei welchem auf Schwellungen und Asymmetrien, aber auch Hautveränderungen und eine eingeschränkte Mundöffnung geachtet werden sollte. Es folgt die klinische intraorale Untersuchung, bei der sich der Zahnarzt einen Überblick über den Zustand der Schleimhaut, den Mundhygienestatus und den allgemeinen Zustand der vorhandenen Zähne verschafft. Verdächtige Zähne werden auf kariöse Läsionen, insuffiziente Füllungen, Frakturen und Verfärbungen hin untersucht. Auch sollte das Weichgewebe auf Schwellungen und Fistelausgänge hin betrachtet werden.

2.6.2 Sensibilitätstests

Ein Sensibilitätstest dient dazu, die Fähigkeit zur Reizleitung des Pulpagewebes zu bestimmen. Traditionell wird zur Feststellung entzündlicher Prozesse die Reaktion der Pulpa auf Stimuli untersucht. Das Prinzip der Sensibilitätstests beruht auf der Hydrodynamischen Theorie (Brännström 1966), derzufolge die Auslösung von Schmerzen auf der Bewegung des Dentinliquors in den Dentintubuli und der damit verbundenen Reizung der Odontoblastenfortsätze beruht. Dabei reagiert ein Zahn mit vitaler Pulpa mit einem stechenden Schmerz auf die Provokation. Allerdings kann dabei nur eine Aussage über die Funktion der sensorischen Innervation getroffen werden, jedoch nicht über die Blutversorgung. Bei diesem Verfahren handelt es sich um eine indirekte Methode, da der Zahnarzt mit dem Ergebnis nicht direkt die Pulpa inspizieren kann.

Auch bei einem größtmöglichen Maß an Präzision wird es bei einem geringen Prozentsatz der Patienten kein exaktes Ergebnis geben (Mejäre et al. 2012, Marending Soltermann 2014 a, b). Mehrere Faktoren können das Testergebnis verfälschen, wie z.B. eine Restauration mit einer Krone, die die Temperatur schneller oder verzögerter nach zentral leitet. Es kommt vor, dass Zähne mit mehreren Wurzelkanälen einen Kanal mit einer noch vitalen Pulpa enthalten, welcher auch positiv reagiert, während gleichzeitig die Pulpa in den übrigen Kanälen bereits nekrotisch ist. Auch können Zähne vital sein, aber aufgrund einer starken Kalzifikation der Wurzelkanäle nicht mehr auf den Kältereiz reagieren (Pettersson et

al. 1999). Erst das Hinzuziehen und Kombinieren von Ergebnissen weiterer Tests lässt eine genauere Diagnose zu.

2.6.2.1 Thermischer Test mit Kälte

Die am häufigsten verwendete Variante zur Feststellung der Sensibilität eines Zahnes ist der Kältetest. Bei diesem Verfahren kommt es aufgrund des Temperaturwechsels am Zahn zu einer hydrodynamischen Bewegung des Dentinfluids, woraufhin die Mechanorezeptoren gereizt werden. Eine praxisübliche Methode zur Durchführung des Tests ist es, ein mit Kältespray behandeltes Schaumstoff-Pellet kurzzeitig (maximal 15 s) an die vestibuläre Zahnoberfläche zu applizieren, um eine Reaktion zu provozieren. Es werden dabei Chloräthyl-Spray, Di-Chlor-di-Fluor-Methan (CCl_2F_2 , Frigen), ein Propan-Butan-Gemisch oder Kohlendioxidschnee verwendet. In manchen Fällen reicht es auch, den Zahn einem direkten Luftstrom auszusetzen, da diese Temperaturänderung schon einen schmerzhaften Reiz auslösen kann.

Bei der Diagnostik eines pulpa-avitalen Zahnes ist der Kältetest ein sehr genaues Verfahren mit einer Spezifität von 92% für die vitale Pulpa und noch 71% Sensitivität für die nekrotische Pulpa (Gopikrishna et al. 2007). Dabei muss allerdings angemerkt werden, dass das Ausbleiben einer Reaktion nicht automatisch auch das Vorliegen einer Nekrose bedeutet. Zur Erhöhung der Sensitivität und Spezifität kann noch eine Kombination aus Kälte und elektrischem Reiz (Weisleder et al. 2009) oder Kälte und Wärme (Seltzer et al. 1963) ergänzend angewendet werden.

Die Kombination aus Kälte und elektrischem Reiz ergab eine Erhöhung der Sensitivität auf 96% bei nekrotischer Pulpa, hingegen blieb die Spezifität unverändert bei 92% für die vitale Pulpa (Weisleder et al. 2009). Kombiniert man Kälte- und Wärmetest miteinander, so stieg die Spezifität zwar an, hingegen fiel die Sensitivität im Vergleich zum alleinigen Kältetest jedoch ab (Seltzer et al. 1963).

2.6.2.2 Thermischer Test mit Wärme

Als weiteres thermisches Messverfahren kann auch Wärme verwendet werden. Ein solcher Test gehört nicht zur regulären Diagnostik, da er etwas aufwändiger durchzuführen ist und alleine nicht genügend Aussagekraft über den Zustand der

Pulpa besitzt. Erhitzte Guttapercha oder Kompositmaterialien werden auf die getrocknete vestibuläre Fläche des Zahns appliziert. Zur Absicherung der Verdachtsdiagnose einer eitrigen Pulpitis ist der Wärmetest allerdings gut geeignet, da bereits eine Temperaturerhöhung von 2-3 Grad Celsius dem Patienten Schmerzen bereitet. Eine gesunde oder reversibel entzündete Pulpa hingegen zeigt keine Reaktion. Um diese zu provozieren, müsste eine Temperaturerhöhung erfolgen, welche einen iatrogenen Schaden am Zahn zur Folge hätte. Allerdings ergaben Studien, dass Wärme zur Feststellung der Sensibilität ungenaue Ergebnisse mit hohen Abweichungen bei Spezifität und Sensitivität erbringt (Mejàre et al. 2012, Marending Soltermann 2014 a, b).

2.6.2.3 Elektrische Messung

Bei der elektrischen Messung werden schwache Stromstöße durch den Zahn geleitet, um die pulpalen Nerven zu stimulieren. Die Beurteilbarkeit beschränkt sich dabei auf die Differenzierung zwischen vitaler und avitaler Pulpa. Für dieses Testverfahren wurden eine Sensitivität von 72% und eine Spezifität von 93% beschrieben (Petersson et al. 1999).

2.6.2.4 Mechanischer Test

In seltenen Fällen kommt es vor, dass alle bisherigen Diagnoseverfahren kein eindeutiges Ergebnis liefern, der Patient jedoch Beschwerden angibt. Ohne vorherige Anästhesie wird dann am verdächtigen Zahn eine Kavität bis in das tiefere Dentin angelegt. Ein vitaler Zahn würde auf die Reizung der nozizeptiven Mechano-rezeptoren an der Pulpa-Dentin Grenze durch hydrodynamische Kräfte in den gereizten Dentintubuli mit einer starken Schmerzsensation reagieren, ein avitaler Zahn hingegen nicht. Diese Methode sollte allerdings nur bei Verdacht auf eine asymptotische Pulpitis durchgeführt werden.

2.6.2.5 Laser-Doppler-Flussmessung

Die Laser-Doppler-Flussmessung (LDF) ist ein Messverfahren, welches die Anzahl und die Geschwindigkeit der in den Blutgefäßen enthaltenen Erythrozyten messen kann. Ein Infrarotstrahl wird dabei aus einer Laserdiode gesendet, durch die beweglichen Erythrozyten reflektiert und wieder auf einem Sensor registriert. Über einen Algorithmus wird die Zahl der beweglichen Erythrozyten pro Sekunde multipliziert mit ihrer Durchschnittsgeschwindigkeit, woraus sich eine semiquantitative Ableitung ergibt (Levin 2013). Die Sensitivität und die Spezifität für vitale und avitale Zähne liegen bei nahezu 100% (Evans et al. 1999). Eine Differenzierung zwischen einer gesunden und einer entzündlich veränderten Pulpa ist aber nicht möglich, da das Blutvolumen in der Pulpa für eine verlässliche Messung zu gering ist (Vongsavan und Matthews 1993).

2.6.3 Perkussionstest

Hierbei handelt es sich um ein direktes Testverfahren, bei dem der Zahn bzw. der umgebende Halteapparat mechanisch gereizt wird. Ist das apikale Parodontium durch ein Entzündungsgeschehen gereizt, so wird es auf Druck beim Beißen, bei Perkussion oder Palpation eine schmerzhaftere Antwort geben. Hat ein avitaler Zahn aufgrund einer Pulpanekrose bereits ein Infiltrat ausgebildet, welches sich über den Apex hinaus auf das Knochengewebe ausbreitet, so kann dies eine positive Reaktion auslösen. Ein gesundes Parodontium wird in der Regel nicht auf Perkussion oder Palpation reagieren.

Eine reversible Pulpitis und auch irreversible Pulpitiden in einem früheren Stadium der Entzündung ergeben meist negative Reaktionen auf den Perkussionstest. Hat sich als Folge einer fortgeschrittenen irreversiblen Pulpitis bereits ein apikales Infiltrat gebildet, so ist eine positive Antwort zu erwarten.

2.6.4 Röntgenologische Untersuchung

Die röntgenologische Diagnostik gehört zu den Standarddiagnoseverfahren. Zwar lässt sich mit einem Röntgenbild allein keine Pulpitis diagnostizieren, jedoch können die Informationen Hinweise auf die Ursache der Beschwerden geben. Dazu gehören

unter anderem eine tiefgehende Karies, insuffiziente Restaurationsränder oder auch apikale Aufhellungen bei einer Parodontitis apicalis. Ein bereits eingetretener Knochenverlust ist jedoch erst ab einem Mineralverlust von ca. 50% zu erkennen. Ergänzend zu den anderen Testverfahren lässt sich dann die Diagnose stellen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der Einschluss der Pulpa in einen Hartsubstanzmantel eine exakte Diagnostik erschwert und teilweise unmöglich macht. Auch wenn eine Pulpanekrose mit hoher Sicherheit mit Hilfe einer Kombination aus mehreren klinischen und röntgenologischen Befunden nicht-invasiv diagnostiziert werden kann, so ist dies für die gesunde Pulpa, die reversible Pulpitis und die irreversible Pulpitis nicht gleichermaßen möglich. Eine exakte Differenzialdiagnostik zwischen den letztgenannten drei Pulpazuständen wäre aber wünschenswert und notwendig, da sich hieraus spezifische Therapieansätze ergeben.

3. Ziele der Arbeit

Ziel dieser Studie war es,

- ein Studienprotokoll zu entwickeln und zu überprüfen, mit dessen Hilfe die Analyse von Entzündungsmediatoren zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis genutzt werden kann.

Hierzu sollte versucht werden

- zu überprüfen, ob sich 8 ausgewählte Entzündungsmediatoren in einem klinisch nachweisbaren Stadium der reversiblen oder irreversiblen Pulpitis im Dentinliquor und in Dentinspänen bei noch nicht eröffneter Pulpa nachweisen lassen,
- zu überprüfen, ob einzelne der getesteten Zytokine sich bei reversibler oder irreversibler Pulpitis unterschiedlich darstellen,
- zu überprüfen, ob sich für reversible und irreversible Pulpitis jeweils spezielle Zytokine identifizieren lassen, die eine eindeutige Zuordnung zu einem der beiden Krankheitsbildern ermöglichen,
- zu überprüfen, ob sich für die beiden Pulpitisformen jeweils typische Kombinationen von auffälligen Zytokinen identifizieren lassen,
- zu überprüfen, ob sich im Dentinliquor und in den Dentinspänen die gleichen Entzündungsmediatoren nachweisen lassen wie in der irreversibel entzündeten Pulpa.

Folgende Zytokine werden an entnommenen Proben (Dentin, Dentinliquor, Pulpagewebe) mit Hilfe von ELISAs untersucht:

- CGRP
- Substanz P
- IL-1
- IL-6
- MMP-8
- Fibrinogen
- TNF- α
- PGE 2.

4. Material und Methoden

Die Studie wurde von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät, Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen unter der Antragsnummer 14/5/10 genehmigt.

4.1 Auswahl der Zähne und vorbereitende Maßnahmen

Für die vorliegende Studie wurden Proben von 15 symptomatischen und 15 asymptomatischen Zähnen gewonnen.

Die Probanden wurden zur Schmerzbehandlung in der Poliklinik vorstellig.

Aus der Allgemeinanamnese ergaben sich folgende **Ausschlusskriterien**:

1. Vorliegen von Infektionserkrankungen wie Hepatitis A, -B, -C, TBC, HIV
2. Allgemeinerkrankungen, wie:
 - Nerven- und Anfallsleiden
 - Herzerkrankung und/oder Herzschrittmacher
 - Organtransplantation
 - Immunsuppression
 - Nierenerkrankung
 - Erkrankungen der Leber
 - Patienten mit Rheuma oder Arthritis
 - Allergien
3. Patienten, die sich wegen chronischer Schmerzen in medikamentöser Schmerztherapie befinden,
4. Nicht einwilligungsfähige Patienten,
5. Akute Schmerzmedikation.

Ergaben sich allgemeinanamnestisch keine Kontraindikationen, so wurden die Patienten eingehend über die geplante Studie aufgeklärt und bei freiwilliger Teilnahme und schriftlicher Einverständniserklärung auf die Erfüllung der Einschlusskriterien hin untersucht.

Einschlusskriterien waren:

1. Indikation zur Behandlung wegen pulpitischer Schmerzen,
2. Keine systemischen Erkrankungen (s.o.),
3. Einwilligung zur Teilnahme an der Studie,
4. Einwilligungsfähigkeit der Patienten,
5. Lokalanästhesie und Schmerztherapie mit angemessenem Arbeitsaufwand möglich.

Sobald der Patient alle Voraussetzungen für die Teilnahme an der Studie erfüllt hatte, wurden die Zähne auf ihre Eignung zur Probenentnahme hin untersucht. Die klinischen Zahnbefunde wurden auf einem zusätzlichen Dokumentationsbogen notiert. Dazu zählten Perkussionsempfindlichkeit, Sensibilitätstest und Feststellung von Zeitpunkt, Dauer und Intensität des Schmerzes. Eine diagnostische Röntgenaufnahme wurde angefertigt, sofern nicht bereits eine aktuelle Aufnahme vorlag.

Im Anamnesegespräch mit dem Patienten wurde ermittelt, seit wann der Schmerz bewusst als solcher wahrgenommen wird, wie lange er anhält und wie stark das Wohlbefinden dadurch beeinflusst wird. Ergab die Befragung, dass der Schmerz immer nur auftritt, wenn Nahrung aufgenommen wurde, v.a. süße oder kalte, und relativ schnell wieder abklingt, so war das ein Hinweis auf eine reversible Pulpitis. Gab der Patient hingegen an, dass die Schmerzen auch in der Nacht und auch dauerhaft auftreten, so lag der Verdacht auf eine irreversible Pulpitis nahe.

Der Sensibilitätstest wurde mit Kältespray (Henry Schein, Gillingham, UK) durchgeführt, das auf einem Schaumstoffpellet mit einer zahnärztlichen Pinzette auf den zu testenden Zahn appliziert wurde. Bei den reversibel entzündeten Zähnen ließ sich innerhalb von 1 Sekunde eine leicht schmerzhaftige Reaktion auf den Reiz provozieren, welche aber auch kurz nach dem Entfernen des Pellets wieder verschwand. Überdauerte die Schmerzsensation allerdings den Kältereiz länger als 2 Sekunden und empfand der Patient auch einen stärkeren Schmerz, so war dies ein Hinweis auf eine irreversible Pulpitis. Der Perkussionstest an den zu untersuchenden Zähnen war in der Gruppe der reversiblen Entzündung negativ, ein positiver Perkussionstest galt als Indikator für eine irreversible Pulpitis. Von allen untersuchten Zähnen wurde eine

Einzelzahnrontgenaufnahme angefertigt, um ausschließen zu können, dass der betroffene Zahn bereits eine Parodontitis apicalis aufweist.

Die Kriterien zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

	Reversible Pulpitis	Irreversible Pulpitis
Sensibilitätstest (Kälte)	positiv	positiv, evtl. überschießende Reaktion
Perkussionstest	negativ	negativ, evtl. leicht positiv
Schmerzanamnese	reizabhängiger Schmerz Schmerz überdauert Reiz nicht	reizunabhängiger Spontanschmerz Schmerz überdauert Reiz lange Schmerzepisoden
Nachtschmerz	nein	Möglich
Röntgen	periapikal o. B.	Verbreiterung des Parodontalspaltes möglich
Pulpaexposition bei Exkavation	nein	möglich

Tab. 1: Zusammenfassende Übersicht über die Kriterien zur Unterscheidung zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis.

Es wurden nur Zähne in die Studie aufgenommen, die die folgenden **Einschlusskriterien** erfüllten:

1. Erhaltungswürdig,
2. Positive Reaktion auf den Sensibilitätstest,
3. Vorliegen klinischer Symptome einer reversiblen oder irreversiblen Pulpitis,
4. Keine röntgenologisch erkennbare Parodontitis apicalis,
5. Keine Wurzelfrakturen,
6. Keine Wurzelperforationen,
7. Keine früheren endodontischen Maßnahmen.

In derselben Sitzung wurde der Patient für den Eingriff vorbereitet. Der zu behandelnde Zahn wurde mit einer Infiltrationsanästhesie (Oberkiefer / Unterkiefer-

Frontzahnbereich) oder Leitungsanästhesie (Unterkiefer-Seitenzahnbereich) anästhesiert. Für die Anästhesie wurde Xylonest 2% ohne Adrenalin (Astra, Wedel) mit dem Wirkstoff Prilocain verwendet.

4.2 Probenentnahme

4.2.1 Irreversible Pulpitis

Zu Beginn der Behandlung wurde der zu behandelnde Zahn mit Kofferdam von der Mundhöhle und den benachbarten Zähnen isoliert, um den Patienten vor der Aspiration von Fremdkörpern während der endodontischen Behandlung zu schützen und den Zutritt von Speichel in die Kavität oder den Wurzelkanal zu verhindern. War der Zahn mit einer insuffizienten Füllung versorgt, wurde diese mit einem Diamantschleifer (Fa. Brasseler, Lemgo) entfernt. Ergab sich daraufhin eine mehrflächige Kavität, wurde diese mit einer provisorischen Füllung (Ketac, 3M Espe, Neuss) versorgt, die dann von okklusal trepaniert wurde. Wies der Zahn hingegen eine kariöse Läsion auf, wurde mit dem Diamantschleifer das kariöse Hartgewebe entfernt.

Zur Gewinnung der Dentinspäne wurde mit einem sterilen Rosenbohrer (Fa. Komet, Lemgo) pulpanahes Dentin entfernt, ohne dabei die Pulpa zu eröffnen. Die Dentinspäne wurden in ein steriles Aufbewahrungsgefäß mit steriler phosphatgepufferter Salzlösung (PBS, GIBCO, Invitrogen, Paisley, UK) überführt und bei -20°C gelagert. Die entstandene Kavität wurde mit 37%iger Orthophosphorsäure (Ultra-Etch, Ultradent Products, South Jordan, USA) 20 Sekunden lang geätzt, um den entstandenen Schmierfilm zu entfernen (Matthews und Vongsavan 1994) und anschließend mit dem Wasserspray gründlich gereinigt. Nach kompletter Trocknung wurde die Kavität mit steriler PBS Lösung gefüllt und diese nach einer Wartezeit von 3 Minuten mit einer Pipette abgezogen und in ein steriles Aufbewahrungsgefäß überführt. Danach wurde die Kavität erneut mit PBS-Lösung gefüllt und diese ebenfalls wiederum für 3 Minuten belassen und abgezogen.

Die nach Eröffnung des Pulpakavums einsetzende Blutung der Pulpa wurde direkt per Kanüle abgezogen, mit PBS-Lösung vermischt und in einen Eppendorf-Cup übertragen. Vorhandenes Pulpagewebe wurde, sofern möglich, mit einem sterilen Wurzelkanalinstrument entnommen und ebenfalls in den Eppendorf-Cup mit dem Pulpablut übertragen.

Nachdem die Probenentnahme abgeschlossen war, wurde die reguläre endodontische Behandlung des Zahnes fortgeführt.

Alle entnommenen Proben wurden mit einer laufenden Nummer beschriftet und unverzüglich eingefroren.

4.2.2 Reversible Pulpitis

In die Vergleichsgruppe wurden Zähne mit Symptomen einer reversiblen Pulpitis aufgenommen, bei denen eine Kariesexkavation, eine Füllungstherapie oder ein Füllungsaustausch indiziert waren. Die Probenentnahme gestaltete sich bis zu der Entnahme des Dentinliquors gleich der der Testgruppe, ohne die Pulpa zu eröffnen.

4.3 Auswertung der Proben

Nachdem die Probenentnahme in den beiden Testgruppen abgeschlossen war, wurden die Proben in das Labor (miprolab GmbH, Göttingen) überbracht, ohne dabei die Kühlkette zu unterbrechen. Dort wurden die Proben bis zur weiteren Analyse tiefgefroren.

Im ersten Schritt der Analyse musste das benötigte Endvolumen für alle Assays berechnet werden, da es aufgrund der unterschiedlichen Ausgangsvolumina der Proben zu deutlichen Unterschieden in der Verdünnung gekommen war. Mit Hilfe eines Mikrohomogenisators (Einmal-Pistill, Sigma-Aldrich, München) wurden die Pulpa- und Dentinproben vorbereitend zerkleinert, dieser Schritt war für die Liquorproben nicht erforderlich. Um den korpuskulären Anteil abzutrennen, wurden die Proben bei 3000 xg (3.000fache Erdbeschleunigung) für 15 Minuten zentrifugiert. Im nächsten Schritt wurde die Ausgangslösung hergestellt, indem die erforderliche Verdünnung der einzelnen Proben in 50 mM Phosphatpuffer (pH 7,2) mit 1 mg/ml bovinem Serumalbumin in Protein LoBind Reagiergefäßen (Eppendorf, Hamburg) erfolgte. Anschließend wurden die Lösungen durch 0,2 µm-Filter (Dynagard-Spritzenvorsatzfilter, Spectrum Laboratories, Omnilab, Göttingen) filtriert. Eine abschließende Aliquotierung der Proben für die einzelnen Proteine fand in LoBind Eppendorf-Reagenzgefäßen statt mit einer folgenden Lagerung bei -80°C bis zur Auswertung durch die ELISA-Tests.

4.3.1 Der Elisa-Test

Ein ELISA (*Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay*) stellt ein wirkungsvolles Verfahren dar, um jegliche Arten von Molekülen auch in sehr geringer Konzentration oder Quantität nachzuweisen (Gan und Patel 2013). Es handelt sich um ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren, welches es ermöglicht, sehr geringe Mengen von Antigenen, unter anderem Proteine, Peptide, Hormone oder Antikörper, in einer Flüssigkeit nachzuweisen. Für den Nachweis der biologischen Moleküle nutzt ELISA enzymgebundene Antigene und Antikörper. Die Enzyme sind in den meisten Fällen Meerrettichperoxidase (HRP), die Alkalische Phosphatase (AP) oder auch die Glukose-Oxidase (GOD). Die Enzyme haben die Aufgabe, die Antigen-Antikörper-Reaktion zu katalysieren. Für den Nachweis macht man sich die Eigenschaft spezifischer Antikörper zunutze, die an den nachzuweisenden Stoff (Antigen) binden. Die spezifischen Antikörper werden in Flüssigkeit in einem immobilisierten Zustand auf einer 96-Well-Mikrotiter-Platte verwendet. Das nachzuweisende Antigen wird über einen Erstantikörper an eine Mikrotiterplatte adsorptiv gebunden und angereichert, ein Enzym-gekoppelter Zweitantikörper bewirkt die Reaktion eines Farbstoffsubstrates. Das entstandene chromogene Substrat für das Enzym führt zu einer sichtbaren Farbveränderung oder Fluoreszenz, was die Anwesenheit des Antigens anzeigt. Mit einem Photometer kann die Signalstärke gemessen werden, so dass sowohl quantitative als auch qualitative Aussagen über den zu messenden Stoff resultieren. Die Intensität der Farbe steigt dabei mit der Konzentration des entstandenen Reaktionsproduktes und damit auch der Konzentration des zu bestimmenden Antigens in der Probe im Vergleich mit einer Verdünnungsreihe mit bekannten Konzentrationen (Standardreihe).

Eine definierte Vorgehensweise gibt den Ablauf eines ELISAs vor, von dem es für die entsprechenden Fragestellungen leichte Abweichungen im Verfahren gibt. Der Schlüsselpunkt eines ELISA-Assays ist die direkte oder indirekte Erkennung des Antigens durch Anheften oder Immobilisierung des Antigens bzw antigen-spezifischer Fänger-Antikörper direkt auf der Plattenoberfläche.

Sandwich-ELISA

Diese Technik wird angewendet, um ein bekanntes Antigen in einer Probe nachweisen zu können. In solch einem Fall spricht man von einem Sandwich-ELISA, da das Antigen zwischen dem Fang-Antikörper und dem Detektions-Antikörper eingeklemmt ist. Die Well-Oberfläche wird mit einer bekannten Anzahl von gebundenen Antikörpern vorbereitet. Unter Verwendung von Rinderserumalbumin werden die nicht-spezifischen Bindungsstellen geblockt. Danach erfolgt der Auftrag der Probe und der Standards auf die Platten, wo alle Antigene durch die immobilisierten Antikörper gebunden werden. Nach Abwaschen aller ungebundenen Substanzen wird ein spezifischer primärer Antikörper zugegeben, welcher an das Antigen bindet (*sandwiched*). Ungebundene Antikörper-Enzym-Reagenzien werden anschließend abgewaschen und eine Substratlösung zugesetzt, woraufhin in Abhängigkeit von der Anzahl der Antigene eine Farbreaktion eintritt. Wenn die Farbreaktion gestoppt ist, lässt sich die Farbtintensität messen (Gan und Patel 2013) (R&D Systems). Dieses Messverfahren wurde bei den Faktoren IL-1, IL-6, TNF- α , MMP-8 und Fibrinogen angewendet. Eine leicht abgewandelte Form dieses Verfahrens kam bei dem Faktor CGRP zum Einsatz, bei dem vor der Zugabe der Substratlösung ein weiterer sekundärer enzymgekoppelter Antikörper zugegeben wird, welcher sich an den primären Antikörper anheftet. Dieses Verfahren wird als die ***double-body Sandwich-Methode*** bezeichnet.

Kompetitives ELISA

Ein zweites Verfahren des ELISA beruht auf einer kompetitiven Methode. Sie kommt zur Anwendung, wenn das Antigen nur eine sehr geringe Größe oder nur eine spezifische Bindungsstelle besitzt.

Der Schlüssel dieses Verfahrens ist der Prozess des konkurrierenden Verhaltens zwischen dem Proben-Antigen und dem an die Mikrotiterplatte gebundenen Antigen mit dem primären Antikörper. Im ersten Schritt wird der primäre Antikörper mit dem Proben-Antigen inkubiert. Der dabei entstandene Antigen-Antikörper-Komplex wird in die mit dem gleichen Antigen bedeckten Wells übertragen. Eine spezifische Inkubationszeit wird abgewartet. In einer zweiten Inkubation binden die enzymgekoppelten Antigene an die übrigen freien Bindungsstellen der Antikörper. Es

folgt das Abwaschen der ungebundenen Materialien. Mit der Zugabe einer Substratlösung in die Wells wird die Enzymaktivität sichtbar gemacht und kann im Photometer bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen werden. Die Farbintensität ist umgekehrt proportional zur Konzentration des Antigens in der Probe (Gan und Patel 2013, Datenblatt R&D Systems). Dieses Messverfahren kam bei den Faktoren PGE 2 und Substanz P zum Einsatz.

Es wurden die folgenden ELISAs verwendet:

Human CGRP	SPI Bio Bertin Pharma, Montigny le Bretonneux, France
Substance P	R&D Systems, Abingdon, UK
PGE-2	R&D Systems, Abingdon, UK
Human total MMP-8	R&D Systems, Abingdon, UK
Human IL-1 β /IL-1F2	R&D Systems, Abingdon, UK
Human TNF- α	R&D Systems, Abingdon, UK
Human IL-6	R&D Systems, Abingdon, UK
Fibrinogen	US Biological, Swampscott, USA

4.4 Statistische Auswertung

Es erfolgte eine überwiegend deskriptive Betrachtung der Daten, da aufgrund des nicht standardisierten Probenvolumens ein statistischer Vergleich der Daten nicht möglich war.

5. Ergebnisse

Das Untersuchungsgut der vorliegenden Studie umfasste Dentin-, Liquor- und Gewebeproben von 30 Patienten, die sich in der Poliklinik zur Schmerzbehandlung vorstellten. Es konnten Dentin- und Liquorproben von 15 Patienten mit diagnostizierter reversibler Pulpitis und 14 Dentin-, Liquor- und zusätzlich Gewebeproben der entfernten Pulpa bei Patienten mit irreversibler Pulpitis gewonnen und dem ELISA zugeführt werden. 1 Probe aus der Gruppe der irreversiblen Pulpitis wurde wegen vermuteter Kontamination während der Zwischenlagerung ausgeschlossen.

Die Ergebnisse der ELISAs mit Mittelwerten und Standardabweichungen sind nachfolgend für die einzelnen Entzündungsmediatoren nach dem jeweiligen Vorkommen bei reversibler und irreversibler Pulpitis aufgeführt. Dabei wird nochmals unterschieden zwischen der Konzentration im Dentin und Liquor und bei Zähnen mit irreversibler Pulpitis zusätzlich noch im entnommenen Pulpagewebe.

Der Entzündungsmediator TNF- α konnte in beiden Gruppen weder in Dentin und Liquor noch in der Pulpa gemessen werden und wurde in der Auswertung daher nicht weiter berücksichtigt.

Dentin

Tabelle 2 fasst die Mittelwerte und Standardabweichungen für alle gemessenen Zytokine im Dentin zusammen. Der Entzündungsmediator TNF- α war in beiden Gruppen nicht messbar und wurde in der Statistik nicht weiter berücksichtigt.

Parameter	Reversible Pulpitis		Irreversible Pulpitis	
	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
PGE 2	110.17	253.05	22.16	56.46
MMP-8	49.22	117.30	33.57	60.93
IL-1 β	4.99	10.49	5.76	15.09
Substanz P	95.30	72.62	164.90	92.30
Fibrinogen	2.64	1.74	11.78	30.61
CGRP	5.31	2.44	4.78	2.63
IL-6	-0.08	0.09	-0.04	0.35

Tab. 2: Mittlere Messwerte und Standardabweichungen im Dentin in pg/ml für alle untersuchten Zytokine. TNF- α ist nicht berücksichtigt.

Der Unterschied zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis in den Zytokinkonzentrationen in den Dentinproben betrug bei **PGE 2** ungefähr Faktor 5 zugunsten der reversiblen Pulpitis, bei **Substanz P** ungefähr Faktor 2 zugunsten der irreversiblen Pulpitis, bei **Fibrinogen** ungefähr Faktor 5, ebenfalls zugunsten der irreversiblen Pulpitis, für die übrigen Zytokine ergaben sich annähernd gleiche Werte mit nur geringen Unterschieden.

Liquor

Tabelle 3 fasst die Mittelwerte und Standardabweichungen für alle gemessenen Zytokine im Liquor zusammen.

Parameter	Reversible Pulpitis		Irreversible Pulpitis	
	Mittelwert	Standard-abweichung	Mittelwert	Standard-abweichung
PGE 2	10.11	39.17	0.00	0.00
MMP-8	11.02	14.18	10.25	12.00
IL-1 β	6.68	19.81	0.91	1.66
Substanz P	150.12	107.21	151.00	142.86
Fibrinogen	3.54	2.95	20.44	61.49
CGRP	8.48	5.59	4.10	1.54
IL-6	0.21	0.17	0.06	0.46

Tab. 3: Messwerte in pg/ml im Liquor für alle untersuchten Zytokine. TNF- α ist nicht berücksichtigt.

Der Unterschied zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis in den Zytokin-konzentrationen in den Liquorproben betrug bei **IL-1 β** etwa Faktor 7, für **CGRP** etwa Faktor 2 (beides zugunsten der reversiblen Pulpitis), bei **Fibrinogen** ungefähr Faktor 5 (zugunsten der irreversiblen Pulpitis), die übrigen Zytokine ergaben sich annähernd gleiche Werte mit nur geringen Unterschieden. Für **PGE 2** wurden wie im Dentin deutlich höhere mittlere Werte bei reversibler Pulpitis gefunden – und somit das Ergebnis für das Dentin reproduziert- die extremen Standard-abweichungen machen diese Unterschiede aber für die klinische Diagnostik wertlos. **PGE 2** ließ sich - im Gegensatz zum Dentin - im Liquor nur bei reversibler Pulpitis nachweisen. Ähnliches gilt für Fibrinogen: auch hier waren bei irreversibler Pulpitis sowohl in Dentin als auch im Liquor deutlich erhöhte Werte zu finden.

Für **Fibrinogen** ergaben sich sowohl in den Dentin- als auch den Liquorproben ähnliche Relationen zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis

Pulpa

Tabelle 4 fasst die Mittelwerte und Standardabweichungen für alle gemessenen Zytokine bei Zähnen mit irreversibler Pulpitis im Pulpagewebe zusammen. Der Entzündungsmediator TNF- α war in beiden Gruppen nicht messbar und wurde in der Statistik nicht weiter berücksichtigt.

Parameter	Irreversible Pulpitis	
	Mittelwert	Standardabweichung
PGE 2 α	826.81	1210.28
MMP-8	363.12	524.44
IL-1 β	310.19	472.40
Substanz P	272.09	227.91
Fibrinogen	179.35	107.19
CGRP	19.85	33.79
IL- 6	6.43	13.33

Tab. 4: Messwerte in pg/ml im Pulpagewebe von Zähnen mit irreversibler Pulpitis für alle untersuchten Zytokine mit Ausnahme des nicht nachweisbaren TNF- α .

Insgesamt zeigte sich in allen Gruppen eine breite Streuung der Messwerte, die in erster Linie auf den nicht standardisierten und nicht gemessenen Probenumfang, das überwiegend nur sehr geringe Probenvolumen und die resultierende notwendige hohe Verdünnung zurückzuführen sind.

Im Folgenden werden die Messergebnisse für die untersuchten Zytokine separat dargestellt. Es ist zu berücksichtigen, dass für die graphische Darstellung aufgrund der weit differierenden Messwerte unterschiedliche Skalierungen benutzt werden mussten.

TNF- α

Die Konzentrationen von TNF- α lagen in allen Proben und in allen Geweben unterhalb der Nachweisgrenze.

IL-6

Tabelle 5 fasst die Resultate der IL-6-Bestimmung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe zusammen.

	Reversibel				Irreversibel					
	Dentin		Liquor		Dentin		Liquor		Pulpa	
IL-6	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
pg/ml	0.08	0.09	0.21	0.17	0.04	0.35	0.06	0.46	6.43	13.33

Tab. 5: Messwerte für IL-6 (pg/ml)

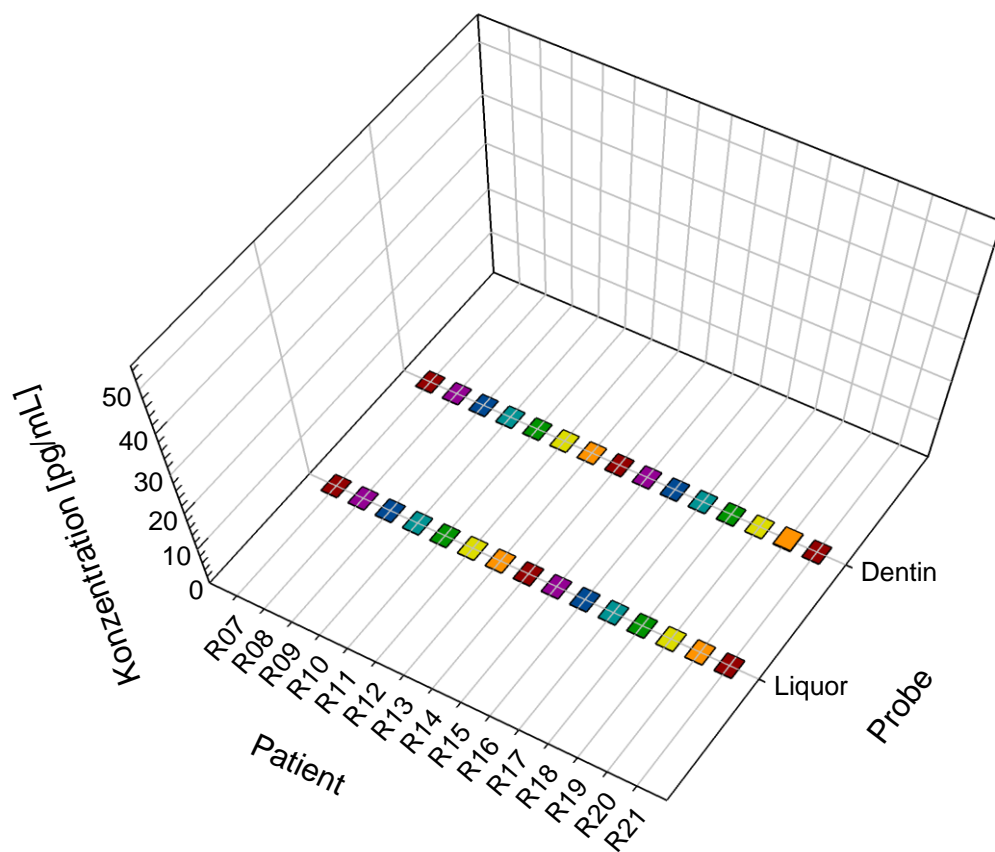


Abb. 1: Graphische Darstellung der Ergebnisse der IL-6-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml).

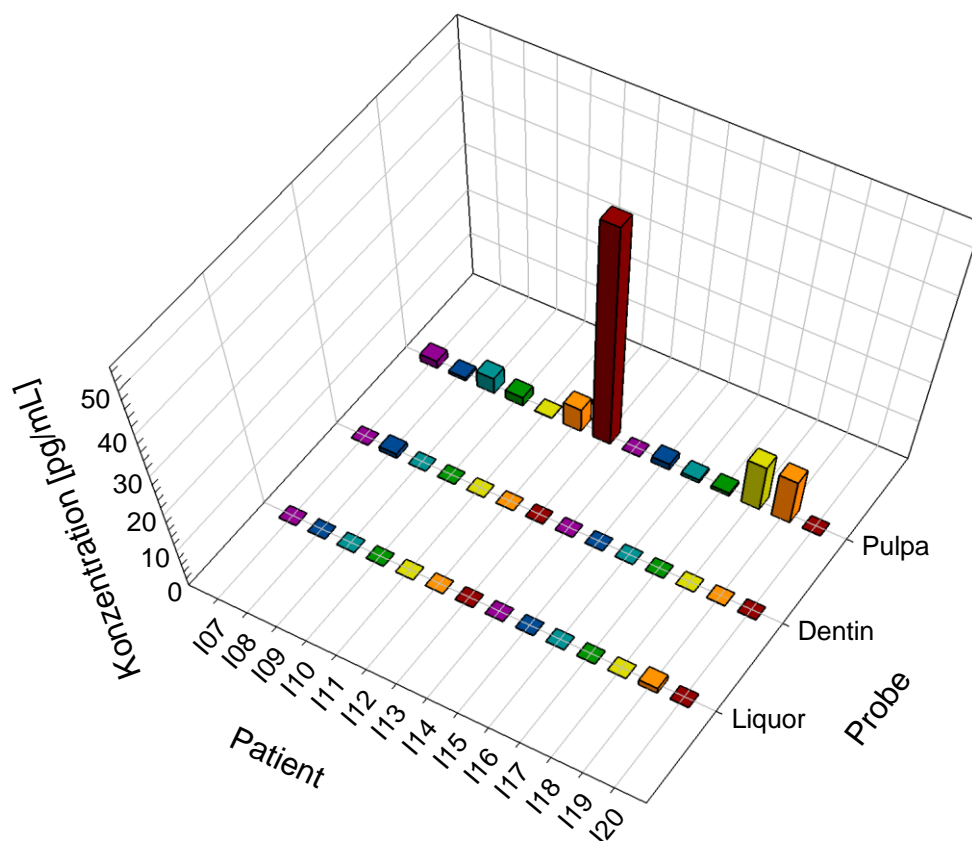


Abb. 2: Graphische Darstellung der Ergebnisse der IL-6-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml).

IL-6 ließ sich nur in einigen Proben nachweisen. Bei irreversibler Pulpitis zeigte sich im Pulpagewebe von 5 Proben eine vergleichsweise erhöhte Menge IL-6, in Dentinliquor und Dentinspänen ließ sich kein deutlicher Unterschied in den Konzentrationen von IL-6 erkennen.

Insgesamt waren das Probenvolumen in den meisten Fällen zu gering und die notwendige Verdünnung zu hoch, um den Entzündungsmediator nachzuweisen. Zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis scheint IL-6 unter den vorliegenden Versuchsbedingungen nicht geeignet.

CGRP

Tabelle 6 fasst die Werte für CGRP zusammen, in Abb. 3 und 4 sind die Resultate graphisch dargestellt.

	Reversibel				Irreversibel					
	Dentin		Liquor		Dentin		Liquor		Pulpa	
CGRP	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
pg/ml	5.31	2.44	8.48	5.59	4.78	2.63	4.10	1.54	19.85	33.79

Tab. 6: Werte der CGRP-Messungen

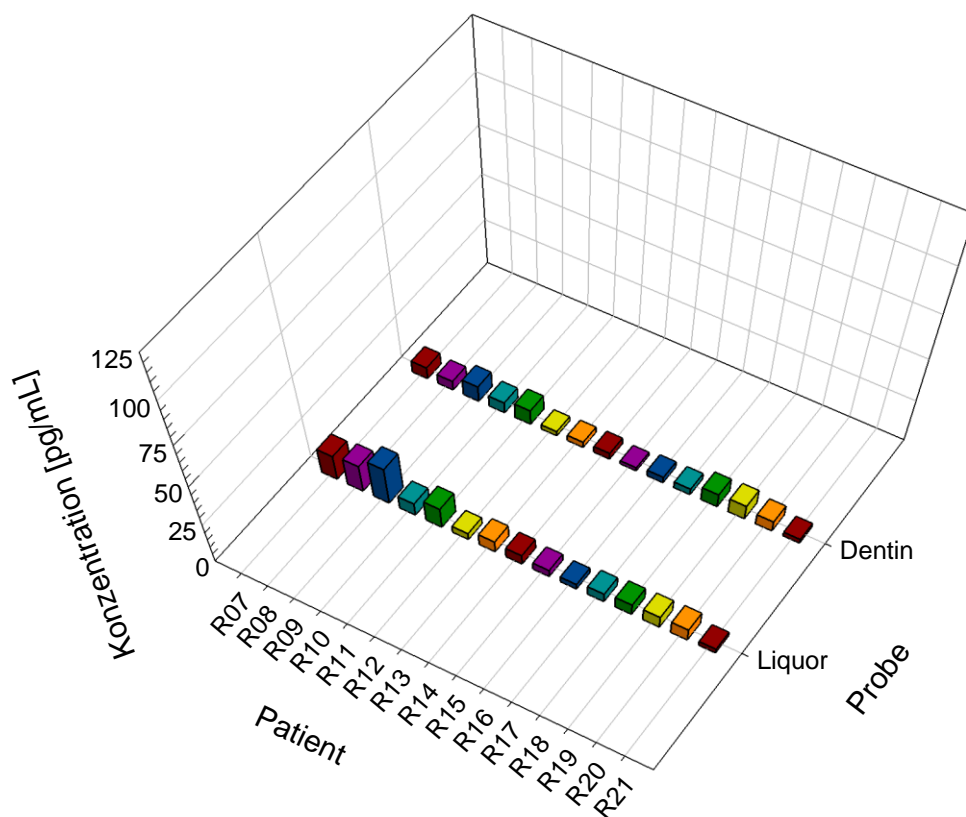


Abb. 3: Graphische Darstellung der Ergebnisse der CGRP-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml).

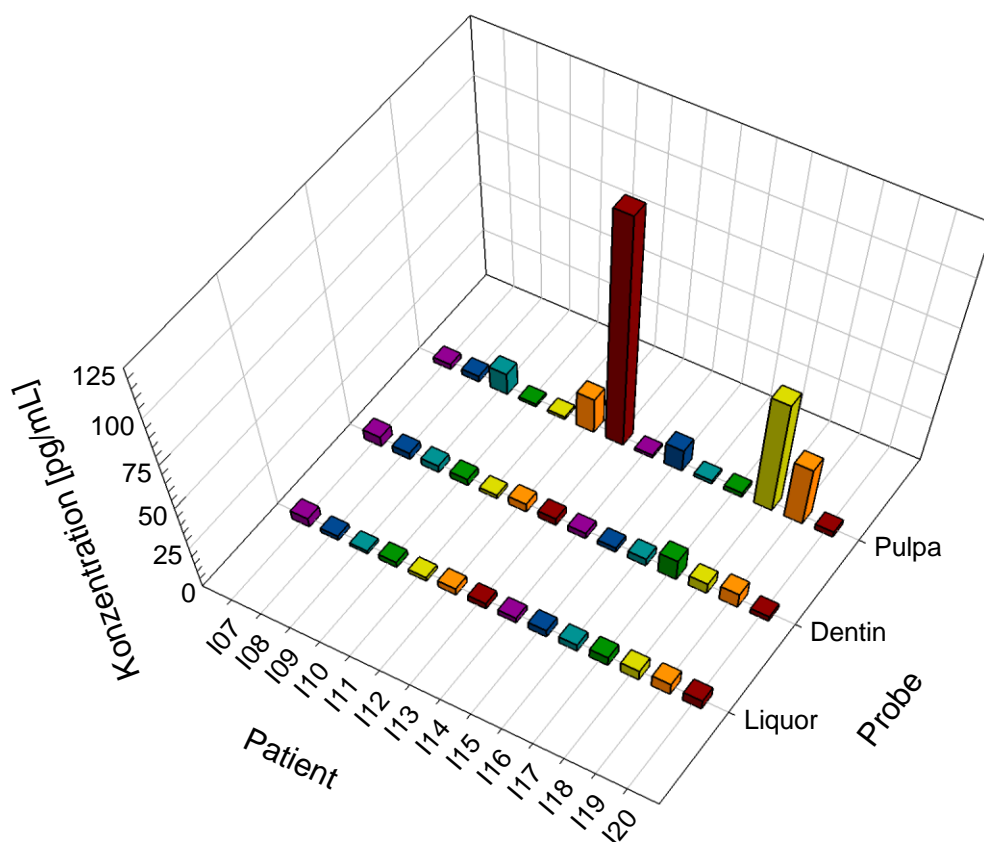


Abb. 4: Graphische Darstellung der Ergebnisse der CRGP-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml).

Im Gegensatz zu IL-6 ließ sich CGRP auch bei geringen Probenvolumina in allen Dentin- und Liquor-Proben nachweisen, bei irreversibler Pulpitis wurden nur in sechs von 12 Proben im Pulpagewebe deutlich erhöhte Konzentrationen bestimmt

Eine eindeutige Differenzierung zwischen irreversibler und reversibler Pulpitis anhand des CRGP-Levels erscheint anhand einer Bestimmung in Liquor und Dentinspänen nicht möglich.

Prostaglandin E2

Tabelle 7 fasst die Werte für PGE 2 zusammen, in Abb. 5 und 6 sind die Resultate graphisch dargestellt.

	Reversibel				Irreversibel					
	Dentin		Liquor		Dentin		Liquor		Pulpa	
PGE 2	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
pg/ml	110.17	253.05	10.11	39.17	22.16	56.46	0.00	0.00	826.81	1210.28

Tab. 7: Werte der PGE 2-Messungen

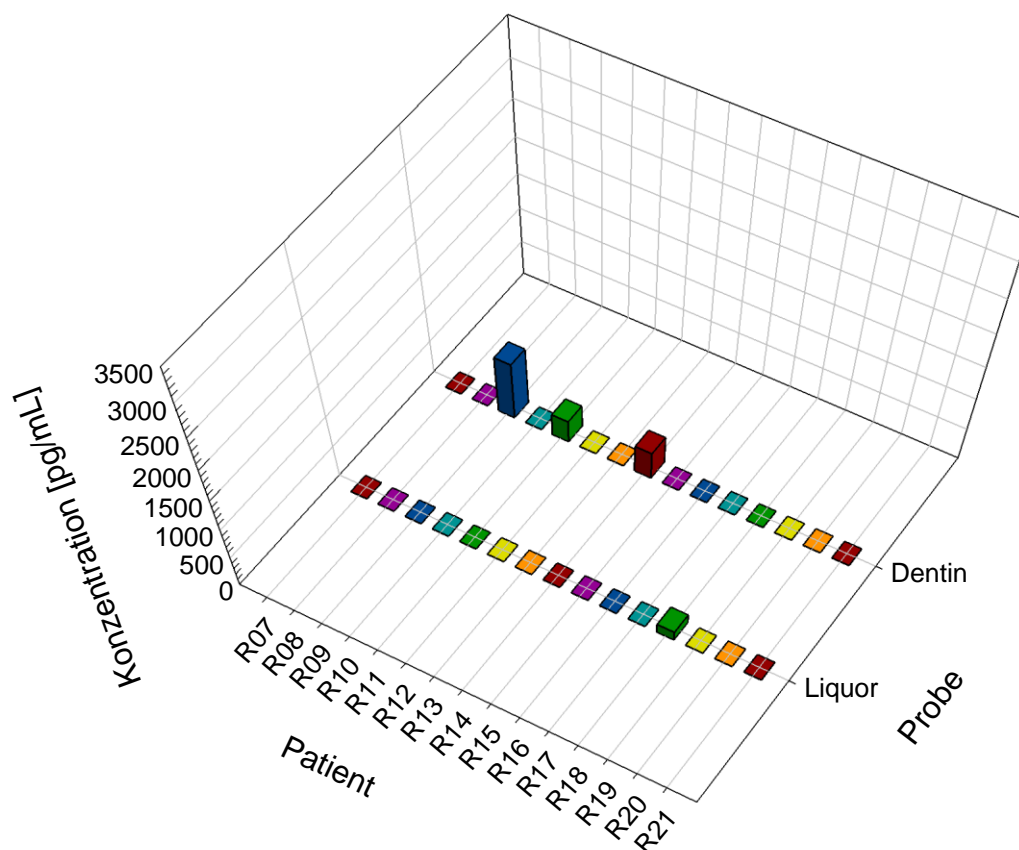


Abb. 5: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Prostaglandin E2-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml).

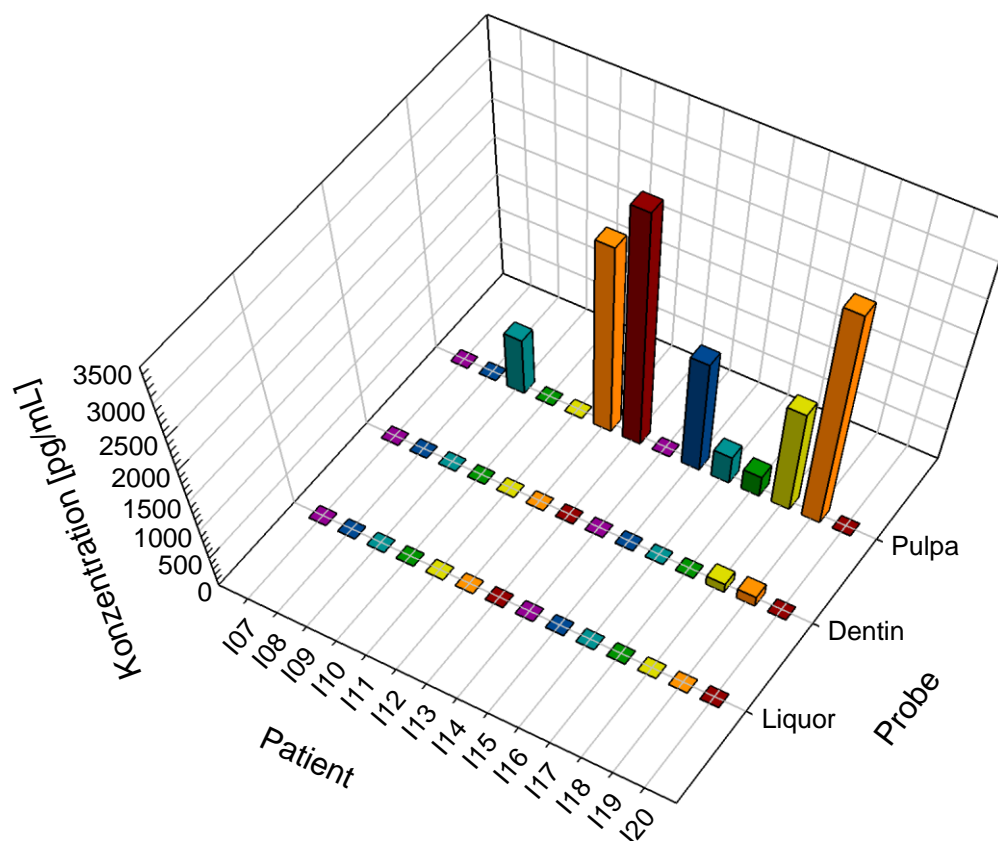


Abb. 6: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Prostaglandin E₂-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml).

Die Messwerte für PGE₂ lagen in Dentin und Liquor in einem niedrigen Bereich mit nur geringen Unterschieden zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis. Bei irreversibler Pulpitis ließ sich PGE₂ im Liquor nicht nachweisen. Eine Differenzierung zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis anhand der PGE₂-Bestimmung erscheint nicht möglich. Zu klären bleibt, warum sich die teilweise deutlich erhöhten Konzentrationen im Pulpagewebe nicht in den Werten für Dentin und Liquor widerspiegeln.

Substanz P

Tabelle 8 fasst die Werte für Substanz P zusammen, in Abb. 7 und 8 sind die Resultate graphisch dargestellt.

	Reversibel				Irreversibel					
	Dentin		Liquor		Dentin		Liquor		Pulpa	
Substanz P	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
pg/ml	95.30	72.62	150.12	107.2	164.90	92.30	151.00	142.86	272.09	227.91

Tab. 8: Messwerte für die Substanz P (pg/ml).

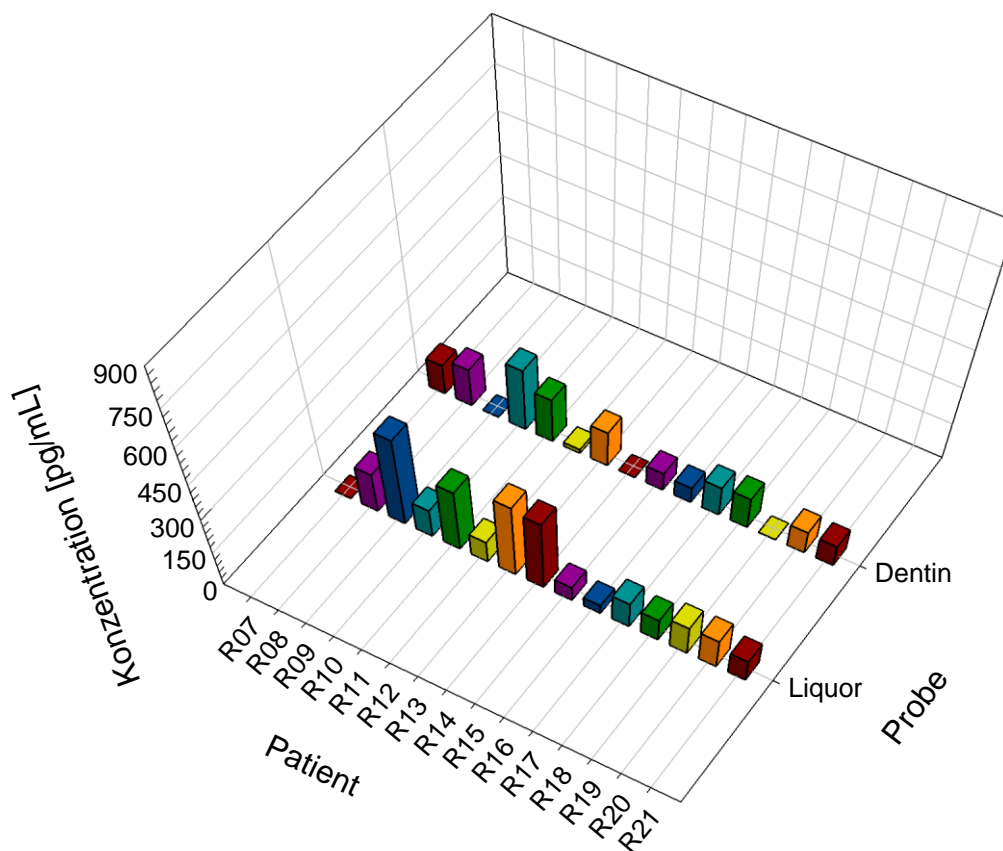


Abb. 7: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Substanz-P-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml).

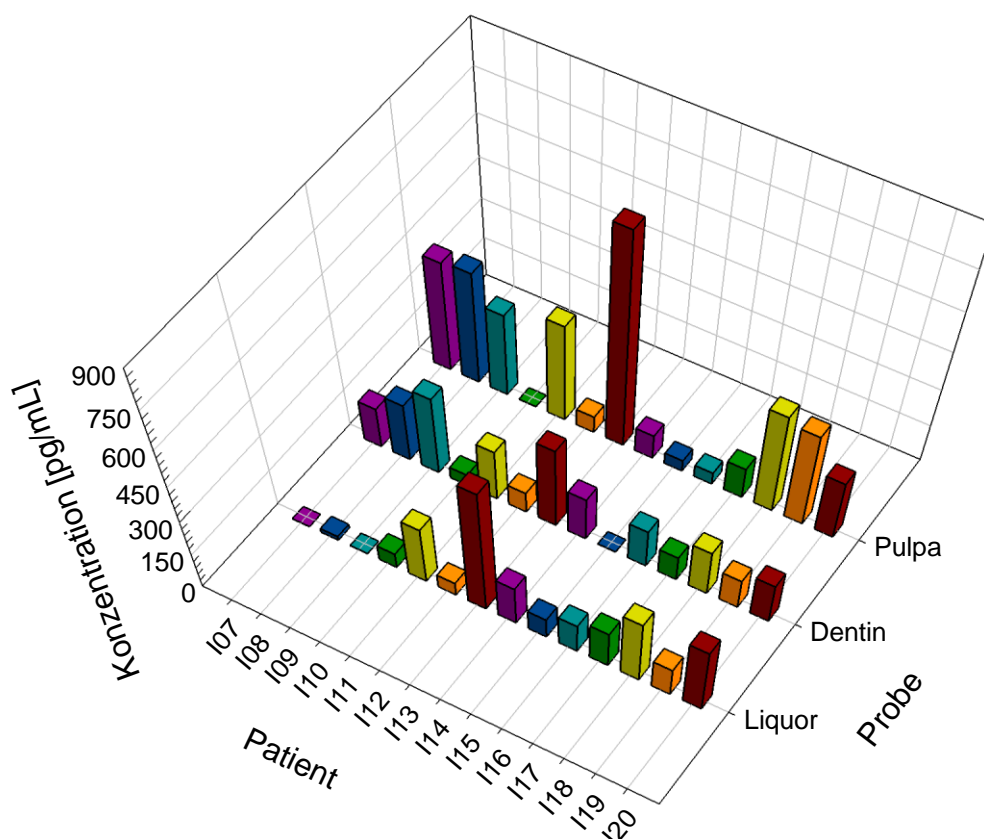


Abb. 8: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Substanz-P-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml).

Die Graphiken verdeutlichen, dass Substanz P in der Mehrzahl der Proben nachgewiesen werden konnte und dass die Konzentrationen bei vermuteter irreversibler Pulpitis erkennbar höher lagen. Dass sich Substanz P daher als zuverlässiger Indikator zur Unterscheidung zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis eignet, ist unwahrscheinlich, sollte aber in weiteren Studien geklärt werden.

Die Messergebnisse lassen keine eindeutige Schlussfolgerung zu, welches Substrat zur Zytokinbestimmung am besten geeignet ist.

Fibrinogen

Tabelle 9 fasst die Werte für Fibrinogen zusammen, in Abb. 9 und 10 sind die Resultate graphisch dargestellt.

	Reversibel				Irreversibel					
	Dentin		Liquor		Dentin		Liquor		Pulpa	
Fibrinogen	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
pg/ml	2.64	1.74	3.54	2.95	11.78	30.61	20.44	61.49	179.35	107.19

Tab. 9: Messwerte für Fibrinogen (pg/ml).

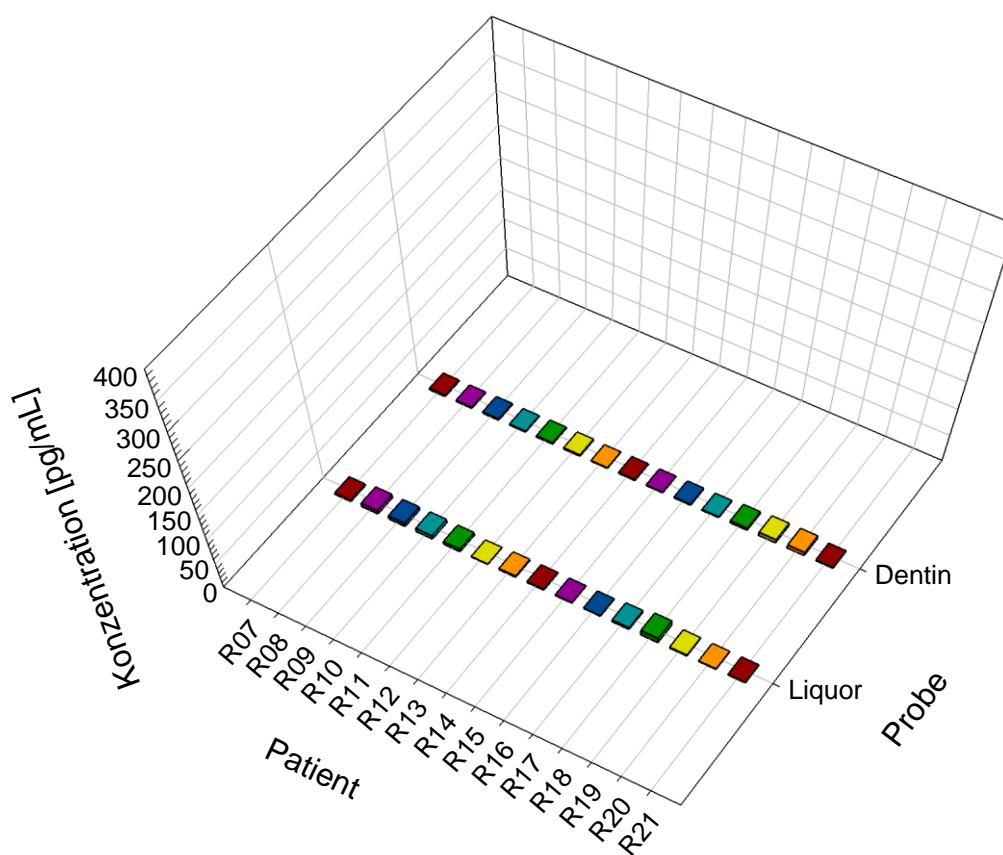


Abb. 9: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Fibrinogen-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml).

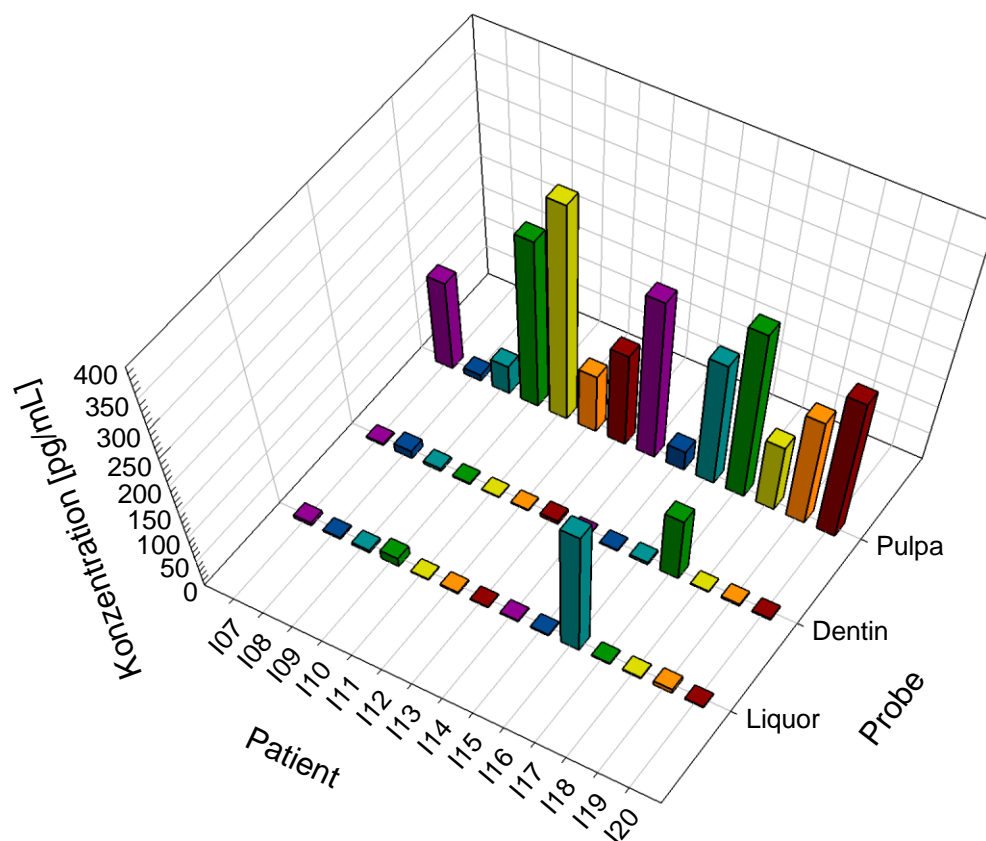


Abb. 10: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Fibrinogen-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml).

Fibrinogen ließ sich in allen Proben nachweisen, die größten Mengen fanden sich im Pulpagewebe. Bei irreversibler Pulpitis fanden sich höhere Werte als bei reversibler Entzündung. Ob Fibrinogen zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis geeignet ist, müssen weitere Studien zeigen. Es ist aber zu vermuteten, dass der quantitative Unterschied in den Konzentrationen hierfür nicht ausreichend ist.

IL-1 β

Tabelle 10 fasst die Werte für IL-1 β zusammen, in Abb. 11 und 12 sind die Resultate graphisch dargestellt.

	Reversibel				Irreversibel					
	Dentin		Liquor		Dentin		Liquor		Pulpa	
IL-1 β	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
pg/ml	4.99	10.49	6.68	19.81	5.76	15.09	0.91	1.66	310.19	472.40

Tab. 10: Konzentrationen von IL-1 β (pg/ml)

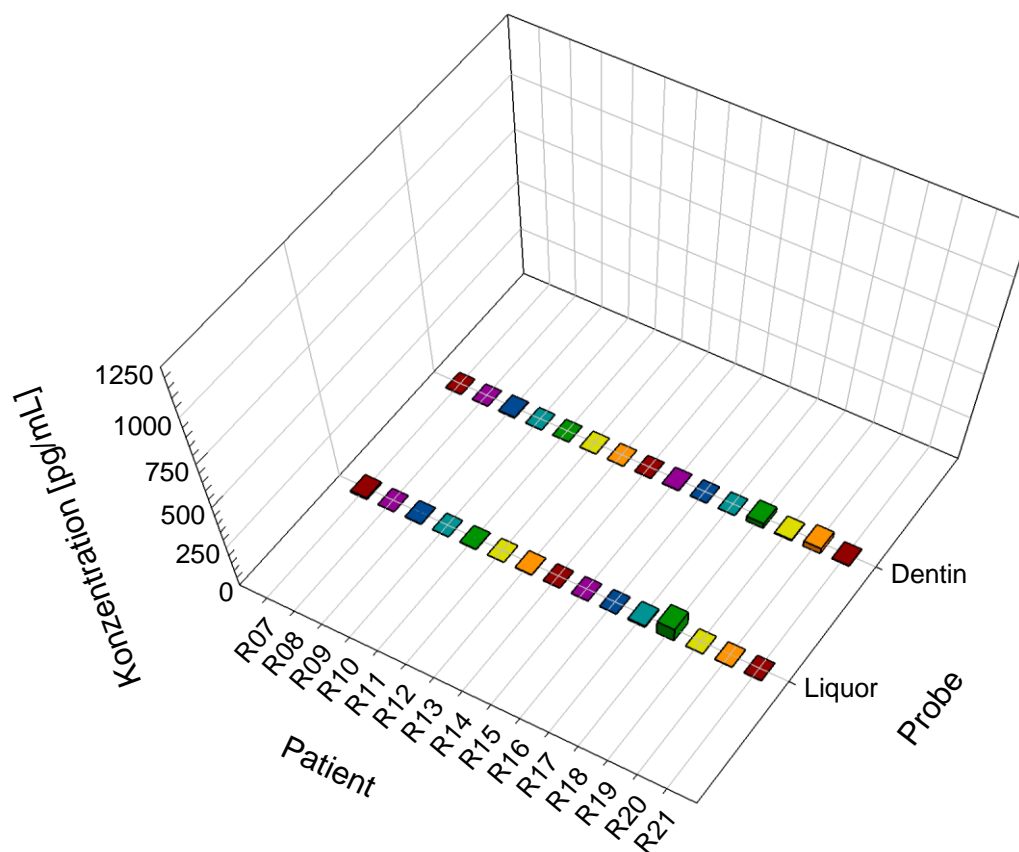


Abb. 11: Graphische Darstellung der Ergebnisse der IL-1 β -Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml).

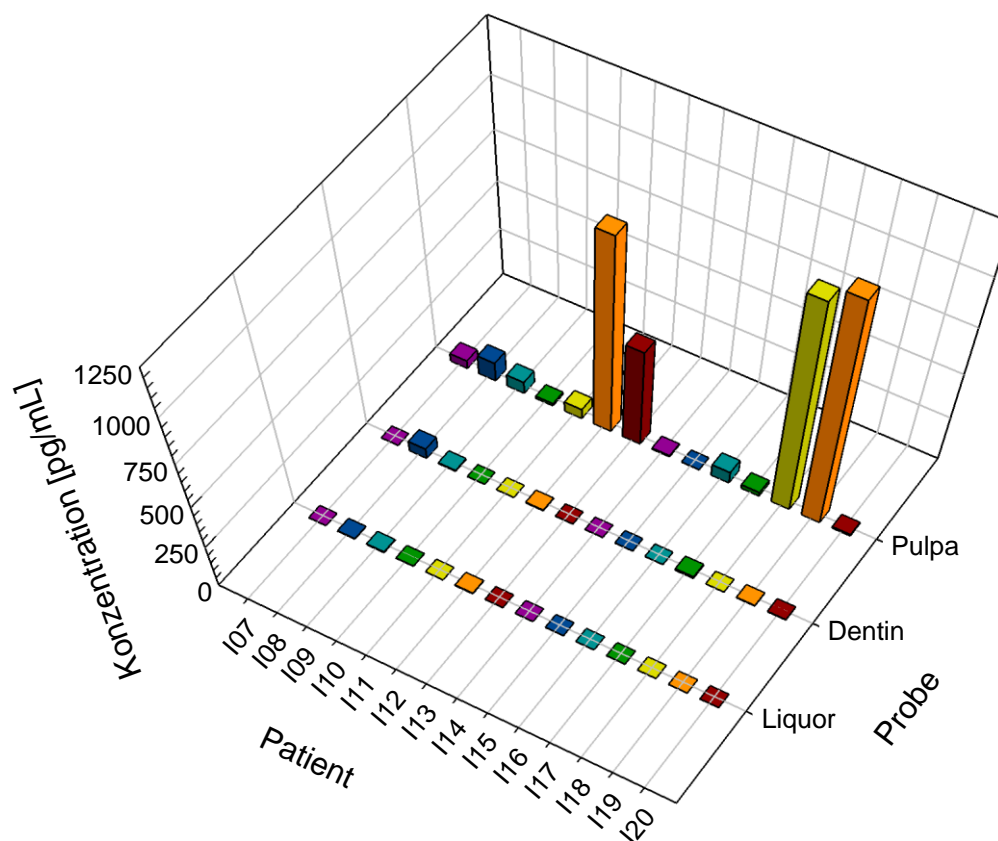


Abb. 12: Graphische Darstellung der Konzentrationen von IL-1 β in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml).

Erneut ergeben sich sehr niedrige Messwerte für beide Verdachtsdiagnosen, auch eine klare Unterscheidung zwischen Messungen im Dentin und Liquor ist nicht zu erkennen. Bei irreversibler Pulpitis ergeben sich in einigen Proben deutlich höhere Messwerte im Pulpagewebe.

Zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis erscheint IL-1 β nicht geeignet.

TNF- α

Nicht mess- bzw. nicht nachweisbar

MMP-8

Tabelle 11 fasst die Werte für MMP-8 zusammen, in Abb. 13 und 14 sind die Resultate graphisch dargestellt.

	Reversibel				Irreversibel					
	Dentin		Liquor		Dentin		Liquor		Pulpa	
MMP 8	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
pg/ml	49.22	117.30	11.02	14.18	33.57	60.93	10.25	12.00	363.12	524.44

Tab. 11: Messwerte für MMP-8 (pg/ml)

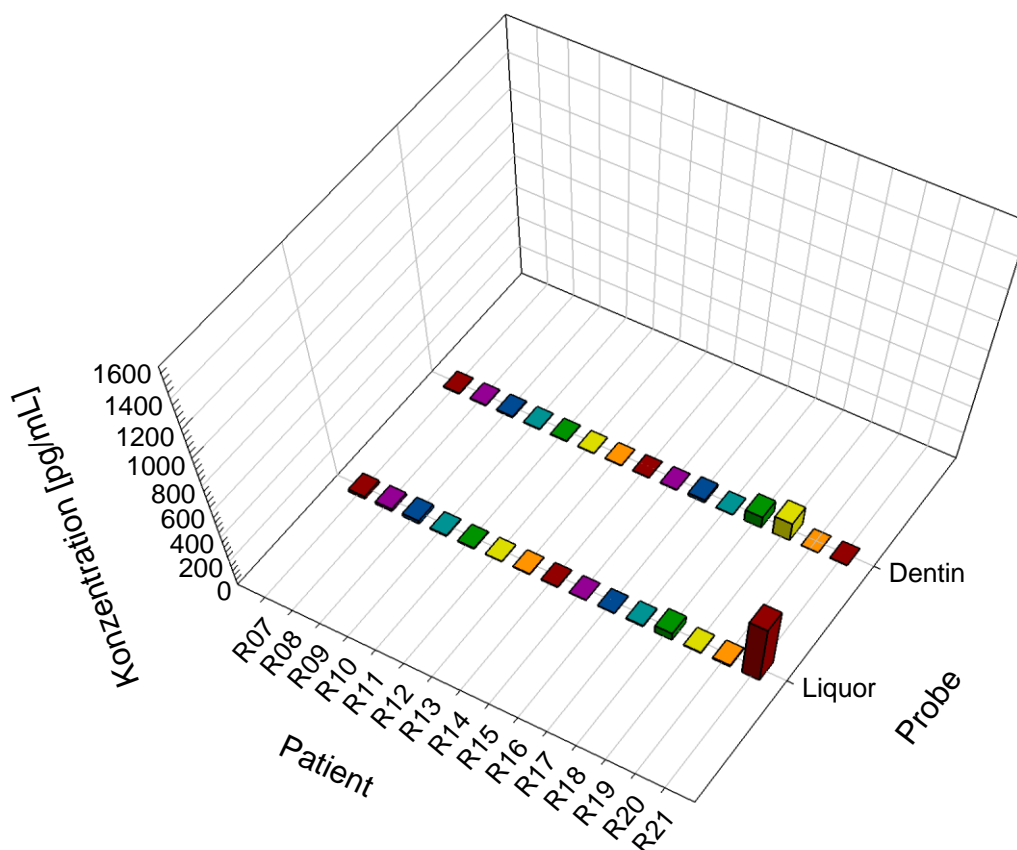


Abb. 13: Graphische Darstellung der Ergebnisse der MMP-8-Messung in Dentin und Liquor bei vermuteter reversibler Pulpitis (pg/ml).

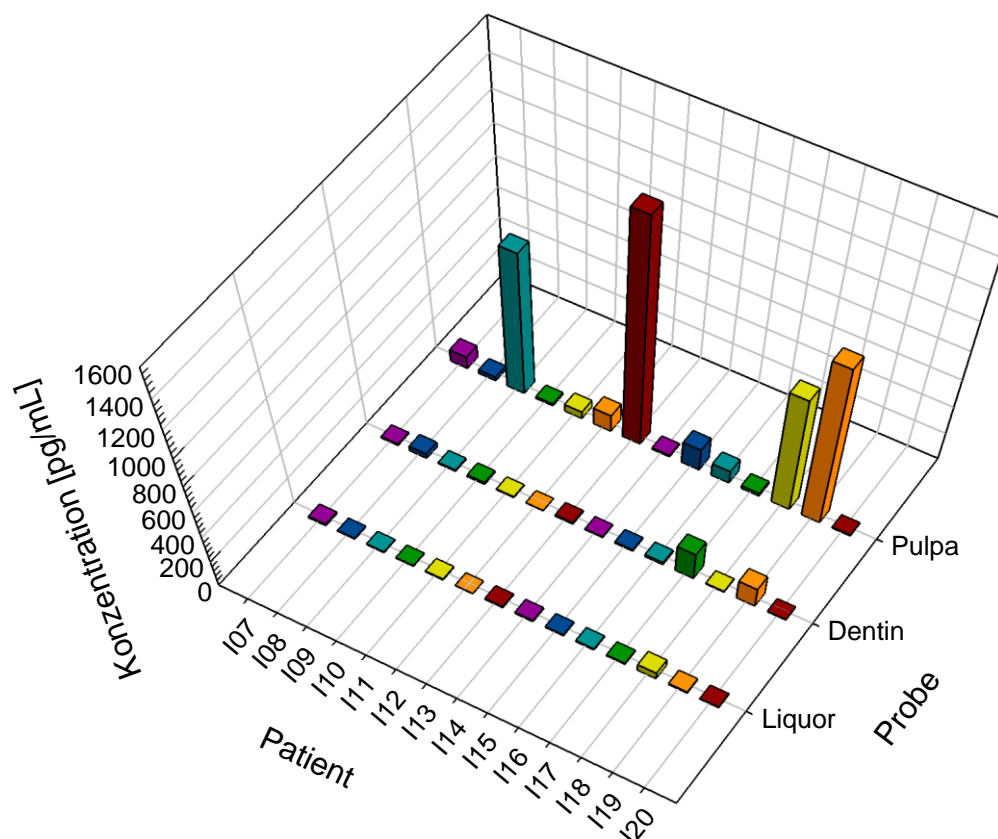


Abb. 14: Graphische Darstellung der Ergebnisse der MMP-8-Messung in Dentin, Liquor und Pulpagewebe bei vermuteter irreversibler Pulpitis (pg/ml).

MMP-8 ließ sich in Dentinspänen und Dentinliquor bei reversibler wie auch bei irreversibler Pulpitis nur in kleinsten Mengen nachweisen, ohne dass ein deutlicher Unterschied zwischen reversibler und irreversibler Entzündung augenfällig wäre. Auch zwischen Dentinproben und Liquor war kein deutlicher Unterschied zu erkennen, wohingegen die meisten Pulpaprobe (7 von 12) erhöhte Werte signalisierten.

Somit erscheint auch MMP-8 zur Differentialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis nicht geeignet.

6. Diskussion

6.1 Bedeutung einer korrekten Pulpitisdiagnostik

Die vorliegende Studie ging einer Fragestellung mit hoher klinischer Signifikanz nach, da eine fehlerhafte Pulpitisdiagnostik in einer Fehltherapie resultiert, die u. U. zum Verlust einer vitalen, überlebensfähigen Pulpa und zur Durchführung einer unnötigen Wurzelkanalbehandlung führt. Selbst unter der optimistischen Annahme einer 90%igen Erfolgswahrscheinlichkeit der Wurzelkanalbehandlung, da es sich um die Therapie eines nicht mikrobiell infizierten Endodonts handelt, verbleibt ein kleiner Anteil nicht vollständig vermeidbarer Misserfolge der endodontischen Primärbehandlung, die bei korrekter Diagnose nicht eingetreten wären (Ng et al. 2008). Wird umgekehrt eine irreversible Pulpitis nicht zeitnah einer adäquaten Therapie zugeführt, d. h. einer Wurzelkanalbehandlung, kommt es unweigerlich zur Infektion und Pulpanekrose. Im Vergleich mit einer endodontischen Behandlung der noch vitalen Pulpa muss die Erfolgsaussicht der Wurzelkanalbehandlung eines Zahnes mit infizierter Pulpanekrose um mindestens 10% niedriger angesetzt werden (Ng et al. 2008). Ein endodontischer Misserfolg zieht wiederum weitere therapeutische Eingriffe nach sich (Revisionsbehandlung, Wurzelspitzenresektion und u. U. Extraktion mit notwendiger prothetischer und/oder implantologischer Restauration). Die korrekte Diagnose des Pulpazustandes hat somit erhebliche Bedeutung für die Prognose und Lebensdauer der Pulpa und des gesamten Zahnes und darüber hinaus nicht abzuschätzende finanzielle und volkswirtschaftliche Implikationen: wird bei der Pulpaexposition eines asymptomatischen Zahnes eine direkte Überkappung durchgeführt, ist dies kostengünstiger als eine Wurzelkanalbehandlung, es werden aber früher weiterführende Maßnahmen notwendig, da vermutlich in nicht wenigen Fällen das Indikationsspektrum der direkten Überkappung aufgrund unzureichender Entzündungsdiagnostik überschritten wird (Schwendicke und Stolpe 2014).

Für die Diagnostik der vitalen Pulpa steht auch heute noch nur ein extrem limitiertes Instrumentarium zur Verfügung, dessen Sensitivität und Spezifität äußerst unbefriedigend ausfallen (Jafarzadeh und Abbott 2010 a, b, Mejàre et al. 2012, Marending Soltermann 2014 a, b). Während die Pulpanekrose noch mit einigermaßen akzeptabler Sicherheit korrekt diagnostiziert werden kann (Peters et al. 1994,

Petersson et al. 1999, Mejàre et al. 2012), gelingt dies bei der Diagnostik und Differenzialdiagnostik der vitalen Pulpa nach wie vor nicht.

Dem geschilderten Problem liegen jedoch nicht nur unzureichende diagnostische Hilfsmittel, sondern in gleichem Maße auch unvollständiges und nicht ausreichendes Wissen darüber zugrunde, ab welchem Punkt die reversible Pulpitis in ein irreversibles Stadium übergeht und wie sich dieser Punkt histologisch, histo-pathologisch und mikrobiologisch definiert. Erschwert wird die Situation durch die unvoreilhaftete Prämisse, dass diese Diagnostik ohne direkten Zugang zum zu untersuchenden Gewebe vorgenommen werden muss, das von einer unterschiedlichen dicken Schmelz- und Dentinschicht umgeben ist. Ein klarer und therapeutisch nutzbarer Cut-off-Punkt zwischen diesen beiden Stadien der Pulpitis ist bis heute nicht definiert. Die vorliegenden Daten zeigen, dass die direkte Überkappung, also der Versuch, eine vermutlich nur reversibel entzündete Pulpa durch definierte Maßnahmen vital zu erhalten, nur eine begrenzte Erfolgsprognose aufweist (Barthel et al. 2000, Dammaschke et al. 2010), die Verdachtsdiagnose also nicht durch einen Therapieerfolg bestätigt werden konnte.

Frühe histologische Differenzierungen aus den 30er bis 60er Jahren (Greth 1933, Harndt 1938, Baume und Fiore-Donno 1962) basieren auf dem seinerzeitigen (und natürlich limitierten) Wissen und den damals verfügbaren Untersuchungsmethoden, sind aber heute nicht mehr von klinischem Nutzen.

Zu den wenigen Ansätzen einer verbesserten zeitgemäßen Pulpa- und Pulpitisdiagnostik zählt die Laser-Doppler-Flow-Messung (Ingölfsson et al. 1994), mit deren Hilfe nicht mehr die Sensibilität der Pulpa ermittelt, sondern die Durchblutungsverhältnisse in der Pulpa registriert werden, indem die von den Erythrozyten reflektierte Laserstrahlung gemessen und daraus die Geschwindigkeit des Blutflusses berechnet wird (Mesaros et al. 1997, Polat et al. 2004, Emshoff et al. 2008). Das Verfahren hat aber nach wie vor das Stadium der Praxisreife noch nicht erreicht, die bislang verfügbaren Messgeräte sind für die Zahnarztpraxen in der Regel auch nicht finanzierbar.

Auch der Einsatz der Dentalen Volumetomographie (DVT) zur Diagnostik einer irreversiblen Pulpitis wurde bereits beschrieben (Abella et al. 2012). An Zähnen mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer irreversiblen Pulpitis fanden sich im DVT signifikant häufiger periapikale entzündliche Läsionen (13,7%) als in der Kontroll-

gruppe der gesunden Zähne (3,3%). Zu ähnlichen Resultaten gelangten Patel et al. (2012), die an 44% der Zähne mit klinisch diagnostizierter irreversibler Pulpitis mit Hilfe des DVT eine apikale Parodontitis diagnostizierten. Nicht indizierte und nicht Erfolg versprechende Versuche der Vitalerhaltung könnten durch eine DVT-Diagnostik in einer Anzahl von Fällen vermieden werden. Trotz dieser signifikanten Unterschiede ist die DVT als Hilfsmittel zur Pulpitisdiagnostik und vor allem –differenzialdiagnostik nicht geeignet; die erhöhte Strahlenbelastung muss zudem kritisch diskutiert werden.

Ähnliches gilt für den Versuch, die Messung der Sauerstoffsättigungsrate der Pulpa als Mittel zur Differenzialdiagnostik zu nutzen. Zwischen klinisch diagnostizierter reversibler und irreversibler Pulpitis und vermeintlich gesunder Pulpa fanden sich signifikante Unterschiede in der mit Hilfe der Pulsoximetrie gemessenen Sauerstoffsättigung (Setzer et al. 2012). Auch dieses Verfahren ist aber bislang nicht ausreichend validiert und nicht praxisreif.

Dem Versuch, die fehlerbehaftete Pulpitisdiagnostik zu verbessern, muss daher hohe Priorität beigemessen werden. Unser Versuch setzt an der Grundüberlegung an, dass das die Pulpa umgebende Dentin chemisch-physiologisch eine Membran darstellt, über die ein registrierbarer Flüssigkeitstransfer stattfindet (Mjör 2002).

Tatsächlich liegen nicht wenige Studien vor, die sich mit dem Dentinliquor, seiner Zusammensetzung (Coffey et al. 1970, Pashley 1996), seiner Funktion (Mjör 2002) und seiner Rolle in pulpalen Entzündungen befassen (Ciucchi et al. 1995, Heyeraas und Berggreen 1999). Die Ergebnisse der bislang publizierten Studien konnten bislang aber nicht in klinisches Handeln oder eine Verbesserung der klinischen Diagnostik umgesetzt werden.

Den aktuellen Stand der Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis fassten Zehnder et al. (2011, S. 17) wie folgt zusammen:

„The terms reversible and irreversible pulpitis thus merely express the intention of the dentist to keep the pulp vital or to remove it on the basis of the best clinical evidence available.“

6.2 Diskussion der Methode

In der jüngeren endodontischen Literatur finden sich nur noch wenige Studien, die sich mit der Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis beschäftigen (Bender 2000, Kokkas et al. 2007, Zehnder et al. 2011). Die Mehrzahl der vorliegenden Arbeiten setzt sich hierbei mit der Präzision und Reproduzierbarkeit klinischer Parameter wie dem Sensibilitätstest oder dem Perkussionstest auseinander, Arbeiten zur Histologie finden sich kaum (Marending Soltermann 2014a, b).

Aufgrund der unzureichenden Literatur- und Datenlage war es primär Aufgabe der vorliegenden Studie zu überprüfen, ob ein Nachweis proinflammatorischer Enzyme ohne direkte Exposition der Pulpa möglich ist und ob einzelne Biomarker zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis verwendet werden können.

Die pathologischen Grundlagen der Pulpitis (Holland und Botero 2014) und die Funktion und die Wirkungsweise unterschiedlichster Zytokine sind inzwischen gut untersucht (Hahn und Liewehr 2007a, b). Versuche, die schwierige und nach wie vor sehr unpräzise Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis anhand von Entzündungsmediatoren im Dentinliquor durchzuführen, wurden bereits 1991 im Tierversuch an Hundezähnen von Maita et al. beschrieben (Maita et al. 1991). Karapanou et al. (2008) wiesen bei akuter Pulpitis eine erhöhte Konzentration von IL-8 in der Sulkusflüssigkeit nach, TNF- α war hingegen – wie in der vorliegenden Arbeit - nicht nachzuweisen. Zehnder et al. (2011) entdeckten im Dentinliquor von Zähnen mit vermuteter irreversibler Pulpitis signifikant höhere Konzentrationen von MMP-9 als in Zähnen mit vermutlich gesunder Pulpitis und pulpanaher Karies, was als reversible Pulpitis bewertet wurde. Die Autoren wiesen aber auf erhebliche methodische Probleme ihrer Arbeit speziell, aber auch der Probengewinnung generell hin. Die Mehrheit der Studien zur Konzentration von Enzymen wurden anhand entnommenen Pulpagewebes durchgeführt (s. unten).

6.2.1 Substrate der Proben

Als Substrate zur Messung der Zytokinkonzentrationen in Zusammenhang mit endodontisch bedingten Entzündungen (Pulpitis, Parodontitis apicalis) wurden in der Vergangenheit verwendet:

- Pulpagewebe (Cohen et al. 1985, Rauschenberger et al. 1997, Izumi et al. 1998, Rodd und Boissonade 2000, Lepinski et al. 2000, Awawdeh et al. 2002, Gusman et al. 2002, Pezelj-Ribaric et al. 2002, Wahlgren et al. 2002, Isett et al. 2003, Tsai et al. 2005, Caviedes-Bucheli et al. 2005, Kokkas et al. 2007, Paris et al. 2009, Petrini et al. 2012, Abd-Elmeguid et al. 2013),
- Dentinproben (Izumi et al. 1998, Tjäderhane et al. 1998),
- Blutproben aus der Pulpa (Nakanishi et al. 1995, Bowles et al. 2003, ElSalhy et al. 2013),
- Dentinliquor (Bergenholtz et al. 1993, Knutsson et al. 1994, Zehnder et al. 2011, Geraldeli et al. 2012),
- Sulkusfluid wurde sowohl zum Zytokinnachweis bei akuter Pulpitis (Karapamou et al. 2008), als auch bei Parodontitis apicalis (Burgener et al. 2010, Shin et al. 2011) verwendet.

Aus jüngster Zeit liegt nur eine Studie vor (Zehnder et al. 2011), die wie die vorliegende Arbeit ebenfalls eher orientierenden Charakter aufweist und die Konzentration von MMP-9 im Dentinliquor untersuchte. Auch Bergenholtz et al. (1993) und Knutsson et al. (1994) nutzten den Dentinliquor, um die Auswirkungen zahnärztlicher Maßnahmen auf die Pulpa zu überprüfen. Vorteile der Arbeit mit Dentinliquor sind die Möglichkeit der Entnahme ohne Exposition der Pulpa und die direkte Verbindung des Liquors mit der entzündeten bzw. nicht entzündeten Pulpa, die eine Transmission entsprechender Entzündungsmarker zulassen sollte. Nachteilig sind die Probleme, ein ausreichendes Probenvolumen zu gewinnen. Unklar war ist bislang, ob die im Dentinliquor gemessenen Zytokinkonzentrationen die realen Konzentrationen in der mehr oder weniger entzündeten Pulpa korrekt reflektieren. Die Resultate der vorliegenden Studie legen den Verdacht nahe, dass die extrapulpalen (Liquor, Dentin) und intrapulpalen (Pulpagewebe) nachweisbaren Zytokinkonzentrationen offenbar nicht korrelieren. Welche Mechanismen dieser Divergenz zugrunde liegen ist unklar, eine Adhärenz der Zytokine an das tubuläre Dentin,

Filtrationsmechanismen, Konzentrationsgradienten oder chemotaktische Mechanismen mögen hier eine Rolle spielen.

-

6.2.2 Stellung der Verdachtsdiagnose

Die Einteilung der untersuchten Zähne in die Gruppen der reversiblen bzw. der irreversiblen Pulpitis wurde anhand klinischer Kriterien vorgenommen. Die Genauigkeit dieser verwendeten klinischen Kriterien ist allerdings limitiert (Klausen et al. 1985, Seltzer 1972, Bender 2000, Mejàre et al. 2012, Marending Soltermann 2014 a, b). In den wenigen Studien, die die reversible der irreversiblen Pulpitis entgegensetzten, wurde das Problem der exakten Differenzialdiagnostik wie in der vorliegenden Arbeit ebenfalls mit Hilfe der klinischen Symptomatik gelöst. Die Diagnose einer irreversibel entzündeten Pulpa oder einer symptomatischen Pulpitis basierte auf Kombinationen mehrerer klinischer Kriterien wie Anamnese mit Spontanschmerzen (Gusman et al. 2002, Bowles et al. 2003, Isett et al. 2003, Tsai et al. 2005, Kokkas et al. 2007, Caviedes-Bucheli et al. 2008, Paris et al. 2009, EISalhy et al. 2013, Setzer et al. 2012, Abd-Elmeguid et al. 2013), klinisch und radiologisch bis in Pulpanähe reichende Karies (Rauschenberger et al. 1997, Gusman et al. 2002, Paris et al. 2009), röntgenologisch unauffällige Apikalregion (Gusman et al. 2002, Bowles et al. 2003), heftige und langandauernde Reizantwort auf Kälte (Rauschenberger et al. 1997, Gusman et al. 2002, Bowles et al. 2003, Isett et al. 2003, Kokkas et al. 2007, Paris et al. 2009), Temperaturempfindlichkeit auf Wärme (Setzer et al. 2012, Abd-Elmeguid et al. 2013), Perkussionsempfindlichkeit (Isett et al. 2003), apikal erweiterter Parodontalspalt (Isett et al. 2003), Pulpaexposition bei Exkavation symptomatischer Zähne (Tsai et al. 2005). In einigen Studien wird die Diagnose der akuten irreversiblen Pulpitis nicht detailliert beschrieben (Awawdeh et al. 2002, Wahlgren et al. 2002, Karapanou et al. 2008, Petrini et al. 2012). Rauschenberger et al. (1997) definierten im Gegensatz zu Isett et al. (2003) Perkussionsempfindlichkeit als Ausschlusskriterium für die Gruppe der irreversiblen Pulpitiden.

Eine reversible Pulpitis wurde diagnostiziert bei Vorliegen von Schmerzen auf thermische Reize, v. a. auf Kälte (Kokkas et al. 2007, Abd-Elmeguid et al. 2013). In einigen Studien wurde eine asymptomatische pulpanahe Karies als asymptomatische Pulpitis bezeichnet und einer Gruppe mit irreversibler Pulpitis gegenübergestellt (EISalhy et al. 2013).

Diese Übersicht zeigt, dass in den verschiedenen Studien nicht mit einheitlichen Definitionen gearbeitet wurde, sondern unterschiedliche Kriterien bzw. Kombinationen von Kriterien zur Diagnose einer irreversiblen Pulpitis benutzt wurden. Dies verdeutlicht das prinzipielle Dilemma aller vorgestellten Studien, dass eine exakte, klinisch anwendbare Definition von reversibler und irreversibler Pulpitis und eine klare Abgrenzung beider Krankheitsbilder nicht möglich sind. Ebenso wie in der vorliegenden Studie handelte es sich in der vergleichbaren Untersuchung von Zehnder et al. (2011) lediglich um die Verdachtsdiagnose einer irreversiblen Pulpitis bzw. in der Kontrollgruppe einer gesunden Pulpa, die auf der Basis von Anamnese, Kältetest und Röntgenaufnahme getroffen wurde.

Der elektrische Pulpatest wurde in keiner der zitierten Studien verwendet, da er zwar gute Sensitivität und Spezifität für die Differenzialdiagnostik zwischen vitaler und nekrotischer Pulpa aufweist, aber nicht zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis (Jafarzadeh und Abbott 2010 a, b). Unter anderem aufgrund unterschiedlicher Dicke von Schmelz und Dentin ist die Definition absoluter Schwellenwerte für die elektrische Pulpatestung nicht möglich.

Eine histologische Untersuchung des Pulpagewebes, durch die die anhand klinischer Kriterien erstellte (Verdachts-)Diagnose verifiziert werden könnte, ist aus ethischen Gründen nur bei irreversibler Pulpitis mit nachfolgender Exstirpation der Pulpa möglich. Diese histologische Untersuchung des Gewebes wurde weder bei Zehnder et al. (2011) noch in der vorliegenden Studie vorgenommen, sollte aber in weiteren Studien berücksichtigt werden.

Ebenso sollte versucht werden zu überprüfen, ob die als reversibel entzündeten Zähne nach einer zu definierenden Kontrollzeit weiterhin vital sind und keine klinische Symptomatik aufweisen, die auf Vorliegen einer irreversiblen Entzündung hindeutet. Sollte sich nach diesem Kontrollintervall herausstellen, dass der Zahn nicht mehr vital ist, eine Wurzelkanalbehandlung notwendig war oder klinische Symptome vorliegen, würde dies darauf hindeuten, dass die Verdachtsdiagnose einer reversiblen Pulpitis nicht korrekt war und die Zähne aus der Auswertung ausgeschlossen werden sollten.

6.2.3 Kontrollgruppe

Wünschenswert wäre eine zusätzliche Kontrollgruppe mit gesunder Pulpa gewesen, eine Präparation an gesunden Zähnen oder die Exstirpation einer gesunden Pulpa sind jedoch aus ethischen Gründen indiskutabel. In weiterführenden Studien kann eventuell erwogen werden, gesundes Pulpagewebe aus asymptomatischen und möglichst kariesfreien Zähnen zu gewinnen, die aus kieferorthopädischen Gründen extrahiert werden (Petrini et al. 2012) oder bei denen aus prothetischen Gründen eine Wurzelkanalbehandlung durchgeführt wird (Abd-Elmeguid et al. 2013). Auch entfernte impaktierte Weisheitszähne (Rauschenberger et al. 1997, Paris et al. 2009, Abd-Elmeguid et al. 2013) können verwendet werden, sofern in beiden Gruppen durch sorgfältige Inspektion und Anamnese entzündliche Pulpaveränderungen ausgeschlossen werden können. Dentinchips und Dentinliquor können während der Präparation im Rahmen einer Füllungstherapie gewonnen werden. Es verbleibt in diesen Fällen aber immer das Problem, dass die Pulpa dieser Zähne bereits eine asymptomatische reversible oder irreversible Pulpitis aufweist oder es durch die Präparationsmaßnahmen zu einer spontanen Erhöhung bestimmter Zytokin-konzentrationen kommt. Dass restaurative Maßnahmen (Exkavation, Präparation, Konditionierung des Dentins, Füllungstherapie) den Status der Pulpa kurzfristig beeinflussen, wurde bereits von Takahashi (1990), Bergenholtz et al. 1993) und weiteren Arbeitsgruppen gezeigt.

Bei der Arbeit mit Kontrollgruppen ist darauf zu achten, dass das gleiche Anästhetikum benutzt wird wie in den zu untersuchenden Hauptgruppen.

6.2.4 Sammlung des Dentinliquor

Es wurde bereits nachgewiesen, dass nach der Entfernung des Schmelzes und Freilegung des Dentins aufgrund des entzündlich bedingten Gewebedrucks ein Auswärtsfluss, der sog. *out flow* des Dentinliquors stattfindet (Heyeraas und Berggreen 1999), welcher entnommen und gemessen werden kann (Coffey et al. 1970, Matthews und Vongsavan 1994, Ciucchi et al. 1995). Frühere Studien (Maita et al. 1991, Chidiac et al. 2002; Zehnder et al. 2011) nutzten den Dentinliquor bereits zur Bestimmung von Entzündungsmediatoren, eine Standardtechnik ist bislang allerdings noch nicht etabliert. Es zeigte sich in der vorliegenden Studie wie bereits

bei Zehnder et al. (2011) aber, dass mit der gewählten Methode nur geringe Mengen an Dentinliquor gesammelt werden konnten, die zur Auswertung entsprechend hoch verdünnt werden mussten. Geraldeli et al. (2012) konnten mit einer Zentrifugationstechnik an extrahierten Zähnen ein durchschnittliches Probenvolumen von nur 1,1 μ l gewinnen. Um die Zytokinexpression nicht zu beeinflussen, wurde in der vorliegenden Studie ein Anästhetikum ohne Vasokonstringens verwendet, ein gefäßverengender Zusatz hätte möglicherweise den intrapulpalen Druck erhöht und die Sammlung einer größeren Menge an Dentinliquor ermöglicht. Diese geringen gewonnenen Quantitäten ließen eine ausreichend präzise Gewichts- bzw. Volumenbestimmung nicht zu, so dass eine exakte Konzentrationsbestimmung nicht durchzuführen war. Die angegebenen Konzentrationen der Enzyme in den Proben entsprechen also der Konzentration pro ml Probe, aber nicht der Konzentration pro ml Dentinliquor bzw. pro mg Dentin oder Pulpagewebe. Ähnliche Probleme finden sich bei Zehnder et al. (2011), in deren Studie sich in 9 von 16 Proben aus Zähnen mit vermuteter irreversibler Pulpitis MMP-9 nicht nachweisen ließ; als Hauptgründe werden ein zu geringes Liquorvolumen, ein möglicherweise geringeres Entzündungslevel als zuvor diagnostiziert und Unterschiede in der Dentinpermeabilität vermutet. Anders als in dieser Untersuchung benutzten Zehnder et al. (2011) ein Anästhetikum mit Vasokonstringens, durch den Verzicht auf einen vasokonstringierenden Zusatz könnte die Menge des das Dentin penetrierenden Dentinliquors in der vorliegenden Arbeit zusätzlich verringert worden sein. Auch ElSalhy et al. (2013), die nach Pulpaexposition mit Wattepellets Blut aufsaugten und anschließend den Zytokingehalt mit Hilfe des ELISA bestimmten, führten keine Gewichts- oder Volumenbestimmung des aufgenommenen Bluts durch. Sie bestimmten aber die Zytokinkonzentration im Proteinanteil der entnommenen Proben.

Ob die von Shimauchi et al. (1996) vorgeschlagene Technik, das Volumen der entnommenen Probe anhand der angefeuchteten Länge einer Papierspitze zu bestimmen, ausreichend exakt und reproduzierbar ist, bleibt fraglich. Die Autoren beschrieben eine signifikant lineare Beziehung zwischen diesen beiden Parametern. In Volumina von 0,15 bis 26,7 ml, entnommen aus dem periapikalen Exsudat von Wurzelkanälen, konnten sie IL-1 β -Konzentrationen von 0,1-179 ng/ml nachweisen.

Nicht geklärt ist, welche Auswirkungen die Entfernung des *smear layer* mit Chelatoren wie Zitronensäure, Orthophosphorsäure oder EDTA hat, die bei Zehnder

et al. (2011) im Gegensatz zur vorliegenden Studie nicht vorgenommen wurde. Einerseits ist eine verbesserte Passage des Liquors durch die Dentintubuli zu erwarten, die auf der pulpafernen Dentinfläche nach Chelatoranwendung nicht mehr (vollständig) blockiert wären (Pashley et al. 1983), andererseits kann eine Interaktion des Chelators mit den Entzündungsmediatoren nicht ausgeschlossen werden. Zehnder et al. (2011) weisen darauf hin, dass MMP zinkabhängig sind, EDTA aber ebenso eine starke Affinität zum Zn^{2+} -Kation aufweist, wie bereits früher nachgewiesen wurde (Tezvergil-Mutluay et al. 2010).

6.2.5 Sammlung der Dentinspäne

Die Entnahme von Dentinspänen erfolgte wie in früheren Studien beschrieben (Izumi et al. 1998, Tjäderhane et al. 1998) mit einem sterilen Rosenbohrer nach sorgfältiger Desinfektion des Arbeitsfeldes, wie von Siquiera und Rocas (2011) vorgeschlagen, um eine externe Kontamination der entnommenen Probe zu vermeiden.

6.2.6 Sammlung des Pulpagewebes

Die Entnahme des Pulpagewebes aus Zahn und Wurzelkanälen erfolgte während der Vitalexstirpation mit Hilfe steriler endodontischer Instrumente.

6.2.7 Analyse der Zytokine

Zur Untersuchung der Entzündungsmediatoren wurden klassische ELISA-Tests durchgeführt, wie dies auch in vielen Studien zur Pulpaanalyse beschrieben wurde (Pezelj-Ribaric et al. 2002, 2007, ElSalhy et al. 2013). In vergleichbaren Studien zum Zytokinnachweis wurde auch der RT-PCR-Test (Kokkas et al. 2007) verwendet. Caviedes-Bucheli et al. (2005) bestimmten die CGRP-Rezeptorkonzentration mit einer Radiorezeptor-Analyse.

ElSalhy et al. (2013) geben die Nachweisgrenze von High-Sensitivity- ELISA-Kits mit 0,4 pg/ml für IL-2, 0,03 pg/ml für IL-6 und 0,13 pg/ml für TNF- α an, Tabelle 12 fasst

die herstellerseits erhältlichen Angaben zu den Nachweisgrenzen der in der vorgelegten Arbeit überprüften Zytokine zusammen.

IL-1 β	mean MDD		1 pg/ml
IL-6	mean MDD		2 pg/ml
MMP-8	mean MDD	0,02 ng/ml	
TNF- α	mean MDD		1,6 pg/ml
PGE 2	mean MDD		30,9 pg/ml
Substanz P	mean MDD		31,5 pg/ml
Fibrinogen	mean MDD	2,7 ng/ml	

Tab. 12: Nachweisgrenzen der gemessenen Zytokine nach Herstellerangaben (MMD: *mimum detectable dose*).

Die Daten verdeutlichen, dass mit Hilfe der verwendeten ELISA-Tests auch sehr kleine Quantitäten der Zytokine gemessen werden können, die Limitierung in der vorliegenden Untersuchung ergab sich primär aus den geringen Probenvolumina und der daraus resultierenden hohen Verdünnung der Proben. Da sich die Probenvolumina teilweise im pg-Bereich bewegten, sind die Messergebnisse für MMP-8 und Fibrinogen mit Nachweisgrenzen im ng-Bereich möglicherweise auf dieses methodische Problem zurückzuführen. Inwieweit weitere Faktoren eine Passage der Zytokine in das Dentin oder durch die Dentintubuli beeinflussen, ist unklar.

Ein Ansatz zur Verbesserung der Methodik könnte in folgenden Maßnahmen gesucht werden:

1. **Erhöhung des Flows des Dentinliquors** über systemische (Medikamente) oder lokale (Anästhesie, EDTA-Behandlung des Dentins zur Entfernung des smear layer) Aktivierung mit dem Ziel einer signifikanten Erhöhung des Probenvolumens, solange dies nicht gleichzeitig mit einer erhöhten inflammatorischen Aktivität und Zytokinexpression einhergeht.
2. **Verbesserte Technik der Volumenmessung** der entnommenen Liquor-, Dentin- oder Pulpaprobe. Das Ziel ist eine präzisere, weniger fehleranfällige Bestimmung des Probenvolumens/-gewichtes.

Denkbar wäre ein Verfahren, bei dem eine Papierspitze o.ä. mit bekanntem Gewicht den Liquor aufsaugt, in das Probengefäß mit bekanntem Gewicht überführt wird und die Gewichts Differenz bestimmt wird, von der dann das Gewicht der Papierspitze subtrahiert wird. Da sich die Größenordnung des

gewonnenen Dentinliquors im pg-Bereich bewegt, ist diese Messung allerdings fehleranfällig. Alternativ kann in Anlehnung an ElSalhy et al. (2013) der Entzündungsmediator als prozentualer Anteil des Zytokins im Gesamtprotein der Probe gemessen werden, sodass das entnommene Volumen nachrangig ist.

3. Es bleibt zu überprüfen, ob nicht eine **Bestimmung der Zytokinkonzentrationen in Dentinspänen** ebenso zuverlässige Ergebnisse erbringt wie die Analyse des Dentinliquors. Der Vorteil bestünde in der einfacheren Zugänglichkeit und größeren Menge des Substrates. Die Daten der vorliegenden Studie ergeben keine erkennbare Überlegenheit eines der beiden Substrate.

6.2.8 Auswahl der Zytokine

Zytokine sind extrem gute Entzündungsmarker und werden dementsprechend häufig zur Bewertung des Entzündungsstadiums von Geweben verwendet. Sie werden von Leukozyten und anderen Zellen sezerniert und modulieren die Immunantwort und die Entzündungsreaktion von Geweben, wobei zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen unterschieden wird. IL-2, IL-6 und TNF- α gehören zu den proinflammatorischen Zytokinen, die die Entzündungsreaktion unterhalten und verstärken. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass in den unterschiedlichen Stadien der Entzündung der Pulpa charakteristische Entzündungsmediatoren sezerniert werden (Cohen et al. 1985, Bowles et al. 2003, Hahn und Liewehr 2007a,b, Caviedes-Bucheli et al. 2008, Fristad et al. 2010, Fouad 2012, Siqueira 2011, Cooper und Smith 2013).

In der vorliegenden Studie wurden 8 unterschiedliche Zytokine untersucht:

MMP 8, IL-1 β , IL-6, TNF α , CGRP, PGE2, Fibrinogen und Substanz P.

Die Auswahl wurde anhand der folgenden Überlegungen getroffen:

CGRP spielt eine wichtige Rolle als Neurotransmitter in der neurogenen Pulpaentzündung (Olgart 1996 a, b, Caviedes-Bucheli et al. 2008, Fristad et al. 2010, Siqueira 2011). Die Expression von CGRP im Stadium der akuten irreversiblen

Pulpitis fiel in einer Studie signifikant höher aus als in einer reversiblen und wiederum höher als in einer nicht-entzündeten Pulpa (Caviedes-Bucheli et al. 2005). Dies weist auf mögliches Potenzial in der Differenzialdiagnostik hin.

IL-6: Ein signifikanter Anstieg von Interleukin-6 sowohl in der reversiblen als auch in der irreversiblen Pulpa im Vergleich zu einer nicht-entzündeten Pulpa wurde nachgewiesen (Abd-Elmeguid et al. 2013).

IL-1 β : Ein signifikanter Anstieg von Interleukin-1 in der reversiblen als auch in der irreversiblen Pulpa im Vergleich zu einer nicht-entzündeten Pulpa wurde nachgewiesen (Abd-Elmeguid et al. 2013).

TNF- α ist ebenso wie das IL-1 β ein wichtiges Zytokin im Ablauf von Entzündungsprozessen mit weitgehend identischen Funktionen. Er wird bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt der Entzündung exprimiert.

Fibrinogen ist ein Protein, welches am frühen Wundheilungsprozess nach einem Präparationstrauma der Pulpa beteiligt ist (Izumi et al. 1998). Es könnte demzufolge bei (früher) reversibler Pulpitis eher und in höheren Konzentrationen anzutreffen sein als bei (später) irreversibler Pulpitis.

PGE 2: Ein signifikanter Anstieg der PGE 2-Konzentration ist zu beobachten, wenn sich die Pulpa von einem gesunden Stadium in ein Stadium der reversiblen Pulpitis verändert hat (Cohen et al. 1985, Nakanishi et al. 1995, Petrini et al. 2012). Bei Einnahme nicht-steroidaler Entzündungshemmer (NSAID) kam es aber zu einem Abfall der PGE 2-Konzentration.

MMP-8, eine gewebezerstörende Protease, wurde bereits bei symptomatischen Zähnen in der Sulkusflüssigkeit (Avellan et al. 2005) und im Exsudat von Zähnen mit periapikaler Entzündung (Wahlgren et al. 2002) nachgewiesen. In der Parodontologie wird mit einem Chairside-Markertest aktivierte MMP-8 in der Sulkusflüssigkeit ermittelt (Mäntylä et al. 2003).

Substanz P ist ein proinflammatorisches Neuropeptid, das in sensorischen Neuronen enthalten ist und Plasmaextravasation und Ödembildung induziert und an der Schmerzreaktion beteiligt ist (Olgart 1996 a, b, Bowles et al. 2003, Caviedes-Bucheli et al. 2007, 2008, Fristad et al. 2010, Siqueira 2011). Bei symptomatischer

Pulpitis wurde ein stark erhöhter Anstieg der SP-Ausschüttung nachgewiesen (Rodd und Boissonade 2000, Bowles et al. 2003)

Tabelle 13 gibt einen (unvollständigen) Überblick über einige der bereits untersuchten Zytokine zur Differenzialdiagnostik der irreversiblen Pulpitis

Zytokin/Diagn. Verfahren	Autoren/Jahr	Ergebnis
Cyclooxygenase-2	Nakanishi et al. 2011	bei Entzündung erhöht
VEGF	Artese et al. 2002	bei IP reduziert, zur DD nicht geeignet
PGE2	Petrini et al. 2012	RP erhöht, IP sign. reduziert
	Nakanishi et al. 1995	bei Entzündung sign. erhöht
	Cohen et al. 1985	Bei IP erhöht
TNF α	Pezelj-Ribaric et al. 2002	sign erhöht bei IP
	Nakanishi et al. 1995	kein sign. Unterschied zu gesunder Pulpa
	Kokkas et al. 2007	bei IP sign höher als bei RP
IgG, IgA, IgM	Nakanishi et al. 1995	bei Entzündung sign. erhöht
Substanz P	Tuncer et al. 2004	bei Pulpitis erhöht
	Bowles et al. 2003	bei IP sign. höher als bei gesunder Pulpa
	Awawdeh et al. 2002	bei schmerzhafter Pulpitis erhöht
	Rodd und Boissonade 2000	Bei schmerzhafter Pulpitis erhöht
CGRP	Awawdeh et al. 2002	bei schmerzhafter Pulpitis erhöht
IL-1 α	Nakanishi et al. 1995	kein sign. Unterschied zu gesunder Pulpa
	Zehnder et al. 2003	kein sign. Unterschied zu gesunder Pulpa
IL-1 β	Nakanishi et al. 1995	kein sign. Unterschied zu gesunder Pulpa
	Zehnder et al. 2003	kein sign. Unterschied zu gesunder Pulpa
IL-6	Nakanishi et al. 1995	nur in wenigen Proben bei Entzündung
	Zehnder et al. 2003	bei Pulpitis erhöht

IL-8	EISalhy et al. 2013	bei Pulpitis erhöht
MMP-8	Wahlgren et al 2002	bei Pulpitis erhöht
	Avellan et al. 2005	bei schmerzhafter Pulpitis erhöht
MMP-9	Gusman et al. 2002	bei Pulpitis sign. erhöht
	Tsai et al. 2005	bei Pulpitis sign. erhöht
	Zehnder et al. 2011	bei Pulpitis erhöht

Tab. 13: Unvollständige Übersicht über einige der bislang in der Literatur untersuchten Entzündungsparameter bei reversibler (RP) und irreversibler Pulpitis (IP).

Grün: signifikante Differenzen zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis

Gelb: teilw. sign. Differenzen, Eignung zur DD unklar

Rot: zur DD nicht geeignet.

EISalhy et al. (2013) weisen darauf hin, dass Zytokine nicht isoliert agieren, sondern dass zwischen ihnen zahlreiche synergistische oder antagonistische Interaktionen zu beobachten sind, so dass möglicherweise die Ermittlung der Relation der Konzentrationen zwischen verschiedenen Zytokinen sinnvoller und zielführender sein könne als die isolierte Analyse einzelner Marker. In ihrer Studie waren die IL-10/IL-6- und IL-8/IL-10-Relationen bei irreversibler Pulpitis deutlich höher als in einer gesunden Pulpa oder bei vermuteter reversibler Pulpitis (Pulpaexposition während der Kariesexkavation bei asymptomatischen Zähnen).

6.3 Diskussion der Ergebnisse

Die Resultate der vorliegenden Untersuchung ergeben keine eindeutige Präferenz für das zu bevorzugende Medium zur Messung der Zytokinkonzentrationen: sowohl in Dentin als auch im Liquor ließen sich (mit Ausnahme von TNF- α) Zytokine nachweisen. In einigen Fällen fanden sich im Dentin, in anderen im Liquor höhere Konzentrationen. In beiden Fällen lagen - bei irreversibler Pulpitis - die mittleren Werte für das Pulpagewebe deutlich höher. Da die entnommene Probenmenge nicht quantitativ bestimmt wurde, ist ein statistischer Vergleich zwischen beiden Substraten nicht möglich.

6.3.1 Metalloproteinasen

Im Gewebe von Zähnen mit pulpaler oder periapikaler Entzündung wurden bereits MMP nachgewiesen (Emilia und Neelakantan 2015), die für die Degradation der extrazellulären Matrix verantwortlich sind. MMPs stellen eine Gruppe strukturell ähnlicher Endopeptidasen dar, die im gesunden Gewebe nur in geringer Konzentration exprimiert werden, deren Expression aber bei Entzündung hochreguliert wird.

- MMP-1 wird in Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze gebildet.
- MMP-2 und MMP-3 zeigen bei Entzündung der Pulpa reduzierte Konzentrationen
- MMP-8 (Kollagenase-spezifisch) findet sich in der Pulpa und in periapikalen Entzündungen und wird von PMN sezerniert (Wahlgren et al. 2002). Zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis wurde es unseres Wissens bislang nicht genutzt.
- MMP-9 (Gelatinase-spezifisch) zeigt bei Pulpaentzündung eine signifikant erhöhte Konzentration im Vergleich zur gesunden Pulpa (Gusman et al. 2002, Zehnder et al. 2011, Accorsi-Mendoza et al. 2013).
- MMP-13: eine erhöhte Konzentration von MMP-9 und MMP-13 fand sich bei Vorliegen einer periapikalen Parodontitis im Vergleich zu periapikalen Zysten (Emilia und Neelakantan 2015).

Dass eine Hochregulation von MMP-9 bei einer Pulpaentzündung stattfindet, wurde bereits von Tsai et al. (2005) beschrieben. MMP-9 wurde im Pulpagewebe von Zähnen mit Symptomen einer irreversiblen Pulpitis nachgewiesen, nicht jedoch in einer gesunden Pulpa (Gusman et al. 2002, Zehnder et al. 2011). Das Zytokin fand sich aber nicht in allen Zähnen mit vermuteter irreversibler Entzündung, bzw. lag in der Hälfte der Proben unterhalb der Nachweisgrenze (Zehnder et al. 2011).

Erhöhte MMP-8-Konzentrationen finden sich in kariösem Dentin (Tjäderhane et al. 1998). Wahlgren et al. (2002) beschrieben eine MMP-8-Aktivität in Proben aus Wurzelkanälen mit akuter Pulpitis oder akuten periapikalen Entzündungen, die auf eine aktive Rolle des Zytokins in pulpalen und periradikulären Entzündungen hinweist, wahrscheinlich primär der Beteiligung an der Degradation extrazellulärer Gewebematrix. Nach Wurzelkanalpräparation und medikamentöser Einlage gingen

die MMP-8-Konzentrationen signifikant zurück. Emilia und Neelakantan (2015) schlagen daher die Verwendung von MMP-2 und MMP-9 als Biomarker bei pulpaler und periapikaler Entzündung vor, MMP-8 könne als diagnostisches Mittel zur Kontrolle der Heilung bei apikaler Parodontitis eingesetzt werden. Wahlgren et al. (2002) weisen aber darauf hin, dass die Rolle von MMP-8 in der Pulpaentzündung noch nicht vollständig geklärt sei.

In der vorliegenden Studie zeigten sich keine Anhaltspunkte für unterschiedliche MMP-8-Aktivität bei reversibler oder irreversibler Pulpitis. Die in Dentinspänen und Dentinliquor gefundenen Mengen lagen im untersten Nachweisbereich mit hohen Standardabweichungen, im Pulpagewebe waren deutlich höhere Mengen nachzuweisen. Eine abschließende Bewertung der Bedeutung von MMP-8, aber auch anderer Metallomatrixproteinasen wie z. B. MMP-9 oder MMP-2 zur pulpalen Differenzialdiagnostik ist auf Grundlage der Resultate dieser Studie wie auch der Literaturlauswertung derzeit noch nicht möglich.

6.3.2 Substanz P

Substanz P und CGRP werden in unmyelinisierten C-Fasern und einigen A-delta-Fasern exprimiert und sind mit Schmerzen assoziiert. Es handelt sich um ein proinflammatorisches Neuropeptid, das Vasodilatation, Plasmaextravasation und die Ödembildung induziert und die IL-8-Sekretion induziert (Patel et al. 2003, Bowles et al. 2003). Indirekt induziert Substanz P zudem die Freisetzung von IL-1 und TNF- α (Patel et al. 2003). Mit zunehmender Progression der Karies findet sich eine Erhöhung der Substanz-P-Konzentration in der Pulpa (Rodd und Boissonade 2000). Substanz P findet sich in der Pulpa von Zähnen mit klinischen Schmerzen in signifikant höheren Konzentrationen als in nicht-schmerzhaften Zähnen (Awawdeh et al. 2002, Tuncer et al. 2004, Emilia und Neelakantan 2015). Das Zytokin beeinflusst direkt oder über die Histaminfreisetzung das Gefäßsystem und den Blutfluss. Nach elektrischer Stimulation der Pulpa zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Substanz P-Konzentration (Ohkubo et al. 1993). In irreversibel entzündetem Pulpagewebe fand sich eine signifikant höhere Konzentration an Substanz P als in gesundem Pulpagewebe (Bowles et al. 2003).

In der vorliegenden Studie wurde die Substanz P in der Mehrzahl der Proben nachgewiesen, die Konzentrationen lagen bei vermuteter irreversibler Pulpitis erkennbar

höher als bei reversibler Pulpitis. Dass sich Substanz P daher als zuverlässiger Indikator zur Unterscheidung zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis eignet, sollte aber in weiteren Studien geklärt werden.

6.3.3 CGRP

Calcitonin gene-related peptide findet sich wie die Substanz P in erhöhter Konzentration im Pulpagewebe von Zähnen mit klinischen Schmerzen (Awawdeh et al. 2002, Emilia und Neelakantan 2015). Bei irreversibler Pulpitis war die Zahl der CGRP-Rezeptoren im Vergleich zu Pulpagewebe oder gesunden Pulpen signifikant erhöht, der Unterschied zu Pulpagewebe mit induzierter Entzündung, einem Surrogat für die reversible Pulpitis, fiel aber nicht signifikant aus (Caviedes-Bucheli et al. 2005).

Dies deckt sich mit den Resultaten der vorliegenden Studie, die keinen Unterschied in der CGRP-Konzentration zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis zeigten.

6.3.4 Interleukine

- **IL-1**, ein von Monozyten und Makrophagen sezerniertes Schlüsselement der zellulären Immunantwort (D'Souza et al. 1989), ist beteiligt an der Modulation der Aktivität von Knochenzellen und wurde bislang vor allem in periradikulären Entzündungen nachgewiesen, wo es die Knochenresorption stimuliert (Barkhordar et al. 1992, Emilia und Neelakantan (2015). Eine erhöhte Pulpakonzentration findet sich bereits bei Vorliegen einer Karies als Reaktion auf bakterielle Antigene (Hahn und Liewehr 2007a,b). Es gilt als typisches Zytokin der frühen akuten Entzündungsphase (Nakanishi et al 1995), ist möglicherweise aber auch an frühen reparativen Prozessen in der Pulpa beteiligt (D'Souza et al. 1989). Bei irreversibler Pulpitis wurde eine höhere IL-1 β -Konzentration gemessen als in gesundem Pulpagewebe (Paris et al.

2009). Barkhordar et al. (1992) konnten in Zähnen mit gesunder Pulpa kein IL-1 β nachweisen.

- **IL-2** wird mit dem Anstieg der T-Zell-Proliferation in der Pulpa bei irreversibler Pulpitis in Verbindung gebracht, der durch dieses Zytokin stimuliert wird. Es aktiviert auch weitere Zytokine, die alle an der zellvermittelten Immunantwort der Pulpa beteiligt sind (Rauschenberger et al. 1997). IL-2 gilt als wichtiger Entzündungsmarker in der Parodontologie. Es wurde mit Hilfe des ELISA-Tests auch im Pulpagewebe von Zähnen mit irreversibler Pulpitis in signifikant höherer Konzentration entdeckt als in entfernten impaktierten Weisheitszähnen mit vermutlich gesunder Pulpa (Rauschenberger et al. 1997). ElSalhy et al. (2013) entnahmen nach Pulpaexposition während der Kariesexkavation (asymptomatische Pulpa mit vermuteter reversibler Pulpitis) oder Zähnen mit Symptomen einer irreversiblen Pulpitis jeweils Blut aus der Pulpa und ermittelten den Zytokingehalt im Gesamtprotein der Proben. Aus kieferorthopädischen Gründen extrahierte Zähne dienten als gesunde Kontrollen. Die Konzentration von IL-2 war bei asymptomatischen Zähnen mit Pulpaexposition während der Exkavation höher als in Zähnen bei irreversibler Pulpitis oder gesunder Pulpa. Dies war insofern zu erwarten, als IL-2 eher bei milden Entzündungen zu finden ist. Irreversible Pulpitis und gesunde Pulpa zeigten keine Unterschiede in der IL-2 β -Konzentration. Rauschenberger et al. (1997) beschrieben eine erhöhte Konzentration von IL-2 β bei irreversibler Pulpitis, Anderson et al. (2002) konnten keine signifikanten Unterschiede finden. Die Funktion, aber auch die Nachweisbarkeit von IL-2 kann durch Bindung an Lipoteichonsäure reduziert werden (Hahn und Liewehr 2007a).
- **IL-6, IL-8 und IL-18** wurden bei Pulpitis in erhöhten Konzentrationen nachgewiesen (Barkhordar et al. 1999, Zehnder et al. 2003).
- **IL-8** fand sich in der Sulkusflüssigkeit von Patienten mit irreversibler Pulpitis in signifikant höherer Konzentration als bei gesunden Zähnen (Karapanou et al. 2008).
- **IL-10** ist ein zentrales anti-inflammatorisches Zytokin, das die Sekretion proinflammatorischer Zytokine inhibiert (ElSalhy et al. 2013). Bei Exposition der

Pulpa während der Kariesexkavation wurden höhere Konzentrationen an IL-10 gefunden als bei irreversibler Pulpitis. Dies deutet darauf hin, dass die Pulpa versucht, den Entzündungsprozess zu unterdrücken und den Übergang in ein irreversibles Stadium zu vermeiden (Bazzoni et al. 2010).

Diese Interleukine wurden aber bislang nicht oder nicht erfolgreich den verschiedenen Entzündungsstadien der Pulpa zugeordnet.

IL-1

In der vorliegenden Studie fanden sich nur sehr niedrige IL-1- Messwerte für beide Verdachtsdiagnosen, eine klare Unterscheidung zwischen Messungen im Dentin und Liquor ist nicht zu erkennen. Bei irreversibler Pulpitis ergeben sich in einigen Proben deutlich höhere Messwerte im Pulpagewebe. In einer früheren Studie von Paris et al. (2009) konnte bei irreversibler Pulpitis eine signifikant höhere Konzentration gemessen werden als in einer gesunden Pulpa, eine Gruppe mit vermutlich reversibler Pulpitis wurde nicht getestet.

Zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis erscheint IL-1 β nicht geeignet.

IL-6

Die IL-6-Konzentration war in der Gruppe der asymptomatischen Zähne mit Pulpaexposition und den Zähnen mit irreversibler Pulpitis signifikant höher als in gesunden Zähnen (EISalhy et al. 2013), so dass eine Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis nicht möglich ist. Dies wird durch Nakanishi et al. (1995) bestätigt.

IL-6 ließ sich in der vorliegenden Studie nur in einigen Proben nachweisen. Bei irreversibler Pulpitis zeigte sich im Pulpagewebe von 5 Proben eine vergleichsweise erhöhte Menge IL-6, in Dentinliquor und Dentinspänen ließ sich kein deutlicher Unterschied in den Konzentrationen von IL-6 erkennen. Dies ist möglicherweise auf die geringen Probenvolumina zurückzuführen, die eine hohe Verdünnung notwendig machten. Zur Differenzialdiagnostik

zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis scheint IL-6 unter den vorliegenden Versuchsbedingungen nicht geeignet.

6.3.5 TNF- α

TNF- α gilt als einer der wichtigsten Entzündungsmediatoren und charakteristisch für die frühe akute Entzündungsphase (Nakanishi et al. 1995, Hahn und Liewehr 2007a). TNF- α wird von einer Reihe unterschiedlicher Zellen sezerniert (u.a. Makrophagen, Polymorphkernige Leukozyten) (Ueda und Matsushima 2001). Das Zytokin ist bereits im frühen Entzündungsstadium präsent und setzt die Kaskade der Immunreaktion in Gang, induziert die Zytokinproduktion und stimuliert die Zellproliferation (EISalhy et al. 2013). In einer Studie mit Hilfe der RT-PCR wurde das Pulpagewebe von gesunden Zähnen sowie von Zähnen mit reversibler oder irreversibler Pulpitis untersucht. Das Zytokin TNF- α wurde in allen Proben nachgewiesen, die Konzentration war bei Verdacht auf irreversible Pulpitis signifikant höher als in der gesunden Gruppe, zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis wurde kein Unterschied gefunden (Kokkas et al. 2007). Beim Vergleich der TNF- α -Konzentration in gesundem Pulpagewebe und der Pulpa irreversibel symptomatischer und irreversibel asymptomatischer Pulpa zeigten sich signifikante Unterschiede mit deutlich erhöhten Werten für die irreversible Entzündung (Pezelj-Ribaric et al. 2002). Ein deutlich erhöhtes Level an TNF- α fand sich auch im apikalen Exsudat von Zähnen mit Parodontitis apicalis, der Wert war abhängig von der Größe der periapikalen Läsion (Pezelj-Ribaric et al. 2002). EISalhy et al. (2013) beschreiben eine erhöhte TNF- α -Konzentration sowohl bei irreversibler Pulpitis als auch bei vermutlich reversibler Entzündung, der Unterschied zur gesunden Pulpa fiel aber für beide Gruppen signifikant aus.

In der vorliegenden Studie gelang mit Hilfe des ELISA in keinem Fall ein TNF- α -Nachweis. Da ebenso wie in der Studie von Kokkas et al. (2007) auch Pulpagewebe untersucht wurde, kann dieses Resultat nicht nur auf möglicherweise fehlende Diffusion über den Dentinliquor durch das Dentin oder zu geringe Probenvolumina zurückzuführen sein, sondern ist vermutlich im Nachweisverfahren begründet. Kokkas et al. (2007) benutzten ein modifiziertes PCR-Verfahren, Pezelj-Ribaric et al. (2002, 2007) arbeiteten ebenfalls mit dem ELISA-Test, verwendeten aber periapikales Exsudat oder Pulpagewebe und konnten das Zytokin jeweils in

Größenordnungen von 15 bis zu mehr als 2000 pg/ml Probe nachweisen. Für den hier verwendeten ELISA lag die untere Nachweisgrenze laut Herstellerangaben im niedrigen pg-Bereich, in Relation zu den übrigen untersuchten Zytokinen hätte der TNF- α -Nachweis demzufolge die geringsten Probenvolumina und Gewebekonzentrationen benötigt. Auch für den in unserer Studie nicht erbrachten Nachweis von TNF- α im Pulpagewebe bei irreversibler Pulpitis fehlt ein klar ersichtlicher Grund. Methodische Probleme können nicht ausgeschlossen werden, so wäre denkbar, dass die Adhärenz an Dentin das Aufsaugen des Faktors mit der Lösung verhindert.

In der bereits zitierten Untersuchung von ElSalhy et al. (2013) lag die TNF- α -Konzentration im Pulpablut sowohl in asymptomatischen Zähnen mit Pulpaexposition während der Kariesexkavation als auch in Zähnen mit irreversibler Pulpitis signifikant höher als in gesunden Zähnen, zwischen den beiden ersten Gruppen fand sich kein Unterschied.

Nakanishi et al. (1995) fanden keinen signifikanten Unterschied in der TNF- α -Konzentration zwischen normaler und entzündeter Pulpa. Auch Karapanou et al. (2008) konnten in der Sulkusflüssigkeit von Zähnen mit irreversibler Pulpitis kein TNF- α nachweisen. Als möglichen Grund geben sie an, dass das für ein ELISA notwendige Probenvolumen nicht erreicht worden sein könnte, es wäre aber auch möglich, dass TNF- α nur während der frühen Stadien einer Entzündung in messbaren Konzentrationen vorläge. Beides zusammen könnte erklären, warum in der vorliegenden Studie der TNF- α -Nachweis in keiner Probe positiv ausfiel.

Ob sich TNF- α angesichts dieser widersprüchlichen Resultate und methodischen Probleme als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnostik eignet, kann nicht abschließend geklärt werden.

6.3.6 Fibrinogen

Fibrinogen findet sich im entzündlichen Exsudat nach Pulpaschädigung z. B. durch Kavitätenpräparation, wo es an der Reparatur des geschädigten Gewebes beteiligt ist (Izumi et al. 1998). Das gebildete Fibrin-Netzwerk formt die erste Matrix der Geweberegeneration und bildet damit eine mechanische Barriere. Der Nachweis von Fibrinogen erfolgt am effektivsten über Immunfärbung. Fibrinogen ließ sich in allen

Proben nachweisen, die größten Mengen fanden sich im Pulpagewebe. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, dass Fibrinogen-Moleküle relativ groß sind und daher eine Passage durch das Dentin erschwert ist. Die Beschreibung einer reduzierten Dentinpermeabilität durch Fibrinanlagerung (Pashley et al. 1984) rechtfertigt diese Vermutung. Nach entzündungsbedingtem Anstieg der Gefäßpermeabilität und Austritt des Fibrinogens aus den Gefäßen kommt es schnell zur Konversion zu Fibrin und zur Koagulation. Bereits 3 Tage nach einem Präparationstrauma, auf den ein deutlicher Anstieg der Fibrinogen-Konzentration folgte, war das Zytokin nicht mehr im extravaskulären Bereich nachzuweisen (Izumi et al. 1998). Bei irreversibler Pulpitis fanden sich in der vorliegenden Studie jeweils 5fach höhere Werte als bei reversibler Pulpitis. Ob Fibrinogen zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis geeignet ist, müssen weitere Studien zeigen. Es ist aber zu vermuten, dass der quantitative Unterschied in den Konzentrationen hierfür nicht ausreichend ist.

6.3.7 Prostaglandin E2

Die Rolle von Prostaglandinen, speziell von PGE 2, in der menschlichen Pulpa und ihre Beteiligung an entzündlichen Prozessen wurden bereits mehrfach untersucht (Torabinejad und Bakland 1980, Cohen et al. 1985, Kim et al. 1992, Nakanishi et al. 1995, Miyauchi et al. 1996, Waterhouse et al. 1999, Ohnishi et al. 2000, Chidiac et al. 2002, Petrini et al. 2012). Es beteiligt sich am Entzündungsprozess durch Vasodilatation, erhöhte Gefäßpermeabilität, Knochenresorption, Chemotaxis Schmerzinduktion (Cohen et al. 1985, Kim et al. 1992). Chidiac et al. beschrieben eine Perfusionstechnik, die die Substratgewinnung ohne Exposition der Pulpa ermöglicht (Chidiac et al. 2002). In ihren Versuchen fanden sie nach induzierter Pulpaentzündung moderat erhöhte PGE 2-Konzentrationen. Cohen et al. (1985) ermittelten mit einem Radioimmunassay signifikante Unterschiede in den PGE 2-Konzentrationen im Pulpagewebe bei gesunder Pulpa, vermutlich chronisch entzündeter und vermutlich irreversibel entzündeter Pulpa. Erhöhte Werte bei entzündeter Pulpa beschrieben auch Nakanishi et al. (1995). Prostaglandin E2 wurde in einer histologischen Studie an exstirpiertem Pulpagewebe und einer radioimmunologischen Untersuchung als geeignetes Zytokin zur Differenzialdiagnose zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis identifiziert (Petrini et al. 2012). Da Prostaglandine über die Förderung der Expression des Hepatocyte Growth Factors (HGF) an der Regene-

ration der Pulpa beteiligt ist, wäre bei reversibler Pulpitis eine erhöhte PGE 2-Konzentration zu erwarten, wie dies auch bei Petrini et al. (2012) der Fall war, die beim Übergang in das irreversible Stadium dann signifikant zurückgeht. Die Autoren weisen allerdings darauf hin, dass die Einnahme von Analgetika die PGE 2-Levels in allen Gruppen deutlich reduzierte und den Unterschied zwischen reversibel und irreversibel entzündeten Pulpen leicht nivellierte.

Die in der vorliegenden Studie ermittelten Werte für PGE 2 lagen in Dentin und Liquor in einem sehr niedrigen Bereich. Die Werte lagen bei reversibler Pulpitis sowohl in Dentin als auch in Liquor 5-10mal höher als bei irreversibler Pulpitis. Im Pulpagewebe waren deutlich höhere Werte zu finden.

7. Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie ergeben keine direkt anwendbaren Fortschritte im Hinblick auf die nicht-pulpainvasive Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis.

Es lassen sich aber eine Reihe wichtiger Schlussfolgerungen sowohl hinsichtlich der Methodik als auch der Zielsetzung weiterführender Studien formulieren.

7.1 Methodik

- Prinzipiell ist der Nachweis einiger Entzündungsmediatoren in Dentinliquor und Dentinspänen möglich.
- Dieser Nachweis sollte idealerweise anhand einer klaren Ja/Nein-Entscheidung bei hoher Sensitivität und Spezifität *chairside* vorgenommen werden können, um umgehend therapieleitende Informationen zu erhalten.
- Notwendig erscheint ein Verfahren, mit dem die entnommene Substrat-/Gewebemenge quantifiziert werden kann.
- Die klarste Differenzierung gelang durch Zytokinmessung im Pulpagewebe, dies ist aber für die klinische Differenzierung nicht hilfreich, da die Absicherung der symptombezogenen Verdachtsdiagnose vor Exposition der Pulpa erfolgen sollte
- Teilweise höhere Messwerte für Dentin lassen es möglich erscheinen, den Nachweis von Entzündungsmediatoren über die Analyse von Dentinspänen zu führen, die einfacher und in größeren Quantitäten zu gewinnen sind als Dentinliquor. Hierzu wären weitere Erkenntnisse über das Diffusionsverhalten von Zytokinen durch das Dentin und mögliche Adhärenzen an das Dentin etc. sehr hilfreich.
- Zu bedenken ist, dass die Aussagekraft eines Messwertes für die Zytokinkonzentration bei irreversibler Pulpitis die Existenz von Referenzwerten für gesundes Pulpagewebe und eine reversible Pulpitis voraussetzt. Ebenso

ist zu klären, wie groß das Ausmaß der intra- und interindividuellen Schwankungen der Messwerte und Referenzwerte ist.

- Für weitere Studien wünschenswert wäre eine Vergleichsgruppe mit gesunder Pulpa, (z.B. aus entfernten Weisheitszähnen).
- Möglicherweise kann die Bestimmung der Entzündungsmediatoren über Liquor oder Dentin auch genutzt werden, um eine Pulpanekrose oder das Vorliegen einer Parodontitis apicalis sicherer zu diagnostizieren als mit Hilfe konventioneller Tests.
- In weiteren Untersuchungen wäre zu überprüfen, ob mit einem Zytokintest eine höhere Sensitivität und Spezifität in der Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis erzielt werden kann als mit der Laser-Doppler-Flowmetrie oder der Pulsoximetrie.
- Eine eindeutige Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis erscheint anhand der in dieser Studie überprüften Parameter mit der hier beschriebenen Methodik nicht möglich.

7.2 Zytokine

- Vielversprechend scheint die Analyse von PGE₂ und Fibrinogen zu sein, die aber andererseits beide über vergleichsweise hohe Nachweisgrenzen im ng-Bereich verfügen, also ein größeres Probenvolumen benötigen. Ob andere Zytokine oder bestimmte Kombinationen von Zytokinen sich für die Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis eignen, müssen weitere Studien überprüfen.
- Es bedarf weiterer Klärung, inwieweit die Zytokinexpression durch Einnahme von Medikamenten (NSAIDs, Analgetika, Antibiotika), verwendete Lokalanästhetika oder Chelatoren moduliert wird.
- Auch mit Hilfe der vorliegenden Studie ließ sich mit Ausnahme von PGE₂ kein Zytokin identifizieren, das im Liquor ausschließlich bei irreversibler oder reversibler Pulpitis vorlag.
- Da sich sowohl für PGE₂ als auch für Fibrinogen sowohl in Dentin als auch im Liquor ähnliche Relationen zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis fanden, sind diese beiden Zytokine möglicherweise zur Differenzialdiagnostik besser geeignet als die übrigen getesteten Zytokine. PGE₂ wäre den

vorliegenden Daten zufolge hierbei vermutlich eher für die reversible, Fibrinogen eher für die irreversible Phase der Entzündung spezifisch.

Die übrigen in der Zielsetzung der Studie formulierten Fragen lassen sich abschließend wie folgt beantworten:

- Lassen sich 8 ausgewählte Entzündungsmediatoren in einem klinisch nachweisbaren Stadium der reversiblen oder irreversiblen Pulpitis im Dentinliquor und in Dentinspänen bei noch nicht eröffneter Pulpa nachweisen?
 - Von den 8 ausgewählten Zytokinen ließen sich mit Ausnahme von TNF- α alle Zytokine in Dentinliquor und Dentinspänen nachweisen, wenn auch nur in sehr kleinen Mengen
- Stellen sich einzelne der getesteten Zytokine sich bei reversibler oder irreversibler Pulpitis unterschiedlich darstellen?
 - Die in dieser Studie ermittelten Unterschiede zwischen den Zytokinen lassen sich den Pulpitisformen nicht eindeutig zuordnen.
- Lassen sich für reversible und irreversible Pulpitis jeweils spezielle Zytokine identifizieren, die eine eindeutige Zuordnung zu einem der beiden Krankheitsbildern ermöglichen,
 - Eine eindeutige Zuordnung bestimmter Zytokine zur reversiblen oder irreversiblen Pulpitis ist anhand der Resultate dieser Studie nicht möglich. Die hat überwiegend methodische Gründe.
- Lassen sich für die beiden Pulpitisformen jeweils typische Kombinationen von auffälligen Zytokinen identifizieren?
 - Aus methodischen Gründen war es nicht möglich, entsprechende Zytokinkombinationen zu identifizieren.

- Lassen sich im Dentinliquor und in den Dentinspänen die gleichen Entzündungsmediatoren nachweisen lassen wie in der irreversibel entzündeten Pulpa.
 - Im Dentinliquor und in den Dentinspänen ließen sich die gleichen Entzündungsmediatoren nachweisen wie in der irreversibel entzündeten Pulpa.

Zusammenfassend geben die Ergebnisse und Erkenntnisse der vorliegenden Arbeit wichtige Hinweise für ein valides Studienprotokoll. Mit Hilfe des optimierten Studiendesigns erscheint es möglich, in Folgeuntersuchungen weitere Fortschritte bei der Entwicklung eines Chairside-Tests zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis anhand einer Zytokinbestimmung zu erzielen.

8. Zusammenfassung

Die Entzündung der Zahnpulpa vollzieht sich in mehreren Stadien von der gesunden Pulpa über die Hyperämie, die reversible Pulpitis und die irreversible Pulpitis bis zur infizierten Nekrose und apikalen Parodontitis. Die exakte Differentialdiagnose zwischen einer reversiblen und irreversiblen Pulpitis stellt eine wichtige Voraussetzung für die adäquate Therapie und das Überleben einer Pulpa dar. Das Standardverfahren der Diagnostik besteht aus einer Sequenz von Anamnese, klinischen Tests und Röntgenaufnahmen, welche nach sorgfältiger Auswertung die Art der Therapie vorgeben, Sensitivität und Spezifität der angewendeten Diagnoseverfahren sind jedoch nicht zufriedenstellend. Wünschenswert wäre daher die Differenzialdiagnostik mit Hilfe eines nicht pulpainvasiven Testes, der in optimaler Weise *chairside* angewendet und umgehend in eine spezifische Therapie umgesetzt werden kann. Ein solcher Test steht bislang nicht zur Verfügung.

Ziel der Studie

Es war daher Ziel der vorliegenden Studie, zur Entwicklung eines solchen Testverfahrens beizutragen. Es sollte überprüft werden, ob die qualitative und quantitative Messung von Zytokinen in der Dentinflüssigkeit, Dentinspänen und Pulpagewebe von Zähnen mit vermuteter reversibler und irreversibler Pulpitis zur Differenzialdiagnostik zwischen beiden Pulpitisstadien genutzt werden kann.

Material und Methode

Es wurden Proben von Dentinliquor und Dentinspänen von jeweils 15 Zähnen mit vermuteter reversibler und irreversibler Pulpitis gewonnen, bei irreversibler Pulpitis wurde zusätzlich Pulpagewebe analysiert. Mit Hilfe von ELISAs wurden die Proben auf Vorliegen 8 unterschiedlicher Zytokine (CGRP, Substanz P, IL-1, IL-6, MMP-8, Fibrinogen, TNF- α , PGE 2) untersucht.

Ergebnisse

Insgesamt zeigte sich in allen Gruppen eine breite Streuung der Messwerte, die in erster Linie auf den nicht standardisierten und nicht gemessenen Probenumfang, das

überwiegend nur sehr geringe Probenvolumen und die resultierende notwendige hohe Verdünnung zurückzuführen sind. Sowohl im Dentinliquor als auch in Dentin-spänen wie auch im Pulpagewebe bei irreversibler Pulpitis gelang der Nachweis von 7 der 8 ausgewählten Zytokine, lediglich TNF- α ließ sich durchgängig nicht nachweisen. Es wurden aber keine Unterschiede zwischen den überprüften Zytokinen ermittelt, die eine Anwendung zur präzisen Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis möglich und sinnvoll erscheinen lassen. Dies ist u. E. im Wesentlichen auf methodische Gründe (z. B. unzureichendes Probenvolumen, Probleme der Konzentrationsbestimmung u. a. m.) zurückzuführen.

Es konnten zahlreiche Ansatzpunkte identifiziert werden, die eine Effektivierung und Präzisierung der Methodik ermöglichen könnten. Dies muss in weiterführenden Studien verifiziert werden, in denen zusätzlich weitere Zytokine und deren Kombinationen auf ihre Eignung zur Differenzialdiagnostik getestet werden sollten.

Schlussfolgerungen

Das überprüfte Verfahren und die getesteten Zytokine sind in dieser Form zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis nicht geeignet. Die Ergebnisse und Erkenntnisse der vorliegenden Arbeit geben jedoch wichtige Hinweise für die Entwicklung eines validen Studienprotokolls. Mit Hilfe des optimierten Studiendesigns erscheint es möglich, in Folgeuntersuchungen weitere Fortschritte bei der Entwicklung eines Chairside-Tests zur Differenzialdiagnostik zwischen reversibler und irreversibler Pulpitis anhand einer Zytokinbestimmung zu erzielen.

9. Materialliste

ELISA

Human CGRP	SPI Bio Bertin Pharma, Montigny le Bretonneux, France
Substance P	R&D Systems, Abingdon, UK
PGE-2	R&D Systems, Abingdon, UK
Human total MMP-8	R&D Systems, Abingdon, UK
Human IL-1 β /IL-1F2	R&D Systems, Abingdon, UK
Human TNF- α	R&D Systems, Abingdon, UK
Human IL-6	R&D Systems, Abingdon, UK
Fibrinogen	US Biological, Swampscott, USA
PBS-Lösung	GIBCO, Fa. Invitrogen, Paisley, UK
Xylonest 2%	AstraZeneca GmbH, Wedel
Pipetten-Spitzen	STARLAB GmbH, Hamburg
Kofferdam	Sigma Dental Systems, Handewitt
Eppendorf-Cups	STARLAB GmbH, Hamburg
2ml Spritzen	BD Discardit II, Fraga, Spain
KETAC Fil	3M Espe, Neuss
Orthophosphorsäure	Ultradent Products, South Jordan, USA
Tofflemire Matrix-Band	Henry Schein Inc., Melville, USA
Matrizenhalter	Aesculap AG, Tuttlingen
LoBind Reagiergefäße	Eppendorf, Hamburg
Spritzenvorsatzfilter	Spectrum Laboratories, Omnilab, Göttingen
Mikrohomogenisator	Sigma-Aldrich, München

10. Literaturverzeichnis

Abd-Elmeguid A, Abdeldayem M, Kline LW, Moqbel R, Vliagoftis H, Yu DC (2013):
Osteocalcin Expression in Pulp Inflammation.
J Endod 39,865-872

Abella F, Patel S, Duran-Sindreu F, Mercadé M, Bueno R, Roig M (2012):
Evaluating the periapical status of teeth with irreversible pulpitis by using cone-beam
computed tomography scanning and periapical radiographs.
J Endod 38,1588-1591

Accorsi-Mendoza T, Silva E, Marcaccini AM, Gerlach RF, Duarte KM, Pardo AP, Line
SR, Zaia AA (2013):
Evaluation of gelatinases, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2, and
myeloperoxidase protein in healthy and inflamed dental pulp tissue.
J Endod 39,879-882

Anderson LM, Dumsha TC, McDonald NJ, Spitznagel JK (2002):
Evaluating IL-2 levels in human pulp tissue.
J Endod 28,651-655

Artese L, Rubini C, Ferrero G, Fioroni M, Santinelli A, Piattelli A (2002):
Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in healthy and inflamed human
dental pulps.
J Endod 28,20-23

Asgary S, Eghbal MJ, Ghoddusi J, Yazdani S (2013):
One-year results of vital pulp therapy in permanent molars with irreversible pulpitis:
an ongoing multicenter, randomized, non-inferiority clinical trial.
Clin Oral Invest 17,431-439

Avellan NL, Sorsa T, Tervahartiala T, Mäntylä P, Forster C, Kempainen P (2005):
Painful tooth stimulation elevates matrix metalloproteinase-8 levels locally in human
gingival crevicular fluid.
J Dent Res 84,335-339

Avellán NL, Sorsa T, Tervahartiala T, Forster C, Kemppainen P (2008):
Experimental tooth pain elevates substance P and matrix metalloproteinase-8 levels
in human gingival crevice fluid.

Acta Odontol Scand 66,18-22

Awawdeh L, Lundy FT, Shaw C, Lamey PJ, Linden GJ, Kennedy JG (2002):
Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related
peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth.

Int Endod J 35,30-36

Barkhordar RA, Hussain MZ, Hayashi C (1992):
Detection of interleukin-1 beta in human periapical lesions.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol 73,334-336

Barkhordar RA, Hayashi C, Hussain MZ (1999):
Detection of interleukin-6 in human pulp and periapical lesions.

Endod Dent Traumatol 15,26-27

Barthel CR, Rosenkranz B, Luenberg A, Roulet JF (2000):
Pulp capping of carious exposures: treatment outcome after 5 and 10 years.

J Endod 26,525-528

Baume LJ, Fiore-Donno G (1962):

Versuch einer Klassifizierung der Pulpaerkrankungen nach klinisch-
symptomatologischen Gesichtspunkten.

Zahnärztl Welt 73,709-715

Bazzoni F, Tamassia N, Rossato M, Cassatella MA (2010):
Understanding the molecular mechanisms of the multifaceted IL-10-mediated anti-
inflammatory response: lessons from neutrophils.

Eur J Immunol 40,2360-2368

Bender IB (2000):

Pulpal pain diagnosis--a review.

J Endod 26,175-179

Bergenholtz G, Jontell M, Tuttle A, Knutsson G (1993):

Inhibition of serum albumine flux across exposed dentine following conditioning with gluma primer, glutaraldehyde or potassium oxalates.

J Dent 21,220-227

Bowles WR, Withrow JC, Lepinski AM, Hargreaves K (2003):

Tissue Levels of Immunoreactive Substance P are Increased in Patients with Irreversible Pulpitis.

J Endod 29,265-267

Brännström M (1966):

Sensitivity of dentine.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol 21,517-526

Burgener B, Ford AR, Situ H, Fayad MI, Hao JJ, Wenckus CS, Johnson BR, BeGole EA, George A (2010):

Biologic markers for odontogenic periradicular periodontitis.

J Endod 36,1307-1310

Byers MR (1984):

Dental sensory receptors.

Int Rev Neurobiol 25,39-94

Byers MR (1992):

Effect of inflammation on dental sensory nerves and vice versa.

Proc Finn Dent Soc 88 (Suppl. 1), 459-506

Byers MR:

Neuropeptide immunoreactivity in dental sensory nerves: variation related to primary odontoblast function and survival.

In: Shimono M, Maeda T, Suda H, Takahashi K (eds.) Dentine/Pulp Complex.

Quintessence Publ, Tokyo 1996: 124-129

Byers MR, Matthews B (1981):

Autoradiographic demonstration of ipsilateral and contralateral sensory nerve endings in cat dentin, pulp and periodontium.

Anat Rec 201,249-260

Caviedes-Bucheli J, Arenas N, Guiza O, Moncada NA, Moreno GC, Diaz E, Munoz HR (2005):

Calcitonin gene-related peptide receptor expression in healthy and inflamed human pulp tissue.

Int Endod J 38,712–717

Caviedes-Bucheli J, Guitierrez-Guerra JE, Salazar F, Pichardo D, Moreno GC, Munoz HR (2007):

Substance P receptor expression in healthy and inflamed human pulp tissue.

Int Endod J 40,106-111

Caviedes-Bucheli J, Munoz HR, Azuero-Holguin MM, Ulate E (2008):

Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists.

J Endod 34,773-788

Chidiac JJ, Hawwa N, Baliki M, Safieh-Garabedian B, Rifai K, Jabbur SJ, Saade NE (2002):

A perfusion technique for the determination of pro-inflammatory mediators induced by intradental application of irritants.

J Pharmacol Toxicol Methods 46,125-130

Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley D (1995):
Dentinal Fluid Dynamics in Human Teeth, In Vivo.
J Endod 21,191-194

Coffey C, Ingram M, Bjorndal A (1970):
Analysis of human dentinal fluid.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 30,835–837

Cohen JS, Reader A, Fertel R, Beck M, Meyers NE (1985):
A radioimmunoassay determination of the concentrations of prostaglandin E2 and
F2alpha in painful and asymptomatic human dental pulps.
J Endod 11,330-335

Cooper PR, Smith AJ (2013):
Molecular mediators of pulp inflammation and regeneration.
Endod Topics 28,90-105

Dammaschke T, Leidinger J, Schäfer E (2010):
Long-term evaluation of direct pulp capping--treatment outcomes over an average
period of 6.1 years.
Clin Oral Investig 14,559-567

Delneste Y, Herbault N, Galea B, Magistrelli G, Bazin I, Bonnefoy JY, Jeannin P
(1999):
Vasoactive intestinal peptide synergizes with TNF-alpha in inducing human dendritic
cell maturation.
J Immunol 163,3071-3075

Dourda AO, Moule AJ, Young WG (1994):
A morphometric analysis of the cross-sectional area of dentine occupied by dentinal
tubules in human third molar teeth.
Int Endod J 27,184-189

D'Souza R, Brown LR, Newland JR, Levy BM, Lachman LB (1989):
Detection and characterization of Interleukin-1 in human dental pulps.
Arch Oral Biol 34,307-313

Durand SH, Flacher V, Roméas A, Carrouel F, Colomb E, Vincent C, Magloire H, Couble ML, Bleicher F, Staquet MJ, Lebecque S, Farges JC (2006):
Lipoteichoic acid increases TLR and functional chemokine expression while reducing dentin formation in In vitro differentiated human odontoblasts.
J Immunol 176,2880-2887

EISalhy M, Azizieh F, Raghupathy R (2013):
Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation.
Int Endod J 46,573-580

Emilia E, Neelakantan P (2015):
Biomarkers in the Dentin-Pulp Complex: Role in Health and Disease.
J Clin Pediatr Dent 39,94-99

Emshoff R, Moschen I, Strobl H (2008):
Treatment outcomes of dental injury diagnoses as related to blood flow measurements from teeth.
J Oral Rehabil 35,209-217

Evans D, Reid J, Strang R, Stirrups D (1999):
A comparison of laser Doppler flowmetry with other methods of assessing the vitality of traumatised anterior teeth.
Endod Dent Traumatol. 15,284-290

Farges JC, Keller JF, Carrouel F, Durand SH, Romeas A, Bleicher F, Lebecque S, Staquet MJ (2009):
Odontoblasts in the Dental Pulp Immune Response.
J Exp Zoo Mol Dev Evol 312B,425-436

Fosse G, Saele PK, Eide R (1992):

Numerical density and distributional pattern of dentin tubules.

Acta Odontol Scand 50,201-210

Fouad A:

Molecular mediators of pulpal inflammation.

In: Hargreaves KM, Goodis HE, Tay FR (Hrsg.): Seltzer`s and Bender`s Dental Pulp.

Quintessence Publ., Chicago 2012

Fristad I, Bletsa A, Byers M (2010):

Inflammatory nerve responses in the dental pulp.

Endod Topics 17,12-41

Gan SD, Patel KR (2013):

Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

J Invest Dermatol 133, doi:10.1038/jid.2013.287

Garberoglio R, Brännström M (1976):

Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules.

Arch Oral Biol 21,355-362

Geraldeli S, Li Y, Tjaederhane LS, Pashley DH, Morgan TA, Zimmerman MB, Brogden KA (2012):

Inflammatory mediators in fluid extracted from the coronal occlusal dentine of trimmed teeth.

Arch Oral Biol 57,264-270

Giuroiu CL, Caruntu ID, Lozneau L, Melian MV, Vataman M, Andrian S (2015):

Dental pulp: correspondences and contradictions between clinical and histological diagnosis.

BioMed Res Int 2015, doi.org/10.1155/2015/960321

Goetzl EJ, Banda MJ, Leppert D (1996):

Matrixmetalloproteinases in immunity.

J Immunol 156,1-4.

Gopikrishna V, Tinagupta K, Kandaswamy D (2007):

Evaluation of efficacy of a new custom-made pulse oximeter dental probe in comparison with electrical and thermal tests for assessing pulp vitality.

J Endod 33,411-414

Greth H:

Diagnostik der Pulpaerkrankungen.

Neusser, Berlin 1933

Gusman H, Santana R, Zehnder M (2002):

Matrix metalloproteinase levels and gelatinolytic activity in clinically healthy and inflamed human dental pulps.

Eur J Oral Sci 110,353-357

Hahn CL, Liewehr FR (2007a):

Relationships between Caries Bacteria, Host Responses, and Clinical Signs and Symptoms of Pulpitis.

J Endod 33,213-219

Hahn CL, Liewehr FR (2007b):

Update on the adaptive immune responses of the dental pulp.

J Endod 33,773-781

Harndt E (1938):

Histo-bakteriologische Untersuchungen der erkrankten Zahnpulpa.

Dtsch Zahn-Mund-Kieferheilk 5,85-97

Hellwig E, Klimek J, Attin T:

Strukturen der Pulpa und des umgebenden Gewebes.

In: Hellwig E, Klimek J, Attin T: Einführung in die Zahnerhaltung.

Urban & Fischer, München 2003, 247-252

Heyeraas KJ, Berggreen E (1999):

Interstitial Fluid Pressure in Normal and Inflamed Pulp.

Crit Rev Oral Biol Med 10,328-336

Holland GR, Botero TM (2014):

Pulp biology: 30 years of progress.

Endod Topics 31,19-35

Ingólfsson AR, Tronstad L, Hersh EV, Riva CE (1994):

Efficacy of laser Doppler flowmetry in determining pulp vitality of human teeth.

Endod Dent Traumatol 10:83-87

Isett J, Reader A, Gallatin E, Beck M, Padgett D (2003):

Effect of an Intraosseous Injection of Depo-Medrol on Pulpal Concentrations of PGE2 and IL-8 in Untreated Irreversible Pulpitis.

J Endod 29, 268-271

Izumi T, Yamada K, Inoue H, Watanabe K, Nishigawa Y (1998):

Fibrinogen/fibrin and fibronectin in the dentin-pulp complex after cavity preparation in rat molars.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 86,587-591

Jafarzadeh H, Abbott PV (2010a):

Review of pulp sensibility tests. Part I: general information and thermal tests.

Int Endod J 43,738-762

Jafarzadeh H, Abbott PV (2010b):

Review of pulp sensibility tests. Part II: electric pulp tests and test cavities.

Int Endod J 43,945-958

Karapanou V, Kempuraj D, Theoharides TC (2008):

Interleukin-8 is increased in gingival crevicular fluid from patients with acute pulpitis.

J Endod 34,148-151

Kim S, Liu M, Simchon S, Dörscher-Kim JE (1992):

Effects of selected inflammatory mediators on blood flow and vascular permeability in the dental pulp.

Proc Finn Dent Soc 88, Suppl 1: 387-392

Kirchner H, Kruse A, Neustock P, Rink L:

Cytokine und Interferone: Botenstoffe des Immunsystems.

Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 1993,30-34

Klausen B, Helbo M, Dabelsteen E (1985):

A differential diagnostic approach to the symptomatology of acute dental pain.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol 59,297-301

Knutsson G, Jontell M, Bergenholtz G (1994):

Determination of plasma proteins in dentinal fluid from cavities prepared in healthy young human teeth.

Arch Oral Biol 39,185-190

Kokkas AB, Goulas A, Varsamidis K, Mirtsou V, Tziafas D (2007):

Irreversible but not reversible pulpitis is associated with up-regulation of tumor necrosis factor-alpha gene expression in human pulp.

Int Endod J 40,198-203

Lambrecht BN (2001):

Immunologists getting nervous: neuropeptides, dendritic cells and T cell activation.

Respir Res 2,133-138

Lepinski AM, Hargreaves KM, Goodis HE, Bowles WR (2000):

Bradykinin levels in dental pulp by microdialysis.

J Endod 26,744-7

Levin LG (2013):

Pulp and periradicular testing.

J Endod 39,13-19

Li YP, Stashenko P (1992):

Proinflammatory cytokines tumor necrosis factor-alpha and IL-6, but not IL-1, down-regulate the osteocalcin gene promoter.

J Immunol 148,788-94

Linde A, Goldberg M (1993):

Dentinogenesis.

Crit Rev Oral Biol Med 4,679-728

Maita E, Simpson M, Tao L, Pashley D (1991):

Fluid and protein flux across the pulpodentine complex of the dog in vivo.

Arch Oral Biol 36,103-110

Mäntylä P, Stenman M, Kinane DF, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, Sorsa T (2003):

Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis.

J Period Res 38,436-439

Marending Soltermann M (2014a):

Diagnostik in der Endodontie: Wo ist die Evidenz? Teil I.

Endodontie 23,67-78

Marending Soltermann M (2014b):

Diagnostik in der Endodontie: Wo ist die Evidenz? Teil II.

Endodontie 23,133-149

Matthews B, Vongsavan N (1994):

Interactions between neural and hydrodynamic mechanisms in dentin and pulp.

Arch Oral Biol 39, Suppl:87S-95S

Mejàre IA, Axelsson S, Davidson T, Frisk F, Hakeberg M, Kvist T, Norlund A, Petersson A, Portenier I, Sandberg H, Tranaeus S, Bergenholtz G (2012):
Diagnosis of the condition of the dental pulp: a systematic review.
Int Endod J 45,597-613

Mesaros S, Trope M, Maixner W, Burkes EJ (1997):
Comparison of two laser Doppler systems on the measurement of blood flow of premolar teeth under different pulpal conditions.
Int Endod J 30,167-174

Miyauchi M, Takata T, Ito H, Ogawa I, Kobayashi J, Nikai H, Ijuhin N (1996):
Immunohistochemical demonstration of prostaglandins E2, F2a, and 6-keto-prostaglandin F1 α in rat dental pulp with experimentally induced inflammation.
J Endod 22,600-602

Mjör IA:
Pulp-Dentin Biology in Restorative Dentistry.
Quintessence Publ., Chicago 2002

Munson MA, Banerjee A, Watson TF, Wade WG (2004):
Molecular analysis of the microflora associated with dental caries.
J Clin Microbiol 42,3023-3029

Nakanishi T, Matsuo T, Ebisu S (1995):
Quantitative analysis of immunoglobulins and inflammatory factors in human pulpal blood from exposed pulps.
J Endod 21,131-136

Nakanishi T, Takegawa D, Hirao K, Takahashi K, Yumoto H, Matsuo T (2011):
Roles of dental pulp fibroblasts in the recognition of bacterium-related factors and subsequent development of pulpitis.
Jap Dent Sci Rev 47,161-166

Ng YL, Mann V, Rahbaran S, Lewsey J, Gulabivala K (2008):

Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature -- Part 2. Influence of clinical factors.

Int Endod J 41,6-31

Nissan R, Segal H, Pashley D, Stevens R, Trowbridge H (1995):

Ability of bacterial endotoxin to diffuse through human dentin.

J Endod 21,62-64

Ohkubo T, Shibata M, Yamada Y, Kaya H, Takahashi H (1993):

Role of substance P in neurogenic inflammation in the rat incisor pulp and the lower lip.

Arch Oral Biol 38,151-158

Ohnishi T, Suwa M, Oyama T, Arakaki N, Torii M, Daikuhara Y (2000):

Prostaglandin E2 predominantly induces production of hepatocyte growth factor/scatter factor in human dental pulp in acute inflammation.

J Dent Res 79,748-755

Olgart L (1996a):

Neural control of pulpal blood flow.

Crit Rev Oral Biol Med 7,159-171

Olgart L (1996b):

Neurogenic components of pulp inflammation.

In: Proceedings of the International Conference on Dentin/Pulp complex 1995 and the International Meeting on Clinical Topics of Dentin/Pulp Complex.

Quintessence Publ., Chicago, 169-176

Paris S, Wolgin M, Kielbassa AM, Pries A, Zakrzewicz A (2009):

Gene expression of human beta-defensins in healthy and inflamed human dental pulps.

J Endod 35,520-523

Pashley DH (1984):

Smear layer: physiologic considerations.

Oper Dent 3,13-29

Pashley DH, Galloway SE, Stewart F (1984):

Effects of fibrinogen in vivo on dentine permeability in the dog.

Arch Oral Biol 29,725-728

Pashley DH, Matthews WG (1993):

The effects of outward forced convective flow on inward diffusion in human dentine, in vitro.

Arch Oral Biol 38,577-582

Pashley DH (1996):

Dynamics of the Pulp-Dentin Complex.

Crit Rev Oral Biol Med 7,104-133

Patel S, Wilson R, Dawood A, Mannocci F (2012):

The detection of periapical pathosis using periapical radiography and cone beam computed tomography – Part I: pre-operative status.

Int Endod J 45,702-710

Patel T, Park SH, Lin LM, Chiapelli F, Huang GT-J (2003):

Substance P induces interleukin-8 secretion from human dental pulp cells.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 96,478-485

Paula-Silva FW, Ghosh A, Silva LA, Kapila YL (2009):

TNF-alpha promotes an odontoblastic phenotype in dental pulp cells.

J Dent Res 88,339–344

Petersson K, Söderström C, Kiani-Anaraki M, Lévy G (1999):

Evaluation of the ability of thermal and electrical tests to register pulp vitality.

Endod Dent Traumatol 15,127-131

Petrini M, Ferrante M, Ciavarelli L, Ceccarini A, Brunetti L, Vacca M, Spoto G (2012):
Prostaglandin E2 to diagnose between reversible and irreversible pulpitis.

Int J Immunopathol and Pharmacol 25,157-163

Pezelj-Ribaric S, Anic I, Brekalo I, Miletic I, Hasan M, Simunovic-Soskic M (2002):
Detection of tumor necrosis factor alpha in normal and inflamed human dental pulps.

Arch Med Res 33,482-484

Pezelj-Ribaric S, Magasic K, Prpic J, Miletic I, Karlovic Z (2007):

Tumor necrosis factor alpha in periapical tissue exudates of teeth with apical periodontitis.

Mediators Inflamm, doi:10.1155/2007/69416

Polat S, Er K, Akpınar KE, Polat NT (2004):

The sources of laser Doppler blood-flow signals recorded from vital and root canal treated teeth.

Arch Oral Biol 49,53-57

Puapichartdumrong P, Ikeda H, Suda H (2005):

Outward fluid flow reduces inward diffusion of bacterial lipopolysaccharide across intact and demineralised dentine.

Arch Oral Biol 50,707-713

Rauschenberger CR, Bailey JC, Cootauco CJ (1997):

Detection of human IL-2 in normal and inflamed dental pulps.

J Endod 23,366-370

Rodd HD, Boissonade FM (2000):

Substance P expression in human tooth pulp in relation to caries and pain experience.

Eur J Oral Sci 108,467-474

Rodd HD, Boissonade FM (2003):

Immunocytochemical investigation of neurovascular relationships in human tooth pulp.

J Anat 202,195-203

Rolla G, Oppermann RV, Bowen WH, Ciardi JE, Knox KW (1980):

High amounts of lipoteichoic acid in sucrose-induced plaque in vivo.

Caries Res 14,235-238

R&D Systems

Datenblatt Parameter Substance P

o. Verlag, o. Datum

Abingdon, UK

Schwendicke F, Stolpe M (2014):

Direct pulp capping after a carious exposure versus root canal treatment: a costeffectiveness analysis.

J Endod 40,1764-1770

Seltzer S, Bender IB, Ziontz M (1963):

The dynamics of pulp inflammation: correlations between diagnostic data and actual histologic findings in the pulp.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol 16,969-977

Seltzer S (1972):

Classification of pulpal pathosis.

Oral Surg 34,269-287

Setzer FC, Kataoka SH, Natrielli F, Gondim-Junior E, Caldeira CL (2012):

Clinical diagnosis of pulp inflammation based on pulp oxygenation rates measured by pulse oximetry.

J Endod 38,880-883

Shimauchi H, Miki Y, Takayama Y, Imai T, Okada H (1996):

Development of quantitative sampling method for periapical exudates from human root canals.

J Endod 22,612-615

Shin SJ, Lee W, Lee JI, Baek SH, Kum KY, Shon WJ, Bae KS (2011):

Matrix metalloproteinase-8 and substance P levels in gingival crevicular fluid during endodontic treatment of painful, non-vital teeth.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 112,548-554

Siqueira JF:

The defense: host-pathogen interactions and immune response.

In: Siqueira JF. Treatment of endodontic infections.

Quintessence Publ., Chicago 2011:41-62

Siqueira JF, Rocas IN

Preventing endodontic infections.

In: Siqueira JF. Treatment of endodontic infections.

Quintessence Publ., Chicago 2011: 206-209

Smith AJ, Tobias RS, Cassidy N, Plant CG, Browne RM, Begue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H (1994):

Odontoblast stimulation in ferrets by dentine matrix components.

Arch Oral Biol 39,13-22

Takahashi K (1990):

Changes in the pulpal vasculature during inflammation.

J Endod 16,92-97

Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T (2010):

The requirement of zinc and calcium ions for functional MMP activity in demineralized dentin matrices.

Dent Mat 26,1059-1067

Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T (1998):

The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions.

J Dent Res 77,1622-1629

Tonder KJ, Kvinnsland I (1983):

Micropuncture measurements of interstitial fluid pressure in normal and inflamed dental pulp in cats.

J Endod 9,105-109

Torabinejad M, Bakland L (1980):

Prostaglandins: their possible role in the pathogenesis of pulpal and periapical diseases. Part 2.

J Endod 6,769-771

Tsai C, Chen Y, Huang F, Su Y, Chang Y (2005):

The upregulation of matrix metalloproteinase-9 in inflamed human dental pulp.

J Endod 31,860-862

Tuncer LI, Alacam T, Oral B (2004):

Substance P expression is elevated in inflamed human periradicular tissue.

J Endod 28,329-332

Ueda I, Matsushima K (2001):

Stimulation of plasminogen activator activity and matrix metalloproteinases on human dental pulp-derived cells by tumor necrosis factor- α .

J Endod 27,175-179

Vongsavan N, Matthews B (1993):

Experiments on extracted teeth into the validity of using laser Doppler techniques for recording pulpal blood flow.

Arch Oral Biol 38,431-439

Wahlgren J, Salo T, Teronen O, Luoto H, Sorsa T, Tjäderhane L (2002):
Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and
periapical root-canal exudates.

Int Endod J 35,897-904

Waterhouse PJ, Whitworth JM, Nunn JH (1999):
Development of a method to detect and quantify prostaglandin E2 in pulpal blood
from cariously exposed, vital primary molar teeth.

Int Endod J 32,381-387

Weisleder R, Yamauchi S, Caplan DJ, Trope M, Teixeira FB (2009):

The validity of pulp testing: a clinical study.

J Am Dent Assoc 140,1013-1017

Wu Y, Sun H, Song F, Fu D, Wang J (2014):

DDIT3 overexpression increases odontoblastic potential of human dental pulp
Cells.

Cell Prolif 47,249–257

Yamada Y (1990):

Role of substance P on neurogenic inflammation in the rat dental pulp and inferior lip.

Fukuoka Shika Daigaku Gakkai Zasshi 17,198-214.

Zehnder M, Delaleu N, Du Y, Bickel M (2003):

Cytokine gene expression—part of host defense in pulpitis.

Cytokine 22,84-88

Zehnder M, Wegehaupt FJ, Attin T (2011):

A first study on the usefulness of matrix metalloproteinase 9 from dentinal fluid to
indicate pulp inflammation.

J Endod 37,17-20

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Michael Hülsmann, der die Arbeit angeregt und stets mit großer Geduld betreut hat. Durch seine ständige Unterstützung und Ideen hat er erheblich zum erfolgreichen Abschluss der Arbeit beigetragen. Auch stand jederzeit seine Tür offen, wenn ich einen Rat brauchte.

Des Weiteren gilt mein Dank auch Dr. Christian Holscher, der mit seinen Ideen und der Unterstützung bei der Probensammlung zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Weiterhin gilt mein Dank auch den Mitarbeitern der miprolab GmbH, vor allem Herrn Dr. Gessler und Prof. Dr. Niemeyer, für die Auswertung der Proben und die vielen interessanten Gespräche.

Lebenslauf

Am 03. Juni 1979 wurde ich, Gerold Steinmetz, in Leinefelde geboren. Ich bin verheiratet mit Andrea, habe 2 Töchter (Clara 7 und Johanna 2 Jahre) und bin im Eichsfeld aufgewachsen und wohnhaft.

Im Jahr 1998 legte ich mein Abitur am heutigen Marie-Curie-Gymnasium in Worbis ab. Danach absolvierte ich erfolgreich eine Ausbildung zum Verwaltungsfachangestellten.

Im Wintersemester 2003 begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Georg-August-Universität in Göttingen. Im Dezember 2008 erhielt ich meine Approbation als Zahnarzt.

Von Januar bis September 2009 war ich als Assistenz Zahnarzt in einer zahnärztlichen Praxis angestellt. Von Oktober 2009 bis Oktober 2015 war ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Poliklinik für Präventive Zahnmedizin, Parodontologie und Kariologie unter der Leitung von Frau Professor Dr. Annette Wiegand tätig.

Seit November 2015 arbeite ich als angestellter Zahnarzt in einer zahnärztlichen Praxis in Heilbad Heiligenstadt.