

Medizinische Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
CharitéCentrum 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie
(Leiter: Prof. Dr. A. M. Kielbassa)

**Mikroradiografische Untersuchung
zum Einfluss unterschiedlicher Elektrolytkonzentrationen
potentieller muzinbasierender Speichelersatzlösungen
auf demineralisiertes Dentin *in vitro***

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Zahnmedizinischen Doktorwürde
der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von
Anke Wassmund
aus Frankfurt / Main

Referent: Prof. Dr. A. M. Kielbassa

Koreferent: Prof. R.-R. Miethke

Gedruckt mit Genehmigung der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 07. Dezember 2007

Meinen Eltern

Wesentliche Teile dieser Dissertationsschrift wurden in der folgenden Arbeit publiziert:

Meyer-Lückel H, Kielbassa A M

Influence of calcium phosphates added to mucin-based saliva substitutes on bovine dentin.

Quintessence Int. 37: 537-544 (2006)

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
2. Literaturübersicht	4
2.1 Struktur von gesundem Dentin	4
2.2 Grundlagen der Kariesentstehung	5
2.3 Aufbau und Funktion der Speicheldrüsen	7
2.3.1 Zusammensetzung und Aufgabe von Speichel	9
2.3.2 Muzine	11
2.4 Speicheldrüsenerkrankungen	12
2.5 Xerostomie und ihre Folgen	15
2.5.1 Strahlenkaries	16
2.6 Therapiemöglichkeiten bei Xerostomie	17
2.7 Speichelersatzmittel	19
2.7.1 Das rheologische Verhalten von Speichelersatzmitteln	21
2.7.2 Wirkung von Speichelersatzmitteln auf die Zahnhartsubstanz	23
2.7.3 Wirkung der Elektrolyte Fluorid, Kalzium und Phosphat auf die Zahnhartsubstanz	24
3. Ziel der Untersuchung	27
4. Material und Methode	28
4.1 Vorbereitung der Dentinproben	28
4.2 Herstellung der einzelnen Lösungen und Durchführung der Versuche	29
4.3 Vorbereitung der Proben für die Mikroradiografie	31
4.4 Transversale Mikroradiografie	32
4.5 Herstellung der Mikroradiogramme	33
4.6 Mikroradiografische Auswertung	33
4.7 Statistische Auswertung	34

5. Ergebnisse	35
5.1 Exemplarische Darstellung der Effekte am Beispiel repräsentativer Proben	35
5.2 Quantitative Auswertung	37
5.2.1 Auswertung der Mineralverluste	37
5.2.2 Auswertung der Läsionstiefen	40
5.2.3 Auswertung des Einflusses unterschiedlicher Faktoren auf den Mineralverlust und die Läsionstiefe	42
5.2.3.1 Einfluss von Kalzium und Phosphat auf den Mineralverlust	43
5.2.3.2 Einfluss von Kalzium und Phosphat auf die Läsionstiefe	44
5.2.3.3 Einfluss von Fluorid und dem pH-Wert auf den Mineralverlust	45
5.2.3.4 Einfluss von Fluorid und dem pH-Wert auf die Läsionstiefe	47
5.3 Sättigungsgrad	48
6. Diskussion	49
7. Schlussfolgerung	56
8. Zusammenfassung	57
8.1 Deutsche Zusammenfassung	57
8.2 Summary	58
9. Literaturverzeichnis	59
10. Anhang	67
Materialliste	67
Danksagung	69
Curriculum Vitae	70

1. Einleitung

Unter Xerostomie versteht man die subjektiv empfundene Trockenheit der Mundhöhle, die meist gleichzeitig mit stark vermindertem Ruhespeichelfluss verbunden ist. Die Mundtrockenheit tritt einerseits als Nebenwirkung einer Vielzahl von Medikamenten auf, aber auch als Symptom von Erkrankungen, die mit einer Störung des Wasserhaushaltes einhergehen (Diabetes mellitus, Diabetes insipidus etc.). Darüber hinaus leiden Patienten nach einer Strahlentherapie im Kopf-Hals-Bereich unter einer ausgeprägten Mundtrockenheit, da es in Folge der Therapie zu einer irreversiblen Zerstörung von nicht regenerationsfähigem Drüsenparenchym kommt. Bei diesen Patienten verändert sich der Speichel nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ [JONGEBLOED et al., 1988]; dies ist häufig verbunden mit einem erhöhten Auftreten von Karies.

Da es sich bei den meisten Patienten, die unter den Folgen einer Hyposalivation leiden, um ältere Menschen handelt, lassen sich häufiger Gingivarezessionen und freiliegende Dentinoberflächen beobachten als bei jüngeren Patienten. Diese Bereiche sind besonders empfänglich für eine foudroyant verlaufende Karies nach einer Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich („Strahlenkaries“) [WILLICH et al., 1988]. Um dieser Folgeerscheinung vorzubeugen, bedarf es einerseits strenger präventiver Maßnahmen; andererseits sollten die häufig zur Therapie eingesetzten Speichelersatzmittel eine remineralisierende Wirkung auf die Zahnhartsubstanz aufweisen. Auf dem Markt sind derzeit auch Produkte erhältlich, die offensichtlich eine demineralisierende Wirkung auf die Zahnhartsubstanz ausüben [KIELBASSA et al., 2001, MEYER-LUECKEL und KIELBASSA, 2002].

Als Basisstoff der meisten gängigen Speichelersatzmittel dienen Polymere, wie Muzine, Leinsamenextrakte oder Carboxymethylcellulose. Deren Zusatz zu einem Speichelersatzmittel erhöht jedoch dessen Viskosität im Vergleich zu humanem Speichel, was zu einer Reduktion der remineralisierenden Eigenschaften führen kann. Mit höheren Kalzium- und Phosphatkonzentrationen konnten hingegen remineralisierende Eigenschaften auf die Zahnhartsubstanz festgestellt werden [VISSINK et al., 1985, VISSINK et al., 1984]. Bei muzinbasierten Speichelersatzmitteln ist bisher jedoch ungeklärt, inwiefern das remineralisierende Potential durch den Zusatz verschiedener Kalzium- und Phosphatkonzentrationen in Bezug auf Dentin gesteigert werden kann.

2. Literaturübersicht

2.1 Struktur von gesundem Dentin

Dentin ist der Hauptbestandteil des menschlichen Zahnes, gibt ihm seine spezifische Gestalt und bildet den die Pulpa umgebenden Hartsubstanzmantel. Es werden einzelne Zonen des Dentins unterschieden, die vor allem durch variierende Mineralisationsgrade gekennzeichnet sind. Der innerste, zur Pulpa gewandte Bereich ist das Prädentin, welches hypomineralisiert ist. Die das Prädentin nach außen umgebende Zone, das Zwischendentin, ist hypermineralisiert. Daran schließen sich das stärker mineralisierte zirkumpulpale Dentin und das weniger stark mineralisierte Manteldentin bis zur Schmelz-Zement-Grenze an [HELLWIG et al., 2003].

Im Wurzelbereich ist das Dentin von Zement umgeben, im koronalen Bereich hingegen von Schmelz. Dentin ähnelt in seiner chemischen Struktur dem Wurzelzement und dem Knochen; von Schmelz hingegen unterscheidet es sich jedoch deutlich [ANGMAR, 1970]. Dentin besteht zwar, ähnlich wie Schmelz, zum größten Teil aus anorganischem Material (70 Gew.%), weist jedoch einen wesentlich höheren Anteil an organischer Substanz (20 Gew.%) auf. Die restlichen 10 Gew.% stellen Wasser dar. Der anorganische Teil besteht hauptsächlich aus Kalzium und Phosphat, welches entweder in kristalliner Form als Apatit oder als Kalziumphosphat vorliegt. Die organische Matrix besteht zu 91 - 92 % aus Kollagen, fast ausschließlich vom Typ I, und zu 8 - 9 % aus nicht kollagener Grundsubstanz (Chondroitinsulfat, Muko- und Sialoproteine, Lipide, Zitrat, Laktat) [JONES und LEAVER, 1974].

Dentin wird von Odontoblasten gebildet, die in der Zahnpulpa liegen. Sie sind nach ihrer Differenzierung nicht mehr teilungsfähig, bleiben aber lebenslang zur Sekundär- und Tertiärdentinbildung fähig. Die Odontoblastenfortsätze ziehen sich durch das gesamte Dentin bis zur Schmelz-Zement-Grenze. Die Fortsätze werden von Filamenten durchzogen, die eine Größe von 5 - 8 nm besitzen und in Dentinkanälchen liegen. Diese verlaufen im koronalen Bereich s-förmig und im Wurzelbereich geradlinig nach außen. Jeder Fortsatz ist von Dentinliquor umgeben, welcher den periodontoblastischen Raum ausfüllt.

Das peritubuläre Dentin, welches eine dichte, homogene und die am stärksten mineralisierte Dentinstruktur ist, kleidet die Wände der Dentinkanälchen aus.

Die Dentinkanälchen sind durch das weniger dicht mineralisierte, aus kollagenem Flechtwerk bestehende intertubuläre Dentin voneinander getrennt. Wird die Härte von Dentin mit der von Schmelz verglichen, ergibt sich ein deutlich geringerer Wert für Dentin. Die Vickers-Härte (HV) von 82,5 ist bei einer Belastung von 25 p in allen Bereichen des Dentins konstant. Allerdings weichen die pulpanahen und peripheren Bereiche hiervon ab, da dort die Härte (HV) um 20 - 30 reduziert ist [SCHEMEL et al., 1984].

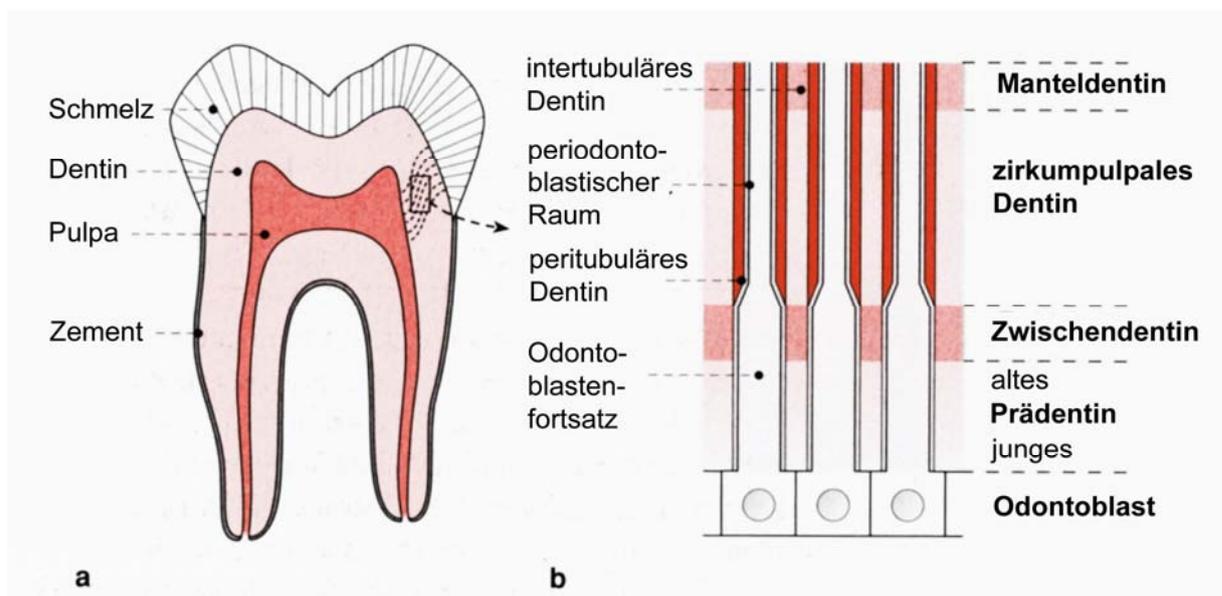


Abb. 1: Schematische Darstellung der Dentinstruktur und der Dentinkanälchen (Hellwig et al., 2003).

2.2 Grundlagen der Kariesentstehung

Karies ist eine Erkrankung der Zahnhartsubstanzen aufgrund einer Störung des lokalen Gleichgewichtes zwischen De- und Remineralisation. Die von Miller (1898) aufgestellte und mittlerweile allgemein akzeptierte Theorie der Kariesentstehung besagt, dass als deren Ursache kariogene Mikroorganismen in der Mundhöhle (Plaque) gelten, die bei einem ausreichenden Angebot von kariogenem Substrat organische Säuren produzieren. Diese organischen Säuren entmineralisieren bei ausreichend langer Wirkzeit die Zahnhartsubstanz (Wirt) aufgrund des dadurch bedingten Absinkens des pH-Wertes unter den kritischen Wert von 5,2 - 5,7 für Schmelz und 6,2 - 6,7 für Dentin [HELLWIG et al., 2003]. Wie in der folgenden Abbildung dargestellt, führt das Zusammenwirken der drei Faktoren Wirt, Substrat und Plaque zur Kariesentstehung (Abb. 2).

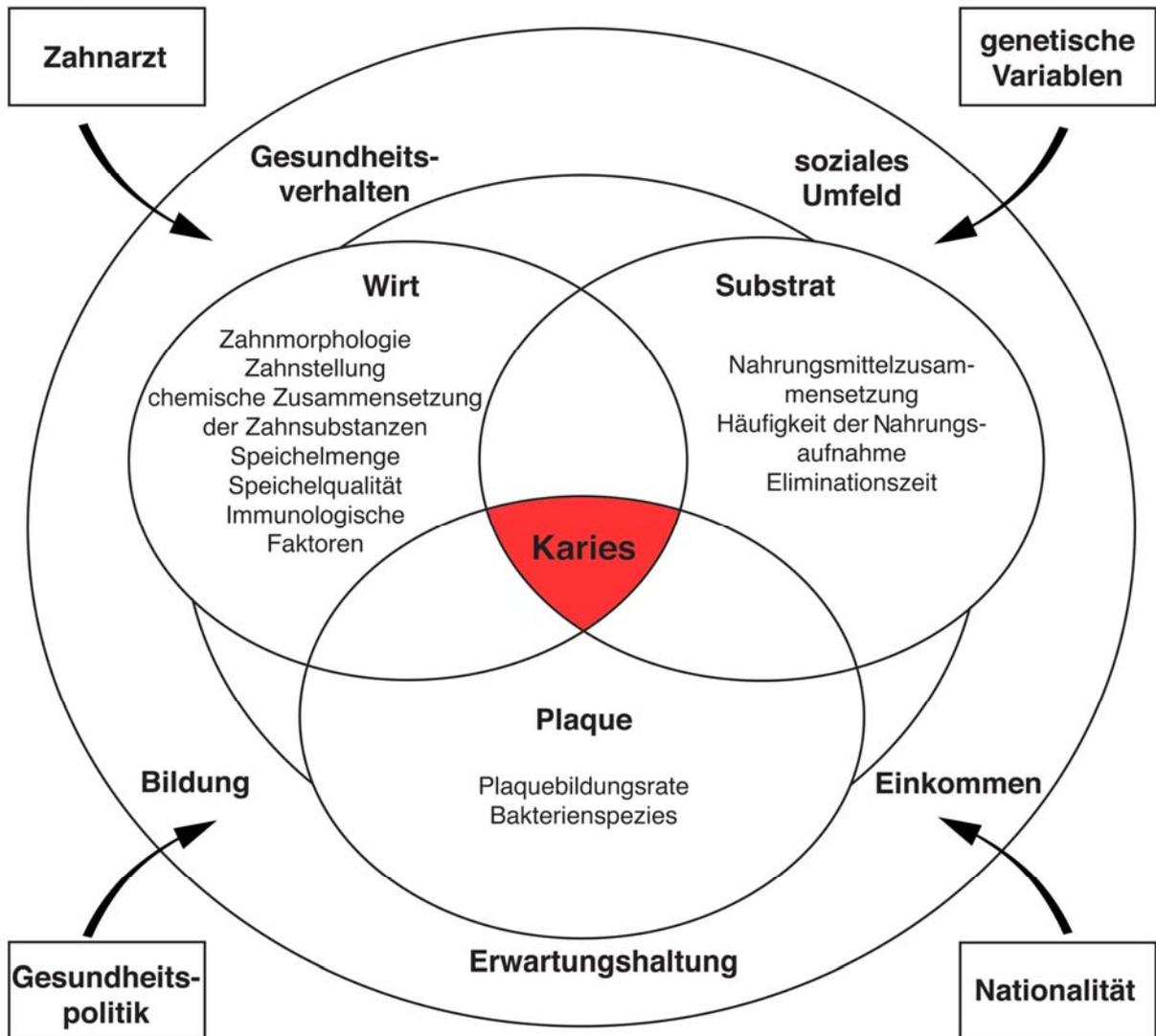


Abb. 2: Schematische Darstellung der wichtigsten ätiologischen Faktoren, die für die Entstehung einer Karies verantwortlich sind (Abbildung modifiziert nach Fejerskov und Manji, 1990, übernommen aus Hellwig et al. 2003).

Neben den genannten Hauptfaktoren Wirt, Substrat und Plaque spielen aber auch sekundäre Faktoren eine Rolle. Neben sozioökonomischen Faktoren wie dem Gesundheitsverhalten, der Bildung, dem sozialen Umfeld und dem Einkommen beeinflussen auch Faktoren wie z. B. die Zahnmorphologie und -stellung oder die Häufigkeit der Nahrungsaufnahme die Kariesprävalenz eines Menschen. Von großer Bedeutung ist hierbei auch die Funktion des Wirtfaktors Speichel, einem physiologischen Schutzsystem, dass sich aus der Sulkusflüssigkeit und dem Sekret der großen und kleinen Speicheldrüsen zusammensetzt. Zum einen kleidet der Speichel die Mundhöhle mit einem dünnen Schutzfilm aus, was durch die Anwesenheit von Muzinen und Glykoproteinen möglich ist; zum anderen stellt er ein Puffersystem dar. Dabei ist

besonders der Bikarbonatpuffer zu erwähnen, denn Bikarbonat diffundiert in den strukturierten, zähen Zahnbelag (Plaque) und kann dort organische Säuren während einer kariogenen Attacke neutralisieren. Somit wird der Zeitraum verlängert, in dem eine Remineralisation bereits demineralisierter Zahnbereiche durch den Speichel stattfinden kann. Da der Speichel eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung ist, können sich diese Ionen nach einer Demineralisationsphase wieder in die Zahnoberfläche einlagern [LAGERLOF und OLIVEBY, 1994].

Von entscheidender Bedeutung für diese Wirkung ist die chemische Zusammensetzung und die Menge des Speichels, die in Abhängigkeit von Nahrung und psychischen Einflüssen variiert. Eine erhöhte Speichelmenge ist von Vorteil für den Abtransport von Nahrung und für die Spülfunktion, die einer Kolonisation der Zahnhartsubstanz durch Mikroorganismen entgegenwirkt.

Eine verminderte oder völlig fehlende Speichelsekretion ist jedoch nicht immer psychisch bedingt oder von der Nahrung abhängig. Dies kann auch Folge einer Erkrankung sein oder als Nebenwirkung einiger Medikamente, wie z. B. bei Antidepressiva auftreten [GROETZ, 2002]. Die beschriebenen dynamischen Vorgänge kommen dadurch aus dem Gleichgewicht. In der Folge geht die Schutzfunktion des Speichels verloren und die Zahnhartsubstanz ist kariogenen Mikroorganismen deutlich stärker ausgesetzt.

2.3 Aufbau und Funktion der Speicheldrüsen

Die Speicheldrüsen werden in kleine und große Drüsen unterteilt, deren Sekret der Speichel ist. Den großen Drüsen ist zum einen eine umgebende Bindegewebskapsel gemein, von der Bindegewebssepten ins Organinnere ziehen und die einzelnen Lappen und Läppchen bilden. Zum anderen weisen sie ein Parenchym auf, das aus Drüsenendstücken und Ausführungsgängen besteht. Im Bindegewebe verlaufen zahlreiche Blut- und Lymphgefäße sowie Nerven, die sich im Organ selbst stark verzweigen und schließlich um die Drüsenendstücke bzw. Ausführungsgänge dichte Netzwerke aus Kapillaren und Nervenfasern bilden [JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1996]. Drüsenendstücke bestehen aus sezernierenden Zellen, wohingegen sich Ausführungsgänge aus Schalt- und Streifenstücken zusammensetzen. Diese liegen intralobulär sowie interlobulär und interlobär und münden schließlich in einen Ductus excretorius.

Mit der Sekretion des sogenannten Primärspeichels in den Endstücken beginnt die Speichelbildung. Je nach Aufbau der Endstücke wird ein seröser (dünnflüssig, protein- und enzymreich) oder muköser (schleimig, enzymarm) Speichel gebildet, dessen Elektrolytzusammensetzung sich während des Transports durch die Ausführungsgänge immer wieder verändert. Besonders in den Streifenstücken wird der Speichel durch Natriumresorption und aktive Abgabe anderer Elemente wie Jod und Kalium modifiziert [GROETZ, 2002]. In den Ausführungsgängen wird darüber hinaus aktiv Hydrogenkarbonat sezerniert, dessen Gehalt bei Stimulation ansteigt und den Mundspeichel bis auf einen pH-Wert von 7,8 alkalisiert und puffert. Mit steigender Sekretion wird der Speichel immer weniger hypoton [JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1996].

Die kleinen Speicheldrüsen liegen in der Schleimhaut der Mundhöhle selbst und werden je nach ihrer Lage benannt [JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1996]. Die Glandulae labiales, buccales und molares sind gemischte Drüsen. Dies bedeutet, dass diese seröse und muköse Anteile aufweisen. Die Gll. palatinae sind mukös und die Gll. linguales sind je nach Lokalisation rein serös, mukös oder gemischt.

Die großen Speicheldrüsen liegen bis auf die Gll. sublinguales außerhalb der Mundhöhle, ihr Sekret entleeren sie über Drüsengänge jedoch in die Mundhöhle. Die Ohrspeicheldrüsen (Gll. parotidae = Parotiden) sind die größten der drei großen paarig angelegten Mundspeicheldrüsen. Bei den Ohrspeicheldrüsen handelt es sich um rein seröse Drüsen, die vorwiegend Verdünnungsspeichel liefern. Durch den Kauakt werden diese aufgrund ihrer anatomischen Lage massiert und auf diese Weise zur Sekretion angeregt.

Die Gll. submandibulares, die Unterkieferdrüsen, sind hingegen sero-muköse Drüsen, die Verdünnungs- und Schmierseichel produzieren. Die Ductus submandibulares münden vereint mit den Ductus der dritten großen Speicheldrüsen, denen der Gll. sublinguales, im Mundboden unter der Zunge auf den Carunculae sublinguales [WALDEYER und MAYET, 1993]. Die Gll. sublinguales sind zusammengesetzte muko-seröse Speicheldrüsen, die vorwiegend zähflüssigen Schleim als Sekret absondern [SAMANDARI und MAI, 1995].

Die nervale Versorgung erfolgt aus dem vegetativen Nervensystem, wobei die sympathische Komponente (adrenerge Fasern) aus den Ganglii cervicales

superius stammt und die Produktion eines hoch viskösen Speichels vermittelt. Der parasympathische Anteil mit seinen cholinergen Fasern entstammt den Hirnnerven VII und IX und vermittelt die Produktion eines dünnflüssigen Speichels [GROETZ, 2002].

2.3.1 Zusammensetzung und Aufgabe von Speichel

Speichel hat die Aufgabe, die Schleimhaut der Mundhöhle und den Mundhöhleninhalt zu befeuchten und gleitfähig zu machen. Darüber hinaus leitet der Speichel die Verdauung ein, wirkt bakterizid und dient der immunologischen Abwehr.

Speichel ist zusammengesetzt aus Wasser (99 %), organischen und anorganischen Substanzen, die individuell in ihrer Konzentration stark voneinander abweichen können. Zu den wichtigsten anorganischen Bestandteilen gehören Natrium, Kalium, Kalzium, Phosphat, Chlorid, Magnesium, Hydrogenkarbonat und Fluorid, während Enzyme, Proteine und Glykoproteine (Muzine) zu den organischen Bestandteilen zählen.

Am Tag sezernieren die kleinen und die großen paarigen Speicheldrüsen eine Gesamtmenge von 0,5 - 1,0 l Speichel in die Mundhöhle. Es gibt erhebliche tageszeitliche Schwankungen, wobei nachts eine sehr geringe Speichelproduktion zu beobachten ist, die in den Mittags- bis Nachmittagsstunden ein Maximum erreicht [MACHTENS, 1991].

Ein Teil des Speichels, der Ruhespeichel, wird kontinuierlich in die Mundhöhle abgesondert. Die Sekretion des Speichels kann durch emotionale, psychische und Umweltfaktoren beeinflusst werden, z. B. durch Aufregung reduziert oder durch Reizung der Geschmacksrezeptoren oder Sinnesnerven gesteigert werden.

Dieser so genannte "Reizspeichel" wird hauptsächlich von den Gll. parotidae sezerniert, da diese über größere Speichelreserven verfügen und auf einen Reiz hin einen Teil ihres Sekretdepots ausschütten können [SEIFERT et al., 1984].

Anhand der Zusammensetzung des Speichels, die letztlich von der Sekretionsrate, dem Stimulationsgrad, der Stimulationsart und -dauer und von der entsprechenden Drüse abhängt, lassen sich die vielen Funktionen des Speichels erkennen (Tab. 1 und 2).

Tab. 1: Wichtige, physiologische Speichelfunktionen (Groetz, 2002)

Antikariogene Wirkung durch	antiinflammatorische Wirkung (Mukositis und Parodontitis) durch	Unterstützende Wirkung bei der Nahrungs- / Flüssigkeitsaufnahme durch	Sonstige wichtige Funktionen
<ul style="list-style-type: none"> - Mechanische Reinigung der Zahnoberflächen - Remineralisation des Schmelzes durch Kalzium, Phosphat, Fluorid und Statherin - Pufferkapazität (HCO₃-Gehalt, Phosphat und Proteine und Stabilisierung des pH-Wertes - antibakterielle Effekte kariogener Erreger - Beschichtung der Zahnoberfläche (Glykoproteine, Muzine) 	<ul style="list-style-type: none"> - Antikörper Insbesondere IgA - Lysozym - Laktoferrin - Muzin - Laktoperoxidase - Neuraminsäurereste der Glykoproteine 	<ul style="list-style-type: none"> - Gleitmittelfunktion für Kau- und Schluckakt - Andauung von Nahrung durch Amylasen und Proteasen - Unterstützung der Geschmacksperzeption - Unterstützung der Regulation des Wasserhaushaltes durch Vermittlung des Durstgefühls 	<ul style="list-style-type: none"> - Mukosalubrifikation für Phonetik und Sprechen - Mukosalubrifikation für Prothesenadaptation - Ausscheidungsfunktion für Medikamente, anorganische Substanzen (Jod, Rhodanid), Schwermetalle (Quecksilber) und Keime (Viren)

Der Speichel hat demnach mechanische, fermentative und biologische Funktionen. Er enthält Amylasen für die Kohlenhydratspaltung, das Enzym Lysozym für die bakterielle Bekämpfung, den Schleimstoff Muzin für den Schutz der Schleimhaut gegen chemische und mechanische Einwirkung und zur Gleitfähigkeit der Nahrung sowie Elektrolyte, die den Mineralspiegel des Zahnes aufrechterhalten [HELLWIG et al., 2003].

Tab. 2: Funktion des Speichels und einzelner Speichelkomponenten (Hellwig et al., 2003)

Funktion	Beteiligte Speichelkomponenten
Spülfunktion	Gesamtflüssigkeit
Pufferung von Säuren	Bikarbonat, Phosphat, Proteine
(Re-) Mineralisation	Fluorid, Phosphat, Kalzium, Statherin
Beschichtung	Glykoproteine, Muzin
Antibakterielle Aktivität	Antikörper, Lysozym, Laktoferrin, Laktoperoxidase
Andauung von Nahrung	Amylase, Proteasen

2.3.2 Muzine

Muzine sind Schleimstoffe aus der Gruppe der Glykoproteine, die von Haut und Schleimhäuten zum Schutz gegen chemische und mechanische Einwirkungen ausgeschieden werden und einen wesentlichen Bestandteil des Speichels darstellen.

Die im menschlichen Speichel vorhandenen Muzine, die einen Anteil von 7 - 26 % an den gesamten Speichelproteinen haben [LEVINE, 1993, SLOMIANY et al., 1996, SLOMIANY et al., 1996], bewirken durch Herabsetzung der Oberflächenspannung einen idealen Feuchtfilm, der auf der Mund- und Rachenschleimhaut lange haften bleibt, ohne jedoch zu Verklebungen und damit zu mechanischen Hindernissen zu führen [MATZKER und SCHREIBER, 1972].

Muzine unterstützen viel mehr neben der Benetzung der Gewebe mit einem Feuchtfilm das Emulgieren der Nahrung und somit auch das Kauen, Schlucken und Verdauen. Hinzu kommen antimikrobielle Eigenschaften, da sie Interaktionen mit Bakterien, Pilzen und Viren eingehen [LEVINE, 1993].

Muzine, besonders die, die aus den mukösen Speicheldrüsen sezerniert werden, schützen also orale Gewebe/Oberflächen vor chemischer (z. B. Demineralisation und Erosion) und vor mechanischer Einwirkung, (z. B. Attrition und Abrasion). Darüber hinaus bieten sie Schutz vor mikrobieller Invasion, was für die Erhaltung von adäquat funktionierenden epithelialen Geweben von großer Bedeutung ist [NIEUW AMERONGEN et al., 1987].

Muzine sind charakterisiert durch eine hohe Anzahl und eine hohe Diversität unterschiedlicher Oligosaccharid-Seitenketten, die Peptide vor Denaturation bei extremen pH-Werten schützen und darüber hinaus gegen eine proteolytische Denaturation wirken. Muzin verleiht den Polypeptiden bereits in geringer Konzentration eine einzigartige Viskoelastizität, so dass diese an sämtlichen Oberflächen haften und auf diese Weise einen gewissen Schutz für das darunter liegende Gewebe bieten [NIEUW AMERONGEN et al., 1995].

Bei den Muzinen im humanen Speichel werden zwei verschiedene Gewichtsformen unterschieden, die Produkte unterschiedlicher Gene sind [TABAK, 1990]. Zum einen existiert das MG₁, welches die schwere Form darstellt (> 1000 kDa) und aus einer Kette kovalent gebundener Glykosyl-Untereinheiten besteht. Zum anderen ist das MG₂ zu finden, welches mit einem Molekulargewicht von 200 - 300 kDa die leichtere Form darstellt und aus einer

einzelnen Glykosyl-Peptid-Kette besteht [COHEN und LEVINE, 1989, SLOMIANY et al., 1993, TABAK, 1990].

Bei MG_1 ist die Hälfte der Oligosaccharide heterogener als bei MG_2 . Die Mehrzahl der Kohlenhydratketten an MG_2 sind Di- und Trisaccharide, wohingegen bei MG_1 2 - 20 Zuckerreste zu finden sind [LEVINE und REDDY, 1987]. Während MG_2 in dieser Form ausschließlich in der Mundhöhle auftritt, hat MG_1 strukturelle Ähnlichkeiten mit anderen Muzinen im Körper. Zu den Funktionen von MG_1 gehört die Ausbildung der Viskoelastizitäten, die Pellicleausformung und die selektive Interaktion mit Mikroorganismen aufgrund der Heterogenität der Oligosaccharidketten. Diese heterogene Struktur der Seitenketten verhindert starke Bindungen zwischen dem MG_1 und einer Vielzahl von Mikroorganismen, da sie für viele Mikroorganismen nicht kompatibel ist. MG_2 hingegen zeigt einen wesentlich einfacheren und uniformeren Aufbau in den Kohlenhydratketten und kann dadurch mit mehreren Mikroorganismen in Wechselwirkung treten [NIEUW AMERONGEN et al., 1995].

Humane Speichelmuzine binden hauptsächlich an Hydroxylapatit, wobei MG_2 im Gegensatz zu MG_1 aufgrund der fehlenden Sulfatreste am Molekül nur sehr schwach bindet. Ebenso hemmen tierische Muzine, wie die, die aus dem Magen des Schweines gewonnen werden, durch ihre Bindung an Hydroxylapatit dessen Auflösung. Durch die großen Mengen an Kalzium, die an das Schweinemuzin binden, steigt die gesamte Kalziumkonzentration in der entsprechenden Lösung an, wodurch eine Demineralisation der Zahnhartsubstanz gehemmt werden kann [VAN DER REIJDEN et al., 1997].

2.4 Speicheldrüsenerkrankungen

Speicheldrüsenerkrankungen, die mit einer Verringerung der Speichelmenge (Gesamtruhespeichelfließrate $< 0,1$ ml/min, stimulierte Gesamtspeichelfließrate $< 0,5$ ml/min) einhergehen, können nach Imfeld [IMFELD, 1984] in funktionelle, die ausschließlich quantitativer Natur sind, und organische Erkrankungen, die eine quantitative und qualitative Veränderung mit sich bringen, unterschieden werden. Zu den funktionellen Verringerungen der Speichelmenge zählen zum einen die Sialadenosen, wobei hier neurogene, endokrine und metabolisch-dystrophische Sialadenosen differenziert werden. Gemeinsam ist ihnen die Xerostomie als Leitsymptom mit beidseitig rezidivierender, schmerzloser

Speicheldrüsenschwellung, wobei die Parotis die meist betroffene Speicheldrüse ist. Weiterhin zählen zu den funktionellen Verringerungen der Speichelmenge diejenigen, die pharmakologisch bedingt sind, wie sie z. B. bei der Einnahme von Antidepressiva auftreten können. Diese können die Freisetzung von Acetylcholin in den parasymphatischen Synapsen der Azinuszellen hemmen. Die Folge ist eine verminderte Sekretionsrate aufgrund der fehlenden Innervation der Speicheldrüsen [SEIFERT et al., 1984].

Aber auch emotionale und psychogene Erkrankungen, wie chronische Angstzustände, Psychosen oder Depressionen [BROWN, 1970] können zu einer Verringerung der Speichelmenge bis hin zu einer manifesten Hyposalivation führen. Eine weitere Ursache stellt eine mechanische Abflussbehinderung dar, wie sie bei der Sialolithiasis zu finden ist, bei der es zur Verlegung des Ausführungsganges kommt. Der Speichel kann nicht mehr ungehindert abfließen, so dass es zu einem Rückstau des Speichels kommt, der folglich mit einer Schwellung der entsprechenden Speicheldrüse verbunden ist. Zu einer solchen Stenose im Ausführungsgang kann es auch durch Narben nach Traumata oder Operationen kommen. Weitere Auslöser einer Sekretionsstörung können begründet sein in einer operativen Speicheldrüsenentfernung, darüber hinaus in febrilen Allgemeinerkrankungen oder aber in Stoffwechselerkrankungen wie Diabetes mellitus. Eine messbare Verminderung des Speichelflusses konnte darüber hinaus bei konstantem Lichtmangel beobachtet werden, der z. B. Bergleute betrifft [SHANNON et al., 1972].

Zu den organischen Erkrankungen, die quantitative und qualitative Veränderungen des Speichels mit sich bringen, zählt unter anderem die Radioxerostomie. Durch die Bestrahlung von Tumoren im Kopf-Hals-Bereich kommt es je nach Strahlendosis zu einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Xerostomie. Hierbei sind die am häufigsten betroffenen Speicheldrüsen die Parotiden, da die serösen Drüsenazini als besonders strahlensensibel gelten. Im Anfangsstadium der Behandlung kommt es zu einer Schwellung der Drüse und weitergehend durch die erhöhte Permeabilität der Endothelzellen periduktulärer Kapillaren zu einem interstitiellem Ödem [GROETZ, 2002]. Anschließend tritt eine Kompression von kleinen Speicheldrüsengängen auf, die mit einer diskreten obstruktiven Sialadenitis und der Destruktion von Gangepithelien einhergeht. Für die irreversible Schädigung der Drüse ist jedoch die anschließende Phase

verantwortlich, in der es zu einer interstitiellen Fibrose, einer Degeneration von Drüsenzini mit Atrophie kommt und schließlich kleine Gefäße fibrosieren.

Klinisch zeigt sich zunächst eine irritative Hypersalivation, auf die bei Fortführen der Strahlentherapie eine Hyposekretion folgt. Es verändert sich nicht nur die Menge des Speichels, sondern auch dessen Viskosität und die farbliche Erscheinung. Der Speichel imponiert dann als ein zähfließendes, weiß bis gelbbraun intensiv schäumendes Sekret [GROETZ, 2002, ZIMMERMANN et al., 1998].

Ein weiteres Krankheitsbild, das Sjögren-Syndrom, gilt als Ursache organisch bedingter Verringerungen der Speichelmenge. Bei dieser Autoimmunerkrankung richten sich die Autoimmunglobuline gegen die Speicheldrüsendangepithelien. Es kommt zu einer chronischen Sialadenitis der Kopfspeichel- und Tränendrüsen, so dass im späteren Krankheitsstadium das Sekret nicht mehr durch die Ausführungsgänge weitergeleitet wird, und dadurch häufig eine starke Schwellung der Parotiden zu beobachten ist. Weiterhin geht diese Erkrankung mit einer Keratokonjunctivitis sicca, einer rheumatoiden Arthritis oder anderen bindegewebigen Erkrankungen und der Xerostomie einher [SEIFERT et al., 1984, ZIMMERMANN et al., 1998].

Die Sialadenitis, die ebenfalls zu der Gruppe der organisch bedingten Hyposalivation gehört, kann zum einen viralen oder aber bakteriellen Ursprungs sein. Der klassische Vertreter der viralen Sialadenitis ist die Parotitis epidemica (Mumps), die typischerweise Kinder betrifft. Ursache für eine bakterielle Entzündung sind ascendierende Keime aus der Mundhöhle, z. B. aufgrund einer Abflussbehinderung. Die Verringerung der Speichelmenge ist hier reversibel. Sobald die Entzündung abgeklungen ist, normalisiert sich der Speichelfluss wieder.

Eine weitere Untergruppe stellen die Speicheldrüsentumore dar, die durch ihre Ausbreitung bzw. Ausdehnung großen Einfluss auf die Funktionalität der Speicheldrüsen haben. Hierbei steht jedoch nicht die Xerostomie als Symptom im Vordergrund; Priorität haben hier Diagnostik und Therapie der Neoplasie [GROETZ, 2002].

2.5 Xerostomie und ihre Folgen

Xerostomie ist die subjektiv empfundene Trockenheit der Mundhöhle mit meist stark vermindertem Speichelfluss, die je nach Schweregrad der Erkrankung unterschiedlich ausgeprägt ist und nur vorübergehend oder aber permanent auftreten kann. Die um 90 % herabgesetzte Speichelproduktion bei Patienten, die sich beispielsweise einer Kopf-Hals-Bestrahlung unterziehen, äußert sich in einer stimulierten Speichelfließrate, die nicht mehr wie bei einem gesunden Menschen bei 1 - 3 ml/min [HELLWIG et al., 2003], sondern nur noch bei 0,08 ml/min [DREIZEN et al., 1976] liegt.

Dies hat zur Folge, dass die betroffenen Patienten beim Sprechen, Kauen und Schlucken unter starken Schmerzen leiden. Diese werden bedingt durch Zahnfleisch- oder Zungenbluten und Brennen im Mundbereich sowie Druckstellen und Unverträglichkeit von Prothesen, die aus der Hyposalivation resultieren [GUCHELAAR et al., 1997, JOYSTON-BECHAL und KIDD, 1987]. Zusätzlich sind durch die verschiedentlich diskutierte strahlenbedingte Zerstörung der Geschmacksknospen und der innervierenden Nerven auch Geschmacksveränderungen (Hypogeusie bzw. Dysgeusie) oder gar ein vollständiger Verlust des Geschmacksinns (Ageusie) beobachtet worden [CONGER und WELLS, 1969, CONGER, 1973, SILVERMAN et al., 1983]. An tierexperimentellen Versuchen konnte gezeigt werden, dass eine Dosis von 20 Gy an 20 - 30 % der Zellen einer Geschmacksknospe Nekrosen hervorrufen kann [MOSSMAN, 1986], wobei sich in den meisten Fällen die Zellen vier Monate nach der Therapie regenerieren.

Der Speichel verändert sich jedoch auch qualitativ, indem er zähfließender wird, sich gelblich bis bräunlich verfärbt und sein pH-Wert von 6,8 auf 5,0 fällt [BEN-ARYEH et al., 1975]. Somit verliert der Speichel nicht nur seine Pufferwirkung, sondern auch seine antimikrobielle Wirkung. Daraus resultieren zum einen Pilzkrankungen in der Mundhöhle, zum anderen steigt das Kariesrisiko stark an [JOYSTON-BECHAL und KIDD, 1987]. Durch die verlängerte Phase, in der die Zähne den nur langsam abgepufferten Säuren ausgesetzt sind, kann die Zahnhartsubstanz durch erosive Attacken ungehemmt demineralisieren, es sei denn, die Patienten unterziehen sich strengen präventiven Maßnahmen [GUCHELAAR et al., 1997]. Denn bereits durch die Eindickung des Speichels ist die Selbstreinigung der Mundhöhle herabgesetzt, zusätzlich verursacht die nach

einer Strahlentherapie häufig entstehende Mukositis so starke Schmerzen bei den Patienten, dass sie ihre Mundhygiene einschränken. Das Verhältnis kariogener Mikroorganismen wie *Streptokokkus mutans* zu nicht kariogenen Mikroorganismen steigt und durch die ebenfalls in der Folge der verminderten Immunabwehr entstehende Candidiasis gerät die natürliche Mundflora aus dem Gleichgewicht. Die Menge an *Streptokokkus mutans*, *Lactobacillus*, *Candida* und *Streptokokkus sanguis* nimmt drastisch zu [BROWN et al., 1975].

2.5.1. Strahlenkaries

Die Strahlenkaries ist eine häufige Folgeerscheinung der Xerostomie bei Patienten, die sich einer Strahlentherapie im Kopf-Hals-Bereich unterziehen müssen. Durch die bereits in der ersten Woche der Therapie entstehende Schädigung der Speicheldrüsen im Kopfbereich kommt es bei den betroffenen Patienten zu einer Hyposalivation [DREIZEN et al., 1976]. Mit der verminderten Speichelfließrate und dem durch die Bestrahlung verringerten pH-Wert [ENGELMEIER und KING, 1983] geht auch die Schutzfunktion des Speichels verloren, was die Kariesentstehung fördert. Aufgrund des verminderten Gehaltes an Bikarbonat sinkt die Pufferwirkung des Speichels [BEN-ARYEH et al., 1975]. Die Einwirkzeiten auf die Zahnhartsubstanz der durch die Nahrung aufgenommenen Säuren steigen und tragen zu einer Demineralisation der Zahnhartsubstanz bei. Das remineralisierende Potential des Speichels ist ebenfalls reduziert, so dass kariogene Bakterien, die in der Mundhöhle überhand nehmen, ungehemmt auf die Zahnhartsubstanzen einwirken können.

Eine strahlungsbedingte Xerostomie (Radioxerostomie) verursacht typischerweise an den Inzisalkanten der Frontzähne und an freiliegenden Zahnhälsen kariöse Läsionen [GROETZ et al. , 2001]. Darüber hinaus stellen insbesondere bei älteren Strahlenpatienten Bereiche freiliegenden Dentins ein erhebliches Problem dar, da sie besonders anfällig für Karies sind. Diese Anfälligkeit erklärt sich aus dem kritischen pH-Wert des Dentins, der im Vergleich zu Schmelz (5,2 - 5,7) bei 6,2 - 6,7 liegt [HOPPENBROUWERS et al., 1987]. Dentin demineralisiert also leichter als Schmelz; somit sind besonders die Bereiche freiliegenden Dentins durch den bei Strahlenpatienten herabgesetzten pH-Wert des Speichels betroffen.

Um der erhöhten Kariesgefahr im Zusammenhang mit einer Strahlentherapie entgegenzuwirken, ist es von großer Bedeutung, die Patienten zu Präventivmaßnahmen anzuhalten [GUCHELAAR et al., 1997], zumal die Selbstreinigung der Mundhöhle durch die quantitative und qualitative Veränderung des Speichels vermindert ist und die Mundhygiene bei den betroffenen Patienten nur schwer durchzuführen ist. Der Kariesprävention dienen Mundhygieneinstruktionen, die die Patienten vor Beginn der Therapie erhalten sowie der Verzicht auf kohlenhydratreiche Kost, um Mikroorganismen in der Mundhöhle möglichst wenig Substrat zu bieten. Des Weiteren unterstützen Fluoridierungsschienen, die bereits vor der Radiatio hergestellt und während der Therapie regelmäßig kontrolliert werden, die Vorbeugung einer Strahlenkaries [DGZMK UND DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR RADIOONKOLOGIE, 2002].

Darüber hinaus wirken Füllungstherapien, die Erneuerung insuffizienter Versorgungen und die Extraktion von Zähnen, die eine fragliche Prognose haben, möglichen Infektionsherden in der Mundhöhle entgegen [DGZMK UND DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR RADIOONKOLOGIE, 2002]. Die Therapie der Hyposalivation selbst, der eigentlichen Ursache der Strahlenkaries, versucht den verminderten Speichelfluss durch Medikamente zu steigern oder bei dessen gänzlichem Ausbleiben den Speichel zu ersetzen und somit die Kariesentstehung ebenfalls zu hemmen.

2.6 Therapiemöglichkeiten bei Xerostomie

Aufgrund bisher fehlender kausaler Therapiemöglichkeiten bei der Hyposalivation beschränkt sich das Behandlungsziel auf die symptomatische Erleichterung der Mundtrockenheit [MEYER-LUECKEL und KIELBASSA, 2002]. Diese kann zum einen durch die Verwendung von Mundspüllösungen und Speichelersatzmitteln erreicht werden, zum anderen reicht es bei einer weniger stark ausgeprägten Trockenheit der Mundhöhle aus, die Speicheldrüsen durch gustatorisch-mechanische bzw. systemische Stimulierung anzuregen [GUCHELAAR et al., 1997, IMFELD, 1984].

Für Patienten, die unter Mundtrockenheit leiden, ist es sinnvoll, feste Nahrung zu sich zu nehmen, da durch den Kauvorgang der Speichelfluss angeregt wird. Da dies für einige Patienten jedoch schwer durchführbar ist, beispielsweise aufgrund einer Mukositis, erleichtert Wasser die Zerkleinerung der möglichst

faserreichen, kauzwingenden Nahrung. Der Speichelfluss lässt sich jedoch auch durch Süßigkeiten, wie z. B. Bonbons, Kaugummis oder saure Getränke anregen. Diese Art von Stimulantien ist allerdings nicht unbedenklich, da durch den Säuregehalt Erosionen und Demineralisationen an der Zahnhartsubstanz entstehen können, die bei einer reduzierten Speichelfließrate zu vermeiden sind. Auch beim unbezahnten Patienten sollte darauf verzichtet werden, da die Mundschleimhaut leicht irritierbar ist und empfindlich auf säurehaltige Nahrungsmittel reagieren kann [VAN DER REIJDEN et al., 1999].

Eine sinnvolle Speichelstimulation ist das Kauen von zuckerfreien Kaugummis. Hierbei wird die Speichelsekretion angeregt und darüber hinaus dient der Kaugummi als Träger für Substanzen wie Fluoride, Chlorhexidin und Nikotin und stellt so eine Möglichkeit dar, die Zahn- und Mundgesundheit zu verbessern [ITTHAGARUN und WIE, 1997]. Auch wenn eine Multizenterstudie ergab, dass ein solcher Kaugummi im Vergleich zu Speicheleratzmitteln und zu verschiedenen Kaubonbons von Xerostomie-Patienten besser beurteilt wurde [BJORNSTROM et al., 1990], halten andere Autoren die Wirksamkeit eines zuckerfreien Kaugummis für fraglich. Besonders für Patienten mit sehr geringer Speichelproduktion gelten Kaugummis als problematisch, da diese nur bei einer relativ hohen verbliebenen Speichelproduktion eine Erleichterung der Mundtrockenheit bewirken [VAN DER REIJDEN et al., 1999].

Neben diesen Möglichkeiten können aber auch systemisch wirkende Medikamente wie Nikotinamid und Pilocarpin verabreicht werden, um den Speichelfluss zu stimulieren. Problematisch in diesem Zusammenhang ist jedoch, dass viele Patienten besonders nachts unter der Hyposalivation leiden und die nur am Tage einsetzbaren Speichelstimulantien insofern keine ausreichende Abhilfe versprechen. Weiterhin ist zu bedenken, dass diese Speichelstimulantien nur dann einsetzbar sind, wenn eine Restaktivität der Speicheldrüsen vorhanden ist. Auch dann sind die Nebenwirkungen dieser Medikamente, wie Blutdrucksenkung, Bronchokonstriktion, Tonussteigerung des Darmes mit Diarrhoe und Anregung der Säureproduktion im Magen und die damit angezeigten Kontraindikationen, wie z. B. Herzinsuffizienz, Hyperthyreose und Asthma bronchiale zu beachten [WOLPERT et al., 1980].

Patienten, die unter einer stärker ausgeprägten Form der Hyposalivation leiden und bei denen Speichelstimulantien somit nicht mehr ausreichen, greifen auf

Mundspüllösungen bzw. Speichelersatzmittel zurück. Bis zur Entwicklung von komplexeren Speichelersatzmitteln, die dem natürlichen Speichel immer ähnlicher werden, verwendete man einfache Mundspüllösungen wie Olivenöl, Salzwasser oder Tee. Vor allem Tee scheint aufgrund des hohen Fluoridgehaltes eine kariesprotektive Wirkung zu besitzen. Bestimmte Teesorten ermöglichten bei Ratten eine Kariesreduktion von 56 - 72 % [YU et al., 1995]. Neben Tee und Milch erwiesen sich auch glycerinhaltige Lösungen als wirksam, da diese visköser sind und somit die Mundschleimhaut besser benetzen [IMFELD, 1984]. Wichtig ist dabei, dass die Lösungen zum einen keine die Schleimhaut reizenden Alkohole enthalten und zum anderen ihr pH-Wert nicht im sauren Bereich liegt oder einen relativ hohen Gehalt an titrierbarer Säure enthält. Dies ist besonders bei bezahnten Patienten von Bedeutung, da im In-vitro-Versuch eine potentiell schädigende Wirkung auf Dentin festgestellt werden konnte [MEYER-LUECKEL et al., 2002]. Die Verwendung von Mundspüllösungen, Tee, Milch oder Wasser besitzt allerdings den Nachteil, dass ihre geringe Substantivität eine sehr häufig zu wiederholende Befeuchtung der Mundschleimhaut notwendig macht [VISSINK et al., 1988].

2.7 Speichelersatzmittel

Aufgrund der schlechten viskoelastischen Eigenschaften der bis Anfang der siebziger Jahre verwendeten Mundspüllösungen wurde Anfang der 1970er Jahre das erste Speichelersatzmittel entwickelt [MATZKER und SCHREIBER, 1972]. Von einem Speichelersatzmittel wird erwartet, dass es eine lang anhaltende Befeuchtung der Zahnhartgewebe und der Schleimhäute ermöglicht. Zusätzlich sollte es ein remineralisierendes Potential und eine antimikrobielle Wirkung gegen karies- und parodontopathogene Keime aufweisen [GUIJARRO et al., 2001, IMFELD, 1984, LEVINE und AGUIRRE et al., 1987]. Darüber hinaus sollten Speichelersatzmittel die Mundtrockenheit über einen möglichst langen Zeitraum lindern und den Patienten geschmacklich ansprechen.

Bei der Herstellung des ersten Speichelersatzmittels wurde Carboxymethylcellulose (CMC) als Basisstoff verwendet, dem Kalzium und Phosphat zugesetzt wurden. Zur Süßung und zur Verbesserung der Oberflächenaktivität war zusätzlich Sorbitol enthalten. Es zeigte sich, dass die Kombination von

Sorbitol und CMC im Vergleich zu natürlichem Speichel in einer höheren Viskosität des Präparates resultierte [LEVINE und AGUIRRE, 1987].

In den darauffolgenden Jahren wurden immer mehr Speichelersatzmittel mit den unterschiedlichsten Basisstoffen und Zusätzen auf den Markt gebracht. Gegenwärtig werden in Speichelersatzmitteln Substanzen von Natrium-Carboxymethylcellulose (Na-CMC), Carboxyethylcellulose (CEC), Sorbitol, Hydroxyethylcellulose (HEC) und Polyethylenoxid (POE) bis hin zu Leinsamenöl und tierischen Muzinen verwendet. Daneben werden sie mit variierenden anorganischen Substanzen, Enzymen und unterschiedlichen pH-Werten versetzt. Eine wichtige Rolle spielt neben der Steigerung des oralen Wohlbefindens die Wirkung eines Speichelersatzmittels auf die Zahnhartsubstanz [KIELBASSA und MEYER-LUECKEL, 2001].

In vorangegangenen Versuchen konnte für künstliche Speichelersatzmittel ein nicht zu vernachlässigendes, demineralisierendes Potential auf die Zahnhartsubstanzen [JOYSTON-BECHAL und KIDD, 1987, KIELBASSA und SHOHADAI, 1999, KIELBASSA et al., 2001] nachgewiesen werden. Da zu dieser Fragestellung in der Literatur nur vereinzelte Hinweise existieren und diese sich vornehmlich auf Schmelz beziehen [GELHARD et al., 1983, KIELBASSA und SHOHADAI, 1999, KIELBASSA et al., 2001, VISSINK et al., 1985], untersuchten Kielbassa et al. [2001] verschiedene Speichelersatzmittel und deren Wirkung auf den Mineralgehalt von Dentin [KIELBASSA und MEYER-LUECKEL, 2001]. Die Autoren lagerten bovine Dentinproben in verschiedenen auf dem Markt erhältlichen „künstlichen Speicheln“, wobei ein Mineralwasser und zwei Mundspüllösungen als Kontrollgruppen dienten. Dabei wurde festgestellt, dass Speichelersatzmittel, die einen sehr niedrigen pH-Wert haben und einen hohen Gehalt an titrierbarer Säure sowie gleichzeitig keine oder nur geringe Mengen an Elektrolyten wie Kalzium, Phosphat und Fluorid enthalten, einen demineralisierenden Charakter aufweisen. Besonders Fluorid scheint dabei eine wichtige Rolle zu spielen, denn nach Lagerung der Proben in einer fluoridhaltigen Mundspüllösung (Meridol[®]), die einen pH-Wert von nur 3,88 besitzt, war an den Proben keine Demineralisation erkennbar. Aus der Literatur ist bekannt, dass Fluoride die Löslichkeit von Hydroxylapatit positiv beeinflussen [LARSEN und NYVAD, 1999]. Der relativ hohe Gehalt an Fluorid in Mundspüllösungen, in diesem Fall Meridol[®], scheint somit bei den untersuchten

Proben einer Demineralisation entgegenzuwirken [KIELBASSA und MEYER-LUECKEL, 2001].

Ein anderer wichtiger Aspekt für die Beurteilung von Speichelersatzmitteln ist der bereits erwähnte Basisstoff, das Verdickungsmittel. Am häufigsten wird bei den Präparaten CMC oder Muzin verwendet. Muzinhaltige Präparate werden hinsichtlich ihrer Wirkung als Gleitmittel denen auf CMC-Basis von Patienten vorgezogen [VISCH et al., 1986]. Darüber hinaus befeuchten sie die Zahnhartsubstanzen besser und scheinen einen höheren Schutz vor Attrition zu bieten [HATTON et al., 1987]. Zwar besitzen CMC-haltige Speichelersatzmittel ein vorteilhafteres Remineralisationsverhalten als die auf Muzin basierenden Präparate, jedoch kann dies durch die Zugabe von Kalzium in muzinhaltigen Lösungen gesteigert werden. Aufgrund der Affinität von Muzin zu Kalzium bildet sich ein Schutzfilm aus, der bei einer Demineralisation protektive Eigenschaften entfaltet [GELHARD et al., 1983, NIEUW AMERONGEN et al., 1987, VAN DER REIJDEN et al., 1997].

Zusammenfassend ist festzustellen, dass sich zur Linderung der bei ausgeprägter Xerostomie auftretenden Beschwerden fluoridhaltige Speichelersatzmittel eignen, die vorzugsweise auf Muzin basieren und darüber hinaus Kalzium und Phosphat enthalten [KIELBASSA und MEYER-LUECKEL, 2001].

2.7.1 Das rheologische Verhalten von Speichelersatzmitteln

Das rheologische Verhalten von Speichelersatzmitteln sollte dem des natürlichen Speichels weitgehend ähnlich sein. Dies betrifft zum einen die Viskosität und die Elastizität und zum anderen das adhäsive Verhalten eines Präparates [MEYER-LUECKEL und KIELBASSA, 2002].

So sollte das ideale Speichelersatzmittel lang anhaltend die Schleimhäute und Zahnhartsubstanzen benetzen, um das Gewebe vor dem Austrocknen und folglich vor Verletzungen zu bewahren und zusätzlich die Zahnhartsubstanz vor erosiven Angriffen und Demineralisationen schützen. Je nach Zusammensetzung der Speichelersatzmittel werden diese Ziele mehr oder weniger erreicht [GUIJARRO et al., 2001, IMFELD, 1984, LEVINE und AGUIRRE, 1987].

Schon Ende der siebziger Jahre konnte festgestellt werden, dass hochmolekulares Polyethylenoxid (PEO) in wässriger Lösung in seinem

rheologischen Verhalten den viskoelastischen Eigenschaften des natürlichen Speichels sehr ähnlich ist [ROBERTS, 1977]. Auch im Vergleich zu einem Produkt auf CMC-Basis konnte es die Symptome der Xerostomie besser lindern. Seine klebrige Eigenschaft führte jedoch zu technischen Herstellungsproblemen und einer starken Haftung an der Verpackungsflasche. Zudem wurde es in einer weiteren Untersuchung als relativ hoch viskös eingestuft. Deshalb wurden Speichelersatzmittel auf PEO-Basis im Unterschied zu den favorisierten Speichelersatzmitteln auf Muzinbasis bisher nicht zur Marktreife geführt [VISSINK et al., 1984].

In einer weiteren Studie wurden drei verschiedene Speichelersatzmittel im Vergleich zu natürlichem Speichel auf ihre Viskosität und ihre filmbildenden Eigenschaften an der Grenzschicht zwischen Zahn/Flüssigkeit und Luft/Flüssigkeit untersucht. Es wurden Speichelersatzmittel auf Leinsamenbasis, CMC- und Muzinbasis getestet. Dabei stellte sich heraus, dass bezüglich der Viskosität das auf Muzin basierende Präparat Saliva Orthana® dem natürlichen Speichel am ähnlichsten war, während Salinum, das Präparat auf Leinsamenbasis, die höchste Viskosität aufwies. MAS 84 (CMC) lag mit seinen Werten im Mittelbereich. Auch was die Oberflächenspannung betrifft, schnitt Saliva Orthana® am besten ab [CHRISTERSSON et al., 2000]. Zu begründen ist dies durch die enthaltenen Muzine, die auch im natürlichen Speichel für eine Herabsetzung der Oberflächenspannung sorgen und einen idealen Feuchtigkeitsfilm auf der Mund- und Rachenschleimhaut bereitstellen, der lange haftet, ohne dabei zu verkleben [NIEUW AMERONGEN et al., 1987]. Schon in früher durchgeführten Versuchen zeigten Ersatzstoffe auf Muzinbasis im Vergleich zu Produkten auf CMC-Basis sowohl auf poliertem Schmelz als auch auf oraler Mukosa gut befeuchtende Eigenschaften [VISSINK et al., 1986]. So müssen CMC-Produkte aufgrund der geringeren Substantivität, bedingt durch schlechteres adhäsives Verhalten und weniger gut befeuchtende Eigenschaften von den Patienten häufiger verwendet werden als muzinhaltige Präparate [VISSINK et al., 1983]. Deshalb favorisieren nicht nur verschiedene Autoren die auf Muzin basierenden Speichelersatzmittel wegen ihrer dem menschlichen Speichel ähnlichen viskoelastischen Eigenschaften [HATTON et al., 1987, VISSINK et al., 1984]; sie werden gleichermaßen auch von den betroffenen Patienten besser beurteilt [VISCH et al., 1986]. Die Fähigkeit, einen Film sowohl auf hydrophoben als

auch auf hydrophilen Oberflächen bilden zu können, wie es sich beispielsweise für Muzin ergab, scheint demnach ein wichtiges Merkmal für den Erfolg eines Speichelersatzmittels zu sein [CHRISTERSSON et al., 2000].

2.7.2 Wirkung von Speichelersatzmitteln auf die Zahnhartsubstanz

Bisher gibt es in der Literatur hauptsächlich Studien zur subjektiv empfundenen Wirkung von Speichelersatzmitteln bei Xerostomiepatienten, aber nur wenige Untersuchungen über die Wirkung der Präparate auf die Zahnhartsubstanzen.

Wie bereits in Kapitel 2.7 erwähnt, konnte bei Versuchen mit Schmelz für verschiedene Speichelersatzstoffe ein nicht unerhebliches Demineralisationspotential aufgezeigt werden, welches sich auch für Dentin bestätigte [JOYSTON-BECHAL und KIDD, 1987, KIELBASSA und MEYER-LUECKEL, 2001, KIELBASSA und SHOHADAI, 1999]. Die niedrigen pH-Werte der Speichelersatzmittel lassen bereits eine demineralisierende Wirkung auf Dentin erwarten. Existiert darüber hinaus ein relativ hoher Gehalt an titrierbarer Säure, tritt trotz geringer Substantivität ein demineralisierender Effekt auf [KIELBASSA und SHOHADAI, 1999]. Die Auswirkung eines „sauren“ Speichelersatzmittels kann durch die Zugabe von Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen reduziert werden, da hierdurch das Löslichkeitsprodukt von Apatit verändert wird. Aus der Literatur ist bereits bekannt, dass besonders Fluoride die Löslichkeit von Hydroxylapatit positiv beeinflussen [LARSEN und NYVAD, 1999]. Aber auch Kalzium und Phosphat können, wenn sie in ausreichender Menge in den Präparaten vorliegen, einer Demineralisation entgegenwirken.

Bei einem annähernd neutralen pH-Wert ist die Löslichkeit von Apatit drastisch reduziert, so dass die gelösten Mengen an Kalzium und Phosphat unter 1 mmol/l liegen, und somit keine nennenswerte Demineralisation zu erwarten ist [LARSEN und BRUUN, 1994]. Im Idealfall sollte ein Speichelersatzmittel, genau wie der natürliche Speichel auch, nicht nur keine De- sondern vor allem auch eine Remineralisationslösung darstellen. Aufgrund der Tatsache, dass Speichel eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung ist, können die während einer Demineralisationsphase herausgelösten Kalzium- und Phosphationen im Rahmen einer Remineralisationsphase wieder eingelagert werden [LAGERLOF und OLIVEBY, 1994].

Versuche zur remineralisierenden Wirkung von Speichelersatzmitteln ergaben, dass ein geringer Fluoridzusatz von 2 ppm bei demineralisiertem Schmelz zu einer signifikanten Erhöhung der Schmelzhärte führt [SHANNON und EDMONDS, 1978]. Bei gleichzeitiger Zugabe von Kalzium und Phosphat konnte die Mikrohärtigkeit weiter gesteigert werden [SHANNON et al., 1978]. Die Fragestellung, ob die remineralisierende Wirkung auch auf Dentin zutrifft, ist zur Zeit nicht beantwortet.

Eine weitere wichtige Rolle spielt der Basisstoff eines Speichelersatzmittels. So haben Präparate auf Muzinbasis eine bessere, die Zahnhartsubstanz befeuchtende Wirkung als zum Beispiel Lösungen auf CMC-Basis. Der einzige Nachteil, den muzinhaltige Präparate gegenüber CMC-haltigen aufweisen, besteht in ihrem reduzierten remineralisierenden Potential aufgrund ihrer relativ hohen Viskosität [GELHARD et al., 1983, VISSINK et al., 1985]. Dieser kann jedoch ausgeglichen werden, indem die Konzentration von Kalzium, Phosphat und Fluorid erhöht wird.

2.7.3 Wirkung der Elektrolyte Fluorid, Kalzium und Phosphat auf die Zahnhartsubstanz

Wenn Fluorid oder fluoridhaltige Lösungen lokal auf die Zahnhartsubstanz appliziert werden, kann es zu unterschiedlichen Reaktionsmechanismen kommen. Nach einer initialen Auflösung der Apatitstruktur, wie es bei untersättigten Lösungen beispielsweise auftritt, kann es bei ionisch gebundenem Fluorid zum einen zu einer Repräzipitation eines kalziumfluoridhaltigen Niederschlages kommen. Die aus dem Apatit freigesetzten Kalziumionen bilden hierbei mit dem Fluorid, das im Überschuss vorliegt, diesen Niederschlag. Zum anderen kann eine Repräzipitation von fluoridiertem Hydroxylapatit bzw. von Fluorapatit an der oberflächlichen Schmelzschicht erkennbar werden. Eine weitere Reaktion stellt die Diffusion des Fluorids in den Zahnschmelz dar. An der Kristalloberfläche kommt es hierbei zu einer Adsorption von Fluoridionen an freie Bindungsstellen (z.B. Ca^{2+}) bzw. zu einer Substitutionsreaktion (z. B. OH^- , HPO_3^{2-}). Bei dem vierten Wirkmechanismus diffundiert Fluorid in den Zahnschmelz, wo die Ionen unspezifisch in der wässrigen Hülle um die Kristalle binden [HELLWIG et al., 2003].

Alle genannten Reaktionsmechanismen beziehen sich jedoch nur auf ionisch gebundenes Fluorid und nicht auf kovalent gebundenes. Bei kovalent gebundenem Fluorid, wie z. B. bei Natriummonofluorophosphat, diffundiert Monofluorophosphat in den Zahnschmelz und wird gegen Phosphat ausgetauscht. Da das Fluorid hier kovalent gebunden ist, benötigt es mehr Zeit, um in die Oberfläche des Zahnschmelzes zu diffundieren. Es kann aber auch zu einer Hydrolyse durch Speichel- und Plaqueenzyme bzw. durch Säuren kommen, so dass Fluoridionen frei vorliegen. Diese reagieren dann so wie die ionisch gebundenen Fluoride, deren Reaktionsmechanismen bereits zuvor erklärt wurden [HELLWIG et al., 2003].

Handelt es sich um eine Fluoridapplikation auf demineralisierte Zahnhartsubstanz, kann eine deutlich höhere Fluoridaufnahme beobachtet werden als bei gesunder Zahnhartsubstanz. Auch hier führt die Anwendung von ionisch gebundenem Fluorid zur Ausbildung einer kalziumfluoridhaltigen Schicht an der Oberfläche [HELLWIG et al., 2003].

Dem selben Wirkungsmechanismus wie in der gesunden Zahnhartsubstanz folgend geht aber auch hier das in der Oberfläche des Schmelzes eingelagerte Fluorid schnell wieder verloren, da es zurück in den Speichel diffundiert. Deshalb ist es sinnvoll, Fluorid entweder regelmäßig in kleinen Mengen der Zahnhartsubstanz zuzuführen oder durch seltenere, hoch dosierte Fluoridgaben eine Art Depot zu errichten [HELLWIG et al., 2003]. Hohe Fluoridkonzentrationen verhindern eine Dentin- bzw. Wurzelkaries, während niedrigere Werte wie 1 - 10 mg/l letztere lediglich reduzieren [NEWBRUN, 1986]. Featherstone et al. schlagen eine tägliche Applikation von 250 mg F⁻/l vor, um eine Hemmung zu bewirken [FEATHERSTONE und FU, 1988]. Die Fluoridionen diffundieren in die Zahnoberfläche, penetrieren dort in die Flüssigkeit zwischen den Kristallen der Zahnhartsubstanz, und umgeben diese Kristalle mit einer Schicht adsorbierter Ionen [HOPPENBROUWERS et al., 1987]. Diese geben den Kristallen Schutz vor Auflösung bei kariösen Angriffen [TEN CATE und DUIJSTERS, 1983]. Tritt jedoch ein Fluoriddefizit auf, löst sich die Kristalloberfläche entweder partiell oder vollständig auf.

Diese Wirkprinzipien gelten nicht nur für Schmelz, sondern auch für Dentin und Zement. Fluorid vermindert die Säurelöslichkeit [HOPPENBROUWERS et al., 1987, SHANNON, 1980] durch den festen Einbau von Fluorid in das Kristallgitter der

Zahnhartsubstanzen (Fluorapatit), hemmt die Demineralisation und fördert die Remineralisation. Da Dentin jedoch wesentlich löslicher ist als Schmelz, wird die 10-fache Menge Fluorid benötigt, um einer Demineralisation von Dentin entgegenzuwirken oder eine vergleichbare Remineralisation zu erreichen [ARENDS et al., 1987, FEATHERSTONE et al., 1987, TEN CATE und VAN LOVEREN, 1999]. Eine Remineralisation nur mit der Hilfe von Zahnpasta ist in diesem Bereich also nicht zu erreichen [MUKAI et al., 2001, TEN CATE et al., 1995].

Die vollständige Hemmung einer Demineralisation ist jedoch nicht nur von einer bestimmten Fluoridkonzentration abhängig; eine wichtige Rolle spielen auch die Lösungsmenge, der pH-Wert und die Kalzium- und Phosphatkonzentration [TEN CATE und DUIJSTERS, 1983]. Der Sättigungsgrad (DS) einer Lösung ist hierbei von großer Bedeutung. Hat dieser nach der Berechnung von Shellis [1984] einen Wert von $DS = 1$ kommt es weder zu einer Präzipitation noch zu einer Auflösung des Kristallkörpers; dies bedeutet, dass die Lösung gesättigt ist. Besitzt der Sättigungsgrad einen Wert $DS > 1$, heißt dies, dass die treibende Kraft Richtung Präzipitation strebt. Besitzt die Lösung hingegen einen Sättigungsgrad von $DS < 1$, tendiert der Kristallkörper zur Auflösung. Der pH-Wert bestimmt hierbei den Dissoziationsgrad einer schwachen Säure und beeinflusst die Ionenbindung [SHELLIS, 1988]. So ist der Sättigungsgrad von Hydroxylapatit durch die Konzentrationen von Kalzium und Phosphat in der Lösung sowie den pH-Wert bestimmt.

Durch Zugabe von Kalzium und Phosphat zu einer Lösung konnte eine Steigerung der Mikrohärtigkeit festgestellt werden [GELHARD et al., 1983]. Darüber hinaus wurde beobachtet, dass durch die regelmäßige Verwendung konzentrierter Kalzium- und Phosphatlösungen eine Remineralisation der Zahnhartsubstanz gefördert werden kann [CHOW und TAKAGI, 1995]. Im Vergleich zu Kalzium wird jedoch die 20-fache Menge Phosphat benötigt, um den gleichen Effekt zu erzielen. Die größere Hemmwirkung von Kalzium ist bedingt durch den größeren Effekt, den Kalzium auf die Sättigung der Lösung hat [TANAKA und KADOMA, 2000].

3. Ziel der Untersuchung

Unter Xerostomie versteht man die subjektiv empfundene Trockenheit der Mundhöhle, die als Folge vieler Erkrankungen, wie beispielsweise dem Sjögren-Syndrom oder dem Diabetes mellitus, auftritt, aber auch als Nebenwirkung einer Vielzahl von Medikamenten, wie z. B. bei Antidepressiva beobachtet werden kann. Vor allem bei Patienten, die sich einer tumortherapeutischen Strahlentherapie im Kopf-Hals-Bereich unterziehen müssen, kommt es zu einer ausgeprägten Mundtrockenheit.

Aufgrund auftretender Sprech-, Schluck- und Kaubeschwerden bevorzugen die betroffenen Patienten hauptsächlich breiige Nahrung, die jedoch stark an den Zahnoberflächen haftet. Da diese Patienten aufgrund von starken Schmerzen nur schwer einer guten Mundhygiene nachkommen können, kann sich schnell eine Karies manifestieren.

Um die Symptome der Xerostomie zu lindern, werden Speichelersatzmittel verabreicht, die nicht nur das Wohlbefinden des Patienten verbessern, sondern auch eine remineralisierende Wirkung auf die Zahnhartsubstanz besitzen sollten. Die meisten kommerziell erhältlichen Speichelersatzmittel dienen bisher nur der Symptombehandlung, weisen jedoch keine remineralisierenden Eigenschaften auf.

Das Ziel dieser Studie war es daher, den Einfluss verschiedener Elektrolytkonzentrationen (Fluorid, Kalzium und Phosphat) potentieller muzinbasierter Speichelersatzlösungen auf demineralisiertes bovines Dentin *in vitro* zu untersuchen. Hierbei wurde die Null-Hypothese geprüft, bei der davon auszugehen ist, dass sich die Mineralgehalte von Dentinproben nach Lagerung in unterschiedlichen, auf Muzin basierenden Lösungen, die in ihren Faktoren Kalzium, Phosphat und pH-Wert variieren, nicht unterscheiden.

4. Material und Methode

4.1 Vorbereitung der Dentinproben

Für die Untersuchung wurden 39 bovine Frontzähne post mortem extrahiert. Anschließend wurden aus diesen jeweils vier Dentinproben aus dem Zervikalbereich unter Wasserkühlung herauspräpariert (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) und mit Hilfe von Silikonformen in Gruppen von je vier Proben in Kunstharz (Technovit 4071; Kulzer, Wehrheim, Deutschland) eingebettet. Im Folgenden wurde die über dem Dentin liegende Zementschicht an einer Poliermaschine (Poliermaschine Phoenix Alpha; Buehler, Düsseldorf, Deutschland) mit Schleifpapier der Körnungen 1200, 2500 und 4000 (Exakt, Norderstedt, Deutschland) entfernt und die Oberflächen somit standardisiert und parallelisiert. Die Umdrehungszahl des Polierers war auf 300 U/min eingestellt. Der äußere Rand der polierten Dentinprobe wurde links und rechts mit Nagellack (Betrix, Frankfurt/Main, Deutschland) abgedeckt (Abb. 3), um später als interne Kontrolle gegenüber den de- und remineralisierten Bereichen zu dienen. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Proben in 0,9 %iger Kochsalzlösung (NaCl-Lösung 0,9 %; Delta Select, Pfullingen, Deutschland) bei einer Temperatur von 37 °C gelagert.

Nach Herstellung einer Demineralisationslösung nach Buskes et al. (1985) (siehe Tab. 3) wurden die tatsächlich benötigten 153 Dentinproben (17 Gruppen à 9 Proben) - die zusätzlichen drei Proben wurden entsorgt - für einen Zeitraum von zwei Wochen in einem Wärmeschrank (Wärmeschrank BR 6000, Heraeus, Hanau, Deutschland) in die Demineralisationslösung eingelegt und täglich der pH-Wert von 5,5 mit Hilfe eines pH-Meters kontrolliert (pH-Meter CG 819; Schott, Hofheim, Deutschland). Bei Abweichungen des pH-Wertes wurde dieser korrigiert, indem der Lösung Milchsäure bei einer Erhöhung des pH-Wertes zugegeben wurde und Kalilauge bei dessen Absinken.

Nach Kontrolle der erreichten Demineralisationstiefe anhand von vier Proben unter dem Rasterelektronenmikroskop (Rasterelektronenmikroskop Cam Scan Maxim 2040; Electron Optics LTD, Waterbeach, England) wurde ein weiterer Bereich aller Dentinproben mit Nagellack abgedeckt (Abb. 3), um auf diese Weise den Wert der Demineralisationstiefe anschließend als Referenzwert

verwenden zu können. Bis zur Versuchsweiterführung lagerten die Proben wieder in Kochsalzlösung.

Tab. 3: Zusammensetzung der Demineralisationslösung für Dentin

Konzentration	Inhaltsstoff	Menge
3 mM	Kalziumchlorid (CaCl_2)	4,41 g
3 mM	Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	4,08 g
250 mM	Milchsäure ($\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$) (90 %)	205 ml
10 M	Kalilauge (KOH) ad pH 5,6	280 ml
6 μM	Methylendiphosphonsäure (MHDP)	10,56 mg
	Thymol ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$)	in Spuren
	Aqua dest (H_2O)	ad 10 l

4.2 Herstellung der einzelnen Lösungen und Durchführung der Versuche

Zur Herstellung der auf Muzin basierenden, unterschiedlichen Lösungen wurden die einzelnen Bestandteile (Tab. 4) mit Aqua dest. mit dem Homogenisator (Ultra-Turrax T25; Janke & Kunkel, IKA®-Labortechnik, Staufen, Deutschland) zu einer gleichmäßigen Lösung verrührt. Es wurden Gruppen à 9 Dentinproben gebildet und auf die 17 unterschiedlich zusammengesetzten Lösungen verteilt. In einem Wärmeschrank (Wärmeschrank BR 6000) lagerten die Proben für zwei Wochen in den Lösungen, wobei täglich zweimal der pH-Wert von 5,5 bzw. 6,5 kontrolliert und gegebenenfalls mit Milchsäure oder Kalilauge korrigiert wurde.

Tab. 4: Zusammensetzungen und Konzentrationen der verschiedenen Lösungen

Gruppe	CaCl ₂ (mg/l)	KH ₂ PO ₄ (mg/l)	NaF (mg/l)	pH	Basislösung
1	Saliva Orthana®				KCl 1,218 g/l
2	--	--	--	6,5	NaCl 0,856 g/l
3	--	--	--	5,5	MgCl₂ 0,0244 g/l
4	--	--	4,4	6,5	Methyl-4-hydroxybenzoat 1 g/l
5	--	--	4,4	5,5	Propyl-4-hydroxybenzoat 0,2 g/l
6	55,5	--	4,4	6,5	Muzin 30 g/l
7	55,5	--	4,4	5,5	
8	55,5	111	4,4	6,5	
9	55,5	111	4,4	5,5	
10	55,5	444	4,4	6,5	
11	55,5	444	4,4	5,5	
12	111	888	4,4	6,5	
13	111	888	4,4	5,5	
14	222	444	4,4	6,5	
15	222	444	4,4	5,5	
16	222	1776	4,4	6,5	
17	222	1776	4,4	5,5	

Erläuterung: Kaliumchlorid 99,5-100,5 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat 98 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
Kalziumchlorid ≥ 90,0 % wasserfrei gepulvert, Merck, Darmstadt, Deutschland
Magnesiumchlorid >98 % wasserfrei, Merck, Hohenbrunn, Deutschland
Methyl-4-hydroxybenzoat 99 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
Magensaftmuzin vom Schwein Typ III, Sigma, Steinheim, Deutschland
Natriumchlorid 99,5 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumfluorid 99,0 % reinst, Omikron GmbH, Neckarwestheim, Deutschland
Propyl-4-hydroxybenzoat 99 %, Merck, Darmstadt, Deutschland

4.3 Vorbereitungen der Proben für die Mikroradiografie

Nach zwei Wochen, in denen die Proben in den verschiedenen Lösungen lagerten, wurden mit einer Säge (Bandsäge Exakt 300cl) senkrechte Schnitte zu der demineralisierten Oberfläche durchgeführt. Dies erfolgte, wie auch alle weiteren Versuchsschritte, unter permanenter Wasserkühlung, um Schrumpfungen des Dentins zu vermeiden.

Anschließend wurden die Oberflächen poliert (Körnung 2500 und 4000) und mit Sekundenkleber (Orbis Dental, Offenbach, Deutschland) auf Objektträgern aus Plexiglas fixiert (Diaplug, Oststeinbeck, Deutschland). Mit einer diamantierten Bandsäge (Bandsäge Exakt 300cl) wurden dann planparallele Schnitte von 300 µm Dicke gefertigt. Die Vorschubkraft des Probentisches betrug 50 g, wobei die Bandlaufgeschwindigkeit der Säge auf 200 m/min eingestellt war. Im Anschluss wurden die Schnittflächen mit Schleifpapier der Körnungen 1200, 2500 und 4000 an einer Mikroschleifapparatur (Exakt Mikroschleifsystem, Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) poliert, so dass eine glatte, parallelisierte Oberfläche entstand und der Dünnschliff schließlich eine Schichtstärke von 100 µm besaß, die mit Hilfe eines digitalen Mikrometers (Digimatic Bügelmessschraube, Mitutoyo, Kawasaki, Japan) überprüft wurde. In der folgenden Abbildung (Abb. 3) ist die schematische Darstellung einer solchen Dünnschliffpräparation einer Dentinprobe für die mikroradiografische Auswertung gezeigt.

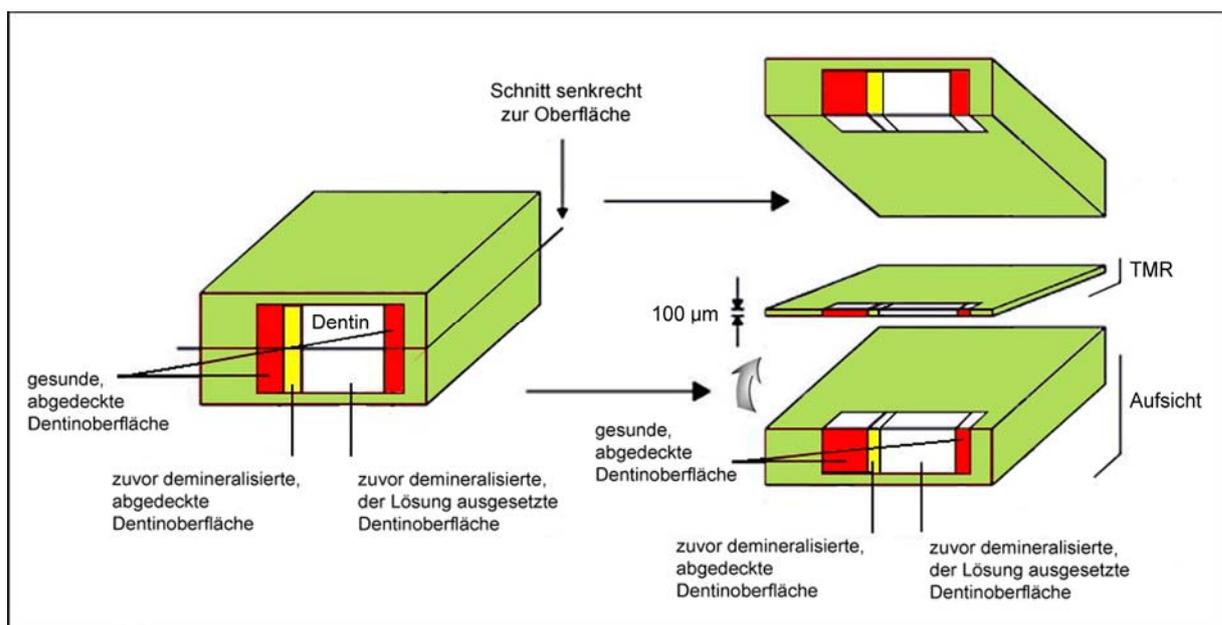


Abb. 3: Schematische Darstellung der Dünnschliffpräparation für die mikroradiografische (TMR) Auswertung.

4.4 Transversale Mikroradiografie

Mit Hilfe der transversalen Mikroradiografie lässt sich an den Dentinproben die erzielte Läsionstiefe [μm] und der entstandene Mineralverlust [$\text{Vol.}\% \times \mu\text{m}$] in den unterschiedlichen Dentinbereichen ermitteln. Vier Dentinbereiche lassen sich an der Probe unterscheiden: Die Ausgangssituation ist jeweils im linken und rechten Randbereich der Dentinoberfläche zu erkennen. Diese Bereiche werden als „gesundes“ Dentin definiert, da der Mineralgehalt in diesen Bereichen mit dem in tieferliegenden Dentinschichten übereinstimmt, in denen eine Demineralisation ausgeschlossen werden konnte. Aufgrund der Abdeckung mit Nagellack waren diese beiden Probenbereiche nicht den Lösungen ausgesetzt und dienten als Grundlage bei der Berechnung des Mineralverlustes (ΔZ) und der Läsionstiefe (LT) in den zwei weiteren Bereichen. Dies ist zum einen die Demineralisation, die sich dem linken Abschnitt der Probe, dem gesunden Dentin, nach rechts anschließt und zum anderen der sogenannte Effektbereich, der wiederum rechts von dieser zu erkennen ist (s. Abb. 3).

Die mikroradiografischen Einzelaufnahmen wurden in einem speziellen Kameragehäuse durchgeführt, das mit der „Objektivseite“ an den Röntgentubus des Röntngenerators (PW 1730/10, Phillips, Eindhoven, Niederlande) gekoppelt war. In dem Kameragehäuse befand sich auf Filmhöhe eine Aluminium-Eichtreppe für transversale Mikroradiogramme.

Bei jeder Aufnahme wurde die Probe mit dieser Aluminium-Eichtreppe durch Röntgenstrahlen auf einen hochauflösenden Film (high speed holographic film, Kodak SO253, Stuttgart, Deutschland) projiziert. Die Aluminium-Eichtreppe diente bei der anschließenden Auswertung zur Kalibrierung des Computers. Ein

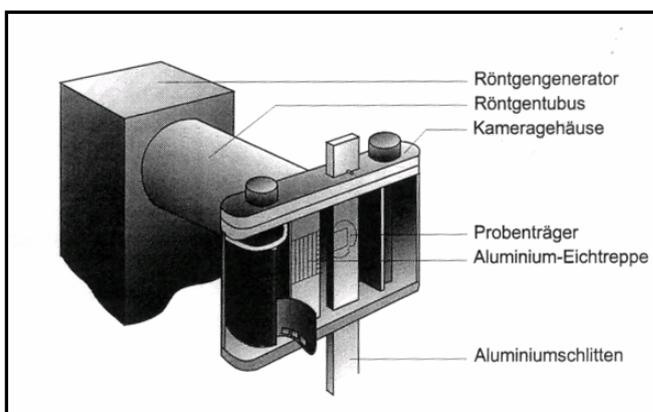


Abb. 4: Röntgentubus mit Kameragehäuse (zitiert nach Schuster, 2002).

Aluminiumschlitten, in dem die Probenhalter (Abb. 4) (TMR-Probenhalter, Plano, Wetzlar, Deutschland) eingesetzt wurden, damit sich während der Aufnahme die Position des Probenhalters bzw. der Probe nicht verändern konnte, lag rechts neben der Eichtreppe. Dieser AL-Schlitten konnte bei eingelegetem Film und geschlossener Kamera ohne negative Auswirkungen immer bewegt werden, um nach

jeder Aufnahme die Probe auszutauschen. Bei den Aufnahmen wurden die Röntgenstrahlen in einer vertikal montierten Röntgenröhre (PW 1730; Phillips, Kassel, Deutschland) von einer Kupferanode mit Nickelfilterung emittiert.

4.5 Herstellen der Mikroradiogramme

Mit einem Skalpell wurden die Dentinproben aus dem Kunststoff und von den Objektträgern gelöst und anschließend mit Leukofix[®] (BSN medical GmbH & Co KG, Hamburg, Deutschland) auf den Probenhaltern befestigt. Ausschließlich für die Dauer der Aufnahme (max. 20 Sekunden) wurde die jeweilige Probe leicht getrocknet, mit einem dünnen Film Kochsalzlösung benetzt, in das Kameragehäuse eingesetzt. Für Dentin wurde eine Röhrenspannung von 20 kV und ein Röhrenstrom von 20 mA bei einer Belichtungszeit von 12 Sekunden festgelegt.

Der oben erwähnte Film (high speed holographic film, Kodak SO 253) wurde mit Hilfe einer lichtundurchlässigen Filmkassette auf eine handelsübliche Filmrolle manuell aufgespult und anschließend in das Kameragehäuse eingelegt. Die Probe wurde dann auf dem Probenhalter in den AL-Schlitten eingesetzt und in das Kameragehäuse eingeschoben, so dass die Probenoberfläche parallel zum Film ausgerichtet war. Die Aufnahmen erfolgten unter den bereits erwähnten Einstellungen (20 kV, 20 mA, 12 s); nach jeder Aufnahme wurde der Film manuell weiter transportiert und die Probe wieder in Kochsalzlösung gelagert.

4.6 Mikroradiografische Auswertung

Nach der Filmentwicklung wurden die mikroradiografischen Einzelaufnahmen unter einem Durchlichtmikroskop (Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss,

Oberkochen, Deutschland), das wiederum an eine Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokyo, Japan) angeschlossen war, ausgewertet. Die Qualität der Probe wurde hierbei visuell beurteilt und



Abb. 5: TMR-Probenhalter mit Dünnschliff
(Mit freundlicher Genehmigung
von Dr. A. Rieben)

kontrolliert. Die Probenoberfläche durfte zum einen nicht durch unsachgemäße Handhabung unterbrochen sein und Risse aufzeigen. Zum anderen mußten die einzelnen Bereiche klar voneinander abzugrenzen sein, um eine Auswertung zu ermöglichen. Unter diesen Voraussetzungen wurden die Läsionstiefe und der Mineralverlust in dem demineralisierten Abschnitt und dem Effektbereich mit Hilfe des Programms Transversal Micro Radiography (TMR für Windows, Version 2.0.27.2, Inspector Research System BV, Amsterdam, Niederlande) bestimmt.

4.7 Statistische Auswertung

Die Messwerte, die sich bei der mikroradiografischen Auswertung für die jeweilige Läsionstiefe und den Mineralverlust sowohl im demineralisierten Bereich als auch in dem so genannten Effektbereich ergaben, wurden einer Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen. Hinzu kam ein Einzelvergleich zwischen den 17 verschiedenen Gruppen nach Bonferroni. Der Vergleich zwischen der Läsionstiefe (LT_{Demin}) bzw. dem Mineralverlust (ΔZ_{Demin}) im demineralisierten Bereich und der Läsionstiefe (LT_{Effekt}) bzw. dem Mineralverlust (ΔZ_{Effekt}) im Effektbereich innerhalb einer Probe erfolgte mit Hilfe des gepaarten t-Tests. In der vorliegenden Studie wurde bei dem t-Test auf eine Bonferroni-Korrektur verzichtet, da Hypothesen für weitere Studien generiert werden sollten. Für die demineralisierten und anschließend in den verschiedenen Lösungen gelagerten Dentinproben wurden somit die effektiven Mineralverluste ($\Delta\Delta Z = \Delta Z_{\text{Demin}} - \Delta Z_{\text{Effekt}}$; [Vol.% \times μm]) und die effektiven Läsionstiefen ($\Delta LT = LT_{\text{Demin}} - LT_{\text{Effekt}}$; [μm]) bestimmt. Mit dem allgemeinen linearen Modell (ALM) wurden die Auswirkungen der Faktoren Kalzium, Fluorid, Phosphat und des pH-Wertes auf die Läsionstiefe und den Mineralverlust überprüft. Signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Fluorid- bzw. pH-Werten wurden mit dem t-Test bestimmt. Für Kalzium und Phosphat erfolgte die Prüfung auf statistisch signifikante Unterschiede mit Hilfe der ANOVA sowie dem Bonferroni hoc test. Das Signifikanzniveau wurde mit 5 % festgelegt. Jeder Einflussfaktor wurde auf die Null-Hypothese getestet, die besagte, dass keiner der Faktoren einen Einfluss auf die demineralisierte Oberfläche hat.

5. Ergebnisse

5.1 Exemplarische Darstellung der Effekte am Beispiel repräsentativer Proben

Um das Ausmaß des Mineralverlustes und der Läsionstiefe nach der Demineralisation der Dentinproben und deren anschließender Lagerung in den verschiedenen potentiellen Speichelersatzmitteln darzustellen und zu berechnen, wurde die TMR-Software verwendet.

Die folgende Abbildung 6 zeigt zwei Messkurven eines Mikroradiogramms einer Dentinprobe, die erst 14 Tage demineralisiert wurde (A) und anschließend für weitere 14 Tage in Lösung 2 lagerte (B).

In Bild B sind deutlich der durch die Lösung 2 ausgelöste erhöhte Mineralverlust von $2379,8 \text{ Vol.\%} \times \mu\text{m}$ und die erhöhte Läsionstiefe mit $155,9 \mu\text{m}$ gegenüber Bild A mit Werten von $1716,5 \text{ Vol.\%} \times \mu\text{m}$ für den Mineralgehalt und $100,3 \mu\text{m}$ für die Läsionstiefe zu erkennen.

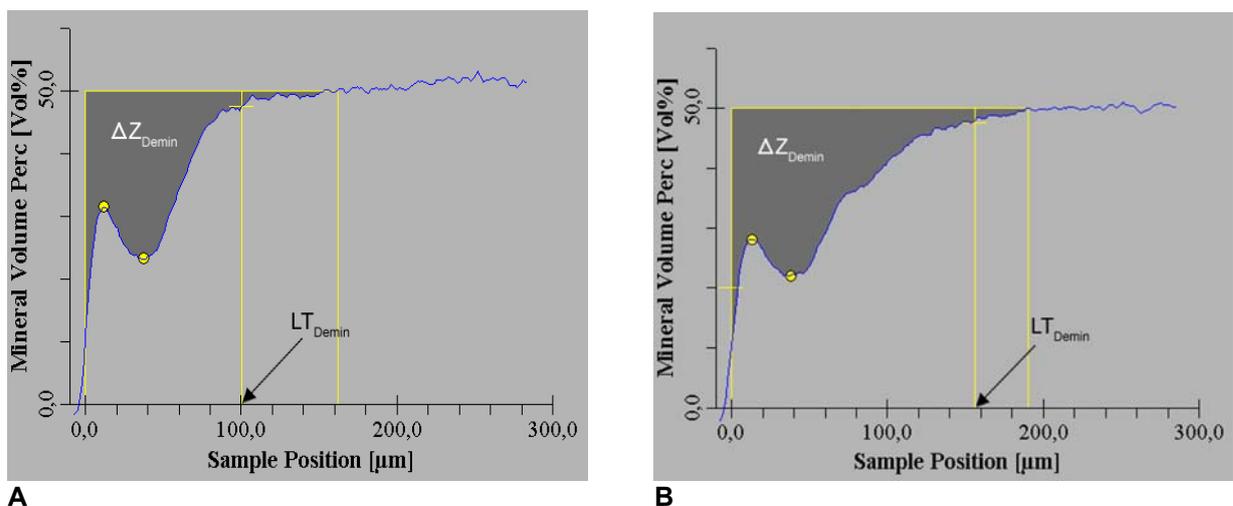


Abb. 6: Berechnung des Mineralverlustes (ΔZ_{Demin}) und der Läsionstiefe (LT_{Demin}) mit dem TMR-Programm bei einer repräsentativen Dentinprobe, die erst 14 Tage demineralisiert wurde und anschließend in Lösung 2 lagerte.

- A** Messkurve der demineralisierten Dentinprobe.
- B** Messkurve der Dentinprobe nach Demineralisation und Lagerung in Lösung 2.

Abbildung 7 zeigt zwei weitere Messkurven eines Mikroradiogramms einer Dentinprobe, die vor der zweiwöchigen Lagerung in Lösung 5 bereits 14 Tage demineralisiert wurde. Bild A stellt eine Demineralisation dar mit einem Mineralverlust von $1693,8 \text{ Vol.\%} \times \mu\text{m}$ und einer Läsionstiefe von $73,9 \mu\text{m}$. Anhand von Bild B wird der Mineralverlust und die Läsionstiefe nach

zweiwöchiger Lagerung in der entsprechenden Lösung deutlich. Hierbei ist zu erkennen, dass sich der Wert sowohl für den Mineralverlust als auch für die Läsionstiefe wenig veränderte und nunmehr bei $1811,4 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ bzw. $89,7 \mu\text{m}$ lag.

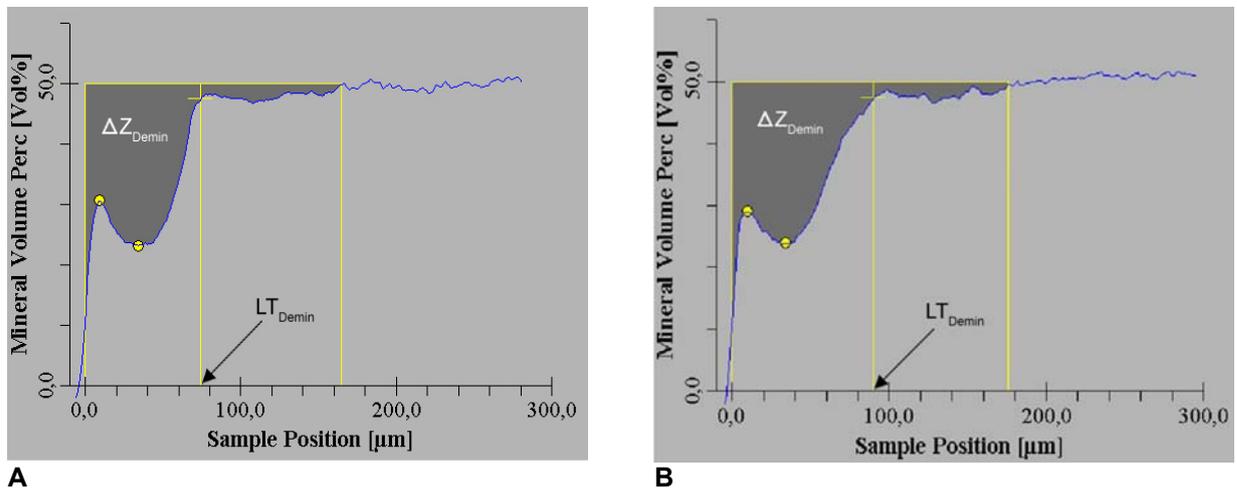


Abb. 7: Berechnung des Mineralverlustes (ΔZ_{Demin}) und der Läsionstiefe (LT_{Demin}) mit dem TMR-Programm bei einer repräsentativen Dentinprobe, die erst 14 Tage demineralisiert wurde und anschließend in Lösung 5 lagerte.

- A** Messkurve der demineralisierten Dentinprobe.
- B** Messkurve der Dentinprobe nach Demineralisation und Lagerung in Lösung 5.

Die in Abbildung 8 gezeigten Messkurven einer Dentinprobe, die ebenfalls zunächst 14 Tage demineralisiert wurde und anschließend in Lösung 14 lagerte, lässt zwischen den beiden Bildern A und B eine deutliche Remineralisation erkennen. Der Wert des Mineralverlustes reduzierte sich von $1583,6 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ auf $952,3 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ und derjenige der Läsionstiefe von $91,9 \mu\text{m}$ auf $75,4 \mu\text{m}$.

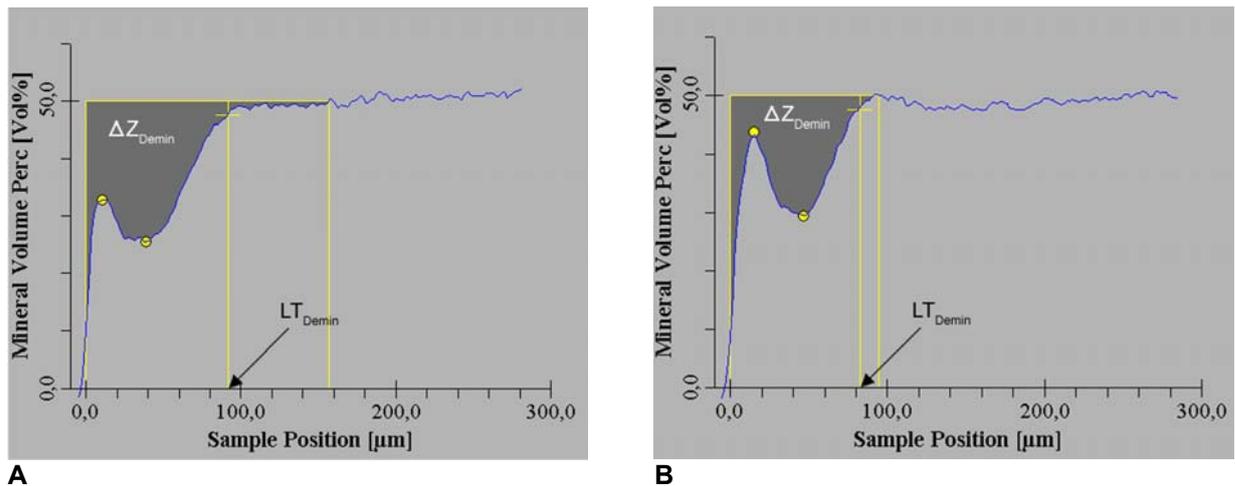


Abb. 8: Berechnung des Mineralverlustes (ΔZ_{Demin}) und der Läsionstiefe (LT_{Demin}) mit dem TMR-Programm bei einer repräsentativen Dentinprobe, die erst 14 Tage demineralisiert wurde und anschließend in Lösung 14 lagerte.

- A** Messkurve der demineralisierten Dentinprobe.
- B** Messkurve der Dentinprobe nach Demineralisation und Lagerung in Lösung 14.

5.2 Quantitative Auswertung

5.2.1 Auswertung der Mineralverluste

Alle *in vitro* demineralisierten Dentinproben ($n = 153$) zeigten oberflächlich intakt erscheinende Läsionen, wobei die oberste Schicht der Läsionen eine etwas höhere Mineralisation aufwies als die Läsionskörper. Die demineralisierten Bereiche zeigten für ΔZ_{Demin} einen Mittelwert (Standardabweichung) von 2142 (627) Vol.% $\times \mu\text{m}$. Die Mittelwerte waren für alle Untergruppen vergleichbar, also nicht signifikant unterschiedlich ($p > 0,05$; ANOVA).

Die folgende Tabelle zeigt die mittleren Mineralverluste mit den dazugehörigen Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen vor (ΔZ_{Demin}) und nach (ΔZ_{Effekt}) Lagerung der demineralisierten Dentinproben in den verschiedenen Lösungen ($n = 9$) sowie den effektiven Mineralverlust $\Delta\Delta Z$ (Tab. 5).

Das Ausmaß eines weiteren (negatives Vorzeichen) sowie eines verringerten (positives Vorzeichen) effektiven Mineralverlustes ($\Delta\Delta Z$) ist dargestellt, wobei das negative Vorzeichen auf eine weitere Demineralisation der Dentinprobe hindeutet und das positive Vorzeichen auf eine Remineralisation schließen lässt. Hierbei konnte bei den Dentinproben, die in den Lösungen 2 und 3 lagerten, eine signifikant voranschreitende Demineralisation festgestellt werden ($p < 0,05$; t-Test).

Bei den Dentinproben der übrigen Gruppen war eine Remineralisation zu verzeichnen. Die Proben der Gruppen 4 und 6 remineralisierten signifikant ($p <$

0,05; t-Test), die der Gruppen 14, 16 und 17 hoch signifikant ($p < 0,01$; t-Test) und die der Gruppen 8, 10 und 12 sogar höchst signifikant ($p < 0,001$; t-Test).

Die zu Beginn des Versuches mit Nagellack abgedeckten Kontrollbereiche sind in der Auswertung und demnach in Tab. 5 nicht berücksichtigt. Da die Probenoberfläche nach Versuchsdurchführung visuell beurteilt wurde und keine Unterschiede zwischen der Dentinoberfläche und tieferliegenden Dentinbereichen der Probe festzustellen waren, kann davon ausgegangen werden, dass es sich um eine gesunde Dentinoberfläche handelt, die keine Demineralisation aufweist.

Tab. 5: Signifikante Unterschiede (p-Wert) zwischen den Werten vor und nach der Lagerung in den verschiedenen Lösungen wurden durch den gepaarten t-Test analysiert

Lösung Nr.	Mineralverlust (ΔZ_{Demin})		Mineralverlust (ΔZ_{Effekt})		Mineralverlust effektiv ($\Delta\Delta Z$)		Signifikanz (p)
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	
1	2203,0	623,8	1968,9	658,9	234,1	540,4	0,230
2	2726,7	631,2	3216,4	735,2	- 489,8	355,3	0,003
3	2320,0	496,8	3219,4	814,5	- 899,4	673,5	0,004
4	1721,7	607,2	1537,2	697,4	184,4	171,0	0,012
5	1968,4	519,2	2337,3	762,2	- 343,5	623,4	0,114
6	2336,0	919,9	2017,9	990,3	318,1	339,3	0,023
7	1956,7	575,4	1859,3	410,6	97,4	339,1	0,414
8	1960,1	741,4	1519,2	806,9	440,9	212,4	0,000
9	2186,3	766,2	2324,4	929,1	- 138,1	441,4	0,375
10	2454,2	725,9	1926,9	745,8	527,3	217,2	0,000
11	2240,3	646,3	2361,0	666,2	- 120,7	344,2	0,324
12	2097,3	510,6	1177,3	305,5	920,0	408,1	0,000
13	1891,6	612,6	1769,3	686,4	122,2	310,6	0,272
14	2285,9	350,6	1673,1	503,1	612,8	435,7	0,003
15	2173,0	620,5	2083,3	879,4	89,7	658,8	0,694
16	2035,3	494,6	1446,6	345,0	588,7	456,7	0,004
17	1882,7	315,4	1360,2	312,0	522,4	367,7	0,003

Nachdem die Proben der jeweiligen Gruppen ($n = 9$) für zwei Wochen in den 17 unterschiedlichen Lösungen gelagert wurden, konnten effektive Mineralverluste

bzw. -gewinne ($\Delta\Delta Z = \Delta Z_{\text{Demin}} - \Delta Z_{\text{Effekt}}$; [Vol.% \times μm]) beobachtet werden, die sich zwischen den Gruppen höchst signifikant unterschieden ($p < 0,001$; ANOVA).

In der folgenden Abbildung wird der effektive Mineralverlust [Vol.% \times μm] der Dentinproben ($n =$ jeweils 9) nach der Lagerung für zwei Wochen in den verschiedenen Lösungen mittels box-and-whisker-plots dargestellt.

Die box-plots in Abb. 9 zeigen, dass die Gruppen 2 und 3 einen signifikant größeren Mineralverlust aufwiesen als die Gruppen 6, 8, 10, 12, 14, 16 und 17 ($p < 0,05$; Bonferroni). Dabei war der Mineralverlust in der Gruppe 3 am höchsten, wohingegen in Gruppe 12 der größte Mineralgewinn deutlich wurde.

Aus einer vergleichenden, paarweisen Betrachtung der Gruppen untereinander ergibt sich, dass bei Gleichsetzung aller anderen Einflussfaktoren jeweils die Lösung mit dem niedrigeren pH-Wert von 5,5 - in Abbildung 9 diejenigen mit einer ungeraden Nummer - weniger stark remineralisierend wirkte als die jeweils dazugehörige Lösung mit einem pH-Wert von 6,5. Eine Ausnahme davon bildete nur Gruppe 1 (Saliva Orthana®).

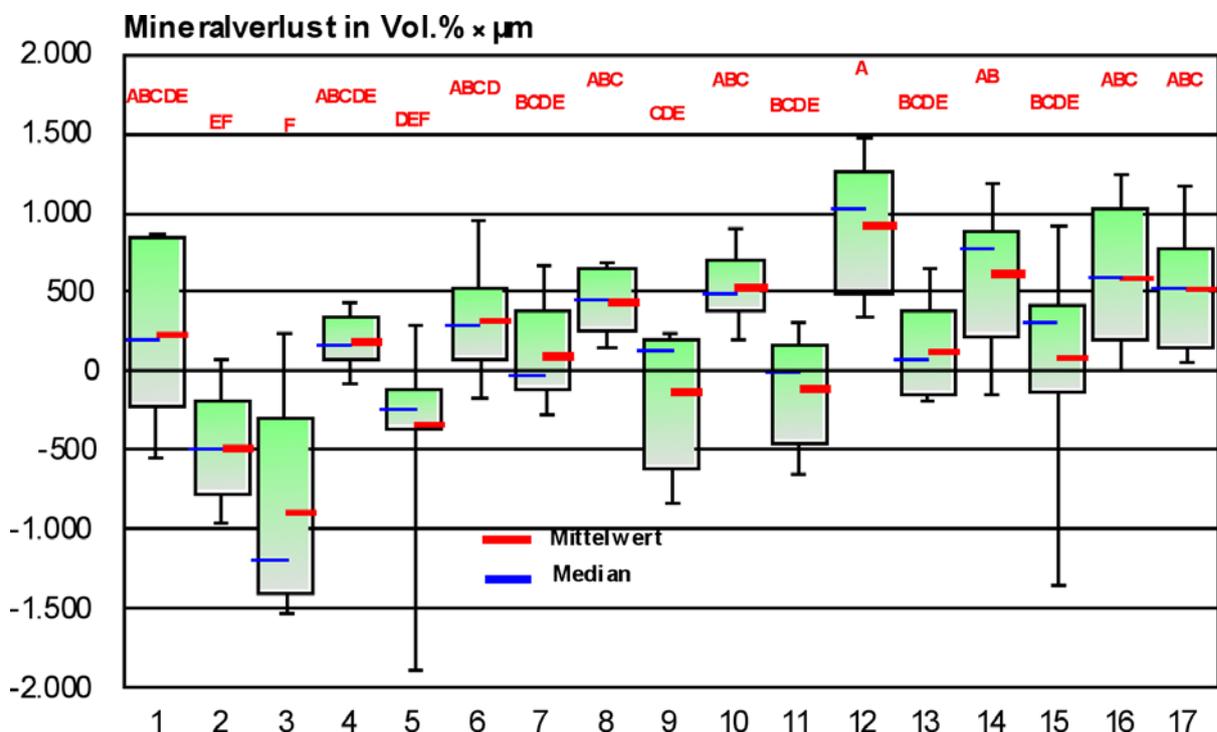


Abb. 9: Ergebnisse des Mineralverlustes [Vol.% \times μm] nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben ($n = 9$) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whiskers-plots mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen und Mittelwerten). Gruppen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant ($p > 0,05$; Bonferroni).

5.2.2 Auswertung der Läsionstiefen

Die demineralisierten Bereiche zeigten für LT_{Demin} einen Mittelwert (Standardabweichung) von 108 (29) μm . Die Mittelwerte waren für alle Untergruppen vergleichbar, also nicht signifikant unterschiedlich ($p > 0,05$; ANOVA).

Die folgende Tabelle zeigt die mittleren Läsionstiefen mit den dazugehörigen Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen vor (LT_{Demin}) und nach (LT_{Effekt}) Lagerung der demineralisierten Dentinproben in den verschiedenen Lösungen ($n = 9$).

Das Ausmaß der erhöhten (negatives Vorzeichen) und der verringerten (positives Vorzeichen) effektiven Läsionstiefen (ΔLT) ist dargestellt, wobei das negative Vorzeichen auf eine weitere Demineralisation der Dentinprobe hindeutet und das positive Vorzeichen auf eine Remineralisation schließen lässt. Die effektive Läsionstiefe (ΔLT) der Dentinproben in den Lösungen 2, 3, 5, 9 und 11 zeigte eine weitere Demineralisation, wobei die Ergebnisse der Gruppe 3 hoch signifikant waren ($p < 0,01$; t-Test).

Bei den Dentinproben der restlichen Gruppen wurde eine Remineralisation beobachtet. Die Proben der Gruppen 6, 13, 14 und 16 remineralisierten signifikant ($p < 0,05$; t-Test), die der Gruppen 4, 8, 10, 12 und 15 hoch signifikant ($p < 0,01$; t-Test) und die der Gruppe 17 sogar höchst signifikant ($p < 0,001$; t-Test).

Tab. 6: Signifikante Unterschiede (p-Wert) zwischen den Werten vor und nach der Lagerung in den verschiedenen Lösungen wurden durch den gepaarten t-Test analysiert

Lösung Nr.	Läsionstiefe (LT _{Demin})		Läsionstiefe (LT _{Effekt})		Läsionstiefe effektiv (Δ LT)		Signifikanz (p)
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	
1	111,8	15,5	111,2	12,3	0,6	7,2	0,823
2	127,7	18,8	143,9	29,9	- 16,2	23,0	0,068
3	111,8	15,9	151,9	22,1	- 40,1	17,5	0,000
4	96,1	25,8	66,8	21,3	29,3	18,3	0,001
5	111,2	25,0	115,2	38,9	- 4,0	23,6	0,624
6	93,7	28,2	81,7	20,8	12,0	12,4	0,020
7	92,1	20,3	87,5	22,7	4,6	18,0	0,470
8	84,9	27,9	72,8	27,4	12,1	9,3	0,005
9	114,1	41,2	118,3	51,4	- 4,2	29,9	0,683
10	106,6	33,2	81,7	19,8	24,9	19,4	0,005
11	121,8	44,5	122,4	53,7	- 0,7	12,4	0,875
12	102,4	13,5	83,7	22,5	17,7	14,8	0,006
13	100,3	26,9	70,9	39,3	29,4	29,6	0,017
14	118,6	30,8	95,2	34,5	23,3	22,4	0,014
15	109,7	31,8	73,1	21,7	36,6	24,6	0,002
16	127,8	23,3	102,4	29,3	25,4	30,6	0,042
17	107,2	28,9	69	22,2	38,2	15,8	0,000

Nachdem die Proben der jeweiligen Gruppen (n = 9) für zwei Wochen in den 17 unterschiedlichen Lösungen gelagert wurden, konnten effektive Läsionstiefen (Δ LT = LT_{Demin} - LT_{Effekt}; [μ m]) beobachtet werden, die sich zwischen den Gruppen höchst signifikant unterschieden (p < 0,001; ANOVA).

In den folgenden Abbildungen wird die effektive Läsionstiefe [μ m] der Dentinproben (n = 9) nach der Lagerung für zwei Wochen in den verschiedenen Lösungen mittels box-and-whisker-plots dargestellt.

In Bezug auf die Läsionstiefe zeigen die box-and-whiskers-plots in Abb. 10, dass die Gruppen 2 und 3, in deren Lösung keine Elektrolyte enthalten waren, eine signifikant höhere Läsionstiefe aufwiesen als alle anderen Gruppen, mit Ausnahme der Gruppe 5 (p < 0,05; Bonferroni). Dabei war die durchschnittliche Läsionstiefe in der Gruppe 3 am höchsten, wohingegen Gruppe 17 die größte Verringerung der Läsionstiefe aufzeigte.

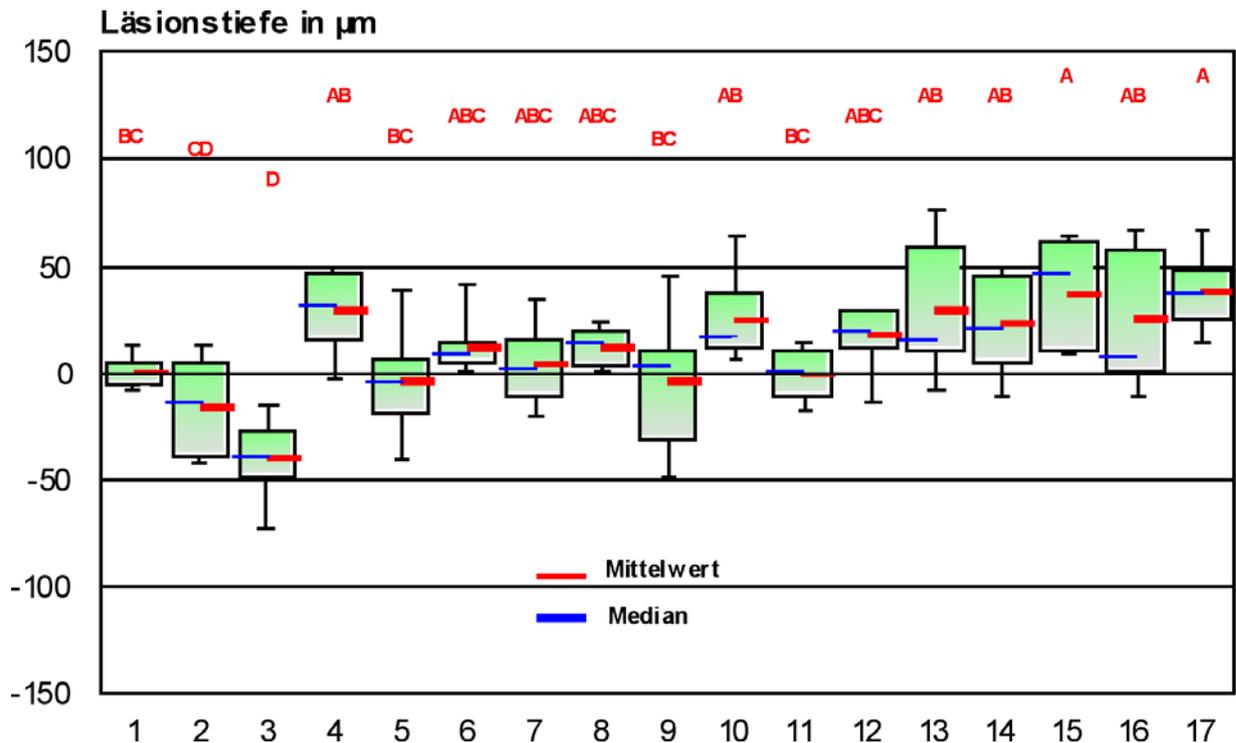


Abb. 10: Ergebnisse der Läsionstiefe [μm] nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben ($n = 9$) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whiskers-plots mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen und Mittelwerten). Gruppen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant ($p > 0,05$; Bonferroni)

5.2.3 Auswertung des Einflusses unterschiedlicher Faktoren auf den Mineralverlust und die Läsionstiefe

Werden die Einflussfaktoren Kalzium, Phosphat, Fluorid und der pH-Wert hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Mineralverluste ($\Delta\Delta Z$) bzw. auf die Läsionstiefen (ΔLT) der demineralisierten Dentinproben nach Lagerung in den verschiedenen Lösungen verglichen, zeigte sich, dass der pH-Wert zwar einen höchst signifikanten Einfluss auf $\Delta\Delta Z$ besaß ($p < 0,001$; ALM) und einen nahezu signifikanten Einfluss auf ΔLT ($p = 0,169$). Kalzium hatte sowohl eine schwach signifikante Wirkung auf den effektiven Mineralverlust ($\Delta\Delta Z$) ($p = 0,05$) als auch auf die effektive Läsionstiefe (ΔLT) ($p = 0,037$). Eine signifikante Wechselwirkung zwischen Kalzium und dem pH-Wert konnte in Bezug auf die Läsionstiefe (ΔLT) festgestellt werden ($p = 0,005$). Für Phosphat und die Wechselwirkungen zwischen den anderen Faktoren zeigte sich kein signifikanter Einfluss auf eine Erhöhung oder Verringerung des Mineralverlustes bzw. der Läsionstiefe ($p > 0,05$).

5.2.3.1 Einfluss von Kalzium und Phosphat auf den Mineralverlust

In der folgenden Abbildung ist der Einfluss der Faktoren Kalzium und Phosphat in unterschiedlichen Konzentrationen auf den Mineralverlust der demineralisierten und anschließend in den jeweiligen Lösungen gelagerten Dentinproben (n = jeweils 9) dargestellt.

Bei denjenigen Gruppen, die 111 mg/l und 222 mg/l Kalzium enthielten, war $\Delta\Delta Z$ signifikant höher im Vergleich zu den Gruppen, bei denen kein Kalzium hinzugefügt wurde ($p < 0,05$; ANOVA, Bonferroni). Auch bei erhöhten Phosphatkonzentrationen (888 mg/l und 1776 mg/l) wurden im Vergleich zu den Kontrollgruppen, die kein Phosphat enthielten, signifikant erhöhte Werte für den effektiven Mineralverlust ($\Delta\Delta Z$) ermittelt ($p < 0,05$).

Die box-and-whiskers-plots in Abbildung 11 zeigen hinsichtlich der Kalziumkonzentration, dass der durchschnittliche Mineralverlust in der Gruppe 1 (keine Kalziumzugabe) am höchsten war, während in Gruppe 3 mit einer Kalziumkonzentration von 111 mg/l ein Mineralgewinn deutlich wurde.

Bezüglich der Konzentration von Phosphat wird deutlich, dass Gruppe 1, die kein Phosphat enthielt, den geringsten remineralisierenden Effekt zeigte. Die größte durchschnittliche remineralisierende Wirkung ergab sich in Gruppe 5 mit einer Phosphatkonzentration von 1776 mg/l.

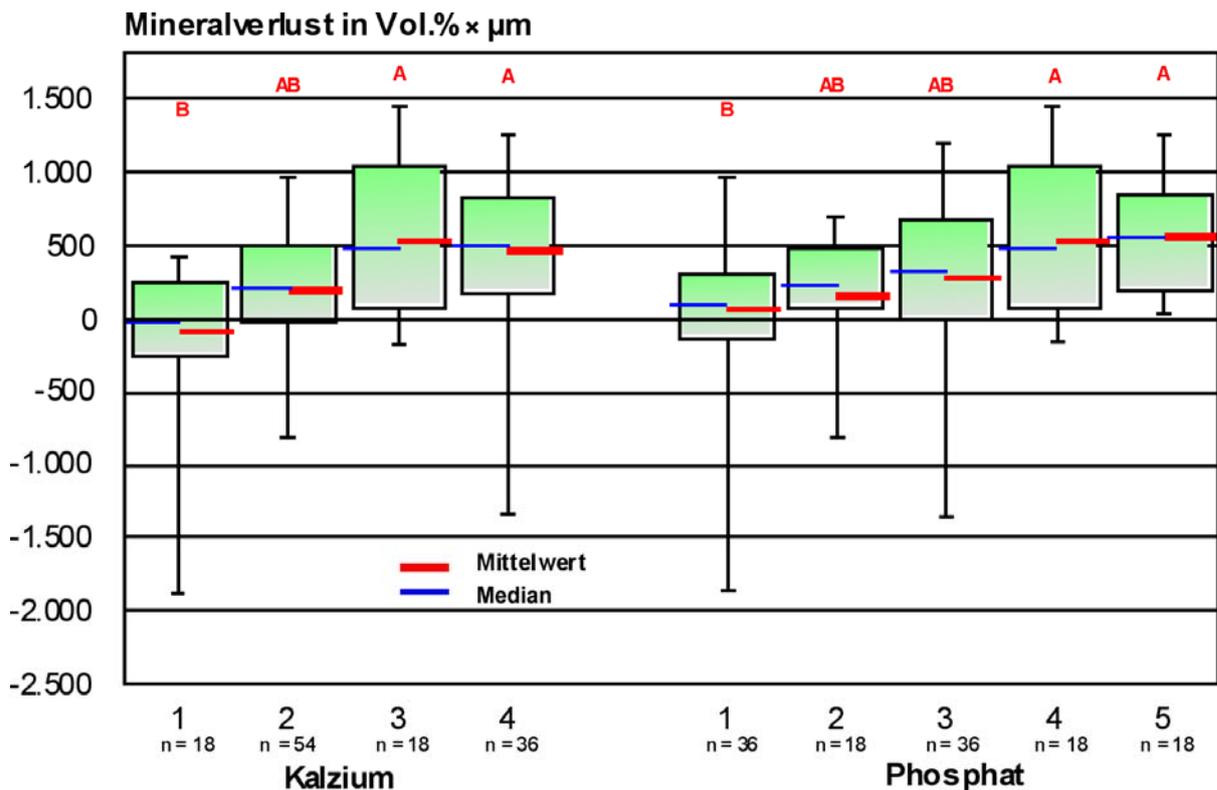


Abb. 11: Ergebnisse des Mineralverlustes [Vol.% × μm] in Bezug auf die Einflussfaktoren Kalzium und Phosphat nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben (n = 9) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whiskers-plots mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen und Mittelwerten). Gruppen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant (p > 0,05; Bonferroni).

Kalzium: 1 = keine Kalziumzugabe	Phosphat: 1 = keine Phosphatzugabe
2 = 55,5 mg/l	2 = 111 mg/l
3 = 111 mg/l	3 = 444 mg/l
4 = 222 mg/l	4 = 888 mg/l
	5 = 1776 mg/l

5.2.3.2 Einfluss von Kalzium und Phosphat auf die Läsionstiefe

In der folgenden Abbildung ist der Einfluss der Faktoren Kalzium und Phosphat in unterschiedlichen Konzentrationen auf die Läsionstiefe der demineralisierten und anschließend in den jeweiligen Lösungen gelagerten Dentinproben (n = jeweils 9) dargestellt.

Die maximale Kalziumkonzentration (222 mg/l) hatte eine signifikante Erhöhung von ΔLT im Vergleich zu den Kontrollgruppen (p < 0,05; ANOVA, Bonferroni) zur Folge. Gruppen, die 1776 mg/l Phosphat enthielten, zeigten signifikant erhöhte Werte für ΔLT im Vergleich zu den Gruppen, die gar kein oder weniger Phosphat (111 mg/l) (p < 0,05) enthielten.

Bezüglich der Kalziumkonzentration zeigen die folgenden box-and-whiskers-plots in Abbildung 12, dass die durchschnittliche Erhöhung der Läsionstiefe in

der Gruppe 2 mit einer Kalziumkonzentration von 55,5 mg/l am höchsten war, während bei Gruppe 4 (222 mg/l) eine Verringerung der Läsionstiefe erkennbar wurde.

Bei den unterschiedlichen Konzentrationen von Phosphat wird deutlich, dass Gruppe 5 (1776 mg/l) den stärksten durchschnittlichen Effekt einer Remineralisation zeigte. Die geringste Remineralisationswirkung war in Gruppe 2 mit einer Phosphatkonzentration von 111 mg/l zu erkennen.

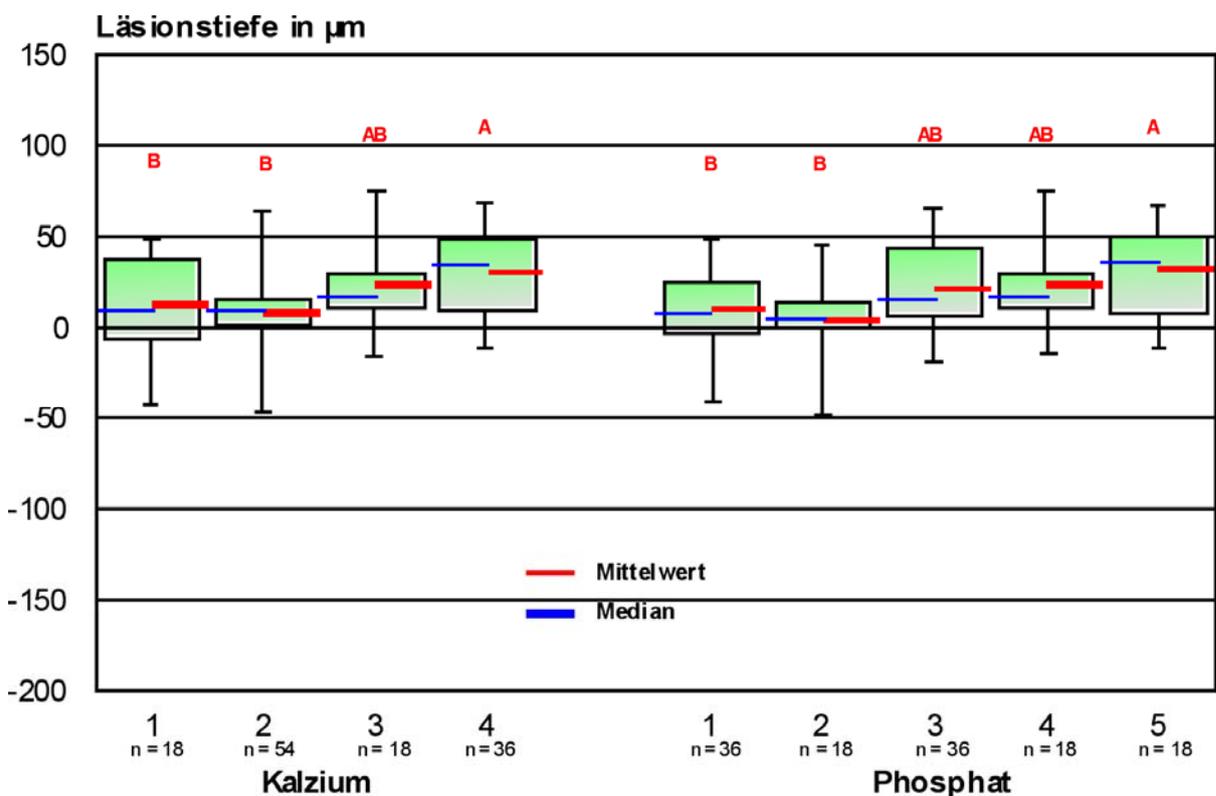


Abb. 12: Ergebnisse für die Läsionstiefe [µm] in Bezug auf die Einflussfaktoren Kalzium und Phosphat nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben (n = 9) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whiskers-plots mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen und Mittelwerten). Gruppen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant (p > 0,05; Bonferroni).

Kalzium: 1 = keine Kalziumzugabe	Phosphat: 1 = keine Phosphatzugabe
2 = 55,5 mg/l	2 = 111 mg/l
3 = 111 mg/l	3 = 444 mg/l
4 = 222 mg/l	4 = 888 mg/l
	5 = 1776 mg/l

5.2.3.3 Einfluss von Fluorid und dem pH-Wert auf den Mineralverlust

In der folgenden Abbildung ist der Einfluss des Fluoridgehaltes und des pH-Wertes auf den Mineralverlust der demineralisierten und anschließend in den verschiedenen Lösungen gelagerten Dentinproben dargestellt.

Hierbei wird deutlich, dass in Bezug auf die Wirkung auf Dentin zwischen einer Lösung mit einem Fluoridgehalt von 4,4 mg/l (Fluorid = 2) und einer Lösung, in der kein Fluorid (Fluorid = 1) vorhanden war, ein höchst signifikanter Unterschied ($p = 0,001$; t-Test) vorlag. Bei der fluoridfreien Lösung war eine erhebliche Zunahme des Mineralverlustes zu beobachten.

Die Betrachtung des pH-Wertes lässt erkennen, dass die Wirkung eines pH-Wertes von 6,5 (pH = 1) höchst signifikante Unterschiede ($p = 0,001$; t-Test) zu der Wirkung eines pH-Wertes von 5,5 (pH = 2) aufwies und eine Lösung mit höherem pH-Wert ein signifikant höheres remineralisierendes Potential für Dentin besaß (Abb. 13).

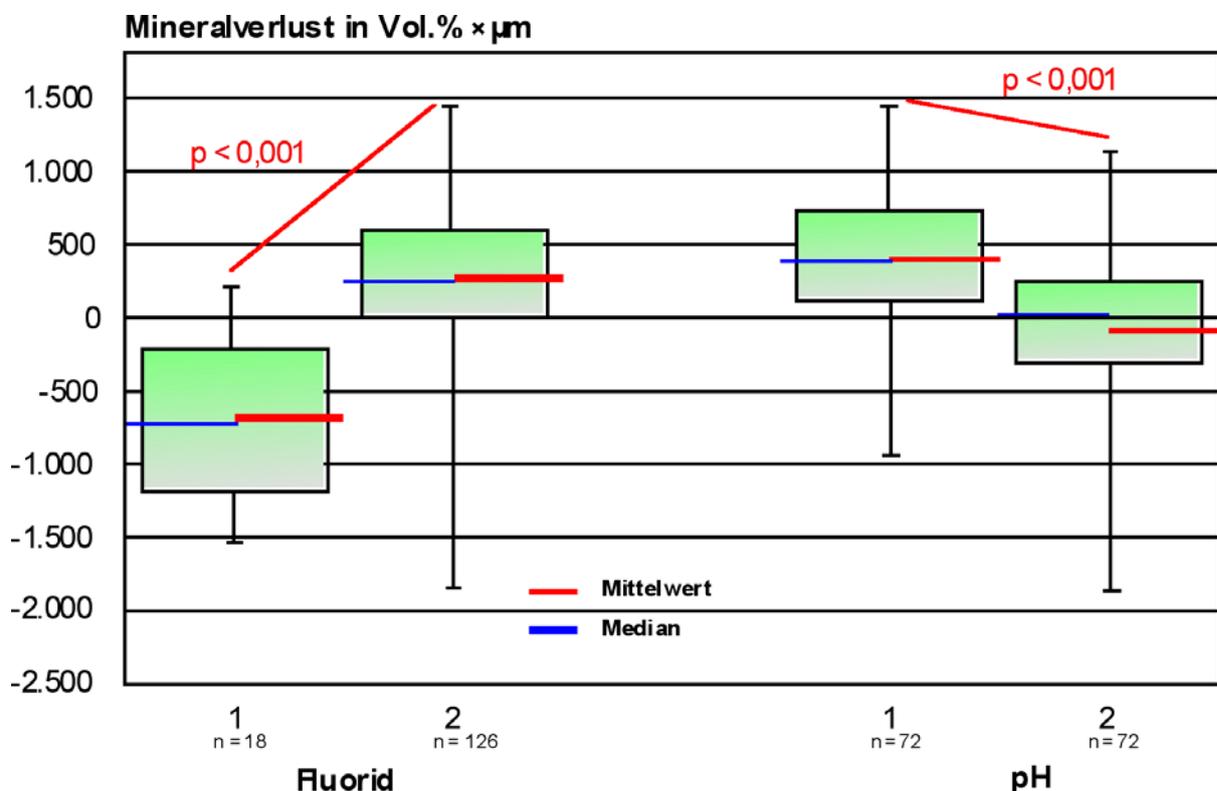


Abb. 13: Ergebnisse für den Mineralverlust [Vol.% × µm] in Bezug auf die Einflussfaktoren Fluorid und pH-Wert nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben (n = 9) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whiskers-plots mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen und Mittelwerten). Die jeweiligen Gruppen von Fluorid und die des unterschiedlichen pH-Wertes unterscheiden sich höchst signifikant voneinander ($p < 0,001$; t-Test)

Fluorid: 1 = keine Fluoridzugabe
2 = 4,4 mg/l

pH: 1 = pH-Wert 6,5
2 = pH-Wert 5,5

5.2.3.4 Einfluss von Fluorid und dem pH-Wert auf die Läsionstiefe

In der folgenden Abbildung ist der Einfluss des Fluoridgehaltes und der des pH-Wertes auf die Läsionstiefe der demineralisierten und anschließend in den verschiedenen Lösungen gelagerten Dentinproben dargestellt.

Auch für die Läsionstiefe zeigte sich hinsichtlich der Wirkung auf die Zahnhartsubstanz, dass zwischen einer Lösung mit einem Fluoridgehalt von 4,4 mg/l (Fluorid = 2) und einer Lösung, in der kein Fluorid (Fluorid = 1) vorhanden war ein höchst signifikanter Unterschied ($p < 0,001$; t-Test) festzustellen war.

Ein Vergleich der Proben, die in Lösungen mit unterschiedlichem pH-Wert gelagert wurden, ließ jedoch keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$; t-Test) im Hinblick auf die Läsionstiefe zwischen einem Wert von 5,5 (pH = 2) und 6,5 (pH = 1) erkennen.

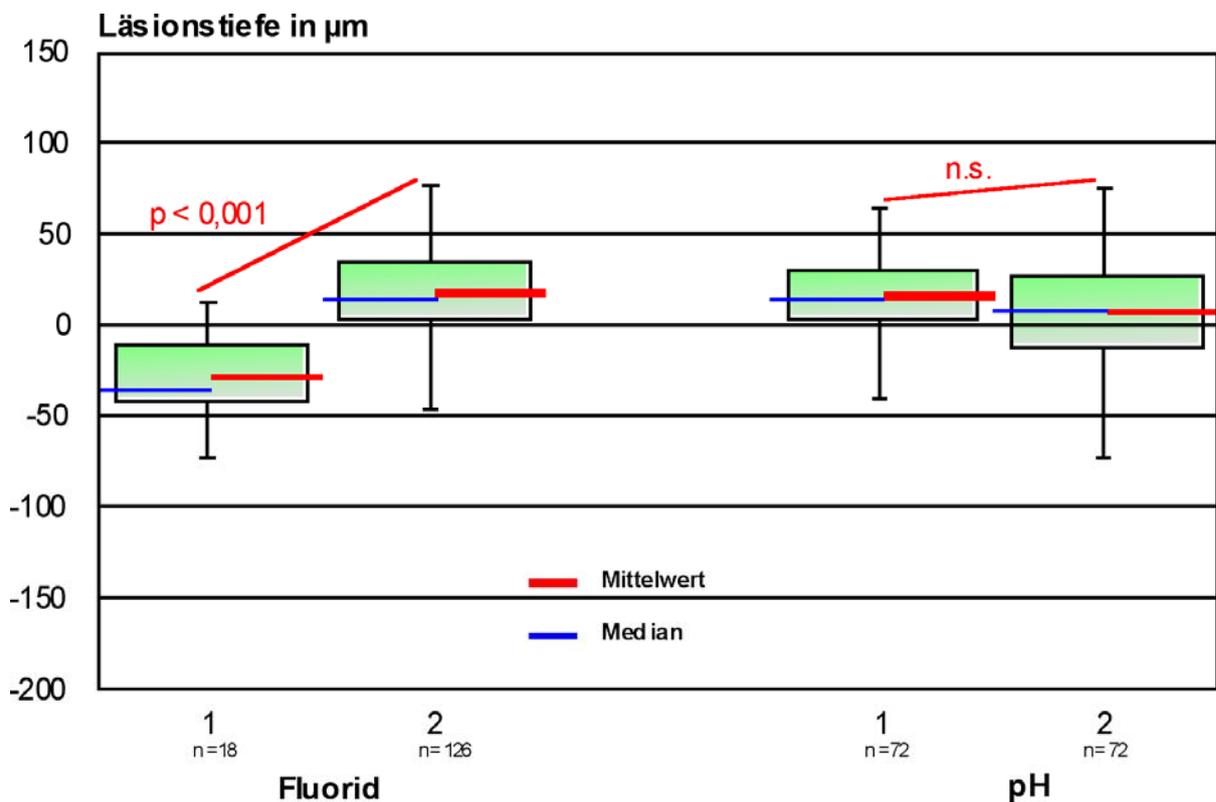


Abb. 14: Ergebnisse für die Läsionstiefe [μm] in Bezug auf die Einflussfaktoren Fluorid und pH-Wert nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben ($n = 9$) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whiskers-plots mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen und Mittelwerten). Bei Fluorid unterscheiden sich die Gruppen 1 und 2 höchst signifikant voneinander ($p < 0,001$; t-Test), wohingegen der Unterschied bei den unterschiedlichen pH-Werten nicht signifikant ist ($p > 0,05$; t-Test).

Fluorid: 1 = keine Fluoridzugabe
2 = 4,4 mg/l

pH: 1 = pH-Wert 6,5
2 = pH-Wert 5,5

5.3 Sättigungsgrad

Wie schon im Kapitel 2.7.3 erwähnt, ist der Sättigungsgrad einer Lösung bezüglich Octakalziumphosphat und Hydroxylapatit sehr entscheidend für die remineralisierende oder demineralisierende Wirkung auf die Zahnhartsubstanz. Die folgende Tabelle zeigt den Sättigungsgrad der 17 verschiedenen Lösungen in Bezug auf Octakalziumphosphat, Hydroxylapatit und Fluorapatit. Der Wert „1“ bedeutet, dass die Lösung gesättigt ist, bei Werten < 1, dass die entsprechende Lösung untersättigt ist und Werte ≥ 1 zeigen, dass die Lösung hinsichtlich der oben genannten Apatite übersättigt ist. So ist in der folgenden Tabelle zu erkennen, dass bezüglich Octakalziumphosphat die meisten Gruppen untersättigt waren, ausgenommen der Gruppen 10, 12, 14 und 16, die eine Übersättigung zeigten und der Gruppe 17, die gesättigt war. Für Hydroxylapatit zeigte sich eine Untersättigung in den Gruppen 2 - 7, sowie für die Gruppen 9 und 11. In den verbleibenden Gruppen war eine Übersättigung bezüglich Hydroxylapatit zu erkennen. In Bezug auf Fluorapatit waren, ausgenommen der Gruppen 2 - 7, alle Gruppen übersättigt. Die Werte in der Tabelle zeigen, dass der theoretische Sättigungsgrad bezüglich OCP, HAP und FAP mit steigenden CaCl₂- und KH₂PO₄- Konzentrationen ebenfalls zunahm.

Tab. 7: Theoretische Sättigungsgrade (wässrige Lösung) in Bezug auf OCP, HAP und FAP der verwendeten Lösungen

Gruppe	CaCl ₂ (mg/l)	KH ₂ PO ₄ (mg/l)	NaF (mg/l)	pH	Theoretischer Sättigungsgrad		
					OCP	HAP	FAP
1	Saliva Orthana®			6,8	--	--	--
2	--	--	--	6,5	0	0	0
3				5,5			
4	--	--	4,4	6,5	0	0	0
5				5,5			
6	55,5	--	4,4	6,5	0	0	0
7				5,5			
8	55,5	111	4,4	6,5	0,7	3,1	11
9				5,5			
10	55,5	444	4,4	6,5	1,1	4,7	16
11				5,5			
12	111	888	4,4	6,5	1,9	8,1	28
13				5,5			
14	222	444	4,4	6,5	2,2	9,9	34
15				5,5			
16	222	1776	4,4	6,5	3,2	13	47
17				5,5			

Abkürzungen: OCP (Octakalziumphosphat), HAP (Hydroxylapatit), FAP (Fluorapatit)

6. Diskussion

Speichelersatzmittel wurden für Patienten entwickelt, die, häufig aufgrund einer tumortherapeutischen Behandlung im Kopf-Hals-Bereich, unter Hyposalivation leiden und deren Speichel sich folglich quantitativ und qualitativ verändert. Für diese Patienten stellen Speichelersatzmittel meist die einzige Möglichkeit dar, die auftretenden Beschwerden und Symptome der Hyposalivation zu lindern. Die Akzeptanz dieser Mittel wird in der Literatur jedoch kontrovers diskutiert [OLSSON und AXELL, 1991, VISCH et al., 1986, VISSINK et al., 1983]. Aus zwei kontrollierten Studien im Cross-over-Design ist bekannt, dass das auf Muzin basierende Saliva Orthana[®] hinsichtlich seiner Wirkung signifikant besser beurteilt wird als ein Vergleichspräparat, welches kein Muzin enthält [DUXBURY et al., 1989, VISCH et al., 1986]. Die Auswirkungen auf die Zahnhartsubstanzen wurden jedoch nicht untersucht.

Da vor allem ältere Patienten, bei denen infolge freiliegender Zahnhälse Dentin exponiert ist, unter Hyposalivation leiden, wurde in der vorliegenden Arbeit die Wirkung potentieller Speichelersatzmittel auf diese Zahnhartsubstanz betrachtet. Das Demineralisationsmuster von unbestrahltem Dentin ist mit dem von bestrahltem Dentin vergleichbar. Trotz der Tatsache, dass sich die Knoop-Härte von Dentin durch eine Bestrahlung verändert, da die Bestrahlung auf Dentin erweichend wirkt, kann bei einer Strahlenkaries von der gleichen Kariesätiologie ausgegangen werden wie bei einer nicht strahlenbedingten Karies [KIELBASSA et al., 1999]. Somit sind die Ergebnisse dieser Untersuchung auch für bestrahltes Dentin anwendbar.

Für die im Rahmen dieser Studie durchgeführten Untersuchungen wurden Zähne von schlachtfrischen Rindern verwendet, da Rinderzähne aufgrund ihrer guten Verfügbarkeit und Größe sehr gut für die Herstellung entsprechender Probenkörper geeignet sind. Darüber hinaus kann von einer uniformen Reaktionsfähigkeit der Zahnhartsubstanzen ausgegangen werden, da Rinder sowohl einer homogenen Nahrungsaufnahme als auch gleichmäßigen äußeren Einflüssen unterliegen. Diese für die Vergleichbarkeit der Versuchsergebnisse wesentlichen Bedingungen wären bei menschlichem Dentin nicht gegeben, da humane Zahnproben zum einen nicht in ausreichender Qualität und Quantität zur Verfügung stehen und zum anderen unterschiedliche Altersstufen und verschiedene Herkünfte der menschlichen Dentinproben erhebliche

Diskrepanzen in den Versuchsergebnissen zur Folge gehabt hätten [MELLBERG, 1992]. Da die chemische Zusammensetzung, die Struktur und die Anzahl der Dentinkanälchen, sowie die physikalischen Eigenschaften der bovinen Zahnhartsubstanz mit der des Menschen vergleichbar sind [ESSER et al., 1998], eignet sich im Rahmen von Untersuchungen zum Demineralisationsverhalten bovines Dentin sehr gut zur Substitution menschlicher Zahnhartsubstanz.

Bei der Verwendung von Dentin ist jedoch im Unterschied zu Schmelz zu beachten, dass besonders demineralisiertes Dentin zu Schrumpfungen neigt, wenn es nicht permanent feucht gelagert wird [RUBEN und ARENDS, 1993b]. Diese Schrumpfungen haben einen erheblichen Einfluss auf die Messergebnisse der Läsionstiefe und des Mineralverlustes einer Dentinprobe. Da Proben stets unterschiedliche Trocknungen erfahren und somit auch variierende Schrumpfungen aufweisen, wären die Messergebnisse in der Literatur nicht mehr miteinander vergleichbar [RUBEN und ARENDS, 1993a]. Daher ist es unerlässlich, eine Schrumpfung bei Studien bezüglich des De- und Remineralisationsverhaltens von Dentin zu verhindern. Dies kann zum einen durch Lagerung der Dentinproben in Ethandiol erreicht werden, die dadurch bis zu einer Stunde an der Luft geschützt sind [RUBEN und ARENDS, 1993a]. Eine weitere Möglichkeit stellt die Lagerung der Proben in neutraler Kochsalzlösung dar, wie es die vorliegende Studie beschreibt. In früheren Untersuchungen konnte beobachtet werden, dass die Lagerung während der gesamten Versuchsdurchführung für einen Zeitraum von 20 Sekunden, indem die transversale Mikroradiografie stattfindet, unterbrochen werden kann. Unter dieser Bedingung hält sich die Schrumpfung in einem vernachlässigbaren Rahmen von 1 - 2 % [INABA et al., 1995, RUBEN und ARENDS, 1993a]. So konnten bei der vorliegenden Arbeit beeinträchtigende Schrumpfungen des Dentins und darüber hinaus durch die Verwendung einer neutralen „Lagerungslösung“ unerwünschte Wirkungen auf die Zahnhartsubstanz ausgeschlossen werden, die den Mineralverlust oder die Läsionstiefe bei der mikroradiografischen Auswertung hätten beeinflussen können. Um in zukünftigen Studien Schrumpfungen jedoch mit Bestimmtheit ausschließen zu können, sollten Dünnschliffe von Dentinproben in Ethandiol gelagert werden.

Zur Auswertung der De- und Remineralisationen der einzelnen Dentinproben wurde in dieser Arbeit die transversale Mikroradiografie angewendet. In

vorangegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass die transversale Mikroradiografie zur Auswertung von Mineralverlusten und Läsionstiefen von kariösen Läsionen die genaueste und aussagekräftigste Methode ist [ARENDS UND TEN BOSCH, 1992, DAMEN et al., 1997, HALL et al., 1997]. Die transversale Mikroradiografie wurde bereits in zahlreichen Studien als Methode zur Beschreibung von de- und remineralisierten Zahnhartsubstanzen angewendet und kann für In-vitro- als auch In-situ-Versuche als Goldstandard angesehen werden [ARENDS UND TEN BOSCH, 1992, AMAECHI et al., 1998, KIELBASSA und MEYER-LUECKEL, 2001, TEN CATE, 2001].

Um bei der mikroradiografischen Auswertung einen direkten Vergleich zwischen dem Demineralisations- bzw. Effektbereich und dem gesunden Kontrollbereich zu ermöglichen, wurden zwei gesunde Bereiche am äußeren linken und rechten Rand jeder Probe definiert. Diese wurden mit Nagellack abgedeckt, damit sich nach Lagerung der Dentinproben in den verschiedenen Lösungen unterschiedliche Bereiche erkennen ließen, die als Kontrolle dienten. Aufgrund der direkten Nachbarschaft des demineralisierten Bereiches und des Effektbereiches zu der Ausgangssituation (gesunder Bereich) konnten so Ungenauigkeiten bei der Auswertung vermieden werden. Die Abdeckung mit einem handelsüblichen Nagellack ist bei De- bzw. Remineralisationsversuchen *in vitro* in der Literatur eine anerkannte und häufig angewandte Methode. Der Nagellack bildet eine undurchlässige, säureresistente Barriere, die eine unerwünschte Alteration der bedeckten Dentinbereiche während der Lagerung in der Demineralisationslösung und anschließend in den verschiedenen Lösungen verhindert [KIELBASSA et al., 1999, TANAKA und KADOMA, 2000, TEN CATE et al., 1991].

Über einen Zeitraum von zwei Wochen wurden 153 gesunde, demineralisierte Dentinproben in Saliva Orthana[®] sowie 16 potentiellen, muzinbasierten Speichelersatzlösungen gelagert. Die Lösungen wurden zweimal täglich gewechselt, was einem intensiveren Kontakt mit dem Speichelersatzmittel entspricht als unter klinischen Bedingungen zu erwarten wäre. Speichelersatzmittel werden jedoch nach Bedarf verwendet und unterliegen keiner Tageshöchstdosis. Somit dürften die Ergebnisse der durchgeführten In-vitro-Studie mit Beobachtungen nach einem längeren Benutzungszeitraum *in vivo* vergleichbar sein.

Die Zusammensetzung der einzelnen Versuchslösungen variierte hinsichtlich der Konzentration von Kalzium, Phosphat und Fluorid, wobei in zwei Kontrollgruppen (Gruppen 2 und 3) diese Elektrolyte vollständig fehlten. Somit wurde einerseits gezielt der Einfluss des Basisstoffes Muzin in diesen beiden Gruppen herausgestellt und andererseits die Wirkung der Elektrolyte (Versuchsgruppen 4 - 17) auf demineralisiertes Dentin besonders deutlich gemacht. Die Zugabe von Kalzium und Phosphat zu einer Lösung mit niedrigem pH-Wert bzw. einem hohen Gehalt an titrierbarer Säure kann durch die Veränderung des Löslichkeitsproduktes von Apatit deren demineralisierende Wirkung reduzieren [BRUDEVOLD et al., 1965]. Eine schützende Wirkung ist in niedrigen pH-Bereichen nicht völlig auszuschließen, wie z. B. durch die Zugabe von Fluoriden [ARENDS et al., 1984, BORSBOOM et al., 1985]. In der vorliegenden Studie zeigten die Kontrolllösungen erwartungsgemäß eine voranschreitende Demineralisation. Durch die Zugabe von nur geringen Mengen Kalzium, Phosphat und Fluorid konnte jedoch deren schützende Wirkung auf Dentin demonstriert werden. Dies war auch bei den Lösungen zu beobachten, die hinsichtlich Octakalziumphosphat untersättigt waren (Gruppen 2 - 9, 11, 13 und 15), so dass neben der protektiven Wirkung durch die Elektrolyte auch die Schutzfunktion der Muzine gegenüber einer Demineralisation gezeigt werden konnte.

Im Vergleich zu Schmelz, bei welchem bereits geringe Fluoridkonzentrationen ausreichen [TEN CATE et al., 1995], um *in vitro* eine Remineralisation unter pH-cycling-Bedingungen zu erzielen, zeigte sich Dentin als wesentlich kariesanfälliger. Für Dentin wird eine Fluoridkonzentration von 4,4 mg/l benötigt, um eine weitere Demineralisation bei einem pH-Wert von 5,5 nahezu vollständig zu hemmen, wenn geringe Mengen Kalzium und Phosphat (2,2 mmol/l = 244,2 mg/l) hinzugeführt werden [TEN CATE et al., 1998]. Dies konnte in der vorliegenden Studie für muzinbasierte Speichelersatzmittel bestätigt werden. Der remineralisierende Effekt der Elektrolyte konnte bei der Mehrzahl der angesetzten potentiellen Speichelersatzlösungen beobachtet werden. Eine remineralisierende Wirkung wäre möglicherweise auch bei den Dentinproben der Gruppen aufgetreten, die in dieser Studie diesbezüglich keine signifikanten Ergebnisse zeigen konnten, wenn die Läsion der Proben vor Lagerung in den verschiedenen Lösungen weniger tief gewesen wäre oder aber die Proben dem potentiellen Speichelersatzmittel länger ausgesetzt worden wären.

Da stimulierter Speichel die Mundhöhle im Vergleich zu Ruhespeichel nur für eine relativ kurze Periode benetzt, gilt dem Ruhespeichel aufgrund der längeren Benetzungsfähigkeit und somit dem besseren Schutz der Zähne die größere Aufmerksamkeit. Wenn Speichel in Bezug auf das Salz (z. B. Hydroxylapatit) übersättigt ist, fällt das entsprechende Salz aus, wohingegen dieses bei Untersättigung in Lösung gehen würde. Die Ionenkonzentration des Speichels gleicht sich der der Plaque an, während die H^+ -Konzentration aufgrund von Stoffwechselfvorgängen der Bakterien schwankt [MATSUO und LAGERLOF, 1991]. Daher wurden in der vorliegenden Studie die Wirkungen der unterschiedlich zusammengesetzten Lösungen bei zwei unterschiedlichen pH-Werten untersucht.

Der in der vorliegenden Untersuchung gewählte pH-Wert von 5,5 sollte den sauren pH-Wert des Speichels in der Mundhöhle bei Patienten mit vermindertem Speichelfluss simulieren, der bis auf 5,0 abfallen kann [BEN-ARYEH et al., 1975, DREIZEN et al., 1976]. Aufgrund von Schwierigkeiten hinsichtlich der Retention von Speichelersatzmitteln in der Mundhöhle sollte sich der pH-Wert in der Mundhöhle durch den Gebrauch dieser Produkte nicht lang anhaltend verändern. Daher stellte ein pH-Wert von 5,5 die klinischen Bedingungen in der Mundhöhle eines unter Hyposalivation leidenden Patienten adäquater dar als ein höherer pH-Wert. Desweiteren wurden die protektiven Eigenschaften der zugesetzten Elektrolyte Kalzium, Phosphat und Fluorid unter diesen Bedingungen besonders deutlich gemacht, zumal ein zukünftiges Speichelersatzmittel die Zahnhartsubstanz remineralisieren oder zumindest eine Demineralisation unter klinischen Bedingungen hemmen sollte. Darüber hinaus scheinen saure Produkte geschmacklich besser akzeptiert zu werden. Außerdem könnte aufgrund des sauren pH-Wertes eine eventuelle Restaktivität der Speicheldrüsen gustatorisch stimuliert werden.

Ein annähernd neutraler pH-Wert von 6,5 wurde ausgewählt, um mögliche remineralisierende Eigenschaften der Lösungen herauszustellen, obwohl auch in diesem pH-Bereich Demineralisationen von Dentin zu erwarten sind, wenn untersättigte Lösungen verwendet werden [LARSEN und PEARCE, 2003], da bei Dentin bereits ein pH-Wert von 6,7 als kritisch betrachtet werden kann.

Frühere Untersuchungen hatten ergeben, dass ein muzinhaltiges Speichelersatzmittel keine negative Wirkung auf den Mineralgehalt der

Zahnhartsubstanz [JOYSTON-BECHAL und KIDD, 1987, KIELBASSA et al., 2001, MEYER-LUECKEL et al., 2002] oder auf die Löslichkeit von Hydroxylapatit zu haben scheint, was in der vorliegenden Studie auch für Saliva Orthana® bestätigt werden konnte. Eine Demineralisation kann auch mit Sorbitol oder CMC als Basisstoff eines Speichersatzmittels verhindert werden, jedoch können nur vernachlässigbare Remineralisationen bei diesen Produkten beobachtet werden [KIELBASSA et al., 2001, MEYER-LUECKEL et al., 2002].

Weiterhin scheinen Muzine dazu beizutragen, dass die Zahnhartsubstanzen vor mechanischen und chemischen Einwirkungen, wie Attritionen und demineralisierenden erosiven Angriffen durch Säure geschützt werden [HATTON et al., 1987, NIEUW AMERONGEN et al., 1987]. Dieser Schutzmechanismus wird offensichtlich durch die Anwesenheit von Fluoriden unterstützt [ALHAIQUE et al., 1986, MEYER-LUECKEL et al., 2004]. Darüber hinaus können physiologische Muzinkonzentrationen eine Demineralisation *in vitro* hemmen [KIELBASSA et al., 2005].

In der vorliegenden Studie wurde eine Muzinkonzentration von 30 g/l verwendet, um eine gute und lange Haftung des Speichersatzmittels zu erreichen. Die bis zu 20 % in Muzinen enthaltenen Sialinsäuren sind meist an terminale Galaktose- und N-Acetylgalaktosamin-Reste der Kohlenhydratketten gebunden. Unter physiologischen Bedingungen sind diese Zucker dissoziierte Substanzen, haben somit sauren Charakter und weisen viele negative Ladungen auf. Diese negativen Ladungen können Kalziumionen anziehen und binden. Darüber hinaus können die lang gestreckten Glykoproteinmoleküle gelartige, hochkomplexe Strukturen ausformen, die nicht nur die Viskosität der Lösung erhöhen [CORFIELD et al., 1981], sondern daraus resultierend auch die Ionenaustauschrate an der Grenzfläche Flüssigkeit-Dentin herabsetzen [KIELBASSA et al., 2001, VISSINK et al., 1985]. Dies erklärt die hemmende Wirkung muzinbasierter Speichersatzmittel sowohl auf die Demineralisation als auch auf die Remineralisation von Dentin, die in einer wässrigen Lösung oder in einer auf CMC- basierten Lösung nicht im selben Umfang zu erwarten wären.

Vom klinischen Standpunkt aus kann zusammenfassend gesagt werden, dass Muzine als Basisstoff eines Speichersatzmittels im Vergleich zu CMC eine bessere Wirkung bezüglich des Schutzes der oralen Weichgewebe zu haben scheinen [HATTON et al., 1987, VISSINK et al., 1984, VISSINK et al., 1986]. Gerade

dieser Effekt lindert die Symptome der Mukositis erheblich. Aus diesem Grund bevorzugen Patienten, die sich einer Strahlentherapie unterziehen mussten, die auf Muzin basierenden Speichelersatzmittel [VISCH et al., 1986]. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie konnten darüber hinaus aufzeigen, dass Muzine fähig waren, eine Demineralisation zu hemmen. Ein übersättigtes, muzinhaltiges Speichelersatzmittel konnte *in vitro* sogar eine Remineralisation von bovinem Dentin bewirken.

In zukünftigen Studien wäre zu untersuchen, welche Ergebnisse die potentiellen Speichelersatzmittel *in vivo* zeigen. Es wäre hierbei die Akzeptanz der Lösung hinsichtlich des Geschmacks, Geruchs und des Aussehens durch den Patienten zu prüfen. Darüber hinaus wäre zu untersuchen, ob durch die *in vivo* Benutzung unerwartete Nebenwirkungen bei den Patienten auftreten.

7. Schlussfolgerung

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von Muzin als Basisstoff für ein Speichelersatzmittel keinen negativen Einfluss auf die Zahnhartsubstanz hat, solange Elektrolyte wie Kalzium, Phosphat und Fluorid ebenfalls in der Lösung enthalten sind. Sind diese in einer Lösung nicht vorhanden, kommt es zur Demineralisation von bovinem Dentin.

Bereits durch die Anwesenheit geringer Mengen Kalzium, Phosphat und Fluorid in den Lösungen lässt sich die Hemmung einer Demineralisation zeigen.

Werden dem muzinbasierten Speichelersatzmittel größere Mengen Kalzium und Phosphat zugesetzt, so dass die Lösung in Bezug auf Octakalziumphosphat und Hydroxylapatit übersättigt ist, können sogar remineralisierende Effekte beobachtet werden.

8. Zusammenfassung

8.1 Deutsche Zusammenfassung

Speichelersatzmittel finden ihren Einsatz in der symptomatischen Behandlung einer Hyposalivation. Lösungen, die als Basisstoff Muzin und zusätzlich Ionen zur Kariesprävention enthalten, scheinen eine Remineralisation der Zahnhartsubstanz bewirken zu können. Remineralisationen von Dentin infolge einer Anwendung von muzinbasierten Speichelersatzmitteln können jedoch durch Sialinsäuren im Speichel gehemmt werden. Diese binden an Muzine, die dafür bekannt sind, mit Kalzium Komplexe zu bilden. Ziel dieser Studie war es daher, den Einfluss unterschiedlicher Kalzium- und Phosphatkonzentrationen potentieller muzinbasierter Speichelersatzlösungen auf den Mineralgehalt und die Läsionstiefe von demineralisiertem bovinen Dentin *in vitro* zu untersuchen. Für den Versuch wurden 153 bovine Dentinproben in Kunstharz eingebettet, oberflächlich poliert und in den äußeren Probenbereichen mit Nagellack abgedeckt. Nach einer Demineralisation von 14 Tagen (pH 5,5) wurde ein weiterer Bereich abgedeckt. Die Proben wurden dann in 14 verschiedenen muzinbasierten Lösungen (30 g/l) mit verschiedenen pH-Werten (5,5 / 6,5) gelagert, die in ihrem Sättigungsgrad in Bezug auf Hydroxylapatit variierten. Als Kontrolle dienten zwei Lösungen ohne den Zusatz von Kalzium, Phosphat und Fluorid und als Vergleich das auf dem Markt erhältliche Produkt Saliva Orthana[®]. Die sich ergebenden Differenzen für den Mineralgehalt ($\Delta\Delta Z$) und die Läsionstiefe (ΔLT) aus den Werten nach der Demineralisation (ΔZ_{Demin} ; LT_{Demin}) und denen nach der Lagerung in den verschiedenen Lösungen (ΔZ_{Effect} ; LT_{Effect}) wurden anhand von Dünnschliffen (100 μm) mikroradiografisch (TMR) ermittelt.

Das allgemeine lineare Modell (ALM) zeigte eine signifikante Abhängigkeit von Kalzium für $\Delta\Delta Z$ ($p = 0,05$) und für ΔLT ($p = 0,037$). Der pH-Wert beeinflusste $\Delta\Delta Z$ signifikant ($p < 0,001$), für ΔLT hingegen konnte keine Signifikanz festgestellt werden ($p = 0,169$). Ebenso konnte weder für $\Delta\Delta Z$ ($p = 0,475$) noch für ΔLT ($p = 0,703$) ein signifikanter Einfluss von Phosphat beobachtet werden. Bereits mit geringen Kalzium- und Phosphatkonzentrationen sind muzinbasierte Speichelersatzmittel in der Lage, eine Demineralisation von bovinem Dentin zu verhindern. Bei übersättigten Lösungen in Bezug auf Hydroxylapatit wurde sogar eine remineralisierende Wirkung beobachtet.

8.2 Summary

Saliva substitutes are used to treat the symptoms of xerostomia. Solutions based on mucin additionally containing caries preventive ions seem to be suitable to remineralise dental hard tissues. Remineralisation of dentin by mucin-containing saliva substitutes might be inhibited by sialic acids bound to mucin, which are known to complex calcium. Thus, the aim of this investigation was to evaluate the effects of various mucin-containing solutions to be used as saliva substitutes differing in calcium and phosphate concentrations on demineralised bovine dentin *in vitro*.

153 bovine specimens were embedded in epoxy resin, polished (4000 grit), and partly covered with nail varnish (control of sound dentin). After demineralisation for 14 days (pH 5,5) the specimens (n = 9) were exposed to 14 mucin-based solutions (30 g/l) at two different pH values (5,5 or 6,5) differing in their saturations with respect to apatites. Two fluoride-free solutions as well as the commercially available saliva substitutes Saliva Orthana[®] served as controls. The differences in mineral loss ($\Delta\Delta Z$) and lesion depths (ΔLT) between the values prior to (ΔZ_{Demin} ; LT_{Demin}) and after the storage (ΔZ_{Effect} ; LT_{Effect}) in the various solutions were evaluated from microradiographs (TMR) of thin sections (100 μm).

The general linear model (GLM) revealed an almost as well as a significant dependency on calcium for $\Delta\Delta Z$ ($p = 0,05$) and ΔLT ($p = 0,037$), respectively. PH influenced $\Delta\Delta Z$ significantly ($p < 0,001$), whereas ΔLT was not influenced significantly ($p = 0,169$). Neither $\Delta\Delta Z$ ($p = 0,475$) nor ΔLT ($p = 0,703$) were influenced significantly by phosphate.

Even with low concentrations of calcium and phosphates mucin-based saliva substitutes are capable to inhibit demineralisation of bovine dentin, whereas with solutions supersaturated with respect to apatites a remineralising effect could be observed.

9. Literaturverzeichnis

- ALHAIQUE F, RICCIERI F M, SANTUCCI E, RICCONI G: Effect of fluoride on diffusion of calcium in mucin: a possible mechanism affecting remineralization of carious enamel. *Caries Res* 20: 437-440 (1986)
- AMAECHI B T, HIGHAM S M, EDGAR W M: Use of transverse microradiography to quantify mineral loss by erosion in bovine enamel. *Caries Res* 32: 351-356 (1998)
- ANGMAR M B: Studies on the distribution and ultrastructure of the main components in human dental enamel. Dr. odont. Thesis, Stockholm (1970)
- ARENDS J, CHRISTOFFERSEN J, RUBEN J, CHRISTOFFERSEN M R: Lesion progress in dentine and the role of fluoride. IRL Press, Oxford: 117-125 (1987)
- ARENDS J, CHRISTOFFERSEN J, SCHUTHOF J, SMITS M T: Influence of xylitol on demineralization of enamel. *Caries Res* 18: 296-301 (1984)
- ARENDS J, TEN BOSCH J J: Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 71: 924-928 (1992)
- BEN-ARYEH H, GUTMAN D, SZARGEL R, LAUFER D: Effects of irradiation on saliva in cancer patients. *Int J Oral Surg* 4: 205-210 (1975)
- BJORNSTROM M, AXELL T, BIRKHED D: Comparison between saliva stimulants and saliva substitutes in patients with symptoms related to dry mouth. A multi-centre study. *Swed Dent J* 14: 153-161 (1990)
- BORSBOOM P, ARENDS J, VAN DER MEI H C: Enamel lesion formation with and without fluorid in solution. *Caries Res* 19: 396-402 (1985)
- BROWN C C: The parotid puzzle: A review of the literature on human salivation and its applications to psychophysiology. *Psychophysiology* 7: 65-85 (1970)
- BROWN L R, DREIZEN S, HANDLER S, JOHNSTON D A: Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. *J Dent Res* 54: 740-750 (1975)
- BRUDEVOLD F, GRON P, MC CANN H G: Physico-chemical aspects of the enamel saliva system. *Adv Fluoride Res* 3: 63-65 (1965)
- CHOW L, TAKAGI S: Remineralization of root lesions with concentrated calcium and phosphate solutions. *Dent Mater* 14: 31-36 (1995)
- CHRISTERSSON C E, LINDH L, ARNEBRANT T: Film-forming properties and viscosities of saliva substitutes and human whole saliva. *Eur J Oral Sci* 108: 418-425 (2000)
- COHEN R E, LEVINE M J: Salivary glycoproteins. CRC Press, Boca Raton: 101-130 (1989)

- CONGER A D, WELLS M A: Radiation and aging effects on taste structure and function. *Radiat Res* 37: 31-49 (1969)
- CONGER A D: Loss and recovery of taste acuity in patients irradiated to the oral cavity. *Radiat Res* 53: 338-347 (1973)
- CORFIELD A, SCHAUER R, BUMM P: Zur biologischen Bedeutung und Bestimmung der menschlichen Muzine im Speichel. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 231: 843-845 (1981)
- DAMEN J J, EXTERKATE R A, TEN CATE J M: Reproducibility of TMR for the determination of longitudinal mineral changes in dental hard tissues. *Adv Dent Res* 11: 415-419 (1997)
- DGZMK UND DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR RADIOONKOLOGIE, MEDIZINISCHE PHYSIK UND STRAHLENBIOLOGIE (DEGRO) IN ABSTIMMUNG MIT DEM VORSTAND DER DGZ V 1.0 STAND 9/2002: Zahnärztliche Betreuung von Patienten mit tumortherapeutischer Kopf-Hals-Bestrahlung, wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK. *Dtsch Zahnärztl Z* 57: 509-511 (2002)
- DREIZEN S, BROWN L R, HANDLER S, LEVY B M: Radiation-induced xerostomia in cancer patients. Effect on salivary and serum electrolytes. *Cancer* 38: 273-278 (1976)
- DUXBURY A J, THAKKER N S, WASTELL D G: A double-blind cross-over trial of a mucin-containing artificial saliva. *Br Dent J* 166: 115-120 (1989)
- ENGELMEIER R L, KING G E: Complications of head and neck radiation therapy and their management. *Maxillofacial Prosthetics* 4: 514-522 (1983)
- ESSER M, TINSCHERT J, MARX R: Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 53: 713-717 (1998)
- FEATHERSTONE J D, FU J: Fluoride product effect on remineralization of caries-like lesions in human tooth roots. *Caries Res* 22: 93 (1988)
- FEATHERSTONE J D, MC INTYRE J M, FU J: Physicochemical aspects of root caries progression. IRL Press, Oxford: 127-137 (1987)
- FEJERSKOV O, MANJI F: Risk assessment in dental caries. In: Bader J D (Ed): *Risk assessment in dentistry*. Chapel Hill, NC: University of North Carolina Dental Ecology: 215-217 (1990)
- GELHARD T B, FIDLER V, S'GRAVENMADE E J, VISSINK A: Remineralization of softened human enamel in mucin- or CMC-containing artificial salivas. *J Oral Pathol* 12: 336-341 (1983)
- GROETZ K A: Die trockene Mundhöhle: Ätiologie, Klinik, Diagnostik, Therapie. *ZM* 92: 46-53 (2002)

- GROETZ K A, RIESENBECK D, BRAHM R: Chronische Strahlenfolgen an den Zahnhartgeweben ("Strahlenkaries"). *Strahlenther Onkol* 177: 96-104 (2001)
- GUCHELAAR H J, VERMES A, MEERWALDT J H: Radiation-induced xerostomia: pathophysiology, clinical course and supportive treatment. *Support Care Cancer* 5: 281-288 (1997)
- GUIJARRO B, LOPEZ SANCHEZ A F, HERNANDEZ VALLEJO G: Treatment of xerostomia. A review. *Med Oral* 6: 7-18 (2001)
- HALL A F, SADLER J P, STRANG R, DE JOSSELIN DE JONG E, FOYE R H, CREANOR, S L: Application of transverse microradiography for measurement of mineral loss by acid erosion. *Adv Dent Res* 11: 420-425 (1997)
- HATTON M N, LEVINE M J, MARGARONE J E, AGUIRRE A: Lubrication and viscosity features of human saliva and commercially available saliva substitutes. *J Oral Maxillofac Surg* 45: 496-499 (1987)
- HELLWIG E, KLIMEK J, ATTIN T: Einführung in die Zahnerhaltung. Urban&Fischer, Freiburg- Gießen- Göttingen: 103-113 (2003)
- HOPPENBROUWERS P M M, DRIESSEN F C M, BORGGREVEN J M: The demineralization of human dental roots in the presence of fluoride. *J Dent Res* 66: 1370-1374 (1987)
- HOPPENBROUWERS P M M, DRIESSEN F C M, BORGGREVEN J M: The mineral solubility of human tooth roots. *Arch Oral Biol* 32: 319-322 (1987)
- IMFELD T: Oligosialie und Xerostomie I: Grundlagen, Epidemiologie, Ätiologie, Pathologie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 94: 741-754. (1984)
- IMFELD T: Oligosialie und Xerostomie II: Diagnose, Prophylaxe und Behandlung. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 94: 1083-1096 (1984)
- INABA D, IJIMA Y, TAKAGI O, RUBEN J, ARENDS J: The Influence of Air-Drying on Hyper-Remineralization of Demineralized Dentine: A Study on Bulk as Well as on Thin Wet Section of Bovine Dentine. *Caries Res* 29: 231-236 (1995)
- ITTHAGARUN A, WEI S H: Chewing gum and saliva in oral health. *J Clin Dent* 8: 159-162 (1997)
- JONES I L, LEAVER A G: Studies on the minor components of the organic matrix of human dentine. *Arch Oral Biol* 19: 371-380 (1974)
- JONGEBLOED W L, S'-GRAVENMADE E J, RETIEF D H: Radiation caries: A review and SEM study. *Am J Dent* 1: 139-146 (1988)
- JOYSTON-BECHAL S, KIDD E A: The effect of three commercially available saliva substitutes on enamel in vitro. *Br Dent J* 163: 187-190 (1987)

- JUNQUEIRA L C, CARNEIRO J: Histologie. Springer, Berlin: 515-521 (1996)
- KIELBASSA A M, MEYER-LUECKEL H: Die Auswirkungen von Speichersatzmitteln und Mundspüllösungen auf Dentin. Schweiz Monatsschr Zahnmed 111: 1060-1066 (2001)
- KIELBASSA A M, OESCHGER U, SCHULTE-MONTING J, MEYER-LUECKEL H: Microradiographic study on the effects of salivary proteins on in vitro demineralization of bovine enamel. J Oral Rehabil 32: 90-96 (2005)
- KIELBASSA A M, SHOHADAI S P: Die Auswirkungen von Speichersatzmitteln auf die Läsionstiefe von demineralisiertem Schmelz. Dtsch Zahnärztl Z 54: 757-763 (1999)
- KIELBASSA A M, SHOHADAI S P, SCHULTE-MONTING J: Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel. Support Care Cancer 9: 40-47 (2001)
- KIELBASSA A M, WRBAS K-TH, DORNFELD B, HELLWIG E, SCHADE-BRITTINGER C: Zum Einfluß der tumortherapeutischen Bestrahlung auf die Kariesentstehung in menschlichem Dentin. Eine In-vitro und In-situ-Untersuchung. Dtsch Zahnärztl Z 54: 31-37 (1999)
- LAGERLOF F, OLIVEBY A: Caries-protective factors in saliva. Adv Dent Res 8: 229-238 (1994)
- LARSEN M J, BRUUN C: Caries chemistry and fluoride mechanisms of action. In: *Thylstrup A, Fejerskov O* (Eds): Textbook of clinical cariology. Munksgaard, Kopenhagen: 231-257 (1994)
- LARSEN M J, NYVAD B: Enamel erosion by soft drinks and orange juice relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. Caries Res 33: 81-87 (1999)
- LARSEN M J, PEARCE E I: Saturation of human saliva with respect to calcium salts. Arch Oral Biol 48: 317-322 (2003)
- LEVINE M J: Development of artificial salivas. Crit Rev Oral Biol Med 4: 279-286 (1993)
- LEVINE M J, AGUIRRE A, HATTON M N, TABAK L A: Artificial salivas: present and future. J Dent Res 66 (Spec No.): 693-698 (1987)
- LEVINE M J, REDDY M S, TABAK L A, LOOMIS R E, BERGEY E J, JONES P C, COHEN R E, STINSON M W, AL-HASHIMI I: Structural aspects of salivary glycoproteins. J Dent Res 66: 436-441 (1987)
- MACHTENS E: Speicheldrüsenerkrankungen. Urban&Schwarzenberg, München: 239-266 (1991)

- MATSUO S, LAGERLOF F: Relationship between total and ionized calcium concentrations in human whole saliva and dental plaque fluid. *Arch Oral Biol* 36: 525-527 (1991)
- MATZKER J, SCHREIBER J: Synthetischer Speichel zur Therapie der Hyposalivation, insbesondere der radiogenen Sialadenitis. *Z Laryngol Rhinol Otol* 51: 422-428 (1972)
- MELLBERG J R: Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 71: 913-919 (1992)
- MEYER-LUECKEL H, KIELBASSA A M: Die Verwendung von Speichelersatzmitteln bei Patienten mit Xerostomie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 112: 1037-1048 (2002)
- MEYER-LUECKEL H, SCHULTE-MONTING J, KIELBASSA A M: The effect of commercially available saliva substitutes on pre-demineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 8: 192-198 (2002)
- MEYER-LUECKEL H, UMLAND N, HOPFENMULLER W, KIELBASSA A M: The effect of a combination of various dentifrices and mucin on in vitro remineralization. *Caries Res* 38: 478-483 (2004)
- MUKAI Y, LAGERWEIJ M D, TEN CATE J M: Effect of a solution with high fluoride concentration on remineralization of shallow and deep root surface caries in vitro. *Caries Res* 35: 317-324 (2001)
- NEWBRUN E: Prevention of root caries. *Gerodontology* 5: 33-41 (1986)
- NIEUW AMERONGEN A V, BOLSCHER J G M, VEERMAN E C: Salivary mucins: protective functions in relation to their diversity. *Glycobiology* 5: 733-740 (1995)
- NIEUW AMERONGEN A V, ODERKERK C H, DRIESSEN A A: Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. *Caries Res* 21: 297-309 (1987)
- OLSSON H, AXELL T: Objective and subjective efficacy of saliva substitutes containing mucin and carboxymethylcellulose. *Scand J Dent Res* 99: 316-319 (1991)
- ROBERTS B: A study of the viscosity of saliva at different shear rates in dentate and edentulous patients. *J Dent* 5: 303-309 (1977)
- RUBEN J, ARENDS J: Shrinkage prevention of in vitro demineralized human dentine in transversal microradiography. *Caries Res* 27: 262-265 (1993a)
- RUBEN J, ARENDS J: Shrinkage of sound and demineralized human coronal dentine slabs. *Caries Res* 27: 266-270 (1993b)

- SAMANDARI F, MAI J K: Curriculum Funktionelle Anatomie für Zahnmediziner, Band I. Quintessenz, Berlin: 222-229 (1995)
- SCHEMEL W, HUMMEL K, KREKELER G: Härteprüfung an Schmelz, Dentin und Zement rezenter menschlicher Zähne. Schweiz Monatsschr Zahnmed 10: 31-40 (1984)
- SCHUSTER F J: In vitro Untersuchung zum Einfluss von Fluorid und Milch auf die erosive Demineralisation des menschlichen Zahnschmelzes mit zwei unterschiedlichen Analysemethoden. Dissertation, Giessen: 29 (2002)
- SEIFERT G, MIEHLKE A, HAUBRICH J, CHILLA R: Speicheldrüsenkrankheiten. Thieme, Stuttgart: 8-164 (1984)
- SHANNON I L: Responses of enamel, dentine and root surfaces to mouthrinse concentrations of sodium fluoride and stannous fluoride. J Dent Child 47: 17-20 (1980)
- SHANNON I L, EDMONDS E J: Effect of fluoride concentration on rehardening of enamel by a saliva substitute. Int Dent J 28: 421-426 (1978)
- SHANNON I L, FELLER R P, SUDDICK R P: Light deprivation and parotid flow in the human. J Dent Res 51: 1642-1645 (1972)
- SHANNON I L, TRODAHL J N, STARCKE E N: Remineralization of enamel by a saliva substitute designed for use by irradiated patients. Cancer 41: 1746-1750 (1978)
- SHELLIS R P: A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. Comput Appl Biosci 4: 373-379 (1988)
- SILVERMAN J E, WEBER C W, SILVERMAN S JR, COULTHARD S L, MANNING M R: Zinc supplementation and taste in head and neck cancer patients undergoing radiation therapy. J Oral Med 38: 14-16 (1983)
- SLOMIANY B L, MURTY V L, PIOTROWSKI J, SLOMIANY A: Salivary mucins in oral mucosal defense. Gen Pharmacol 27: 761-771 (1996)
- SLOMIANY B L, MURTY V L N, SLOMIANY A: Structural features of carbohydrate chains in human salivary mucins. Int J Biochem 25: 259-265 (1993)
- TABAK L A: Structure and function of human salivary mucins. Crit Rev Oral Biol Med 1: 229- 234 (1990)
- TANAKA M, KADOMA Y: Comparative Reduction of Enamel Demineralization by Calcium and Phosphate in vitro. Caries Res 34: 241-245 (2000)
- TEN CATE J M: Remineralization of caries lesions extending into dentin. J Dent Res 80: 1407-1411 (2001)

- TEN CATE J M, BUIJS M J, DAMEN J J: pH-cycling of enamel and dentin lesions in the presence of low concentrations of fluoride. *Eur J Oral Sci* 103: 362-367 (1995)
- TEN CATE J M, DAMEN J J, BUIJS M J: Inhibition of dentin demineralization by fluoride in vitro. *Caries Res* 32: 141-147 (1998)
- TEN CATE J M, DUIJSTERS P P E: Influence of fluoride in solution on tooth demineralization; I Chemical data. *Caries Res* 17: 193-199 (1983)
- TEN CATE J M, DUIJSTERS P P E: Influence of fluoride in solution on tooth demineralization; II Microradiographic data. *Caries Res* 17: 513-517 (1983)
- TEN CATE J M, VAN LOVEREN C: Fluoride mechanisms. *Dent Clin North Am* 43: 713-742 (1999)
- TEN CATE J M, NYVAD B, VAN DE PLASSCHE-SIMONS Y M, FEJERSKOV O: A Quantitative Analysis of Mineral Loss and Shrinkage of in vitro Demineralized Human Root Surfaces. *J Dent Res* 70: 1371-1374 (1991)
- VAN DER REIJDEN W A, BUIJS M J, DAMEN J J, VEERMAN E C, TEN CATE J M, NIEUW AMERONGEN A V: Influence of polymers for use in saliva substitutes on de- and remineralization of enamel in vitro. *Caries Res* 31: 216-223 (1997)
- VAN DER REIJDEN W A, VISSINK A, VEERMAN E C, NIEUW AMERONGEN A V: Treatment of oral dryness related complaints (xerostomia) in Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 58: 465-474 (1999)
- VISCH L L, S'GRAVENMADE E J, SCHAUB R M, VAN PUTTEN W L, VISSINK A: A double-blind crossover trial of CMC- and mucin-containing saliva substitutes. *Int J Oral Maxillofac Surg* 15: 395-400 (1986)
- VISSINK A, DE JONG H P, BUSSCHER H J, ARENDS J, S'GRAVENMADE E J: Wetting properties of human saliva and saliva substitutes. *J Dent Res* 65: 1121-1124 (1986)
- VISSINK A, S'GRAVENMADE E J, GELHARD T B, PANDERS A K, FRANKEN M H: Rehardening properties of mucin- or CMC-containing saliva substitutes on softened human enamel. Effects of sorbitol, xylitol and increasing viscosity. *Caries Res* 19: 212-218 (1985)
- VISSINK A, S'GRAVENMADE E J, PANDERS A K, VERMEY A: Treatment of hyposalivation. *Ear Nose Throat J* 67: 179-185 (1988)
- VISSINK A, S'GRAVENMADE E J, PANDERS A K, VERMEY A, PETERSEN J K, VISCH L L, SCHAUB R M: A clinical comparison between commercially available mucin- and CMC- containing saliva substitutes. *Int J Oral Surg* 12: 232-238 (1983)

- VISSINK A, WATERMAN H A, S'GRAVENMADE E J, PANDERS A K, VERMEY A: Rheological properties of saliva substitutes containing mucin, carboxymethylcellulose or polyethylenoxide. *J Oral Pathol* 13: 22-28 (1984)
- WALDEYER A, MAYET A: *Anatomie des Menschen, Band II.* de Gruyter, Berlin-New York: 194-195 (1993)
- WILLICH N, GUNDACKER K, ZWINGERS T, ROHLOFF R: Die Entstehung der Strahlenkaries nach hochdosierter Bestrahlung. *Strahlenther Onkol* 164: 466-473 (1988)
- WOLPERT E, JUNG F, MIDDELHOFF H D, PIEGLER T: Zur Behandlung medikamentös bedingter Mundtrockenheit bei psychiatrischen Patienten- Eine kontrollierte Vergleichsstudie. *Fortschr Neurol Psychiatr Grenzgeb* 48: 224-233 (1980)
- YU H, OHO T, XU L: Effects of several tea components on acid resistance of human tooth enamel. *J Dent* 23: 101-105 (1995)
- ZIMMERMANN J S, WILHELM R, NIEHOFF P, SCHNEIDER R, KOVACS G, KIMMIG B: Prophylaxe und Therapie akuter Strahlenfolgen an Haut und Schleimhaut Teil I: Ergebnisse einer bundesweiten Befragung. *Strahlenther Onkol* 174: 142-148 (1998)

10. Anhang

Materialliste

- Mat. 1 Analysenwaage Typ AG204, Mettler, Gießen, Deutschland
- Mat. 2 Bandsäge Exakt 300cl, Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 3 CCD Videokamera Modul XC77CE, Sony, Tokyo, Japan
- Mat. 4 CRT Brutschrank Incubat, Melag, Berlin, Deutschland
- Mat. 5 Durchlichtmikroskop 60318, Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat. 6 Falcon Probenröhrchen 50 ml, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 7 High speed holographic Film So-253, Kodak, Stuttgart, Deutschland
- Mat. 8 Kaliumchlorid 99,5-100,5 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 9 Kaliumdihydrogenphosphat 98 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 10 Kaliumhydroxid-Plätzchen 85,0 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 11 Kalziumchlorid $\geq 90,0$ % wasserfrei gepulvert, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 12 Kamera: Kontax RTS, Yashika Co., LTD, Tokyo, Japan
- Mat. 13 Leukofix, Beiersdorf, Hamburg, Deutschland
- Mat. 14 Magnesiumchlorid >98 % wasserfrei, Merck, Hohenbrunn, Deutschland
- Mat. 15 Methyldiphosphonsäure >98 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 16 Methyl-4-hydroxybenzoat 99 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 17 Mikrometerschraube, Mitutoyo GmbH, Kawasaki, Japan
- Mat. 18 Mikropipette Acura 821, Socorex, Lausanne, Schweiz
- Mat. 19 Milchsäure etwa 90 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 20 Muzin from porcine stomach Typ III, Sigma, Steinheim, Deutschland
- Mat. 21 Nagellack, Betrix, Frankfurt/Main, Deutschland
- Mat. 22 Natriumchlorid 99,5 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 23 Natriumchlorid 0,9 % Lösung, DeltaSelect GmbH, Pfullingen,
- Mat. 24 Natriumfluorid 99,0 % reinst, Omikron GmbH, Neckarwestheim, Deutschland
- Mat. 25 Objektträger, diaplus, Oststeinbeck, Deutschland
- Mat. 26 pH-Meter CG 819, Schott Geräte GmbH, Hofheim, Deutschland
- Mat. 27 Propyl-4-hydroxybenzoat 99 %, Merck, Darmstadt, Deutschland

-
- Mat. 28 Pufferlösung CertiPUR® pH 4,00 und 7,00, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 29 Röntgenstrahlgenerator, PW 1730/10, Philips, Eindhoven, Niederlande
- Mat. 30 Rührgerät IKA- Combimag RCT, Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland
- Mat. 31 Saliva Orthana®, Orthana, Kastrup, copenhagen, Denmark
- Mat. 32 Schleifpapier Körnung 500, 1200, 2500, 4000, Exakt, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 33 Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha, Wirtz - Buehler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 34 Schleifsystem Exakt 400cs, Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 35 Sekundenkleber, Orbis Dental, Offenbach, Deutschland
- Mat. 36 Technovit 4071, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland
- Mat. 37 Thymol > 99 %, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 38 TMR für Windows, Version 2.0.27.2, Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande
- Mat. 39 TMR-Probenhalter, Plano, Wetzlar, Deutschland
- Mat. 40 Ultra-Turrax T25, Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland
- Mat. 41 Wärmeschrank BR 6000, Heraeus, Hanau, Deutschland
- Mat. 42 Weithalsflaschen 1500 ml, Merck, Darmstadt, Deutschland

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. A. M. Kielbassa für die Überlassung des Themas.

Herrn Oberarzt Dr. H. Meyer-Lückel danke ich für die engagierte und hilfreiche Betreuung während der Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Außerdem danke ich Frau Bölling aus der Abteilung für Experimentelle Zahnheilkunde und Herrn Toll aus der Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie für ihre Kooperation im Rahmen dieser Studie.

Frau Dr. A. Rieben danke ich für die freundliche Überlassung der Aufnahme des TMR-Probenhalters mit Dünnschliff.

Ebenfalls danke ich meinem Kollegen Dietrich von Klinggräff für die anregenden wissenschaftlichen Diskussionen zum Thema dieser Arbeit.

Daniela Heyland danke ich für ihre Geduld und die ständige Unterstützung beim Erstellen der Arbeit.

Schließlich danke ich Philipp für die Unterstützung und den Zuspruch während der Erstellung dieser Arbeit.

Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Erklärung

„Ich, Anke Wassmund, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: [Mikroradiografische Untersuchung zum Einfluss unterschiedlicher Elektrolytkonzentrationen potentieller muzinbasierender Speichelersatzlösungen auf demineralisiertes Dentin *in vitro*] selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

14.08.2007

Anke Wassmund