

Aus der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie
des CharitéCentrums 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Der Einfluss der Oktakalziumphosphatsättigung
experimenteller Speichelersatzmittel auf bovinen Schmelz
*in vitro***

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von
Zahnärztin Sara Nasiri
aus Berlin

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. H. Meyer-Lückel
2. Prof. Dr. R. J. Radlanski
3. Priv.-Doz. Dr. R. Haak

Datum der Promotion: 19.11.2010

Anzeige einer Publikation

Originalarbeit

Meyer-Lückel, H., Colfen, H., Verch, A., Tschoppe, P.:

Effects of carboxymethylcellulose-based saliva substitutes with varying degrees of saturation with respect to calcium phosphates on artificial enamel lesions.

Caries Res 2010;44:127-134: Impact Factor 1,993

Abstract

Meyer-Lückel, H., Tschoppe, P.:

Einfluss der Oktakalziumphosphatsättigung experimenteller Speichelersatzlösungen auf Schmelz *in vitro*.

Autoreferate-Band 22. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Zahnerhaltung, ISBN 978-3-86611-406-7, S. 48 (Autoreferat Nr. 24), 2008

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
2	Literaturübersicht	7
2.1	Zahnschmelz	8
2.1.1	Chemische Zusammensetzung	8
2.1.2	Boviner Zahnschmelz im Vergleich zu humanem Zahnschmelz	8
2.1.3	Entstehung einer initialen Schmelzkaries	9
2.1.4	Aufbau einer Schmelzkaries	9
2.1.5	Remineralisation einer Schmelzkaries	10
2.2	Der Speichel - seine Zusammensetzung und Funktion	10
2.3	Die Xerostomie und ihre Ursachen	12
2.4	Bedeutung der tumortherapeutischen Kopf-Hals-Bestrahlung	14
2.5	Folgen der Xerostomie	15
2.6	Diagnose der Xerostomie	17
2.7	Therapiemöglichkeiten der Xerostomie	18
2.8	Therapie mit Speichelersatzmitteln	20
2.8.1	Zum rheologischen Verhalten von Speichelersatzmitteln	21
2.8.2	Die Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen	22
3	Ziel der Arbeit	25
4	Material und Methoden	26
4.1	Herstellung der Schmelzproben	26
4.2	Demineralisation der Proben	27
4.3	Herstellung der Lösungen	28
4.3.1	Gruppeneinteilung	29
4.3.2	Berechnung der Sättigungsgrades	30
4.3.3	Messung von Kalzium und Fluorid	30
4.4	Durchführen des Versuches	31
4.5	Oberflächenspannung	32
4.6	Kontaktwinkelbestimmung	33
4.7	Viskositätsbestimmung	34
4.8	Vorbereitung der Proben für die Mikroradiografie	35
4.9	Die Transversale Mikroradiografie (TMR)	36

4.9.1	Herstellen der Mikroradiogramme	37
4.9.2	Statistische Auswertung	38
5	Ergebnisse	40
5.1	Quantitative Auswertung	40
5.1.1	Auswertung der Mineralverluste der Leinsamengruppen.....	40
5.1.2	Auswertung der Läsionstiefe der Leinsamengruppen	42
5.1.3	Auswertung der Mineralverluste der CMC- und Kontrollgruppen	43
5.1.4	Auswertung der Läsionstiefen der CMC- und Kontrollgruppen.....	46
5.2	Ergebnisse der physikalischen Parameter	48
5.3	Ergebnisse der Kalzium- und Fluoridmessung	50
5.4	Qualitative Auswertung.....	52
6	Diskussion	57
6.1	Diskussion von Material und Methode	57
6.1.1	Bovine Schmelzproben	57
6.1.2	Vorbereitung der Schmelzproben.....	57
6.1.3	Zusammensetzung und der pH-Wert der Lösungen	58
6.1.4	Durchführen des Versuches.....	59
6.2	Diskussion der Ergebnisse.....	60
7	Schlussfolgerungen.....	64
8	Zusammenfassung	65
9	Abstract.....	66
10	Literaturverzeichnis	67
11	Anhang.....	75
11.1	Materialliste	75
11.2	Abkürzungsverzeichnis	78
11.3	Danksagung	80
11.4	Lebenslauf.....	81
11.5	Eidesstattliche Erklärung.....	82

1 Einleitung

Die Hyposalivation ist eine Nebenwirkung nach Radiatio im Kopf-Hals-Bereich und geht häufig mit erheblicher Einschränkung der Lebensqualität der Patienten einher. Die Hyposalivation wirkt als Kofaktor bei der Entstehung der radiogenen Karies, welche für die schnelle Zerstörung der Zahnhartsubstanzen verantwortlich gemacht wird [Willich *et al.* 1988; Kielbassa *et al.* 2006]. Deshalb ist für Patienten nach Radiatio die Anwendung präventiver Maßnahmen, wie eine optimale Mundhygiene sowie die unterstützende Fluoridierung unerlässlich. Im Allgemeinen weist die Mehrheit der Patienten nach einer Strahlentherapie jedoch eine schlechte Compliance gegenüber fluoridhaltigen Gelen und Mundspüllösungen auf [Carl 1993; Epstein *et al.* 1996]. Zur symptomatischen Linderung der Mundtrockenheit stehen Speichelersatzmittel zur Verfügung. Ein Speichelersatzmittel sollte zum einen die subjektive Mundtrockenheit der Patienten durch gute viskoelastischen Eigenschaften effektiv und langandauernd lindern und zum anderen durch die Zusammensetzung die Remineralisation der Zahnhartsubstanzen fördern. Speichelersatzmittel enthalten als Basis meist ein Polymer wie z. B. Carboxymethylcellulose (CMC), Muzin oder Leinsamen. Durch die Zugabe von Kalzium- und Phosphationen zu den Basisstoffen konnten die remineralisierenden Eigenschaften der Speichelersatzmittel verbessert werden [Vissink *et al.* 1984; Vissink *et al.* 1985]. Jedoch können Interaktionen der Polymere der Basisstoffe mit Kalzium und Phosphat auftreten, wodurch die remineralisierenden Eigenschaften dieser Lösungen reduziert werden können. Für eine Remineralisation sind adäquate Sättigungen bezüglich relevanter Kalzium- und Phosphatsalze notwendig [Chow 2001]. In einer vergangenen In-vitro-Untersuchung mit hoch viskösen CMC-Lösungen führte das Mittel mit der höchsten Sättigung bezüglich Oktakalziumphosphat (S_{OKP} 3) zu einer Remineralisation von bovinem Schmelz [Meyer-Lueckel *et al.* 2007]. Eine übersättigte Lösung hinsichtlich Oktakalziumphosphat scheint demnach als Speichelersatzlösung optimal geeignet zu sein. Es blieb jedoch unklar, ob niedrig visköse Speichelersatzmittel ebenfalls remineralisierende Eigenschaften aufweisen und ob eine Erhöhung der Sättigung von Oktakalziumphosphat zu einer ausgeprägteren Remineralisation führt. Das Ziel der vorliegenden Studie war daher, dass Remineralisationspotenzial verschiedener Basislösungen (CMC, Muzin und Leinsamen) mit unterschiedlichen Sättigungen bezüglich Oktakalziumphosphat (S_{OKP} : 0-8) und Dikalziumphosphatdihydrat (S_{DKPD} : 0-5,2) anhand von demineralisierten, bovinen Schmelz *in vitro* zu untersuchen.

2 Literaturübersicht

2.1 Zahnschmelz

2.1.1 Chemische Zusammensetzung

Der Zahnschmelz besteht zu 95 % aus anorganischer Substanz, 4 % aus Wasser und zu 1 % aus organischer Matrix [Schroeder 1992]. Den Hauptbestandteil der anorganischen Substanz bildet Hydroxylapatit, welches durch Einschlüsse von Karbonat, Fluorid, Natrium und anderen Ionen nicht als stöchiometrisch reines Material angesehen werden darf [Ten Cate *et al.* 2008]. Hydroxylapatit wird durch Kalzium und Phosphat gebildet, welche in einem Verhältnis zwischen 1,8 und 2,4 in Form kleiner Kristalle vorliegen. Durch interne Substitutionsreaktionen kann Fluorapatit oder fluoridiertes Apatit gebildet werden, dessen Kristallstrukturen stabiler als die von reinem Hydroxylapatit sind. Die organischen Substanzen des Schmelzes sind vorwiegend Proteine (58 %), Lipide (40 %) sowie Spuren von Kohlenhydraten und organischen Säuren [Schroeder 1992; Hellwig *et al.* 2003]. Das im Schmelz vorhandene Wasser ist überwiegend kristallin in der Hydratationsschale der Apatitkristalle gebunden und nur zu 25 % frei verfügbar. Es ist vorwiegend an die anorganische Matrix gebunden [Dibdin 1972].

2.1.2 Boviner Zahnschmelz im Vergleich zu humanem Zahnschmelz

Im Vergleich zu menschlichem Zahnschmelz steht Rinderzahnschmelz in nahezu beliebiger Menge für Versuchszwecke zur Verfügung [Oesterle *et al.* 1998]. Die chemische Zusammensetzung boviner Zahnhartsubstanz entspricht, trotz unterschiedlicher Nahrungszusammensetzung von Rind und Mensch, weitgehend der Menschlichen. Durch die Vergleichbarkeit von Rinder- und Humanzahnhartsubstanz eignet sich der bovine Zahnschmelz somit besonders gut für Versuche [Esser *et al.* 1998]. Boviner Schmelz weist eine ähnliche Mikrostruktur wie menschlicher Zahnschmelz auf [Oesterle *et al.* 1998]. Da die Zahnhartsubstanzen der Rinder relativ gleich bleibenden äußeren Einflüssen sowie einer homogenen Nahrung unterliegen, kann weiterhin von einer uniformen Reaktionsfähigkeit ausgegangen werden. Einschränkend ist zu sagen, dass die Fluoridkonzentration von ca. 200 ppm bei bovinem Zahnmaterial deutlich geringer ist als die menschlicher Zähne (ca. 1300 ppm) [Mellberg und Loertscher 1974]. Dabei ist

boviner Zahnschmelz geringfügig weicher [Arends und Jongebloed 1978] und poröser als humaner Zahnschmelz, was zu einer höheren Diffusionsrate und einer schnelleren Ausbildung kariöser Läsionen führen kann [Featherstone und Mellberg 1981].

2.1.3 Entstehung einer initialen Schmelzkaries

In der Mundhöhle ist die Zahnhartsubstanz ständigen De- und Remineralisationsprozessen ausgesetzt. Es gilt dabei ein dynamisches Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisation zu erhalten, da es bei Überwiegen der Demineralisation zur Ausbildung einer Karies kommen kann. Die von MILLER im Jahr 1889 begründete und heute im Allgemeinen anerkannte Theorie zur Kariesentstehung beschreibt einen chemoparasitären Prozess, bei dem kariogene Mikroorganismen der Mundhöhle in Form von Plaque beim Zuführen von niedermolekularen Kohlenhydraten durch Verstoffwechslung organische Säuren bilden. Dabei werden unter anderem Laktat, Pyruvat und Butyrat gebildet, welche den pH-Wert unter den für Schmelz kritischen Wert von 5,2-5,8 senken können und somit ein Herauslösen von Kalzium und Phosphat aus den Schmelzkristallen bewirken [Leonard *et al.* 1994].

2.1.4 Aufbau einer Schmelzkaries

Klinisch erscheint die initiale Schmelzkaries als weißlich-opake Veränderung (white spot), wobei die Oberfläche zwar aufgeraut, jedoch noch intakt erscheint. Das kreidige Erscheinungsbild ist bedingt durch eine veränderte Lichtbrechung des kariogen angegriffenen Zahnschmelzes [Kidd und Mejare 2008]. Bei der Untersuchung kariöser Schmelzdünnschliffe mit dem Licht- bzw. Polarisationsmikroskop kann man von der Schmelzoberfläche in Richtung Schmelz-Dentin-Grenze die pseudointakte Oberfläche, den Läsionskörper, die dunkle Zone und die transluzente Zone erkennen. Gesunder Zahnschmelz hat ein Porenvolumen von 0,1 % [Hellwig *et al.* 2003]. Die pseudointakte Oberflächenschicht dagegen ist durch ein Porenvolumen von weniger als 5 % und einem Mineralverlust von 1-10 % gekennzeichnet. Der anschließende Läsionskörper ist die Zone mit dem größten Mineralverlust (Porenvolumen zwischen 5-25 %). In seine vergrößerten Poren können Speichelbestandteile wie Wasser und Proteine eindringen. Es folgt die

dunkle Zone mit einem Porenvolumen von 2-4 % und die an das Dentin anschließende transluzente Zone mit einem Porenvolumen von 1 %.

2.1.5 Remineralisation einer Schmelzkaries

Die Speichelmenge und -zusammensetzung sowie eine optimale Mundhygiene und die lokale Fluoridierung spielen bei der Remineralisation einer initialen Schmelzkaries eine bedeutende Rolle. Der Remineralisationsprozess verläuft in der Regel sehr langsam ab, so dass sich die Mineralien in die Schmelzkristalle einbauen können [Arends und Schuthof 1981]. Die Kristallite sind dadurch größer, dichter gepackt und bewirken eine Verringerung der Läsion. Jedoch wird bei Mineralverlusten von mehr als 30 % im Zentrum der Läsion angenommen, dass in dieser selbst keine vollständige Remineralisation mehr stattfindet, sondern nur noch oberflächlich Mineralien und Fluorid aufgenommen werden. Es kann somit zu einer Verbreiterung der oberflächlichen Schicht kommen und ein Defekt in der Tiefe der Läsion zurückbleiben [Silverstone 1984]. Bei Anwesenheit von Fluorid kann es durch die umgekehrte Ionenbewegung bei Neutralisation des sauren pH-Wertes nach einer Demineralisation zur Entstehung des stabileren Fluorapatits kommen. Darüber hinaus ist bekannt, dass Läsionen mit niedrigem Mineralgehalt aufgrund eines erhöhten Konzentrationsgradienten für Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen zwischen Speichel und Zahnschmelz leichter remineralisieren [Fejerskov *et al.* 2008].

2.2 Der Speichel – seine Zusammensetzung und Funktion

Der Speichel wird von den exokrinen Speicheldrüsen der Mundhöhle sezerniert. Unterschieden werden drei große, paarige Drüsen (Glandula parotidea, Glandula submandibularis, Glandula sublingualis) von zahlreichen kleinen Speicheldrüsen, die verstreut in der gesamten Mundhöhle vorkommen. Die großen Speicheldrüsen liegen außerhalb der Mundschleimhaut, entleeren jedoch ihr Sekret durch einen Drüsengang (Ductus) in die Mundhöhle [Samandari und Mai 1995]. Die nervale Versorgung erfolgt aus dem vegetativen Nervensystem, wobei die sympathische Komponente (adrenerge Fasern) die Produktion eines hoch viskösen Speichels und die parasympathische Komponente (cholinerge Fasern) die eines dünnflüssigen Speichels vermittelt. Feingeweblich sind Azini, Tubuli, Schaltstücke, Streifenstücke und Ausführungsgänge die wesentlichen Bestandteile der Speicheldrüsen, wobei die

Azini für die Produktion des Primärspeichels verantwortlich sind. Dieser wird durch Natriumresorption und Abgabe anderer Elemente wie Jod und Kalium durch die Streifenstücke und Sekretion von Bikarbonat in den Ausführungsgängen modifiziert [Grötz 2002]. Chemisch besteht der Speichel aus 99,4 % Wasser. Außerdem enthält er zu 0,5 % lösliche organische Stoffe wie Proteine, Glukose, Harnstoff, Enzyme, Glykoproteine und anorganische Stoffe wie Hydrogenkarbonat, Kalium-, Natrium-, Kalzium-, Chlorid-, Phosphationen. Zusätzlich befinden sich im Speichel etwa 0,1 % unlösliche Bestandteile wie Epithelreste, Mikroorganismen und Speisebestandteile. Die Zusammensetzung des Speichels ist variabel und abhängig von dem Stimulationsgrad, der Stimulationsart und -dauer sowie der Sekretionsrate. Unter physiologischen Bedingungen werden täglich 700 bis 1500 ml Speichel sezerniert [Grötz 2002], wobei die Speichelproduktion erheblichen tageszeitlichen Schwankungen unterliegt. So erzeugen die Speicheldrüsen nachts sehr wenig Sekret. Die maximale Sekretproduktion wird in den Mittags- bis Nachmittagsstunden erreicht [Machtens 1991]. Die Speichelsekretionsrate reicht von 0,1 ml/min in Ruhe auf bis zu 4 ml/min durch Stimulation während der Nahrungsaufnahme [Grötz 2002; Kielbassa 2006]. Unter Ruhebedingungen besteht der Speichel zu etwa 25 % aus dem Sekret der Gll. parotides, zu etwa 70 % aus dem Sekret der Gll. submandibulares und zu 3-4 % aus dem der Gll. sublinguales und der kleinen Speicheldrüsen. Der pH-Wert des Speichels liegt bei Ruhesekretion zwischen 5,5 und 6,5 und steigt bei Stimulation auf 7,7 an. Für die Aufrechterhaltung des pH-Wertes verfügt der Speichel über zwei Puffersysteme, den Bikarbonatpuffer und den Phosphatpuffer. Der Phosphatpuffer ist während der Säurebildungsphasen der Plaque von untergeordneter Bedeutung. Der Bikarbonatpuffer hingegen spielt eine wichtige Rolle während einer kariogenen Attacke, da er in der Lage ist durch die Plaque zu diffundieren und organische Säuren zu neutralisieren [Hellwig *et al.* 2003]. Bikarbonat wird hauptsächlich von den Gll. parotides und den Gll. submandibulares gebildet.

In seiner Gesamtheit stellt der Speichel ein wichtiges natürliches Schutzsystem dar und übt die in Tabelle I dargestellten Funktionen aus.

Tab. I: Wichtige, physiologische Speichelfunktionen nach [Grötz 2002]

antikariogene Wirkung durch	anti-inflammatorische Wirkung durch	unterstützende Wirkung bei der Nahrungsaufnahme durch	sonstige wichtige Funktionen
mechanische Reinigung der Zahnoberflächen	Antikörper (Ig-A) Muzin	Gleitmittelfunktion für Kau- und Schluckakt	Mukosalubrifikation für Phonetik und Sprechen
Remineralisation der Zahnhartsubstanz	Lysozym Laktoferrin	Vorverdauung mittels Amylase	Mukosalubrifikation für Prothesenadaptation
Pufferkapazität und Stabilisierung des pH-Wertes	Neuraminsäurereste der Glykoproteine	Unterstützung der Geschmacksperzeption	
Beschichtung der Zahnoberfläche	Laktoperoxidase		
antibakterielle Effekte kariogener Erreger			

2.3 Die Xerostomie und ihre Ursachen

Versiegt der Speichelfluss, so bezeichnet man die subjektiv empfundene Trockenheit der Mundhöhle und der Lippen als Xerostomie. Dabei reduziert sich der Ruhespeichelfluss auf $< 0,1$ ml/min und der stimulierter Speichelfluss auf $< 0,5$ ml/min [Stratmann und Mokryš 2000a].

Ein reduzierter Speichelfluss kann ein Indikator für eine systemische Erkrankung (z. B. Sjögren-Syndrom) oder einer exokrinen Drüsendysfunktion (z. B. Sialolithiasis) sein. Imfeld [Imfeld 1984a] teilt den verminderten Speichelfluss in funktionell (quantitativ) (Tab. II) und organisch (quantitativ und qualitativ) (Tab. III) ein.

Tab. II: Funktionelle Salivationsverminderungen [Imfeld 1984a]

Funktionelle Salivationsverminderungen:	
1.	Sialadenosen neurogen, endokrin, metabolisch-dystrophisch
2.	Pharmakogene Salivationsverminderung Wirkung über ZNS (Euphorika, Psychopharmaka) Ganglienblocker (Nikotin) Sympatholytika (Phentolamin, Antihypertensiva) Parasympatholytika (Atropin, Scopolamin, Phentotiazin)
3.	Emotionale und psychogene Xerostomie Stress, Depressionen, Angstzustände, Psychosen
4.	Unkonditionierte Reflexe Vagusverletzungen, Beeinträchtigung der Kaufunktion, Beeinträchtigung der Geschmacksperzeption
5.	Mechanische Abflussbehinderung Sialolithiasis
6.	Operative Speicheldrüsenentfernung Neck dissection

Die medikamentös induzierte Hyposalivation ist in den Industrienationen und bei der Alterspopulation jenseits der vierten Lebensdekade die häufigste Form der Salivationsverminderung, ist aber in den meisten Fällen nach Absetzen des Medikamentes reversibel [Stratmann und Mokrys 2000a]. Betroffen sind einer Studie zufolge vor allem Frauen ab dem 65. Lebensjahr, von denen 12 % mindestens zehn Medikamente regelmäßig einnehmen [Kaufmann *et al.* 2002]. Sreebny und Schwartz beschrieben mehr als 400 verschiedene Medikamente mit möglichen xerogenen Nebenwirkungen, wobei die Anticholinergika (periphere Wirkung) und die trizyklischen Antidepressiva (zentrale Wirkung) die stärkste xerogene Wirkung entfalten [Sreebny und Schwartz 1986]. Die Xerogenität des jeweiligen Wirkstoffes ist nicht zuletzt abhängig von der applizierten Tagesdosis und seinem pharmakologischen Wirkungsmechanismus.

Demgegenüber steht die organische Hyposalivation, die sowohl eine quantitative als auch qualitative Veränderung des Speichels verursacht (Tab. III).

Tab. III: Organische Salivationsverminderungen [Imfeld 1984a]

Organische Salivationsverminderungen:	
1.	Radioxerostomie
2.	Sjögren-Syndrom
3.	Sialadenitis
4.	Speicheldrüsen-Tumore
5.	Aplasie der Speicheldrüsen

Bei dem Sjögren-Syndrom handelt es sich um eine Autoimmunerkrankung, die mit der Symptom-Trias Xerostomie, Arthritis und Keratokonjunktivitis einhergeht. Hierbei ist vor allem das Gewebe der Gll. parotides durch lymphoepitheliale Zellproliferation, Degeneration der Azinuszellen und Metaplasien des Ausführungsganges betroffen [Stratmann und Mokrys 2000a]. Für eine entzündliche Erkrankung der Speicheldrüsen kann eine Vielzahl unterschiedlicher Erreger verantwortlich sein. Bei den akuten Sialadenitiden tritt ein verminderter Speichelfluss als begleitendes, reversibles Symptom ohne weitergehende Bedeutung auf [Grötz 2002].

Eine Aplasie der Speicheldrüsen stellt eine Rarität dar und hat deshalb für das Leitsymptom Xerostomie fast keine klinische Bedeutung [Grötz 2002].

2.4 Bedeutung der tumortheraeutischen Kopf-Hals-Bestrahlung

In Deutschland erkranken jährlich mehr als 400 000 Menschen an einem Malignom [RKI 2006]. Der Anteil der malignen Tumoren der Mundhöhle und des Rachen beläuft sich auf etwa 5000 Neuerkrankungen pro Jahr. Die steigende Zahl der Neuerkrankungen wird nicht allein auf den wachsenden Altersdurchschnitt der deutschen Bevölkerung zurückgeführt, sondern ist ebenso Folge verbesserter diagnostischer Methoden [Barasch und Coke 2007].

Die Radiatio der Malignome im Mund-Kiefer-Gesichtsbereich hinterlässt bei den Patienten in Abhängigkeit von der Strahlendosis und vom Herdvolumen meist ausgeprägte und irreversible Nebenwirkungen. Diese werden in frühe und späte Strahlenfolgen eingeteilt. Hierbei haben die radiogene Mukositis als frühe Strahlenfolge und die Radioxerostomie als häufig chronisch, persistierende sowie die Strahlenkaries und das Risiko der infizierten Osteoradionekrose als späte Strahlenfolgen eine wichtige Bedeutung. Da die 5-Jahres-Überlebensrate für früh erkannte orale Malignome dank unterschiedlicher Therapien deutlich gestiegen ist,

werden die Spätfolgen einer Bestrahlung immer bedeutsamer. Bei Patienten mit einem Tumor im Kopf-Hals-Bereich tritt die Radioxerostomie nach strahlentherapeutischer Behandlung mit einer Prävalenz zwischen 94 und 100 % auf [Sciubba und Goldenberg 2006]. Speicheldrüsengewebe hat bei Bestrahlung des ganzen Organs eine Toleranzdosis (TD) 100/5 von 50 Gray [Seegenschmied *et al.* 2000]. Dabei bezeichnet die TD 100/5 diejenige Strahlendosis, die mit einer Wahrscheinlichkeit von 100 % innerhalb von fünf Jahren eine klinisch relevante, eindeutig definierte Strahlenfolge hervorruft [Dörr und Riesenbeck 2000]. Ab einer kritischen Grenzdosis von 30 Gray, welche unter modernen Therapien stets erreicht wird, sind die Schädigungen der großen Speicheldrüsen so ausgedehnt, dass die Speichelproduktion um etwa 50 % sinkt [Chambers *et al.* 2004]. Die Bestrahlung führt anfänglich zu einer Permeabilitätssteigerung der Endothelzellen in den periduktalen Kapillaren der Speicheldrüse mit der Folge der Ödembildung [Maier *et al.* 1990]. Durch die resultierende Kompression der kleinen Speicheldrüsenausführungsgänge kommt es zur fortschreitenden Obstruktion. Die Folge ist die Destruktion des Gangepithels und ein fibrotischer Umbau des Drüsengewebes, so dass nur minimale Mengen an Speichel produziert werden können. Die seröse Glandula parotis ist am stärksten betroffen, da sich die serösen Drüsenazini als außerordentlich strahlensensibel erweisen. Bei höheren Strahlendosen zeigen sich dann ebenfalls Veränderungen an den mukösen Drüsenendstücken und am Gangsystem. Die physiologische Speichelfliessrate sinkt von 1-3 ml/min auf unter 0,5 ml/min und kann unter Umständen bis auf 10 % des Wertes vor Behandlungsbeginn abfallen [Kielbassa *et al.* 2006]. Der Speichel verändert sich zudem qualitativ und wird zu einem zähfließenden, weiß, gelb oder braunen Sekret mit verminderter Pufferkapazität und veränderter Elektrolytzusammensetzung [Ben-Aryeh *et al.* 1975; Dreizen *et al.* 1976].

2.5 Folgen der Xerostomie

Xerostomiepatienten leiden fortwährend unter einer erheblichen Einschränkung des Lebensgefühls. Die daraus entstehenden Folgen können differenziert werden in Primär- und Sekundärfolgen [Imfeld 1984b]. Die Primärfolgen beschreiben die matten, atrophischen und hypersensiblen Veränderungen der Mundschleimhaut und Zunge. Sekundär kommt es zu Kaubeschwerden vor allem beim Verzehr von trockener Nahrung, Schluckbeschwerden beim Leerschlucken, Sprachstörungen

durch Adhäsion der Schleimhäute, Abweichungen in der Geschmacksperzeption, erhöhtes Durstgefühl, Verdauungsproblemen sowie Brennen im Mundbereich und Unverträglichkeit der Prothesen mit schmerzhaften Druckstellen [Stratmann und Mokrys 2000a]. Neben dem quantitativen Umschlag des Speichels führt die qualitative Änderung des Speichels, besonders nach einer tumortherapeutischen Bestrahlung, zu einer erhöhten Kariesinzidenz bedingt durch eine Veränderung der Mundhöhlenökologie [Kielbassa *et al.* 2006]. Der Verlust der Selbstreinigung der Mundhöhle und des antikörpervermittelten Immunsystems führen zu einer Zunahme von kariogenen Mikroorganismen wie *Streptokokkus mutans* und *Laktobazillen* [Keene *et al.* 1981; Epstein *et al.* 1998]. Der pH-Wert des Speichels sinkt nach einer Bestrahlung von 7,0 auf 5,0, welcher eine Demineralisation begünstigt und kariogen wirkt [Kielbassa *et al.* 2006]. Die verminderte Pufferkapazität und der niedrige pH-Wert des Speichels verlagern das Gleichgewicht zwischen Remineralisation und Demineralisation zu Gunsten einer verstärkten Demineralisation. Es kommt zu einem gesteigerten Mineralverlust der Zahnhartsubstanzen. Bei dieser so genannten *radiogenen Karies* kommt dem verminderten Speichelfluss und der veränderten Speichelzusammensetzung eine zentrale Rolle zu [Vissink *et al.* 2003]. Darüber hinaus sind noch andere Faktoren bei der Kariesentstehung in Folge einer ausgeprägten Xerostomie von Bedeutung. So stellen Patienten mit einem verminderten Speichelfluss oft ihre Nahrung auf eher weiche Kost um, mit dem Nachteil, dass diese stärker an der Zahnoberfläche haftet. Ein häufig beobachteter Kariestyp nach einer Bestrahlung beginnt unvermittelt zunächst mit Läsionen zervikal und auf den Labialflächen der Front- und Eckzähne. Es kommt zu einer Erweichung des Dentins, wodurch Schmelzbereiche leichter abplatzen können. Weitere Formen einer Strahlenkaries sind beobachtet worden, so ist ein zweiter Läsionstyp durch generalisierte superfizielle Defekte gekennzeichnet, die die Glattflächen aller Zahnkronen befällt. Hiervon sind auch die Glattflächen der Unterkieferfrontzähne betroffen, welche gemeinhin bei gesunden Patienten mit einer mäßigen Mundhygiene wegen der Selbstreinigungskräfte des Speichels relativ kariesresistent sind [Frank *et al.* 1965]. Die Region unterhalb des approximalen Kontaktpunktes ist bei bestrahlten Patienten oft die zuletzt betroffene. Sämtliche Kariesformen können an verschiedenen Zähnen gleichzeitig beobachtet werden [Vissink *et al.* 2003]. Die Folge sind Veränderungen in der Transluzenz und der Farbe und eine erhöhte Bruchanfälligkeit bis hin zu Spontanfrakturen [Kielbassa *et al.* 2006]. Daneben führt eine schnellere Abrasion der Kauflächen und der Inzisalkanten zur Freilegung des

erweichten Dentins. Neben der erhöhten Kariesinzidenz aufgrund der quantitativen und qualitativen Veränderungen des Speichels, weisen einige Studien auch auf eine direkte Schädigung der Zahnhartsubstanz nach einer Bestrahlung hin [Kielbassa *et al.* 2006]. Tabelle IV fasst die Veränderungen der Zahnhartsubstanzen nach einer Bestrahlung zusammen

Tab. IV: Auswirkungen einer Bestrahlung auf Zahnhartsubstanzen [Pioch 2004]

Generalisierte oberflächliche Defekte in Form von kreidigen Verfärbungen bis hin zur Fraktur und vollständigen Ablösung des Schmelzes.
Braun-schwarze Verfärbungen, z. T. bis auf die gesamte Zahnoberfläche ausweitend, mit späterem Zerschneiden des Schmelzmantels bei Druck.
Allmähliches „Wegschmelzen“ der Schneidekanten und der Okklusionsflächen.
Oberflächliche Zerstörung der Zahnhäse mit Ausdehnung auf die Glattflächen bis zum vollständigen zirkulären Schwund des Zahnschmelzes im Niveau der Gingiva.

Neben der Zunahme von kariogenen Bakterien kommt es auch zum vermehrten Auftreten von *Candida albicans* in der Mundhöhle. Fast ein Drittel aller Xerostomie-Patienten entwickeln eine Candidiasis. Zusätzlich verhindert der verminderte Speichelfluss den Transport von Geschmacksstimulanzien sowie die Erregbarkeit der Geschmacksknospen bis hin zu deren Zerstörung, so dass es zu einem teilweisen (Hypogeusie) oder vollständigen Verlust der Geschmacksperzeption (Ageusie) kommen kann. Nach einer Strahlentherapie regenerieren jedoch teilweise die Zellen innerhalb von vier Monaten [Bornstein 2001].

2.6 Diagnose der Xerostomie

Bei Patienten mit einer manifesten Xerostomie ist eine ausführliche Anamnese von großer Bedeutung, da sich daraus Hinweise auf die Ätiologie ableiten lassen. Mit Hilfe der Sialometrie, welches das einzige objektive Verfahren zum Nachweis einer bestehenden Hyposalivation ist, lässt sich die Speichelfließrate bestimmen [Stratmann und Mokrys 2000b]. Die Bestimmung sollte zur jeweils selben Tageszeit – zwischen 9 und 11 Uhr vormittags – erfolgen. Die Patienten sollten 90 Minuten vor dem Test keine Nahrung oder Flüssigkeit zu sich genommen und keinen Tabak konsumiert haben. Der Ruhespeichel wird in der Regel über einen Zeitraum von 15 Minuten bestimmt, während die Messung des stimulierten Speichelflusses über 5 Minuten verläuft [Kielbassa 2006]. Die Bestimmung des Ruhespeichels erfolgt ohne

jegliche Reize in einer ruhigen, entspannten Atmosphäre. Dabei lässt der Patient mit leicht geneigtem Kopf nach einem letzten Schlucken den produzierten Speichel in einen Becher tropfen, dessen Inhalt nach 15 Minuten gewogen wird. Die Bestimmung erfolgt nach Subtraktion des Leergewichtes des Bechers in der Einheit g/min, was nahezu der Einheit ml/min entspricht. Die Bestimmung des stimulierten Speichels erfolgt im Anschluss. Hierbei kaut der Patient für 5 Minuten auf einem Stück Paraffin (geschmackloses Kaumaterial) und gibt den gesammelten Speichel alle 30 Sekunden in einen Becher. Die Berechnung des stimulierten Speichels erfolgt analog der Bestimmung des Ruhespeichels. Anhand der in Tabelle V beschriebenen Referenzwerte lässt sich der gemessene Wert des Patienten vergleichen und gibt Rückschluss auf eine bestehende Hyposalivation. Einer Studie zufolge scheint die Benetzung der oralen Mukosa bei einer bestehenden Hyposalivation jedoch gleich zu bleiben [Wolff & Kleinberg 1999]. Hiernach unterliegt der dorsale Zungenrücken der höchsten und der harte Gaumen der niedrigsten Anfeuchtung durch den Speichel.

Tab. V: Referenzbereiche von Ruhespeichel und Reizspeichel sowie entsprechende Abweichungen [Goode und Smith 1970; Chiappin *et al.* 2007]

	Ruhespeichel	Stimulierter Speichel
Hypersalivation	> 1 ml/min	> 3,5 ml/min
Normosalivation	0,1-1 ml/min	0,5-3,5 ml/min
Hyposalivation	< 0,1 ml/min	< 0,5 ml/min

2.7 Therapiemöglichkeiten der Xerostomie

Bei den Behandlungskonzepten für Patienten mit persistierender Xerostomie kann zwischen einer kausalen und einer symptomatischen Therapie unterschieden werden [Stratmann und Mokrys 2000b]. Die kausale Therapie umfasst, wenn möglich, die Ausschaltung ätiologischer Faktoren wie z. B. den Ersatz eines xerogenes Medikamentes durch ein alternatives, nicht-xerogenes Medikament. Darüber hinaus gibt es die Möglichkeit im Vorfeld der tumortherapeutischen Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich die Patienten prophylaktisch mit Medikamenten wie dem organischen Thiophosphat Amifostin[®] zu behandeln, welches das Drüsenparenchym vor Fibrosierung schützen soll [Schonekas *et al.* 1999]. Die Wirkung konnte allerdings bislang noch nicht eindeutig belegt werden [Wasserman *et al.* 2005]. Die

Therapiemöglichkeiten einer manifesten Xerostomie beschränken sich jedoch zumeist auf die symptomatische Behandlung der Patienten mit dem Ziel der Linderung der Mundtrockenheit. Bei dieser Therapieform muss grundsätzlich zwischen Patienten mit einer Restaktivität der Speicheldrüsen und Patienten mit einer irreversiblen Schädigung des Speicheldrüsengewebes unterschieden werden. Sind die Speicheldrüsen noch in der Lage, wenn auch stark vermindert, Sekret zu produzieren, sollte eine Stimulierung der Speicheldrüsen im Vordergrund stehen. Hierzu gehören systemische bzw. gustatorisch-mechanische Stimulantien wie Kaugummis, saure Lutschbonbons und saure Getränke [Imfeld 1984b; Sreebny 1989; Guchelaar *et al.* 1997]. Manche dieser speichelanregenden Substanzen können nicht empfohlen werden, da sie durch ihre Säure bei bezahnten Patienten zu Erosionen und Demineralisationen an den Zähnen und bei Unbezahnten zu Schmerzen an der Mundschleimhaut führen können [Van der Reijden *et al.* 1999]. Eine weitere Therapie bei vorhandener Restaktivität der Speicheldrüsen stellt die Gabe von systemisch wirkenden, den Speichelfluss stimulierenden Medikamenten, wie Pilocarpin und Cevimeline dar [Atkinson *et al.* 2005]. Pilocarpinhydrochlorid ist ein Parasympathomimetikum mit direkter Stimulierung der muskarinergen Rezeptoren der parasympathisch innervierten exokrinen Drüsen. Der systemische Einsatz beider Substanzen ist durch die parasympathischen Nebenwirkungen (Bronchokonstriktion, Bradykardie, Übelkeit etc.) und die Kontraindikationen (Myokardinfarkt, Magengeschwür, Asthma bronchiale etc.) nur begrenzt möglich. Therapiemöglichkeiten der Xerostomie durch intraorale [Strietzel *et al.* 2007] bzw. extraorale [Domingo 2004] elektrische Stimulierung der Speicheldrüsen bedürfen weiterer klinischer Untersuchungen.

Nach heutigem Kenntnisstand beschränkt sich die Therapie der Mundtrockenheit auf die symptomatische Erleichterung durch den Einsatz von Mundspüllösungen und Speichelersatzmitteln. Zur Linderung der Mundtrockenheit greifen aufgrund der einfachen Handhabung viele Patienten aber auch auf Wasser zurück. Das Spülen mit Wasser mehrmals am Tag bewirkt eine Anfeuchtung der Mundschleimhaut und reinigt die Zähne von Speiseresten. Darüber hinaus hilft Wasser während der Nahrungsaufnahme besonders beim Schlucken und bei der Geschmacksempfindung. Da häufig ältere Patienten an einer Xerostomie und zusätzlich an einer mangelnden Flüssigkeitszufuhr leiden, verhindert das Trinken von Wasser ferner eine mögliche Dehydratation [Atkinson *et al.* 2005]. Neben Wasser wurden in vielen Studien auch reizlose Mundwasser und verschiedene Öle zur

Linderung der Mundtrockenheit empfohlen [Imfeld 1984b]. Ferner wurden Mundspüllösungen mit Fluoriden, fluoridhaltiges Mineralwasser, einige Teesorten und Milch wegen ihrer kariesprotektiven Wirkung befürwortet. Allen gemeinsam ist, dass sie aufgrund ihrer geringen Substantivität die Mundschleimhaut nicht ausreichend benetzen und damit die Symptome nur unzureichend lindern. Außerdem sollten die Substanzen nach Möglichkeit kein Koffein, Alkohol, Zucker und titrierbaren Säuren enthalten, da sie zum einen die Mukosa irritieren und zum anderen durch den niedrigen pH-Wert zumindest *in vitro* die Zahnhartsubstanzen schädigen [Kielbassa und Meyer-Lueckel 2001; Meyer-Lueckel und Kielbassa 2002].

2.8 Therapie mit Speichelersatzmitteln

Seit ungefähr vier Jahrzehnten werden Speichelersatzmittel zur Linderung der Symptome bestehender Xerostomie eingesetzt [Van der Reijden *et al.* 1999]. In der Vergangenheit wurden Speichelersatzmittel auf der Basis von Carboxymethylcellulose (CMC), Natrium-Carboxymethylcellulose (Na-CMC), Carboxyethylcellulose (CEC), Sorbitol, Hydroxyethylcellulose (HEC), tierischem Muzin, Leinsamenöl und -extrakten sowie Polyethylenoxid (POE) entwickelt. Die Mittel unterschieden sich zudem in Bezug auf anorganische Zusätze, das Vorhandensein von Enzymen und den pH-Wert. Ein Speichelersatzmittel sollte im Allgemeinen die gleichen rheologischen, befeuchtenden und benetzenden Eigenschaften wie der Speichel besitzen [Vissink *et al.* 1986; Hatton *et al.* 1987; Van der Reijden *et al.* 1994] und außerdem ein Remineralisationspotenzial aufweisen. Die Übersättigung des Speichels mit Kalzium und Phosphat ermöglicht eine natürliche Remineralisation initialer Schmelzläsionen. Dabei werden die während der Demineralisation aus der Zahnhartsubstanz in Lösung gegangenen Kalzium- und Phosphationen wieder eingelagert. Darüber hinaus wäre es wünschenswert, wenn die Mittel eine antimikrobielle Wirksamkeit gegen karies- und parodontopathogene Keime besäßen [Imfeld 1984b; Levine *et al.* 1987; Guijarro Guijarro *et al.* 2001]. Ein angenehmer Geschmack und die Fähigkeit die Symptome der Mundtrockenheit langfristig zu lindern verbessert die Akzeptanz eines Speichelersatzmittels bei den Patienten. Die Compliance hängt allerdings nicht zuletzt auch von den Beschaffungskosten und -möglichkeiten ab. Zu beachten ist darüber hinaus, dass die Wirksamkeit der verschiedenen Speichelersatzmittel bei den Patienten zu variieren scheint. Dies wird dadurch deutlich, dass Patienten mit unterschiedlichen

Speichelfließraten Mittel mit verschiedenartigen Basisstoffen bevorzugen [Van der Reijden *et al.* 1996; Momm *et al.* 2005].

2.8.1 Zum rheologischen Verhalten von Speichelersatzmitteln

Da der Effekt der kommerziell erhältlichen Speichelersatzmittel sehr kurzzeitig ist und für den Patienten nur einen begrenzten Nutzen aufweist, sollte die künftige Entwicklung von Speichelersatzmitteln darauf abzielen, die rheologischen Eigenschaften des Speichels besser zu imitieren. Die Bildung eines lang anhaftenden Feuchtigkeitsfilms in der Mundhöhle ist durch die im Speichel enthaltenen Muzine möglich. Diese setzen die Oberflächenspannung des Speichels herab, führen dadurch zu einer ausgeprägten Adhäsion an der Mukosa und an den Zähnen und schützen folglich die Zahnhartsubstanz vor einer Demineralisation durch Säuren [Nieuw Amerongen *et al.* 1987]. Von vielen Autoren werden Speichelersatzstoffe auf Muzinbasis wegen ihrer dem menschlichen Speichel ähnlichen viskoelastischen Eigenschaften favorisiert [Vissink *et al.* 1984; Vissink *et al.* 1986; Hatton *et al.* 1987; Levine *et al.* 1987]. Untersuchungen zeigen, dass das menschliche Speichelmuzin gefolgt vom Magensaftmuzin des Schweines und vom bovinen Submandibulärmuzin die größte Affinität zu Hydroxylapatit aufweisen [Nieuw Amerongen *et al.* 1989]. Im Vergleich zu Speichelersatzmitteln auf CMC-Basis zeigten die Produkte auf Muzinbasis sowohl auf poliertem Schmelz als auch auf der Mundschleimhaut gute befeuchtende Eigenschaften [Vissink *et al.* 1986] und scheinen deshalb die Zahnhartsubstanz ebenfalls vor Attrition zu schützen [Hatton *et al.* 1987]. In einer Studie über die rheologischen Eigenschaften von Speichelersatzmitteln wurden kommerziell erhältliche Produkte auf verschiedener Basis (CMC, Muzin, Leinsamen) mit dem menschlichen Speichel verglichen. Hierbei zeigten die Mittel auf Muzin- und Leinsamenbasis im Gegensatz zu dem Vergleichsprodukt (CMC) eine dem Speichel ähnlich gute Tendenz zur Ausbildung von Filmen an der Grenzschicht zwischen Zahn/Flüssigkeit und Luft/Flüssigkeit. Allerdings bevorzugten Patienten mit einer ausgeprägten Xerostomie in einer klinischen cross-over Studie bezüglich Geschmack und Handhabung ein Speichelersatzmittelspray auf CMC-Basis (Glandosane[®], Cell Pharma, Hannover, Deutschland) gegenüber Vergleichsprodukten auf Muzin, Öl oder Cellulose-Gel [Momm *et al.* 2005]. Der Erfolg von Speichelersatzmitteln scheint von der Fähigkeit abhängig zu sein, einen

Schutzfilm sowohl auf hydrophoben als auch hydrophilen Oberflächen bilden zu können [Christersson *et al.* 2000].

2.8.2 Die Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen

Es ist bekannt, dass zumindest *in vitro* einige kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel einen demineralisierenden Effekt auf die Zahnhartsubstanzen aufweisen [Kielbassa und Shohadai 1999; Kielbassa und Meyer-Lueckel 2001; Kielbassa *et al.* 2001; Smith *et al.* 2001; Meyer-Lueckel *et al.* 2002]. Der natürliche Speichel hingegen besitzt durch die Übersättigung von Kalzium und Phosphat und durch den annähernd neutralen pH-Wert ein Remineralisationspotenzial. Die Zugabe von Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen zu einer Lösung mit saurem pH-Wert kann eine demineralisierende Wirkung durch die Veränderung des Sättigungsgrades bezüglich Oktakalziumphosphat (OKP) und Hydroxylapatit (HAP) reduzieren [Meyer-Lueckel und Kielbassa 2006; Meyer-Lueckel *et al.* 2006].

Das in über 70 % der deutschen Kliniken verbreitete Produkt Glandosane[®] wies aufgrund seines sauren pH-Wertes von 5,3, des geringen Kalzium- und Phosphatgehaltes sowie des Fehlens von Fluorid in vielen Untersuchungen ein stark demineralisierendes Potenzial an Zahnhartsubstanzen auf [Meyer-Lueckel *et al.* 2002; Tschoppe *et al.* 2007]. Das neu auf dem Markt erhältliche Speichelersatzmittel Saliva natura[®] (pH-Wert 5,8) hingegen zeigte ein annähernd neutrales Verhalten gegenüber Schmelzproben, führte jedoch zu einem weiteren Mineralverlust der Dentinproben [Tschoppe *et al.* 2007]. Die Ergebnisse dieser Untersuchung erklären sich unter anderem durch den pH-Wert, denn Saliva natura[®] unterschreitet den kritischen pH-Wert für Dentin, jedoch nicht denjenigen für Schmelz. Der Grad der Sättigung relevanter Kalzium-Phosphat-Salze ist stark vom pH-Wert abhängig ist, so dass ein niedriger pH-Wert die Löslichkeit der Kalzium-Phosphat-Salze erhöht [Larsen 1986].

Das Produkt Oralube[®] (derzeit nur auf dem austral-asiatischen Markt erhältlich) weist einen annähernd neutralen pH-Wert und einen hohen Gehalt an Kalzium- Phosphat- und Fluoridionen auf. Es bewirkte in mehreren In-vitro-Untersuchungen eine Remineralisation von künstlich erzeugten Schmelz- und Dentinläsionen [Kielbassa *et al.* 1999; Kielbassa *et al.* 2001; Meyer-Lueckel *et al.* 2002].

In der Interaktion zwischen Fluorid, Kalzium und Phosphat mit dem Zahnschmelz kann man grundsätzlich mehrere Wirkmechanismen unterscheiden. Das ionisch

gebundene Fluorid führt nach initialer Auflösung des Schmelzminerals zu einer Repräzipitation eines kalziumfluoridhaltigen Niederschlages. Außerdem repräzipitiert fluoridiertes Hydroxylapatit bzw. Fluorapatit an der oberflächlichen Schmelzschicht, welches die Säurelöslichkeit des Schmelzes verringert. Bei kovalent gebundenem Fluorid wird Monofluorophosphat nach Diffusion in den Schmelz gegen Phosphat ausgetauscht. Es kommt zudem durch Speichelenzyme und Säuren zu einer Hydrolyse des Monofluorophosphates, was die Reaktion freier Fluoridionen mit Schmelz bewirkt [Hellwig *et al.* 2003]. Fluorid kann aufgrund seiner hohen Elektronegativität Protonen aus der demineralisierten Zahnhartsubstanz binden und somit die Wiedereinlagerung von Kalzium ermöglichen. Ein Fluoridgehalt von 2 ppm in Speichelersatzmitteln wird als optimal eingeschätzt [Shannon und Edmonds 1978]. Es wurde zudem beobachtet, dass sich während der Remineralisation das stabile Hydroxylapatit (HAP) im Vergleich zum Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD) erheblich langsamer bildet [Brown *et al.* 1962; Johnsson und Nancollas 1992]. Die Formation der Kristallite und die Sättigung der Kalzium- und Phosphat-Salze sind dabei unter anderem sehr stark abhängig vom pH-Wert. Bei einem sauren pH-Wert sinkt die Sättigung der Ionensalze [Larsen und Jensen 1986] und es bilden sich zunächst DKPD und OKP, welche bei einem pH-Wert unter 4 stabiler sind als HAP. Erst ab einem pH-Wert über 4 gewinnt das Hydroxylapatit an Stabilität [Johnsson und Nancollas 1992]. Es wird jedoch vermutet, dass die Polymere der Basisstoffe Leinsamen und Muzin mit den Kalzium- und Phosphationen reagieren und Komplexe mit ihnen bilden [Vissink *et al.* 1985], wodurch das Remineralisationspotenzial der Speichelersatzmittel geschwächt wird [Gelhard *et al.* 1983]. Daher scheint eine übersättigte Lösung hinsichtlich OKP als Speichelersatzlösung optimal geeignet zu sein. Untersuchungen mit hoch viskösen CMC-Lösungen (20 g/l) und einer OKP-Sättigung von 3 führten zu einer Remineralisation von bovinem Schmelz [Meyer-Lueckel *et al.* 2007]. Bei Lösungen auf Leinsamen- und Muzinbasis konnte dieser Effekt ebenfalls an Schmelzproben [Meyer-Lueckel *et al.* 2006; Meyer-Lueckel *et al.* 2006] beobachtet werden. Es blieb bei den Untersuchungen jedoch ungeklärt, ob niedrig visköseren CMC-Lösungen (10 g/l) einen identischen Effekt auf die Schmelzproben ausüben und ob darüber hinaus höhere OKP-Sättigungen zu einer noch stärkeren Remineralisation führen können. Bei bovinen Dentinproben führten die niedrig visköseren CMC-Lösungen mit einer OKP-Sättigung von 2 zu einer Remineralisation. Lösungen mit einer höheren

Sättigung von $S_{OKP\ 4}$ und $S_{OKP\ 8}$ zeigten hingegen neutrale Effekte nach einer Lagerung von zehn Wochen [Tschoppe *et al.* 2008].

Neben der chemischen Zusammensetzung der Speicheleratzmittel können die physikalischen Parameter der Lösungen die Mineralisation ebenfalls beeinflussen [Lyklema 2000]. So wird vermutet, dass eine höhere Viskosität der Speicheleratzlösungen durch längere Austauschvorgänge an der Schmelzoberfläche zu einer stärkeren Demineralisation führt [Vissink *et al.* 1985; Amaechi und Higham 2001].

3 Ziel der Arbeit

Zur symptomatischen Behandlung einer ausgeprägten Xerostomie werden häufig Speichelersatzmittel verabreicht, welche meist das subjektive Wohlbefinden des Patienten verbessern. Aus zahnmedizinischer Sicht ist die Wirkung dieser Speichelersatzmittel auf die Zahnhartsubstanzen von großer Bedeutung. Einige kommerziell erhältlichen Mittel führen zu einer fortschreitenden Demineralisation der Zahnhartsubstanzen. Infolgedessen wäre es wünschenswert, wenn künftige Speichelersatzmittel eine Remineralisation der Zahnhartsubstanz fördern, gute viskoelastische Eigenschaften besitzen und die Symptome der Mundtrockenheit lang andauernd lindern würden.

Das Ziel dieser In-vitro-Studie war es daher, das Remineralisationspotenzial verschiedener Basislösungen (CMC, Muzin und Leinsamen), die sich hinsichtlich ihrer Sättigungen bezüglich Oktakalziumphosphat (S_{OKP}) und Dikalziumphosphatdihydrat (S_{DKPD}) unterschieden, auf demineralisierten, bovinen Schmelz *in vitro* zu untersuchen. Parallel dazu wurden zum Vergleich die handelsüblichen Speichelersatzmittel Glandosane[®] (auf Basis von CMC), Salinum[®] (auf Basis von Leinsamen) und Saliva Orthana[®] (auf Basis von Muzin) getestet. Darüber hinaus wurden die Kalzium- und Fluoridkonzentrationen der einzelnen Lösungen gemessen. Außerdem wurden im Rahmen der vorliegenden Studie sowohl die experimentellen als auch die kommerziellen Speichelersatzmittel bezüglich ihrer physikalischen Parameter wie Viskosität, Oberflächenspannung und Kontaktwinkel untersucht.

Die Studienhypothese besagte, dass verschiedene Speichelersatzmittel (CMC, Leinsamen, Muzin), die sich hinsichtlich ihres Sättigungsgrades bezüglich OKP und DKPD unterscheiden signifikant hinsichtlich ihrer remineralisierenden Eigenschaften auf bovinen Schmelz differieren.

4 Material und Methoden

4.1 Herstellung der Schmelzproben

Für die Untersuchung wurden aus 85 frisch extrahierten Rinderfrontzähnen, welche nach schonungsvoller Säuberung bis zur weiteren Verarbeitung in 0,9 % iger Kochsalzlösung (NaCl-Lösung 0,9 %; Delta Select, Pfullingen, Deutschland) gelagert wurden, insgesamt 340 Schmelzproben hergestellt. Hierzu wurden aus den Labialflächen vier Proben je Zahn in einer Größe von $3 \times 4 \times 2 \text{ mm}^3$ manuell mittels einer diamantierten Trennscheibe (Trennscheibe Hyperflex; Komet, Lemgo, Deutschland) unter Wasserkühlung herauspräpariert. Zur weiteren Verarbeitung wurden jeweils sechs Schmelzproben mit Hilfe einer Silikonform in Kunstharz eingebettet (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Werheim, Deutschland) und deren Oberflächen mit einer Poliermaschine (Poliermaschine Phoenix Alpha; Buehler, Düsseldorf, Deutschland) und Schleifpapier (Körnung 1200, 2500, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland) mit ansteigender Körnung bei einer Umdrehungszahl von 300 U/min plan poliert und zur etablierten Oberfläche parallelisiert. Um eine spätere Kontrolle der gesunden Schmelzoberfläche zu gewährleisten, wurde an der linken Seite jeder Probe ein 2 mm^2 großer Bereich mit säureresistentem Nagellack (L'Oréal, Karlsruhe, Deutschland) abgedeckt (Kontrolle Gesund). Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die hergestellten Schmelzproben in 0,9 % iger Kochsalzlösung (Delta Select) bei 37 °C (CRT Brutschrank Incubat; Melag, Berlin, Deutschland) gelagert.

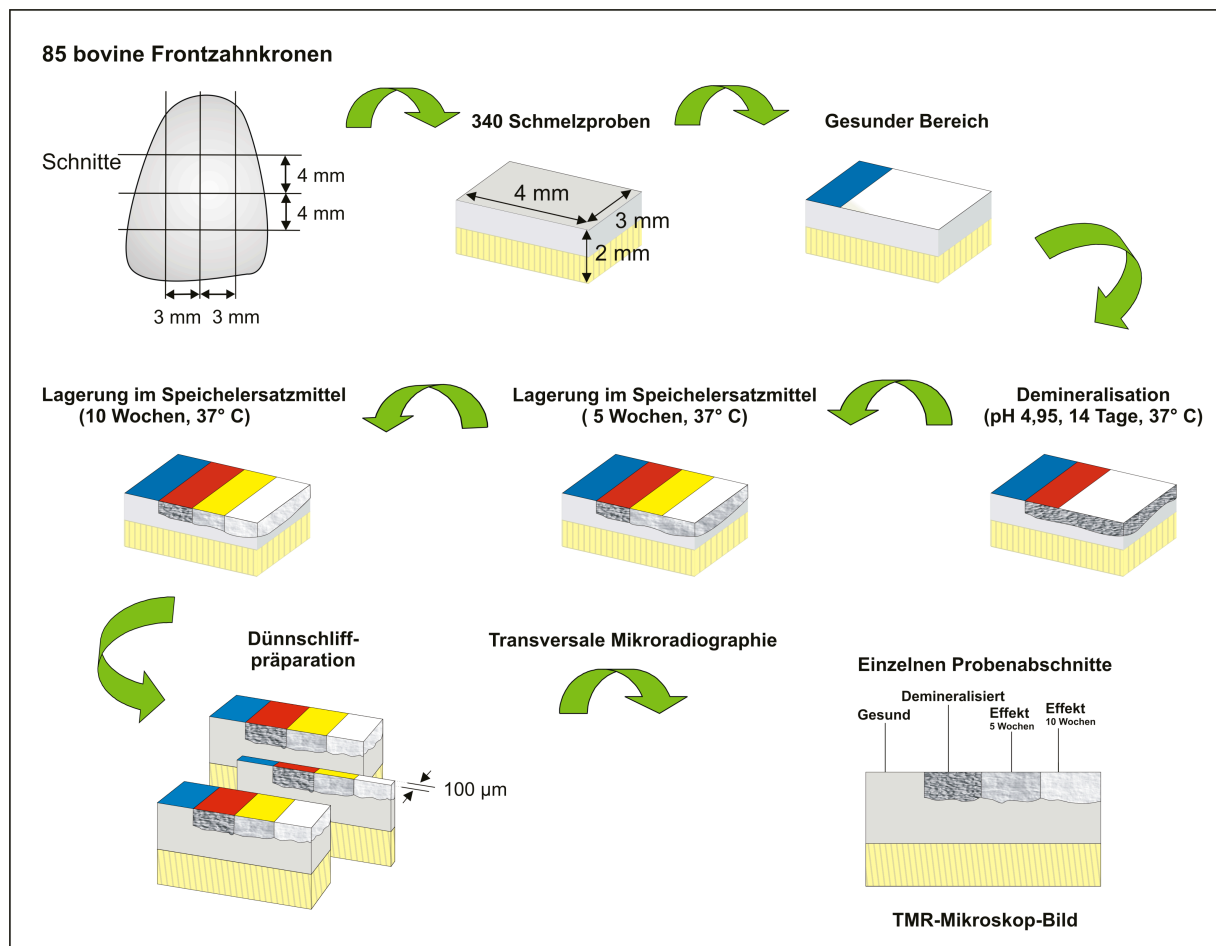


Abb. 1: Schematische Darstellung der Probenherstellung und deren weitere Verarbeitung

4.2 Demineralisation der Proben

Um eine künstliche kariöse Läsion zu erzeugen (Tiefe ca. 100 µm) wurden die Schmelzproben zwei Wochen in einer demineralisierenden Lösung (Tab. VI) bei 37 °C im Wärmeschrank (Melag) bei einem pH-Wert von 4,95 gelagert. Damit ein konstanter pH-Wert zwischen 4,98 und 4,92 erreicht werden konnte, wurde dieser täglich mit einem pH-Meter (pH-Meter GMH 3510; Greisinger, Regenstau, Deutschland) kontrolliert und im Falle einer Abweichung die Lösung durch Zugabe von Salzsäure (10 %; Merck, Darmstadt, Deutschland) bei Erhöhung und Kalziumhydroxid (1 M; Merck) bei Erniedrigung korrigiert. Zur Kalibrierung des pH-Meters wurden spezielle Pufferlösungen (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) mit einem pH-Wert von 4,0 und 7,0 bei einer Genauigkeit von 0,01 verwendet.

Tab. VI: Zusammensetzung der Demineralisationslösung [Buskes *et al.* 1985]

Inhaltsstoff	Menge	Konzentration
Kalziumdichlorid-2-hydrat ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$)	2205 mg	3 mM
Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	2040 mg	3 mM
Milchsäure ($\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$) (90 %)	25 ml	50 mM
Kalilauge (KOH) ad pH 5,0	29 ml	10 M
Methylendiphosphorsäure (MHDP)	5,4 mg	6 μM
Thymol ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$)	in Spuren	
Aqua dest. (H_2O)	ad 5000 ml	

Die Demineralisationstiefe wurde nach zwei Wochen an sechs Proben anhand von Dünnschliffen mit Hilfe der transversalen Mikroradiografie (TMR) kontrolliert.

Zur Kontrolle der Demineralisation wurde erneut ein 2 mm² großer Bereich mit Nagellack abgedeckt (Kontrolle Demin).

4.3 Herstellung der Lösungen

Die Basis der hergestellten Speichelerersatzmittel beruhte auf Leinsamen, Carboxymethylcellulose (CMC) und Magensaftmuzin vom Schwein. Für die CMC-Grundlösung wurde jeweils 10 g CMC (Signum, Steinheim, Deutschland) und für die Muzingrundlösung 30 g Muzin (Signum) in einem Liter destilliertem Wasser mit einem Homogenisator (Ultra-Turrax T25; Janke & Kunkel, IKA[®] Labortechnik, Staufen, Deutschland) zu einer einheitlichen Lösung vermenget.

Um die Leinsamenbasislösung herzustellen, wurden 58 g ganze Leinsamen (Vitalia, Sauerlach, Deutschland) in einem feuerfesten Glasbehälter zusammen mit einem Liter destilliertem Wasser über einer Gasflamme erhitzt und unter ständigem Rühren eine Stunde gekocht. Die erhaltene Leinsamenlösung wurde anschließend mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe (Brand GmbH, Wertheim, Deutschland) von Schalenresten gereinigt.

Tab. VII: Zusammensetzung der experimentellen Speichelersatzmittel

Gruppe	S _{OKP}		CaCl ₂ x 2 H ₂ O [mM]	KH ₂ PO ₄ [mM]
Salinum[®] - S				
	2,7			
L1f	1		0,8	1,25
L0	0		0	0
L0,5	0,5		0,34	0,54
L1	1	58 g/l Leinsamen	0,8	1,25
L2	2		1,8	2,9
L4	4		4,5	7,2
L8	8		12	19,5
Glandosane[®] - G				
	0,3			
C0	0		0	0
C0,5	0,5		0,34	0,54
C1	1	10 g/l CMC	0,8	1,25
C2	2		1,8	2,9
C4	4		4,5	7,2
C8	8		12	19,5
Saliva Orthana[®] SO				
M0	0		0	0
M0,5	0,5		0,34	0,54
M1	1	30 g/l Muzin	0,8	1,25
M2	2		1,8	2,9
M4	4		4,5	7,2
M8	8		12	19,5
K0	0		0	0
K1	1	Aqua dest.	0,8	1,25

4.3.1 Gruppeneinteilung

Die Grundlösungen CMC, Leinsamen und Muzin wurden jeweils mit identischen Zusätzen versehen, so dass für jede Grundlösung jeweils eine Gruppe mit einer Oktakalziumphosphatsättigung (S_{OKP}) von 0; 0,5; 1; 2; 4 und 8 eingeteilt wurde (Tab. VII). Für die Leinsamenlösung wurde zusätzlich eine filtrierte Gruppe mit einer S_{OKP} von 1 angesetzt.

Die experimentellen Gruppen enthielten weiterhin 20 g/l Sorbit, 4,2 ml NaF, 1,218 g/l KCl, 0,856 g/l NaCl, 0,052 g/l MgCl₂, 1 g/l Methyl-4-hydroxybenzoat und 0,2 g/l Propyl-4-hydroxybenzoat (alle Chemikalien von Merck).

Alle Zusätze wurden mit einer Waage (Analysewaage Typ AG204; Mettler Toledo, Gießen, Deutschland) abgewogen und anschließend der jeweiligen Gruppe beigemischt und homogenisiert (Janke & Kunkel). Als Kontrollgruppen dienten zwei Lösungen auf der Basis von destilliertem Wasser (S_{OKP} 0 und 1). Die kommerziell

erhältlichen Produkte Salinum[®] (Leinsamenbasis), Glandosane[®] (CMC-Basis) und Saliva Orthana[®] (Muzinbasis) wurden ebenfalls untersucht.

4.3.2 Berechnung des Sättigungsgrades

Mit dem Computerprogramm ION-PRODUCT kann der Sättigungsgrad (DS) von wässrigen Lösungen bestimmt werden, wenn die Konzentration von Kalzium, Phosphat und allen anderen Ionen sowie der pH-Wert bekannt sind [Shellis 1988]. Hierbei berechnet das Programm das Ionenaktivitätsprodukt (IAP) und deren Löslichkeitsprodukt (Ks) und stellt somit den Grad der Sättigung dar ($DS = IAP/Ks$). Für die Studie wurde ein Kalzium-Phosphat-Verhältnis von 1:1,6 gewählt.

4.3.3 Messung von Kalzium und Fluorid

Die Kalziumbindungskapazität und die Konzentrationen des freien Kalziums der verschiedenen experimentellen Speichersatzlösungen wurden mittels einer Kalziumelektrode (Ca-ISE, Nr. 6.0508.110; Metrohm, Filderstadt, Deutschland) und der entsprechenden Software (Tiamo 1.1; Metrohm) mit Hilfe automatischer Titration (Metrohm) bestimmt [Gebauer *et al.* 2008]. Die Messungen erfolgten alle bei einem pH-Wert von 6,5. Hierbei wurde der pH-Wert durch Zugabe von 0,01 M NaOH (Merck) und 0,01 M HCl (Merck) konstant gehalten.

Für die Messung der Kalziumbindungskapazität wurden die Originallösungen in einem Verhältnis von 1:333 verdünnt. Während der Aufzeichnung der Elektrode wurde eine 0,025 M Kalziumchloridlösung ($\geq 99.5\%$; Sigma-Aldrich, München, Deutschland) mit einer Dosierung von 0,01 ml/min zu 25 ml der jeweiligen Probenlösung beigefügt. Die parallele Verschiebung des gebildeten freien Kalziums entlang der X-Achse beschrieb hierbei die Kalziumbindung. Der weiterführende Abschnitt des linearen Graphes auf der X-Achse gab Rückschlüsse auf die Menge der haftenden Kalziumionen. Die Kalziumelektrode wurde vor jeder einzelnen Messung kalibriert indem die verdünnte Kalziumchloridlösung unter identischen Bedingungen zu 25 ml destilliertem Wasser hinzugefügt wurde. Die Konzentrationen des freien Kalziums der unfiltrierten Lösungen konnten anhand der Kalibrierungskurve berechnet werden.

Für die einzelnen Messungen des freien Kalziums der ultrafiltrierten Originallösungen (Verdünnung 1:10) wurde die beschriebene Methode angewandt.

Die Kalzium- und Phosphatkonzentrationen der Lösungen C1, C2, C4 und C8 wurden mit Hilfe eines optischen Emissionsspektroskopes (ICP OES Optima 2100 DV; Elmer Perkin Fremont, USA) ermittelt. Für die einzelnen Messungen wurden 2,5 ml der jeweiligen ultrafiltrierten Probenlösung (Filtration durch eine Membran mit 5000D) durch 3 ml Salpetersäure (65 %, Merck) angesäuert und in 50 ml unionisiertem Wasser verdünnt. Für jede Lösung wurden insgesamt 2×3 Messungen durchgeführt.

Die Fluoridkonzentrationen der Lösungen wurden mit einer speziellen Ionenelektrode (Typ 96-09 BNC Orion Auto chemistry System 960, Fisher Scientific, Ulm, Deutschland) gemessen. Zur Kontrolle der Ionenstärke wurde TISAB II (1:1; Fisher Scientific) verwendet, welches mit 0,1 M Fluoridlösung (Fisher Scientific) standardisiert wurde. Es erfolgten jeweils drei Messungen pro Probelösung.

Die Berechnung des Sättigungsgrades (DS) der kalziumhaltigen Bestandteile wurde unter Berücksichtigung der gewonnenen Messungen wiederholt (Tab. XIV).

Für die Untersuchung des Präzipitates der Lösung C8 (S_{OKP} 8) wurde die Probe zunächst auf eine Masse von 37000 g zentrifugiert und im Anschluß durch eine spezielle röntgenologische Streustrahlentechnik (WAXS) mit Hilfe eines Diffraktometers (PDS 120; Nonius, Solingen, Deutschland) durchleuchtet.

Die Messung der Ionen erfolgte nur bei den Lösungen auf CMC- und Wasserbasis, da die Muzin- und Leinsamenlösungen bezüglich des pH-Wertes instabil waren.

4.4 Durchführen des Versuches

Die vorbereiteten Schmelzproben wurden auf 24 Gruppen à 14 Proben aufgeteilt (Tab. VII). Die Proben lagerten in den unterschiedlichen Lösungen insgesamt zehn Wochen bei 37 °C (Melag), wobei das Lösungsbad alle 48 Stunden erneuert wurde. Zuvor wurde der pH-Wert jeder einzelnen Lösung auf 6,5 kontrolliert und bei Abweichung korrigiert (Zugabe von Salzsäure (Merck) bei Erhöhung, Kalziumhydroxid (Merck) bei Erniedrigung). Nach den ersten fünf Wochen wurden alle Proben aus den einzelnen Lösungen herausgenommen und mit physiologischer Kochsalzlösung vorsichtig abgespült. Es wurde wiederholt ein 2 mm² großer Bereich mit Nagellack als letzter Vergleich abgedeckt (Effekt 5 Wochen). Aufgrund von Instabilität fiel der pH-Wert der Speichelerersatzmittel auf Leinsamenbasis nach sieben Wochen rapide ab, so dass die entsprechenden Gruppen (1 bis 8) vorzeitig aus den Suspensionen genommen und die Proben in physiologischer Kochsalzlösung

aufbewahrt wurden. Die Auswertung der Gruppen auf Leinsamenbasis erfolgte deshalb nur nach fünf Wochen. Ebenfalls unerwartet mussten die Proben aus den Lösungen auf Muzinbasis entfernt werden, da die Grundlösung nach zwei Wochen aufgrund von Gärung nicht mehr verwertbar war. Infolgedessen wurden die zu untersuchenden Gruppen auf Muzinbasis (17 bis 22) inklusive Vergleichsprodukt (Saliva Orthana[®]) komplett aus dem Versuch genommen. Nach zehn Wochen wurden die restlichen Schmelzproben gemäß ihrer Gruppen ebenfalls in Kochsalzlösung gelagert.

4.5 Oberflächenspannung

Oberflächenspannung entsteht zwischen einer Flüssigkeit und einem Gas wie etwa der Luft. Um diese Oberfläche zu verformen, muss Energie aufgewendet werden. Die zur Verformung einer gegebenen Fläche zu verrichtende Arbeit wird als Oberflächenspannung bezeichnet.

Mit einem Tensiometer (Prozessor Tensiometer K12/T; Krüss, Hamburg, Deutschland) wurde die Oberflächenspannung mit Hilfe eines an einer Präzisionswaage hängenden, optimal benetzbaren Messkörpers ermittelt. Der Messkörper wurde mit der zu vermessenden Flüssigkeit mit Hilfe eines höhenregulierbaren Probenträgers in Kontakt gebracht (Abb. 2). Als Messkörper diente ein horizontal aufgehängter Platinring (Ring RI12; Krüss, Hamburg, Deutschland) mit bekannter Geometrie. Die zu untersuchenden Lösungen wurden vor der Messung mit Hilfe eines Wasserbades auf 37 °C temperiert. Dann wurde der Platinring in das zu messende Speichelerersatzmittel eingetaucht und anschließend wieder herausgezogen, so dass unter dem Ring eine Flüssigkeitslamelle entstand. Dieser Vorgang wurde 20 Mal wiederholt. Gemessen wurde das Kraftmaximum, das erforderlich war, um den Ring durch die Grenzfläche zu ziehen. Durch Kenntnis des Ringumfangs konnte aus der gemessenen Kraft die Spannung der Oberfläche berechnet werden. Da neben der Kraft, die durch die Oberflächenspannung wirkte, auch das Gewicht der unter dem Ring hängenden Flüssigkeit mit einherging, mussten die Messwerte nachträglich korrigiert werden. Dazu wurde der Korrekturfaktor nach Harkins und Jordan verwendet [Harkins und Jordan 1939].

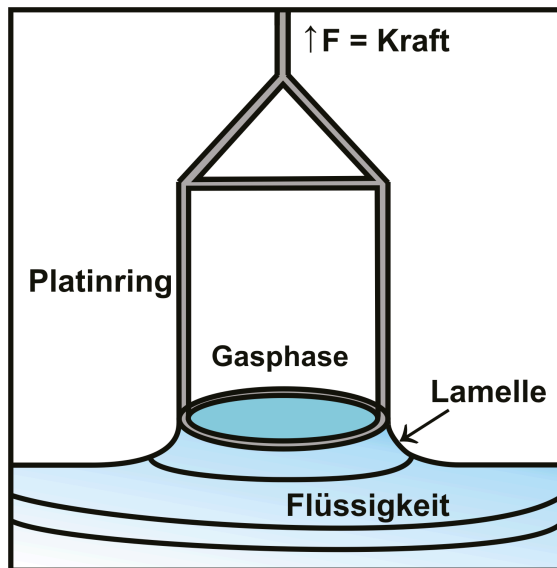


Abb. 2: Schematische Darstellung der Oberflächenspannung

4.6 Kontaktwinkelbestimmung

Als Kontaktwinkel wird der Winkel bezeichnet, den ein Flüssigkeitstropfen auf der Oberfläche eines Feststoffs zu seiner Oberfläche bildet (Abb. 3). Als Feststoff diente eine polierte Schmelzprobe. Die Größe des Kontaktwinkels zwischen der Lösung und der Schmelzoberfläche hängt von der Wechselwirkung zwischen den Stoffen an der Berührungsfläche ab. Je geringer diese Wechselwirkung ist, desto größer wird der Kontaktwinkel. Zur Messung wurde das jeweilige Speichersatzmittel in eine Spritze mit Kanüle gegeben. Die Spritze wurde anschließend in die automatische Dosiereinrichtung des Kontaktwinkelmessgerätes (Kontaktwinkelmessgerät G 10; Krüss, Hamburg, Deutschland) gespannt. Damit ließ sich der Kolben der Spritze fein dosiert bewegen und es wurde ein Tropfen von 2-3 μl Größe auf die Schmelzoberfläche abgegeben und mit einer speziellen Videokamera mit Zoomobjektiv (DCC Kamera; Krüss), die an das Kontaktwinkelmessgerät (Krüss) montiert war, erfasst. Die Messung erfolgte jeweils nach zehn Sekunden. Bei kleinen Tropfen (bis ca. 2 mm Durchmesser) konnte eine kugelförmige Gestalt des Tropfens angenommen werden, aus welcher sich dann der Kontaktwinkel berechnen ließ. Diese erfolgte mit dem Tropfenkonturanalyse-System (Tropfenkonturanalyse-System DSA 10; Krüss) mit der gleichnamigen Computersoftware. Für jede Gruppe wurden fünf Wiederholungen vorgenommen. Dabei wurde nach jeder Untersuchung eine neue, saubere Probenoberfläche gewählt. Aus den fünf Messungen pro Gruppe ließ sich anschließend der Mittelwert für das jeweilige Speichersatzmittel berechnen.

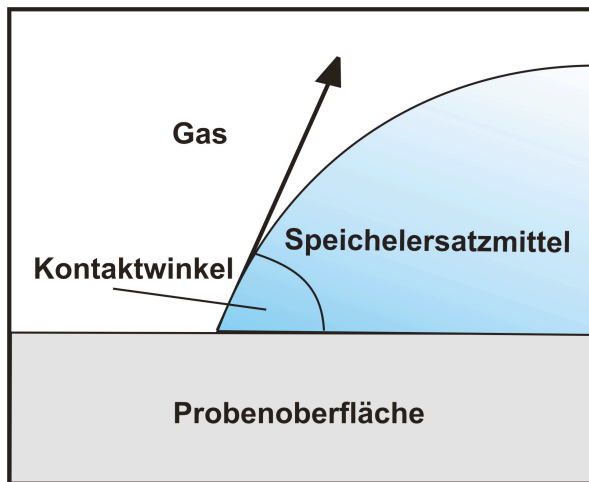
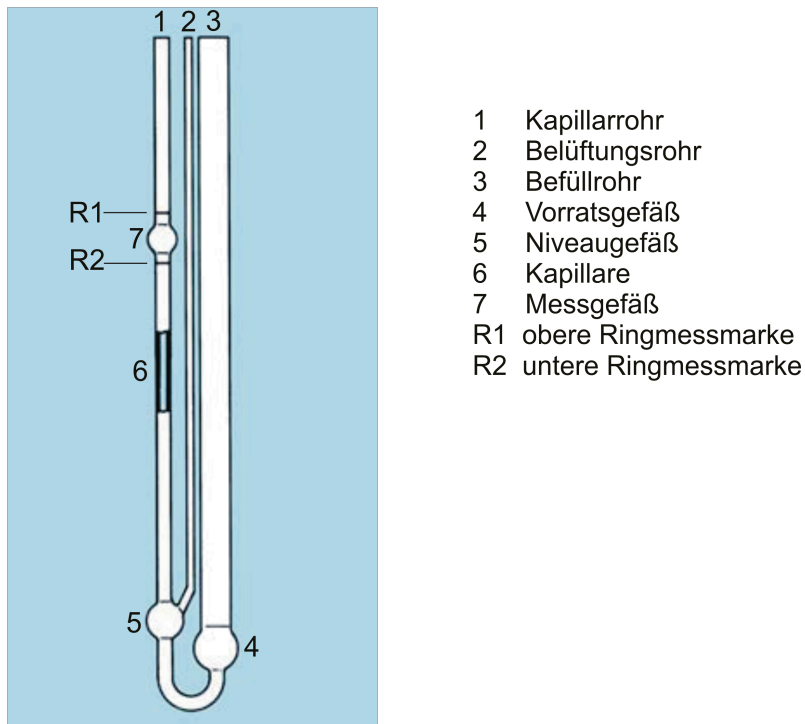


Abb. 3: Schematische Darstellung des Kontaktwinkels

4.7 Viskositätsbestimmung

Viskosität ist ein Maß für die Zähigkeit eines Fluids. Die Viskosität der Speichelersatzmittel wurde mit Hilfe eines Mikrokapillarviskosimeters nach Ubbelohde (Schott, Mainz, Deutschland, Abb. 4) gemessen. Untersucht wird der Fluss der zu messenden Flüssigkeit durch eine Kapillare bei konstanter laminarer Strömung. Die Schwerkraft ist beim Ubbelohde-Viskosimeter die treibende Kraft. Vor den Messungen wurden die Speichelersatzmittel auf Leinsamenbasis bei 3000 U/min. für 20 Minuten zentrifugiert (Ultrazentrifuge L 70; Beckmann Coulter, Krefeld, Deutschland) um die Lösungen von verbliebenen Schalenresten zu trennen. Anschließend wurden die einzelnen Speichelersatzmittel mittels eines Wasserbades erwärmt, so dass die Messungen alle bei 37 °C durchgeführt werden konnten. Während einer Messung wurde die zu untersuchende Lösung durch einen erzeugten Unterdruck angesaugt, so dass sich das Niveaugefäß, die Kapillare und das Messgefäß bis zur oberen Ringmessmarke R1 füllten. Sobald die Flüssigkeit die obere Markierung erreicht hatte, wurde die Saugkraft abgeschaltet. Die Lösung gelangte unter Einfluss der Gravitation in das untere Behältnis zurück. Gemessen wurde die Zeit, die die Flüssigkeit benötigte, um von der oberen Ringmessmarke R1 zur unteren Ringmessmarke R2 abzusinken. Die Messung wurde für jedes Speichelersatzmittel dreimal in Folge durchgeführt und aus den ermittelten Zeiten der Mittelwert gebildet. Die kinematische Viskosität konnte anschließend ermittelt werden, indem man die Zeit in Sekunden mit der Konstante der Kapillare multiplizierte.



- 1 Kapillarrohr
- 2 Belüftungsrohr
- 3 Befüllrohr
- 4 Vorratsgefäß
- 5 Niveaugefäß
- 6 Kapillare
- 7 Messgefäß
- R1 obere Ringmessmarke
- R2 untere Ringmessmarke

Abb. 4: Schematischer Aufbau einer Mikrokapillare [Schott 2008]

4.8 Vorbereitung der Proben für die Mikroradiografie

Die Proben wurden nach Abschluss der In-vitro-Exposition senkrecht zu ihrer Oberfläche durchtrennt (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Anschließend wurden die entstandenen Schnittflächen mit Schleifpapier aufsteigender Körnung poliert (2500, 4000; Exakt) und mittels Sekundenkleber (Omnident, Rodgau, Deutschland) auf Objektträger aus Plexiglas (Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland) angebracht. Von den befestigten Probenblöcken wurden daraufhin mit einer 200 µm dicken, diamantierten Bandsäge (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau) unter stetiger Wasserkühlung Schnitte von 350 µm Dicke hergestellt. Dabei betrug die Schnittgeschwindigkeit der Säge 200 m/min und die Vorschubkraft des Probentisches 50 g. Für die weitere Verarbeitung mussten die Probenoberfläche parallelisiert und geglättet werden. Hierzu wurden sie mit gewässertem Schleifpapier aufsteigender Körnung und einer Mikroschleifapparatur (1200, 2500, 4000 Exakt Mikroschleifsystem; Exakt Apparatebau) bearbeitet. Die erhaltene Schliffdicke der Proben betrug 100 µm, welche mit einem digitalen Mikrometer (Digimatic Bügelmessschraube; Mitutoyo, Kawasaki, Japan) bei einer Genauigkeit von 1 µm überprüft wurde. Die vorbereiteten Dünnschliffe wurden anschließend mit einem Skalpell aus den Kunstharzresten

herauspräpariert und auf Probenhalter speziell für die Transversale Mikroradiografie (TMR) (TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland) mit Hilfe von Leukofix (Beiersdorf, Hamburg, Deutschland) befestigt.

4.9 Die Transversale Mikroradiografie (TMR)

Die transversale Mikroradiografie dient der Quantifizierung des Mineralverlustes von Zahnhartsubstanzen (ausgedrückt in Vol.% \times μm) sowie der Läsionstiefe (in μm).

Die unterschiedlichen Bereiche der Schmelzproben dienten dabei als Ausgangspunkt der Auswertung. Der abgedeckte gesunde Bereich diente als Kontrollbereich. Dieser stellte den Mineralgehalt einer intakten, unbehandelten Probenoberfläche dar und war die Grundlage für die Berechnung des Mineralverlustes und der Läsionstiefe. Die weiteren Bereiche der Probe beschrieben zum einen die standardisiert demineralisierte Oberfläche (Kontrolle Demin) und zum anderen die den Lösungen ausgesetzten Bereiche nach fünf Wochen und nach zehn Wochen (Effekt 5 Wochen/10 Wochen).

Für die mikroradiografische Untersuchung wurden Aufnahmen mit einem speziellen Kameragehäuse angefertigt, welches mit der „Objektivseite“ am Röntgentubus des Röntgengenerators (Röntgenstrahlgenerator PW 1730/10; Phillips, Eindhoven, Niederlande) befestigt war. Auf Filmhöhe war im Kameragehäuse eine Aluminiumeichtreppe (step wedge) montiert, die für die spätere Auswertung der mikroradiografischen Filme am Computer zur Kalibrierung diente. Dabei hat der step wedge den gleichen Strahlenabschwächungskoeffizienten wie das Hydroxylapatit, so dass jedem Grauwert im Mikroradiogramm ein definierter Mineralgehalt zugeordnet werden kann. Daneben befand sich rechts ein Aluminiumschlitten zur Aufnahme der TMR-Probenhalter (Plano). Der Aluminiumschlitten gewährleistete die exakte Positionierung der Schmelzproben zu der Aluminiumeichtreppe während der mikroradiografischen Aufnahmen. Zum Wechseln der Proben wurde der Aluminiumschlitten bei geschlossenem Kameragehäuse mit eingelegtem Film entnommen und die Probe anschließend erneuert. Durch Röntgenstrahlung wurden der TMR-Probenhalter und die Probe zusammen mit der Aluminiumeichtreppe auf einen speziellen hochempfindlichen, hochauflösenden holografischen Film (high speed holographic film SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland) projiziert, welcher manuell von einer lichtundurchlässigen Kassette auf eine handelsübliche Filmrolle aufgespult wurde. Die Röntgenstrahlen wurden gleichzeitig in einer vertikal

montierten Röntgenröhre (PW 1730/10; Phillips) von einer Kupferanode mit Nickelfilterung emittiert.

4.9.1 Herstellen der Mikroradiogramme

Die vorbereiteten Probenhalter mit den Schmelzproben wurden mittels Druckluft behutsam von Kochsalzlösung gereinigt, getrocknet und in den speziellen Halter der Aluminiumeichtreppe eingeführt und an der Röntgenröhre des Röntgenstrahlgenerators angebracht. Dabei war die Probenoberfläche parallel zum Film ausgerichtet. In Vorversuchen waren die Einstellungsparameter bestimmt worden, so dass die Belichtung der mikroradiografischen Filme bei einer Röhrenspannung von 20 kV, einem Röhrenstrom von 40 mA und einer Belichtungszeit von 15 Sekunden erfolgte. Um einem Austrocknen entgegen zu wirken, wurden die Proben nach den Röntgenaufnahmen wieder in Kochsalzlösung gelagert.

Die mikroradiografischen Aufnahmen wurden nach der Entwicklung einzeln mit einem Mikroskop (Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an dem eine Videokamera (CCD Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan) befestigt war, ausgewertet. Der Mineralverlust ($\text{Vol.}\% \times \mu\text{m}$) wurde bestimmt, indem die Differenz des Mineralgehaltes ($\text{Vol.}\%$) zwischen gesundem und demineralisiertem Schmelz über die gesamte Läsionstiefe (μm) berechnet wurde. Dabei definierte die Läsionstiefe den Abstand von der Schmelzoberfläche (20 Vol.%) bis zu dem Punkt in der Läsion, an dem der Mineralgehalt größer als 95 Vol.% des Mineralgehaltes von gesundem Schmelz ist. (Abb. 5). Für gesunden bovinen Zahnschmelz wurde im Programm ein Mineralgehalt von 88 % voreingestellt.

Zur Berechnung der Parameter diente das Computerprogramm Transversal Microradiography (TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande).

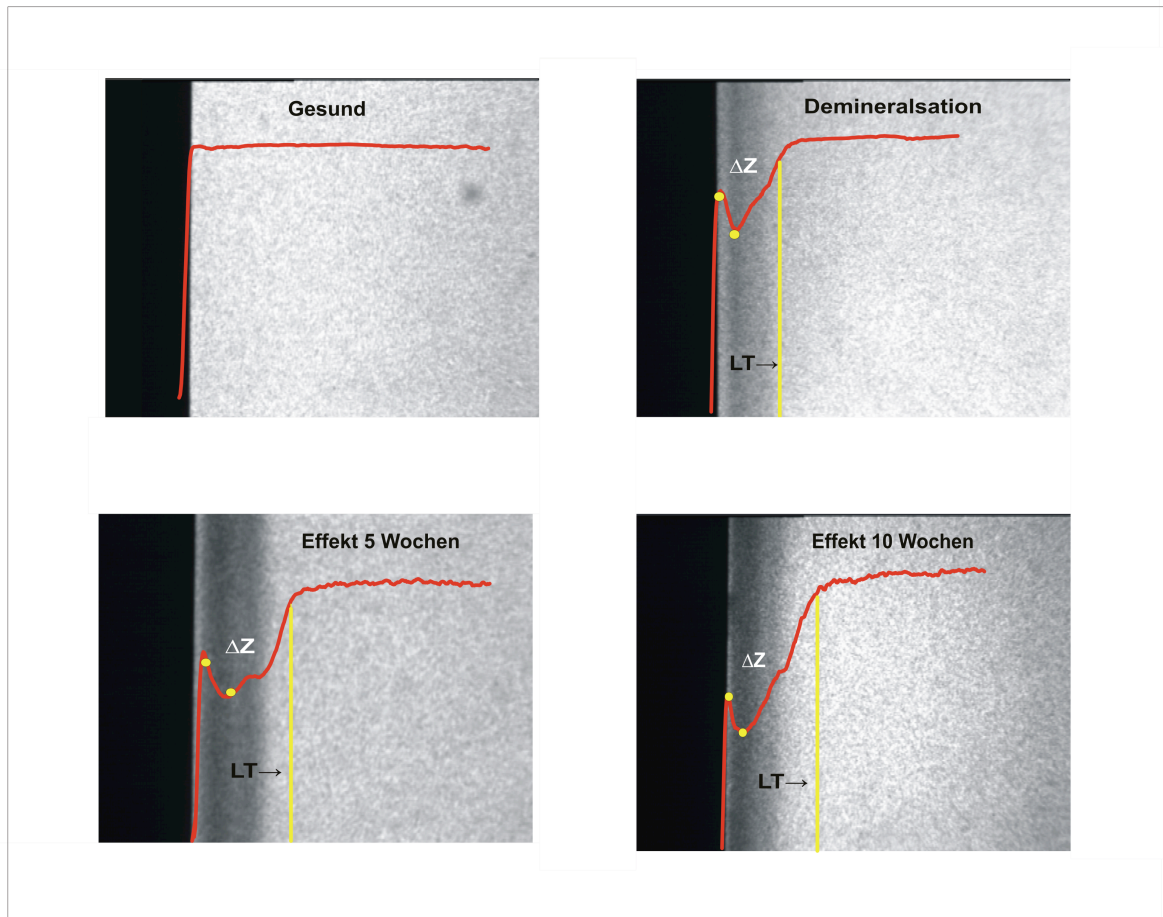


Abb. 5: Darstellung der einzelnen Probenabschnitte anhand von Mikroradiogrammen an einer exemplarischen Schmelzprobe

4.9.2 Statistische Auswertung

Anhand der mikroradiografischen Untersuchung wurden die unterschiedlichen Mineralverluste und Läsionstiefen des Schmelzes nach Demineralisation und nach Lagerung in den einzelnen Speichlersatzmitteln für fünf (Effekt 5) und zehn (Effekt 10) Wochen berechnet. Die Mineralgehalte (ΔZ_{Gesund}) und die Läsionstiefen (LT_{Gesund}) der gesunden Schmelzbereiche wurden hierzu von dem jeweiligen Wert der demineralisierten Oberfläche (ΔZ_{Demin} , LT_{Demin}) als auch von den Schmelzbereichen, welche für fünf Wochen ($\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$, $LT_{\text{Effekt 5}}$) bzw. zehn Wochen ($\Delta Z_{\text{Effekt 10}}$, $LT_{\text{Effekt 10}}$) in den unterschiedlichen Speichlersatzlösungen lagerten, abgezogen. Änderungen der Mineralverluste ($\Delta\Delta Z_5 = \Delta Z_{\text{Demin}} - \Delta Z_{\text{Effekt 5}}$, $\Delta\Delta Z_{10} = \Delta Z_{\text{Demin}} - \Delta Z_{\text{Effekt 10}}$) und der Läsionstiefen ($\Delta LT_5 = LT_{\text{Demin}} - LT_{\text{Effekt 5}}$, $\Delta LT_{10} = LT_{\text{Demin}} - LT_{\text{Effekt 10}}$) des Schmelzes wurden ermittelt und der Varianzanalyse unterzogen (ANOVA). Die Einzelvergleiche zwischen den Gruppen erfolgte mit dem post-hoc Test nach Bonferroni. Der

Vergleich zwischen den Mineralverlusten und Läsionstiefen nach Demineralisation und denen nach Lagerung der Proben in den einzelnen Lösungen erfolgte mit dem gepaarten t-Test. Die Ergebnisse des t-Testes wurden der Bonferroni-Korrektur mit dem Faktor 17 unterzogen. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem SPSS Programm (SPSS Version 11.5, SPSS GmbH, München, Deutschland). Das Signifikanzniveau wurde mit 5 % festgelegt.

5 Ergebnisse

5.1 Quantitative Auswertung

5.1.1 Auswertung der Mineralverluste der Leinsamengruppen

Die *in vitro* demineralisierten Schmelzproben entwickelten gleichmäßige Läsionen unterhalb einer pseudointakten Oberfläche. Hierbei unterschieden sich die Werte der einzelnen Gruppen nicht signifikant voneinander ($p = 0,357$; ANOVA; $n = 13$). Eine Schmelzprobe ist während der weiteren Verarbeitung verlorengegangen. In der Tabelle VIII sind die mittleren Mineralverluste sowie die dazugehörigen Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen vor (ΔZ_{Demin}) und nach Lagerung der demineralisierten Schmelzproben in den verschiedenen Leinsamenlösungen für jeweils fünf Wochen ($\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$) zusammengefasst. Das Produkt Salinum[®] sowie die Lösungen mit den OKP-Sättigungen 0, 0,5, 1, 1 (filtriert); 2 und 4 führten nach fünf Wochen Lagerung zu einer signifikanten Zunahme des Mineralverlustes ($p < 0,05$; gepaarter t-Test). Die Lösung L8 mit einer OKP-Sättigung von 8 und DKPD-Sättigung von 5,2 führte nach fünf Wochen zu keiner signifikanten Änderung des Mineralverlustes ($p > 0,05$).

Tab. VIII: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (Stabw) der Mineralverluste (Vol.% \times μm) nach Demineralisation und Lagerung in den Speichelersatzmitteln auf Leinsamenbasis für fünf Wochen

Gruppe	Sättigung		ΔZ_{Demin}		$\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$		
	OKP	DKPD	MW	Stabw	MW	Stabw	<i>p</i>
Salinum [®]	S		2188	433	3103	1156	0,016
	L1f	1	2167	1042	6200	1764	0,007
	L0	0	2063	540	7315	1530	0,007
Leinsamen	L0,5	0,5	2223	1111	5702	1939	0,007
	L1	1	1994	733	4363	1155	0,007
	L2	2	2648	1059	4851	1824	0,007
	L4	4	2134	662	4899	1090	0,007
	L8	8	1807	688	2446	1082	0,136

Signifikante Unterschiede zwischen den Mineralverlusten nach Demineralisation und denen nach Lagerung in den Lösungen sind grau gekennzeichnet ($p < 0,05$; gepaarter t-Test, Bonferroni-Korrektur, Faktor 8)($n = 13$).

Abbildung 6 zeigt die Veränderung des Mineralverlustes ($\Delta\Delta Z$) in Vol.% $\times \mu\text{m}$ der demineralisierten Schmelzproben nach fünf Wochen Lagerung in den verschiedenen Speichelersatzmittel auf Leinsamenbasis in Form von Mittelwerten und 95 % Konfidenzintervallen. Das Produkt Salinum[®] führte zu einem vergleichbaren Mineralverlust wie die Lösung L8 mit der höchsten OKP-Sättigung ($p > 0,05$). Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Wirkung der Lösungen L0,5, L1, L2 und L4 (S_{OKP} 0,5, 1, 2 bzw. 4) beobachtet werden ($p > 0,05$). Die filtrierte Leinsamenlösung L1f (S_{OKP} 1) führte im Vergleich zu der unfiltrierten Lösung L1 (S_{OKP} 1) zu einem signifikant höheren Mineralverlust ($p < 0,05$). Die Lagerung der Proben in der Lösung L0 ohne Zusätze von Kalzium und Phosphat führte zu dem höchsten Mineralverlust.

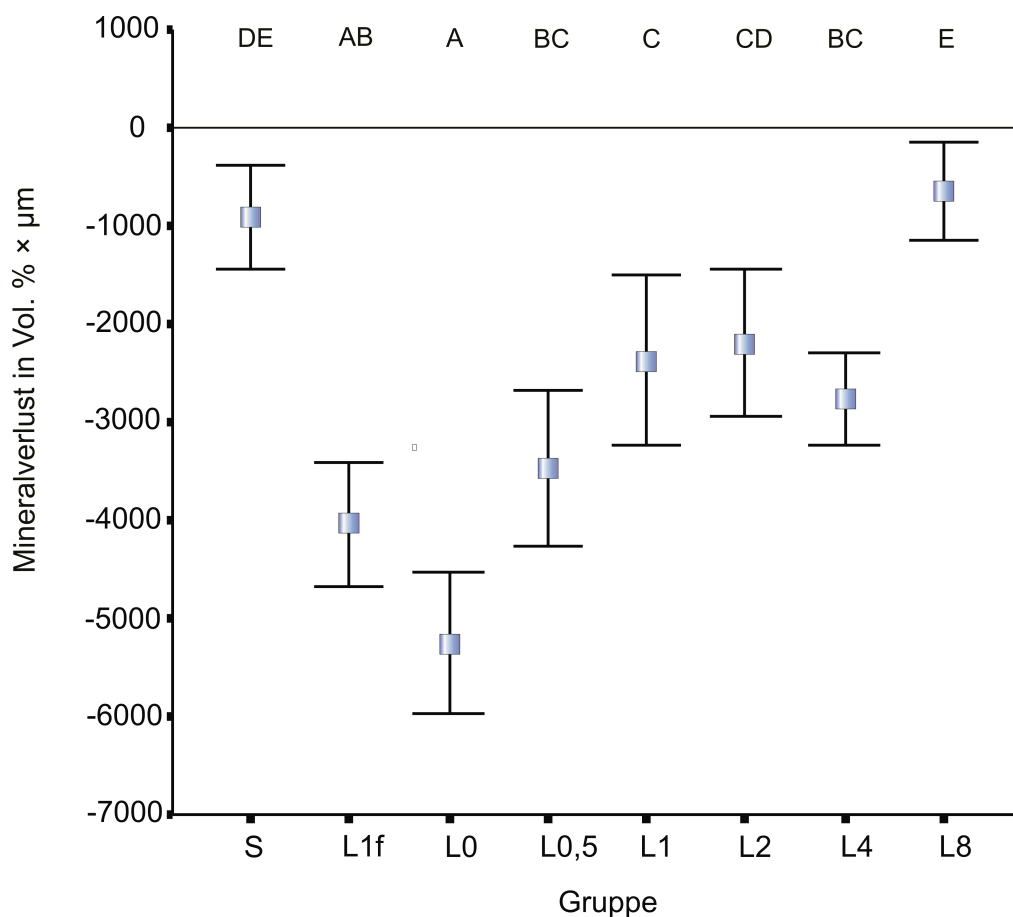


Abb. 6: Mineralverluste (Vol.% $\times \mu\text{m}$) nach Lagerung der demineralisierten Schmelzproben ($n = 13$) in den verschiedenen Lösungen (Mittelwerte und 95 % Konfidenzintervalle). Gruppen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$; ANOVA, Bonferroni post hoc Test).

5.1.2 Auswertung der Läsionstiefe der Leinsamengruppen

Tabelle IX zeigt die mittleren Läsionstiefen der demineralisierten Schmelzproben sowie die den verschiedenen Speichelersatzmitteln für fünf Wochen ausgesetzten Bereiche ($LT_{\text{Effekt 5}}$). Die Mittelwerte der Läsionstiefen der einzelnen Gruppen wiesen nach der Demineralisation keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,139$; ANOVA; $n = 13$) auf. Die Lösungen 2 bis 7 sowie das Produkt Salinum[®] führten nach fünf Wochen Lagerung zu einer signifikanten Zunahme der Läsionstiefe ($p < 0,05$; gepaarter t-Test). In der Gruppe L8 mit einer OKP-Sättigung von 8 und DKPD-Sättigung von 5,2 wurde nach fünfwöchiger Lagerung in dem Speichelersatzmittel keine signifikante Änderung der Läsionstiefe ($p > 0,05$) beobachtet.

Tab. IX: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (Stabw) der Läsionstiefen (μm) nach Demineralisation und fünfwöchiger Lagerung in den Speichelersatzmitteln auf Leinsamenbasis

Gruppe		Sättigung		LT _{Demin}		LT _{Effekt 5}		p
		OKP	DKPD	MW	Stabw	MW	Stabw	
Leinsamen	Salinum [®] S	2,7		110	20	127	29	0,032
	L1f	1	0,5	126	28	295	56	0,007
	L0	0	0	129	23	301	48	0,007
	L0,5	0,5	0,2	99	35	259	81	0,007
	L1	1	0,5	106	27	205	43	0,007
	L2	2	1,1	125	43	230	63	0,007
	L4	4	2,4	126	34	205	48	0,007
	L8	8	5,2	99	39	117	48	0,368

Die signifikanten Unterschiede zwischen der Demineralisation und den Mineralverlusten nach Lagerung in den Lösungen sind grau hinterlegt ($p < 0,05$; gepaarter t-Test, Bonferroni-Korrektur, Faktor 8) ($n = 13$).

Die Änderung der Läsionstiefe (ΔLT in μm) der demineralisierten Schmelzproben nach fünf Wochen Lagerung in den verschiedenen Speichelersatzmitteln ist in Abbildung 7 in Form von Mittelwerten und 95 % Konfidenzintervallen dargestellt. Das Produkt Salinum[®] und die Lösung L8 mit der höchsten OKP-Sättigung und DKPD-Sättigung ($S_{\text{OKP}} 8$, $S_{\text{DKPD}} 5,2$) zeigten in ihrer Wirkung keinen signifikanten

Unterschied ($p > 0,05$). Weiterhin ist keine signifikante Differenz von ΔLT zwischen den Lösungen L1f, L0, L0,5 (S_{OKP} filtriert 1, 0, 0,5) sowie L1, L2, L4 (S_{OKP} 1, 2, 4) zu beobachten ($p > 0,05$).

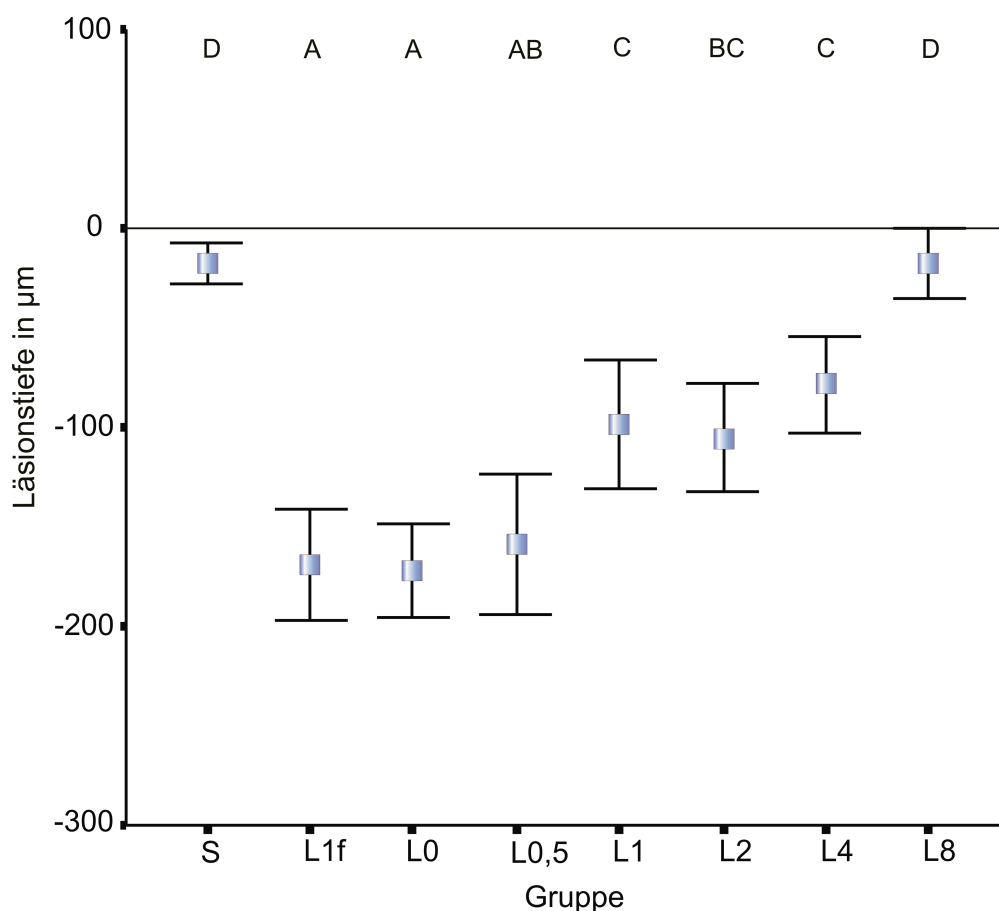


Abb. 7: Läsionstiefen (μm) nach Lagerung der demineralisierten Schmelzproben ($n = 13$) in den verschiedenen Leinsamenlösungen (Mittelwerte und 95 % Konfidenzintervalle). Gruppen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$; ANOVA, Bonferroni post hoc Test).

5.1.3 Auswertung der Mineralverluste der CMC- und Kontrollgruppen

Alle *in vitro* demineralisierten Schmelzproben entwickelten oberflächliche Läsionen, wobei die Mittelwerte der einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,800$; ANOVA; $n = 9-14$) zeigten. Bei Präparation sind 17 Schmelzproben verlorengegangen. In Tabelle X sind die Mittelwerte der Mineralverluste sowie die dazugehörigen Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen vor (ΔZ_{Demin}) und nach Lagerung der demineralisierten Schmelzproben in den verschiedenen Lösungen für fünf Wochen ($\Delta Z_{\text{Effekt } 5}$) und zehn Wochen ($\Delta Z_{\text{Effekt } 10}$)

zusammengefasst. Die Lagerung der Schmelzproben für fünf bzw. zehn Wochen in dem Speichersatzmittel Glandosane[®] bewirkte eine signifikante Zunahme des Mineralverlustes im Vergleich zur Demineralisation ($p < 0,05$, t-Test). Die Lösungen ohne Zusätze von Kalzium und Phosphat (C0 und K0; $S_{OKP} 0$) verursachten eine signifikante Zunahme des Mineralverlustes sowohl nach fünf als auch nach zehn Wochen Lagerung ($p < 0,05$). In den CMC-Gruppen mit einer OKP-Sättigung von 0,5, 1, 4 und 8 sowie der positive Kontrollgruppe (K1, $S_{OKP} 1$) wurde keine signifikante Änderung des Mineralverlustes sowohl nach fünf als auch zehn Wochen ($p > 0,05$) beobachtet.

Die CMC-Lösung mit der OKP-Sättigung von 2 und DKPD-Sättigung von 1,1 (C2) führte zu einem signifikanten Mineralgewinn sowohl nach fünf als auch zehn Wochen ($p < 0,05$).

Tab. X: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (Stabw) der Mineralverluste (Vol.% \times μm) nach Demineralisation und Lagerung in den Speichersatzmitteln auf CMC-Basis für fünf und zehn Wochen

Gruppe	Sättigung	ΔZ_{Demin}		$\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$			$\Delta Z_{\text{Effekt 10}}$				
		OKP	DKPD	MW	Stabw	MW	Stabw	p	MW	Stabw	p
Glandosane [®]	G	0,3	0,2	1673	930	4244	1553	0,008	6457	2328	0,008
	C0	0	0	1605	1181	2400	1410	0,009	3077	1265	0,009
CMC	C0,5	0,5	0,2	1884	948	2593	1450	0,27	3229	1428	0,326
	C1	1	0,5	1796	1010	1868	871	1	1867	920	1
	C2	2	1,1	1714	622	1396	552	0,027	913	453	0,009
	C4	4	2,4	2065	627	2507	1053	0,612	1720	691	1
	C8	8	5,2	1765	918	2334	1216	0,099	2336	1065	0,171
	K0	0	0	1474	580	2283	891	0,008	2737	1440	0,027
Aqua dest.	K1	1	0,5	1611	703	1333	867	0,882	1015	795	0,54

Signifikante Unterschiede zwischen den Mineralverlusten nach Demineralisation und denen nach Lagerung in den Lösungen sind grau gekennzeichnet ($p < 0,05$; gepaarter t-Test, Bonferroni-Korrektur, Faktor 9) ($n = 9-14$).

Abbildung 8 zeigt die Änderung des Mineralverlustes ($\Delta\Delta Z$) in Vol.% \times μm der demineralisierten Schmelzproben nach fünf und zehn Wochen Lagerung in den verschiedenen Speichersatzmitteln in Form von Mittelwerten und 95 %

Konfidenzintervallen. Das Produkt Glandosane® führte zu einem signifikant höheren Mineralverlust im Vergleich zu allen CMC-Gruppen nach fünf und zehn Wochen ($p < 0,05$; ANOVA, Bonferroni). Es konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Mineralverlustes zwischen den Negativkontrollen (C0 und K0) beobachtet werden ($p > 0,05$). Die Lagerung der Proben in der Lösung C2 (S_{OKP} 2, DKPD 1,1) führte zu einem signifikanten Mineralgewinn im Vergleich zu den beiden Negativkontrollen (C0 und K0) und der CMC-Lösung mit einer OKP-Sättigung von 0,5 ($p < 0,05$), dagegen zu einem vergleichbaren Effekt wie die CMC-Lösungen mit den OKP-Sättigungen 1, 4 und 8 und der positiven Kontrollgruppe (K1, S_{OKP} 1; $p > 0,05$).

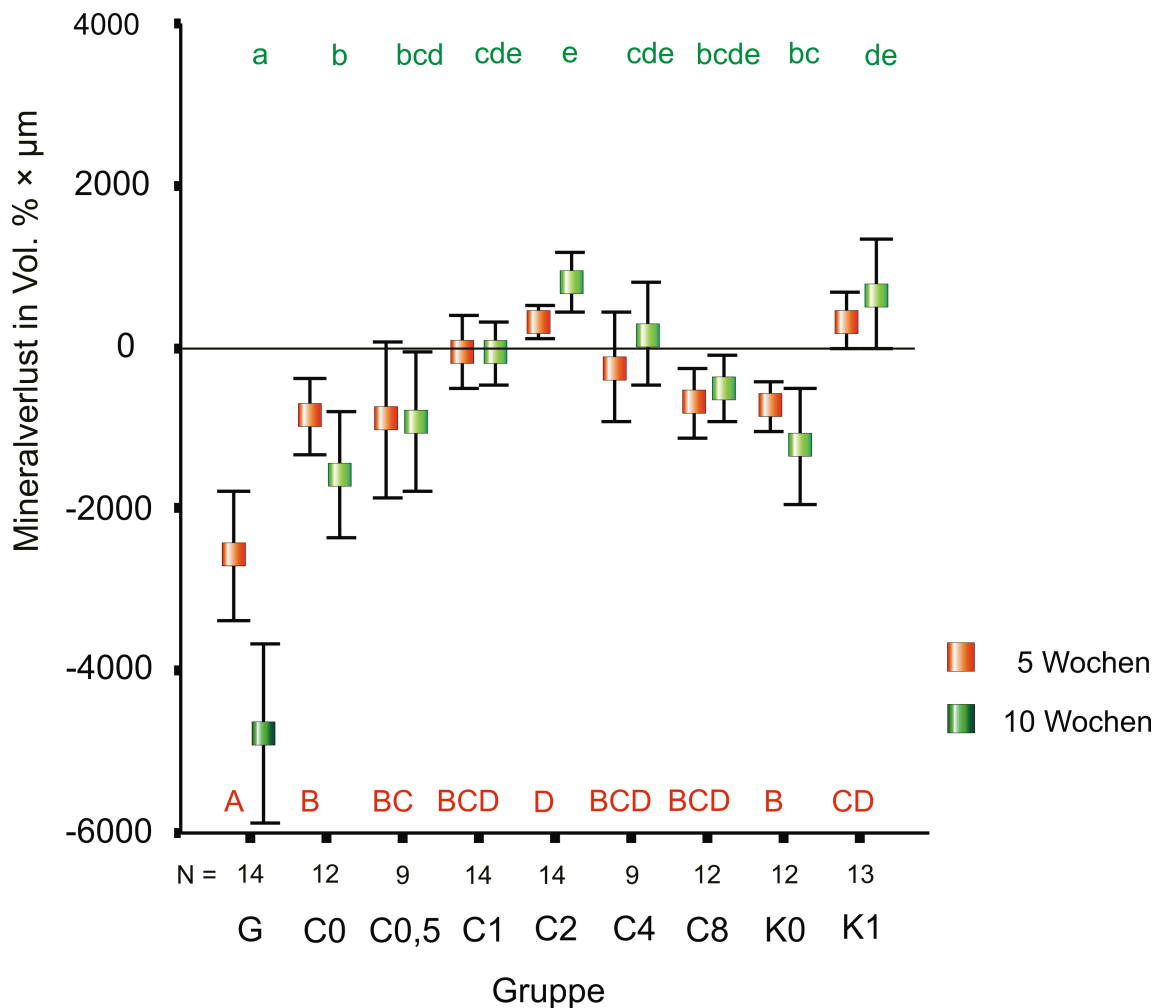


Abb. 8: Mineralverluste (Vol.% \times μm) nach Lagerung der demineralisierten Schmelzproben in den verschiedenen Lösungen (Mittelwerte und 95 % Konfidenzintervalle). Gruppen innerhalb der jeweiligen Lagerungszeiten mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$; ANOVA, Bonferroni post hoc Test).

5.1.4 Auswertung der Läsionstiefen der CMC- und Kontrollgruppen

In Tabelle XI sind die mittleren Läsionstiefen der demineralisierten Schmelzproben sowie die den verschiedenen Speichelersatzmitteln für fünf Wochen ($LT_{\text{Effekt } 5}$) und zehn Wochen ($LT_{\text{Effekt } 10}$) ausgesetzten Bereiche zusammengefasst. Die Mittelwerte der Läsionstiefen der einzelnen Gruppen zeigten nach Demineralisation keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,139$; ANOVA; $n = 9-14$). Das Produkt Glandosane[®] führte nach fünf- und zehnwöchiger Lagerung zu einer signifikanten Zunahme der Läsionstiefe ($p < 0,05$; gepaarter t-Test). Die CMC-Negativkontrolle (C0) verursachte keine signifikante Zunahme der Läsionstiefe ($p > 0,05$) nach fünf Wochen, jedoch einen Anstieg nach zehn Wochen Lagerung ($p < 0,05$). Die Negativkontrolle auf Wasserbasis (K0) dagegen führte zu einer signifikanten Erhöhung der Läsionstiefe nach fünf Wochen ($p < 0,05$), zu keiner weiteren Zunahme nach zehn Wochen ($p > 0,05$). Die Läsionstiefen der Schmelzproben verringerten sich signifikant nach zehnwöchiger Lagerung in der CMC-Lösung mit einer OKP-Sättigung von 2 und DKPD 1,1 (C2; $p < 0,05$); dieser Effekt ist nach fünf Wochen Lagerung nicht zu beobachten ($p > 0,05$). Bei den CMC-Gruppen C0,5, C1, C4 und C8 (S_{OKP} 0,5; 1; 4 und 8) sowie der positiven Kontrollgruppe K1 (S_{OKP} 1) konnte keine signifikante Erhöhung der Läsionstiefe nach fünf und zehn Wochen ($p > 0,05$) beobachtet werden.

Tab. XI: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (Stabw) der Läsionstiefen (μm) nach der Demineralisation und Lagerung in den Speichelersatzlösungen für fünf und zehn Wochen

Gruppe	Sättigung		LT _{Demin}		LT _{Effekt 5}		LT _{Effekt 10}				
	OKP	DKPD	MW	Stabw	MW	Stabw	p	MW	Stabw	p	
Glandosane®	G	0,3	0,2	82	35	133	32	0,008	156	51	0,008
	C0	0	0	78	34	106	34	0,081	146	52	0,030
CMC	C0,5	0,5	0,2	95	42	116	63	0,532	113	46	1
	C1	1	0,5	109	41	96	33	1	93	40	1
	C2	2	1,1	95	25	81	23	0,171	57	22	0,008
	C4	4	2,4	113	27	123	35	1	95	24	1
	C8	8	5,2	97	36	107	40	0,756	104	40	1
	K0	0	0	93	29	108	32	0,008	115	49	0,073
Aqua dest.	K1	1	0,5	101	28	97	59	1	105	78	1

Signifikante Unterschiede zwischen den Mineralverlusten nach Demineralisation und denen nach Lagerung in den Lösungen sind grau gekennzeichnet ($p < 0,05$; gepaarter t-Test, Bonferroni-Korrektur, Faktor 9) ($n = 9-14$).

In Abbildung 9 ist die Veränderung der Läsionstiefen (ΔLT in μm) der demineralisierten Schmelzproben nach fünf und zehn Wochen Lagerung in den verschiedenen Speichelersatzmittel in Form von Mittelwerten und 95 % Konfidenzintervallen dargestellt.

Die Lagerung der Schmelzproben in Glandosane® führte im Vergleich zu den CMC-Lösungen mit den OKP-Sättigungen 1, 2, 4, 8 und der positiven Kontrollgruppe (K1, $S_{\text{OKP}} 1$) zu einer signifikanten Erhöhung von ΔLT ($p < 0,05$; ANOVA, Bonferroni, post hoc Test). Die Negativkontrollen (C0 und K0) hatten keinen signifikanten Unterschied in ihrer Wirkung voneinander ($p > 0,05$). Die Lösung C2 ($S_{\text{OKP}} 2$, $S_{\text{DKPD}} 1,1$) führte im Vergleich zu den beiden Negativkontrollen nach zehn Wochen Lagerung zu einer signifikanten Verringerung von ΔLT ($p < 0,05$). Im Vergleich zu den CMC-Lösungen mit einer OKP-Sättigung von 0,5, 1, 4 und 8 und der positiven Kontrolllösung ($S_{\text{OKP}} 1$; $p > 0,05$) führte die Gruppe C2 zu einem analogen Effekt.

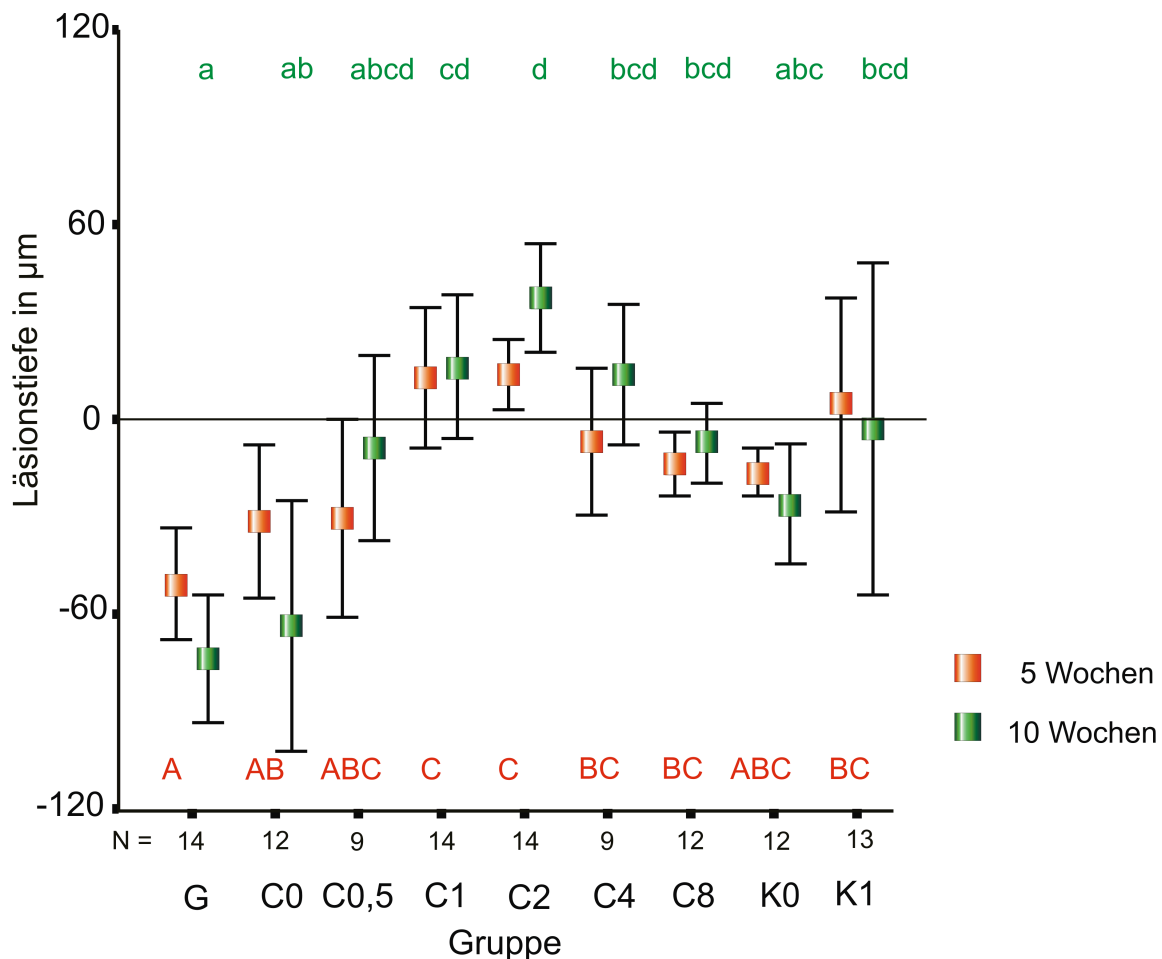


Abb. 9: Läsionstiefen (μm) nach Lagerung der demineralisierten Schmelzproben in den verschiedenen Lösungen (Mittelwerte und 95 % Konfidenzintervalle). Gruppen innerhalb der jeweiligen Lagerungszeiten mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$; ANOVA, Bonferroni post hoc Test).

Die Muzingruppen wurden, wie bereits in Material & Methode erwähnt, nicht ausgewertet.

5.2 Ergebnisse der physikalischen Parameter

Tabelle XII zeigt die ermittelten Werte der Viskosität, der Oberflächenspannung und des Kontaktwinkels sowie die Gesamtmenge der während des Versuches zugegebenen Salzsäure bzw. Kalziumhydroxid pro Gruppe. Es wird ersichtlich, dass das Produkt Salinum[®] die höchste Viskosität besaß; insbesondere im Vergleich zu den Produkten Glandosane[®] und Saliva Orthana[®]. Die Viskosität sowie der Kontaktwinkel der Leinsamenlösungen waren höher als die der CMC-Lösungen. Die Kontrollgruppen auf der Basis von Wasser hatten die geringste Viskosität. Die

Speichelersatzmittel auf CMC-Basis wiesen eine höhere Oberflächenspannung als die Lösungen auf Leinsamenbasis auf. Der Kontaktwinkel und die Oberflächenspannung verhielten sich nach Zugabe der Elektrolyte Kalzium und Phosphat relativ beständig. Die Viskosität erschien bei den CMC-Lösungen ebenfalls konstant, dagegen tendierten die Leinsamenlösungen nach Zugabe der Elektrolyte zu einer niedrigeren Viskosität.

Tab. XII: Zugabe der Menge an Kalilauge (KOH) und Salzsäure (HCl) zu den einzelnen Lösungen, sowie die physikalischen Parameter Viskosität, Oberflächenspannung (OFS) und Kontaktwinkel (KW) mit Standardabweichung (Stabw)

Lösung	KOH ml	HCl ml	mittlerer pH	KOH-HCl	Viskosität	OFS	KW	Stabw
Salinum®	0	0	6,9	0,00	27,8	42,8	41,6	1,7
L1f	18,35	0,3	6,0	18,05	18,0	46,1	59,4	3,0
L0	19,76	1	6,2	18,76	21,6	45,6	54,6	2,6
L0,5	20,02	0,35	6,2	19,67	18,8	45,4	51,1	0,7
L1	18,28	1,5	6,2	16,78	17,9	46,4	50,6	1,5
L2	17,47	0	6,2	17,47	17,3	47,4	43,9	1,2
L4	13,49	0,27	6,3	13,22	13,4	46,5	44,7	1,2
L8	17,3	0,1	6,2	17,20	14,7	46,7	44,4	1,0
Glandosane®	0	0	5,4	0,00	3,8	39,4	51,7	2,9
C0	0,07	0,09	6,5	-0,02	15,1	58,3	38,0	0,9
C0,5	0,01	0,09	6,5	-0,08	14,9	60,8	37,9	0,4
C1	0	0,2	6,5	-0,20	14,3	61,4	34,1	0,9
C2	0,1	0,48	6,6	-0,38	13,9	61,5	36,0	2,1
C4	0	0,47	6,6	-0,47	14,2	61,4	32,7	0,9
C8	0,07	0,27	6,5	-0,20	14,0	60,6	34,3	1,0
Saliva Orthana®	0	0	5,3	0,00	2,9	40,9	40,3	1,6
K0	0,22	0,43	6,4	-0,21	0,2	57,7	39,8	0,9
K1	0	0,19	6,5	-0,19	0,2	60,5	34,9	2,1

Die pH-Werte der Leinsamengruppen verhielten sich über die gesamte Versuchsdauer nicht stabil, so dass große Mengen an Kalziumhydroxid (KOH) hinzu gegeben werden mussten. Der mittlere pH-Wert der Leinsamenlösungen betrug dabei 6,2. Die Lösungen auf CMC-Basis benötigten für die gesamte Versuchsdauer nur minimale Mengen an Kalziumhydroxid (KOH) und Salzsäure (HCl) zur Einstellung des pH-Wertes.

5.3 Ergebnisse der Kalzium- und Fluoridmessung

In Tabelle XIII sind die zu den Speicheltersatzmitteln hinzugegebenen Konzentrationen an Kalzium, Phosphat und Fluorid (mM) sowie die gemessene Konzentration der Ionen aufgeführt. Die höchste Kalziumbindungskapazität wurde für die CMC-Lösung C0 (9 mM) und die niedrigste Bindungskapazität für die Lösung C8 (3 mM) gemessen. Die Bindungskapazität für Kalzium war bei den Kontrolllösungen (K0 und K1) unterhalb der Sensivität der Elektrode ($< 0,5$ mM). Die Konzentration des freien Kalziums der Lösungen C0, C0,5 und K0 betrug weniger als 0,02 mM. Die gemessenen Konzentrationen für die Lösungen K1 (0,52 mM), C1 (0,05 mM), C2 (0,16 mM), C4 (0,78 mM) und C8 (4,58 mM) waren bedeutend unterhalb der zugefügten Kalziumkonzentrationen, so dass geringere Sättigungsgrade resultierten als beabsichtigt (Tab.XIV). Die ermittelten Phosphatkonzentrationen der Lösungen C1, C2 und C2 waren identisch der Zugefügten. Einzig bei der Lösung C8 wurde 1,6 mM weniger Phosphat gemessen als ursprünglich hinzugefügt (19,5 mM).

Die Fluoridkonzentrationen der Kontrolllösungen (K0, K1) und der Lösungen C0, C0,5, C1 und C2 entsprachen der Ausgangskonzentration (0,1 mM). Jedoch wurden für die Lösungen C4 und C8 reduzierte Fluoridkonzentrationen gemessen (0,07 mM). Bei den Lösungen mit den höchsten OKP-Sättigungen (S_{OKP} 4 und S_{OKP} 8) wurden Präzipitate beobachtet. Die nähere röntgenologische Untersuchung des ultrafiltrierten Präzipitates der Lösung C8 ergab keine kristalline Struktur, so dass es sich vermutlich um amorphes Kalziumphosphat handelt.

Tab. XIII: Hinzugefügte und effektiv gemessene Ionenkonzentrationen

Gruppe	hinzugefügte Konzentrationen (mM)			gemessene Konzentrationen (mM)						
	Ca	PO ₄	F	freies Ca ¹ unfiltriert	freies Ca ² filtriert	freies Ca ³ (ICP)	Bindung ⁴ Ca	Phosphat ⁵ (ICP)	F ⁶	
Glandosane G	1	2,6	0	-----						
CMC	C0	0	0	0,01	0,01	-	9	-	0,09	
	C0,5	0,34	0,54	0,03	0,02	-	9	-	0,1	
	C1	0,8	1,25	0,1	0,08	0,06 (0,001)	8	1,2 (0,003)	0,1	
	C2	1,8	2,9	0,1	0,17	0,16 (0,001)	7	2,9 (0,02)	0,1	
	C4	4,5	7,2		0,57	0,55	0,78 (0,001)	5	7,1 (0,02)	0,07
	C8	12	19,5		5	3,49	4,58 (0,04)	3	17,9 (0,1)	0,07
Aqua dest.	K0	0	0	0,01	-	-	<0,5	-	0,08	
	K1	0,8	1,25	0,52	-	-	<0,5	-	0,09	

CMC (Carboxymethylcellulose)

¹ unfiltrierte Originallösung (Verdünnung 1:333). ^{2,3} ultrafiltrierte (Membran 5000D) Originallösung (Verdünnung 1:10²; 1.20³) gemessen mit Elektrode Ca-ISE² oder ICP-OES³.

⁴ Kalziumbindungskapazität der ultrafiltrierten (Membran 5000D) Originallösung (1:333).

⁵ ultrafiltrierte (Membran 5000D) Originallösung (Verdünnung 1:20) gemessen mit der Elektrode ICP-OES. ⁶ unfiltrierte Originallösung verdünnt in TISAB II (1:1). Für die Fluoridmessungen waren die Standardabweichungen (Stabw) unterhalb 0,01 mM. Für alle anderen Messungen ist nur die anwendbare Standardabweichung angegeben.

Tab. XIV: Theoretische und tatsächlich gemessene Sättigungsgrade bezüglich Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD), Oktakalziumphosphat (OKP), Hydroxylapatit (HA) und Kalziumfluorid (CaF₂)

Gruppe	Sättigungsgrad (ursprünglich hinzugefügt)				Sättigungsgrad (gemessen)				
	DKPD	OKP	HA	CaF ₂	DKPD	OKP	HA	CaF ₂	
Glandosane G	0,2	0,3	0,9	0					
CMC	C0	0	0	0	0	0	0	0	
	C0,5*	0,2	0,5	2,2	0,28	0,1	0,2	0,6	0,13
	C1	0,5	1	4,5	0,36	0,1	0,3	1	0,15
	C2	1,1	2	9,1	0,47	0,3	0,6	2,5	0,21
	C4	2,4	4	18,3	0,59	1,1	1,8	7,3	0,34
	C8	5,2	8	36,2	0,72	3,4	5,1	22,2	0,55
Aqua dest.	K0	0	0	0	0	0	0	0	
	K1*	0,5	1	4,5	0,36	0,5	1	4,5	0,36

Lösungen, die zu Präzipitation neigten, sind grau hinterlegt. * Die Phosphatkonzentrationen von C0,5 wurden abgeleitet von den Messungen der Lösungen C1, C2, C4 und C8.

5.4 Qualitative Auswertung

Mikroradiografische Auswertung des Mineralverlustes

Nachdem die Schmelzproben demineralisiert und in den verschiedenen Speichelersatzmitteln für fünf bzw. zehn Wochen gelagert wurden, konnte das Ausmaß des Mineralverlustes bzw. der Läsionstiefe mit Hilfe der TMR-Software visualisiert und berechnet werden.

Abbildung 10 zeigt den typischen Verlauf der unterschiedlichen Messkurven einer Schmelzprobe. Die Grafiken zeigen jeweils das Mikroradiogramm nach Demineralisation für 14 Tage (A), Lagerung in der Lösung C2 (CMC, S_{OKP} 2) nach fünf Wochen (B) sowie zehn Wochen (C). Nach 14-tägiger Demineralisation wurde

ein Mineralverlust von $1837 \text{ Vol.\%} \times \mu\text{m}$ und eine Läsionstiefe von $133 \mu\text{m}$ errechnet (Abb. 10A). Nachdem die Schmelzproben für fünf Wochen in der CMC-Lösung C2 gelagert wurden, verringerte sich der Mineralverlust auf $1197 \text{ Vol.\%} \times \mu\text{m}$ und die Läsionstiefe auf $91 \mu\text{m}$ (Abb. 10B). Nach zehn Wochen Lagerung betrug der Mineralverlust $724 \text{ Vol.\%} \times \mu\text{m}$ und die Läsionstiefe $59 \mu\text{m}$ (Abb. 10C). Es konnte somit eine signifikante Remineralisation beobachtet werden.

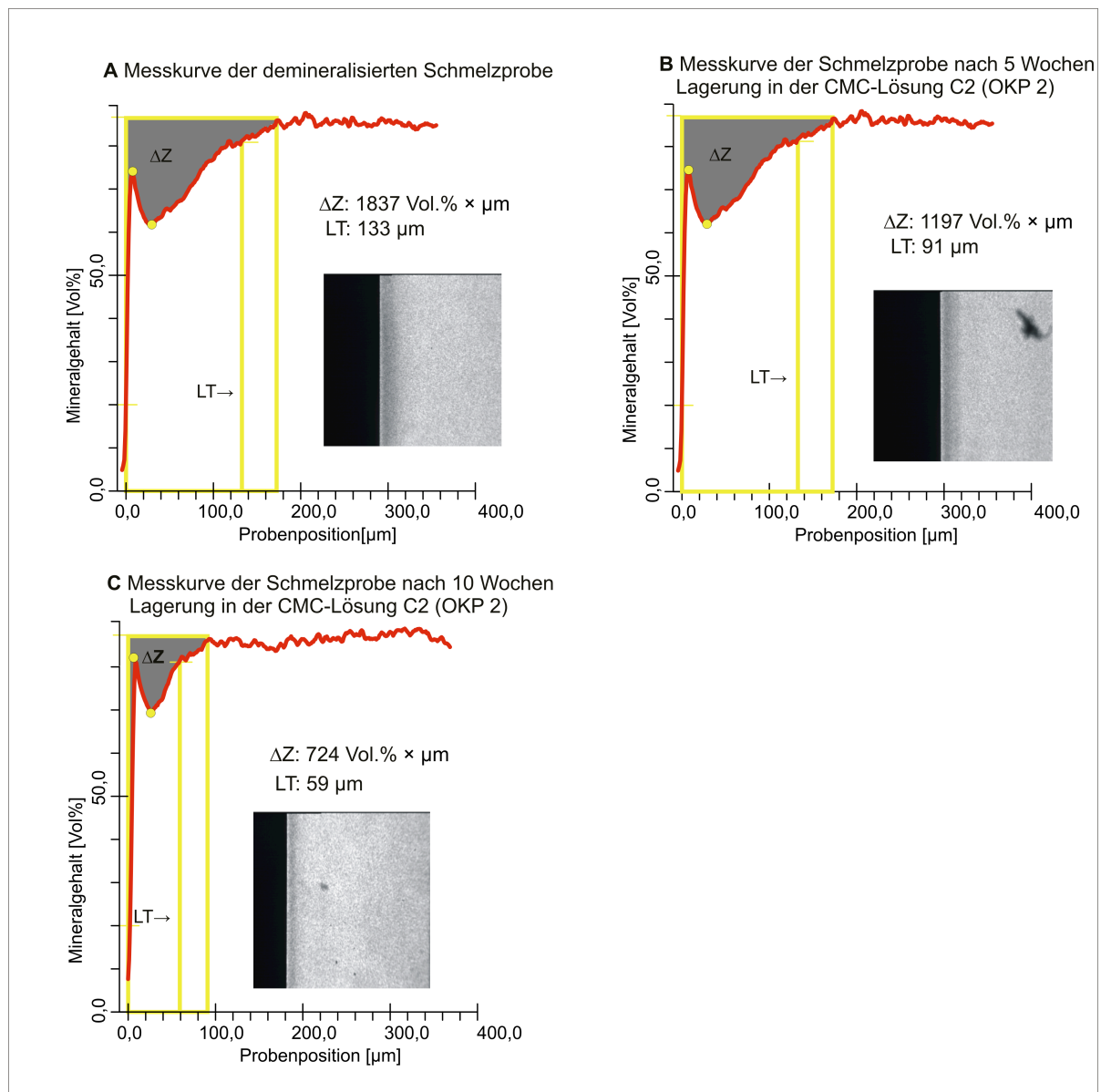


Abb. 10: Berechnung des Mineralverlustes (ΔMin) und der Läsionstiefe (LT) mit dem TMR-Programm bei einer repräsentativen Schmelzprobe aus der Gruppe C2 (CMC).

Im Vergleich dazu zeigt die Abbildung 11 die Messkurven einer Schmelzprobe, welche für fünf Wochen in einer Leinsamenlösung mit der gleichen OKP-Sättigung gelagert wurde (L2). Hierbei beschreiben die Grafiken das Mikrogramm der

Schmelzprobe nach Demineralisation für 14 Tage (A) und nach Lagerung in der Speichelersatzlösung L2 (Leinsamen, S_{OKP} 2) für fünf Wochen (B). Der Mineralverlust der Schmelzprobe betrug nach Demineralisation $1829 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ und die Läsionstiefe $131 \mu\text{m}$ (Abb. 11A). Nachdem die Schmelzprobe in der Leinsamenlösung für fünf Wochen gelagert wurde, ergab sich ein Mineralverlust von $3899 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ und eine von Läsionstiefe $239 \mu\text{m}$ (Abb. 11B). Eine signifikante Zunahme des Mineralverlustes mit intakter Schmelzoberfläche konnte beobachtet werden.

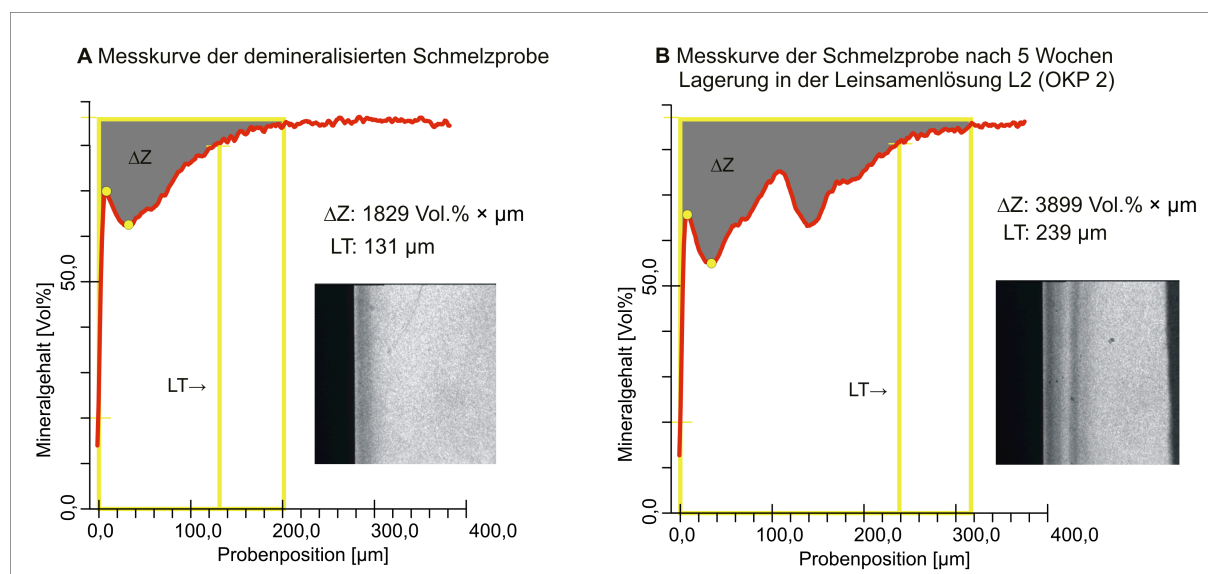


Abb. 11: Berechnung des Mineralverlustes (ΔMin) und der Läsionstiefe (LT) mit dem TMR-Programm bei einer repräsentativen Schmelzprobe aus der Gruppe L2 (Leinsamen).

Das kommerzielle Speichelersatzmittel Glandosane[®] verursachte nach fünf Wochen Lagerung Erosionen der Schmelzoberfläche, welche nach zehn Wochen zunahm. Abbildung 12 zeigt den Verlauf der mikroradiografischen Messkurven. Die Schmelzprobe wurde 14 Tage demineralisiert (A) und anschließend in dem Speichelersatzmittel (Glandosane[®]) für fünf Wochen (B) und zehn Wochen (C) gelagert. In Abbildung 12A betrug der Mineralverlust nach Demineralisation $1211 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ bei einer Läsionstiefe von $80 \mu\text{m}$. Nach fünfwöchiger Lagerung in Glandosane[®] konnte ein Mineralverlust von $4984 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ und eine Läsionstiefe von $153 \mu\text{m}$ ermittelt werden (Abb. 12B). Der Mineralverlust betrug nach zehn Wochen Lagerung $9730 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ und die Läsionstiefe $237 \mu\text{m}$ (Abb. 12C). Es war eine Zunahme des Mineralverlustes und eine Erosion der Schmelzoberfläche erkennbar.

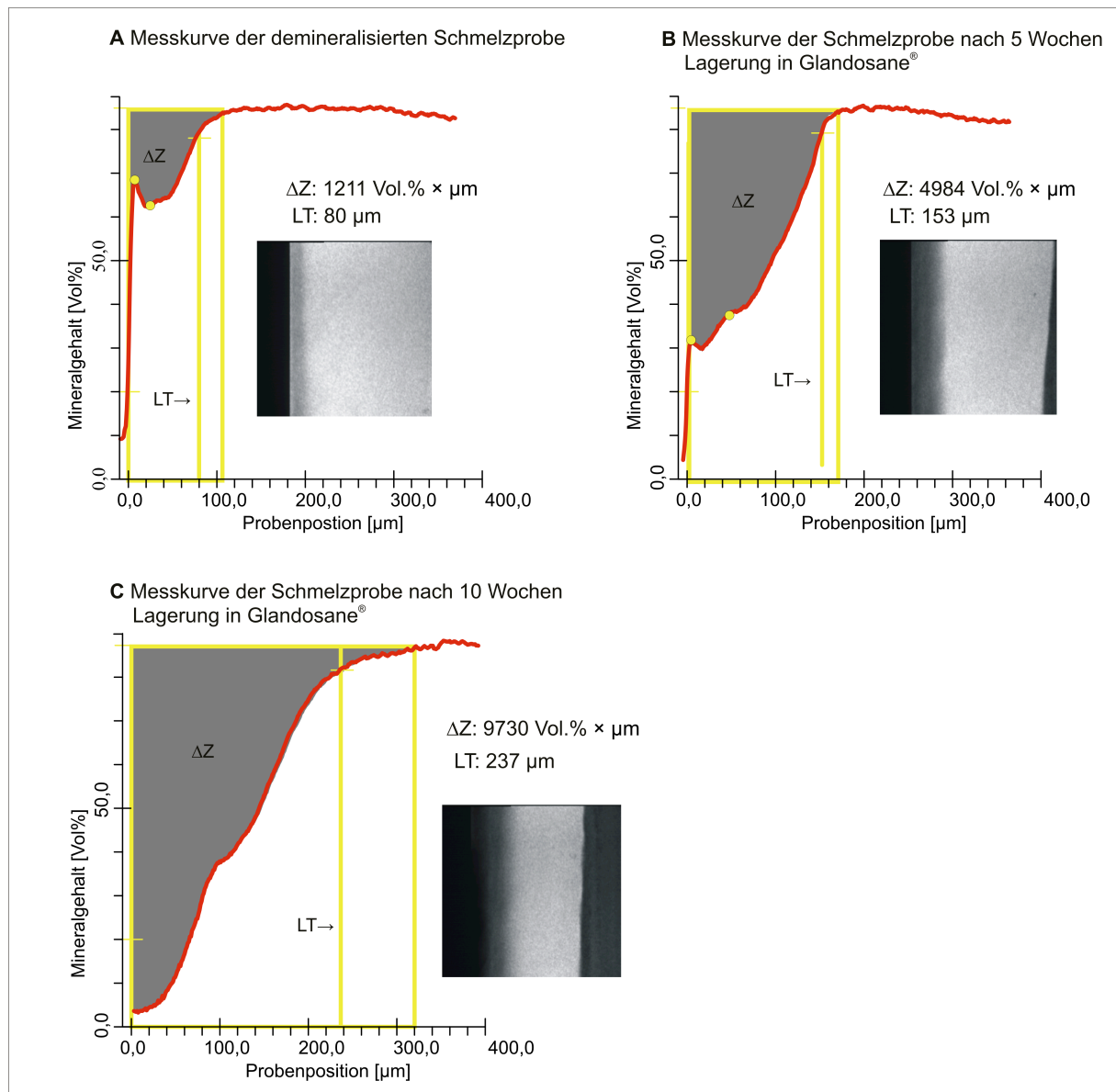


Abb. 12: Berechnung des Mineralverlustes (ΔMin) und der Läsionstiefe (LT) mit dem TMR-Programm bei einer repräsentativen Schmelzprobe, die in Glandosane® gelagert wurde.

Nach Lagerung der Schmelzproben in dem kommerziellen Speicheleratzmittel Salinum® ist ebenfalls eine Zunahme des Mineralverlustes und der Läsionstiefe nach fünf Wochen erkennbar. Hier ist die Schmelzoberfläche im Gegensatz zu der Lagerung in Glandosane® nicht erodiert. Die unterschiedlichen Messkurven einer Schmelzprobe nach Lagerung in dem Produkt Salinum® sind in Abbildung 13 dargestellt. Das Mikroradiogramm zeigt die Probe nach Demineralisation für 14 Tage (A) und nach Lagerung in dem Mittel Salinum® für fünf Wochen (B). Nach Demineralisation betrug der Mineralverlust 1723 Vol.% $\times \mu\text{m}$ bei einer Läsionstiefe von 114 μm (Abb. 13A). Nachdem die Probe für fünf Wochen in Salinum® gelagert

wurde, konnte ein Mineralverlust von $3080 \text{ Vol.\%} \times \mu\text{m}$ und eine Läsionstiefe von $244 \mu\text{m}$ gemessen werden (Abb. 13B).

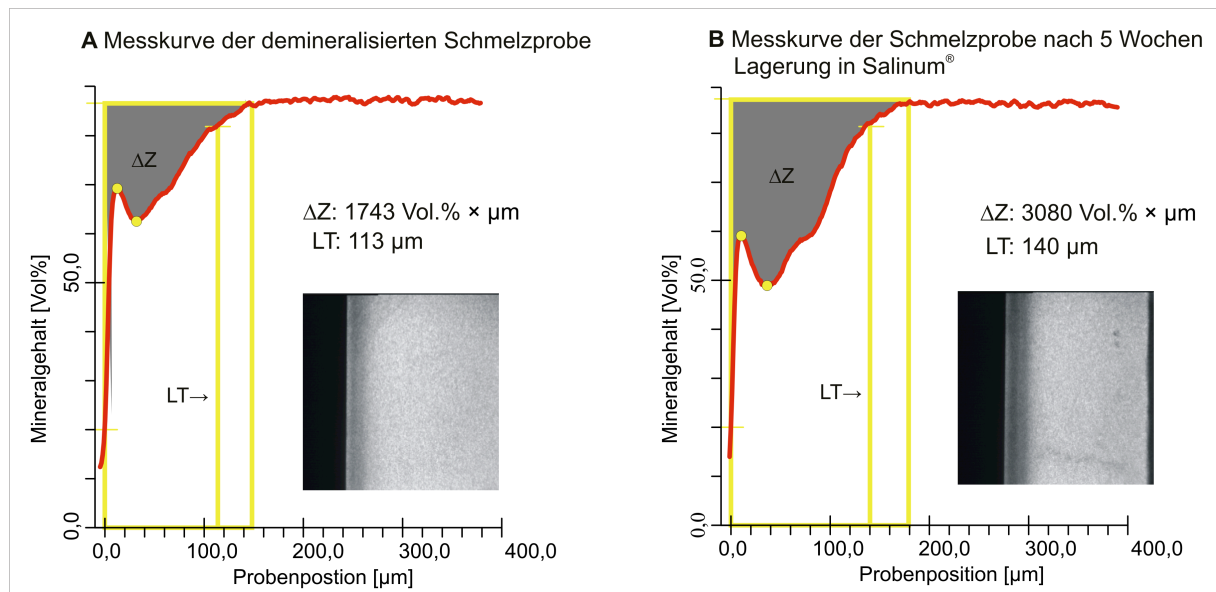


Abb. 13: Berechnung des Mineralverlustes (ΔMin) und der Läsionstiefe (LT) mit dem TMR-Programm bei einer repräsentativen Schmelzprobe, die in Salinum® gelagert wurde.

6 Diskussion

6.1 Diskussion von Material und Methode

6.1.1 Bovine Schmelzproben

Für die vorliegende In-vitro-Studie wurden Schmelzproben von frisch extrahierten Rinderfrontzähnen verwendet. Da humane Zähne oft nicht im kariesfreien Zustand und notwendiger Zahl vorliegen, wurden in der Vergangenheit bereits viele Untersuchungen zum Demineralisations- und Remineralisationsverhalten von Schmelz an Rinderzähnen durchgeführt [Mellberg 1992; Esser *et al.* 1998]. Boviner Zahnschmelz ist im Gegensatz zu humanem Zahnschmelz weniger durch Karies und Fluoridierungsmaßnahmen in seiner Zusammensetzung und Struktur beeinflusst, was eine in früheren Studien nachgewiesene gleichmäßigere Demineralisation der Schmelzproben erklären könnte [Mellberg 1992]. Darüber hinaus stehen Rinderzähne im Gegensatz zu menschlichen Zähnen in unbegrenzter Zahl und gleichmäßiger Qualität zur Verfügung.

6.1.2 Vorbereitung der Schmelzproben

Die Bearbeitung der Schmelzproben erfolgte in Anlehnung an frühere Studien durch Einbettung in Kunstharz und Standardisierung der Probenoberfläche [Meyer-Lueckel *et al.* 2002]. Die Entfernung der äußersten Schmelzschicht scheint keinen wesentlichen Einfluss auf die Tiefe der entstehenden Läsionen im Vergleich zur unbehandelten Oberfläche zu haben [Featherstone und Mellberg 1981].

Damit kariesähnliche Läsionen mit der typischen intakten Oberfläche erzeugt werden konnten, wurden die Schmelzproben nach der Standardisierung der Oberfläche für 14 Tage in einer speziellen Demineralisationslösung bei einem pH-Wert von 4,95 gelagert [Buskes *et al.* 1985]. Die gewonnenen Läsionen zeigten eine für eine initiale Schmelzkaries charakteristische intakte Oberflächenschicht und einen Läsionskörper. Die Kontrolle durch die mikroradiografische Untersuchung bestätigte das für eine Schmelzkaries charakteristische Bild (Abb. 3).

6.1.3 Zusammensetzung und der pH-Wert der experimentellen Lösungen

Als Basis für die experimentellen Speichersatzlösungen dienten CMC, Leinsamen und Muzin. Die einzelnen Versuchslösungen wurden mit unterschiedlichen Mischverhältnissen von Kalzium und Phosphat angesetzt. Als Kontrolllösung dienten Mittel auf der Basis von Wasser. Zusätzlich wurde von jeder Basislösung eine Gruppe ohne Kalzium und Phosphat angemischt. Mit Hilfe der verschiedenen Lösungen konnte gezielt die ideale Kalzium-Phosphat-Konzentration ermittelt werden, die zu einer Remineralisation initialer kariöser Läsionen führt. Die Zugabe von Kalzium und Phosphat zu einer sauren Lösung reduziert die demineralisierende Wirkung durch eine Herabsetzung des Löslichkeitsproduktes von Apatit [Brudevold *et al.* 1965].

Durch Fluoridzugabe kann ebenfalls die Demineralisation des Schmelzes reduziert werden [Arends *et al.* 1984; Borsboom *et al.* 1985]. Untersuchungen bestätigen, dass Fluoridlösungen mit einem niedrigeren pH-Wert, verglichen mit einer neutralen Lösung, zu einer stärkeren Remineralisation der Zahnhartsubstanzen führen [Takagi *et al.* 1997]. Somit stellt die Verwendung von Fluoridionen den wichtigsten, direkt beeinflussbaren Faktor zur Optimierung der Remineralisationsrate dar [Ten Cate *et al.* 1981]. Ein Fluoridgehalt von 2 ppm wurde in Speichersatzmitteln als optimal eingeschätzt, weshalb dieser in der vorliegenden Studie verwendet wurde [Shannon und Edmonds 1978]. Eine Intoxikation durch diese Fluoridkonzentration kann selbst bei Hyposalivationspatienten mit einem relativ hohen Verbrauch an Speichersatzmitteln ausgeschlossen werden [Gelhard *et al.* 1983].

Für die gegenwärtige Studie wurde ein physiologisches Kalzium-Phosphat-Verhältnis von 1:1,6 gewählt. Grundsätzlich bewegt sich das Kalzium-Phosphat-Verhältnis von anorganischen mineralisierten menschlichen Geweben (Knochen, Schmelz und Dentin) zwischen 1:1,63 und 1:1,71 [Dorozhkin und Epple 2002]. Jedoch zeigten aktuelle Untersuchungen keinen signifikanten Einfluss unterschiedlicher Verhältnisse auf das Remineralisationspotenzial von CMC-Lösungen [Meyer-Lueckel *et al.* 2007].

Beim Ansetzen der experimentellen Speichersatzmittel mit hohen OKP-Sättigungen (S_{OKP} 4 und 8) kam es zur Bildung von Präzipitaten. Bei den Lösungen auf der Basis von destilliertem Wasser war die Präzipitatsbildung so stark, dass die Lösungen mit den entsprechend hohen OKP-Sättigungen aus der Studie ausgeschlossen wurden. Als Kontrollgruppe auf Wasserbasis diente deshalb eine OKP-Sättigung von 1.

Der pH-Wert der experimentellen Lösungen (pH 6,5) wurde dem physiologischen pH-Wert des Speichels von 6,5 angenähert. Es wurde angenommen, dass sich ein niedrigerer pH-Wert innerhalb kurzer Zeit an den physiologischen anpassen würde. Außerdem imitierte dieser fast neutrale pH-Wert die klinischen Bedingungen vor und während einer Strahlentherapie [Ben-Aryeh *et al.* 1975]. Ferner zeigten Untersuchungen von Speichersatzmittel auf Muzinbasis ein besseres Remineralisationspotenzial von Lösungen mit einem pH-Wert von 6,5 als von 5,5 [Meyer-Lueckel *et al.* 2006].

6.1.4 Durchführen des Versuches

Die insgesamt 340 demineralisierten Schmelzproben wurden über einen Zeitraum von fünf bzw. zehn Wochen in den unterschiedlichen genannten Speichersatzmitteln gelagert. Hierbei erfolgte der Versuch während der gesamten Zeit unter konstanten Temperaturbedingungen bei 37 °C, um In-vivo-Bedingungen möglichst nahe zu kommen. Die Lösungen wurden jeden zweiten Tag gewechselt und der pH-Wert kontrolliert. Dieser wurde gegebenenfalls angeglichen, damit die Schmelzproben für die gesamte Versuchsdauer von dem entsprechenden Speichersatzmittel umgeben waren. Jener äußerst intensive Kontakt ist unter klinischen Bedingungen nicht zu erwarten. Da jedoch ein künstliches Speichersatzmittel nach Bedarf verabreicht wird, unterliegt er selbst bei bestimmungsgemäßer Anwendung üblicherweise keiner Tageshöchstdosis, so dass die beobachteten Effekte *in vivo* bei längerer Anwendung der Lösungen auftreten könnten.

Die vorliegende Studie untersuchte die Proben über einen sehr langen Zeitraum (bis zehn Wochen), wohingegen vergangene Studien zu experimentellen Speichersatzmitteln über einen deutlich geringeren Zeitraum (bis zwei Wochen) erfolgten. Dadurch kann es zum einen durch die verlängerte Kontaktzeit zu größeren Austauschvorgängen entlang des Konzentrationsgradienten (Zahn → Speichersatzmittel) kommen. Zum anderen können Instabilitäten des pH-Wertes der Speichersatzmittel auftreten, welche in der aktuellen Arbeit für die Leinsamenlösungen, jedoch nicht für die CMC-Lösungen beobachtet werden konnten.

Bei den experimentellen Speichersatzmittel auf der Basis von Muzin kam es nach wenigen Tagen zur bakteriellen Besiedlung der Lösungen. Die Gruppen 17 bis 22

wurden deshalb vorzeitig aus der Studie ausgeschlossen. Die gewählte Konzentration der Konservierungsmittel in den experimentellen Speichersatzlösungen wurde der zugelassenen täglichen Aufnahmemenge (ADI-Wert: 10 mg/kg) angepasst. Es konnten daher keine neuen Muzinlösungen mit höher konzentrierten Konservierungsmitteln angesetzt werden [Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit 2004]. Das kommerzielle Produkt Saliva Orthana® auf Muzinbasis wurde deshalb ebenfalls aus der Untersuchung genommen.

6.2 Diskussion der Ergebnisse

Der vorliegende Versuch sollte die Wirkung von experimentellen Leinsamen-, CMC- bzw. Muzin-basierten Speichersatzmitteln mit unterschiedlichen Kalzium- und Phosphat-Sättigungen auf den Mineralgehalt und die Läsionstiefe von demineralisiertem bovines Schmelz untersuchen. Zu Vergleichszwecken wurden kommerzielle Speichersatzmittel auf Leinsamen-, CMC- und Muzinbasis überprüft. Natürlicherweise führt die metabolische Aktivität von Mikroorganismen in der Mundhöhle bei entsprechender Substratzufuhr zu einem pH-Wert-Abfall und zu Intervallen der Demineralisation an der Zahnoberfläche. Da der menschliche Speichel eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung ist und somit eine natürliche Remineralisationslösung darstellt, können in die Zahnhartsubstanzen während der Demineralisation verlorengegangene Kalzium- und Phosphationen wieder eingelagert werden [Lagerlof und Oliveby 1994]. In der gegenwärtigen Studie führten die Speichersatzlösungen ohne Zusätze kariesprotektiver Ionen (S_{OKP} 0; L0, C0 und K0) zu einer Demineralisation der Zahnoberfläche. Hierbei unterschieden sich die CMC-Lösung (C0) und die Negativkontrolle auf Wasserbasis (K0) nicht sonderlich in ihrer Wirkung (Abb. 8). Die hinsichtlich Kalzium und Phosphat untersättigte Lösung könnte zu einer verstärkten Diffusion von Ionen entlang des Konzentrationsgradienten (Zahn → Speichersatzmittel) mit der Folge einer Demineralisation geführt haben.

Im Gegensatz dazu wird vermutet, dass zu hohe Kalziumkonzentrationen frei verfügbare Fluoridionen vorzeitig binden und somit das Remineralisationspotenzial einer Lösung ebenfalls vermindern können [Chow *et al.* 1992; Takagi *et al.* 1997]. Diese Theorie wird dadurch gestützt, dass niedrigere Kalziumkonzentrationen eine größere Reduktion der Läsionstiefen zeigten als hohe Konzentrationen [Schemehorn *et al.* 1999]. Die Ergebnisse dieser Studie bestätigen diese Annahme, da in den

Lösungen mit den höchsten OKP-Sättigungen (S_{OKP} 4 und 8) eine leicht geringere Fluoridkonzentration gemessen wurde als erwartet.

In wässrigen Lösungen werden Oktakalziumphosphat und Dikalziumphosphatdihydrat als Vorstufen für eine Remineralisation angesehen. Da jedoch Speichellersatzmittel in der Regel auf der Basis von Carboxymethylcellulose (CMC), Muzin oder Leinsamen bestehen, treffen diese Beobachtungen nur bedingt zu. Für die in CMC, Leinsamen- und Muzin-Lösungen enthaltenen Polymere wurden Interaktionen mit Kalzium und Phosphat mit dem Resultat der Komplexbildung beobachtet, welche in einem geringeren Remineralisationspotenzial resultierten [Gelhard *et al.* 1983; Vissink *et al.* 1985; Meyer-Lueckel und Kielbassa 2006; Meyer-Lueckel *et al.* 2006].

Diese Beobachtung konnte für CMC beim Vergleich einer aktuellen und der vorliegenden Untersuchung nicht bestätigt werden. Das Remineralisationspotenzial von hoch viskösen (20 g/l) CMC-Lösungen [Meyer-Lueckel *et al.* 2007] und niedrig viskösen (10 g/l) (gegenwärtige Studie) differierte nicht sonderlich. Außerdem unterschieden sich die niedrig viskösen wasserbasierten Kontrollgruppen (K0, K1) und die entsprechenden CMC-Lösungen (C0, C1) nur geringfügig in ihrer Wirkung (Abb. 8). Diese Ergebnisse bestätigen Studien mit Dentin [Tschoppe *et al.* 2008].

Weiterhin wurde in vergangenen Untersuchungen beobachtet, dass das Wachstum von Hydroxylapatitkristallen durch eine gering konzentrierte CMC-Lösung (0,005 % w/v) bei einem neutralen pH-Wert verhindert wurde [Van der Reijden *et al.* 1997]. Demgegenüber wurde bei einem niedrigeren pH-Wert von 5,2 der Zerfall des Hydroxylapatits ebenfalls gehemmt. CMC scheint beim periodischen Durchlaufen der pH-Werte sowohl eine De- als auch Remineralisation zu hemmen. Es wird angenommen, dass sich eine Schicht des Polymers auf der Schmelz- bzw. Hydroxylapatitoberfläche absorbiert [Van der Reijden *et al.* 1997]. In der vorliegenden Studie hat CMC die Remineralisation nicht wesentlich gehemmt, da für die CMC-Lösung (C1) im Vergleich zur wasserbasierten Lösung (K1) einige zwar nicht-signifikante, aber deutliche positive Unterschiede bezüglich der Remineralisationseigenschaften beobachtet werden konnten.

Im Gegensatz zu wässrigen Lösungen, in denen frei verfügbare Kalzium- und Phosphationen den Schmelz direkt beeinflussen können, ist in CMC-haltigen Lösungen die Diffusionsrate von Kalzium und anderen Ionen verlangsamt. Diese Beobachtung erklärt sich durch die temporäre Bindung von Kalzium an CMC [Gebauer *et al.* 2008]. Die absorbierte Polymerschicht auf der Oberfläche agiert in

diesem Fall als „Ionenschwamm“, in dem Kalzium an das Karboxylat des CMC gebunden wird. Hierdurch entstehen kalziumreiche Regionen an der Grenzfläche Schmelz-Speichelersatzmittel. Durch die höhere Affinität von Phosphat zu Kalzium als zu Karbonat oder Karboxylat wird das vorher an die Karboxylatgruppen des CMC gebundene Kalzium in einer Konkurrenzreaktion wieder frei und bindet an das in den Lösungen vorhandenen Phosphat. Dies wird folglich als eine Remineralisation sichtbar.

Die CMC-Lösung C2 mit einer theoretisch leichten Übersättigung hinsichtlich OKP (S_{OKP} 2) führte zu einer signifikanten Remineralisation der Schmelzproben (Tab. X), obwohl diese Lösung gemäß der durchgeführten Messungen faktisch ungesättigt war (Tab. XIV). Demnach wurden alle frei verfügbaren Kalziumionen in der absorbierten Polymerschicht auf der Schmelzoberfläche gebunden. Diese Ergebnisse korrelieren mit Untersuchungen, bei denen eine CMC-Lösung mit einer OKP-Sättigung von 3 zu einer signifikanten Remineralisation der Schmelzproben *in vitro* führte [Meyer-Lueckel *et al.* 2007]. Ferner wurde die OKP-Sättigung von 2 einer CMC-Lösung für Dentin ebenfalls als optimal angesehen [Tschoppe *et al.* 2008].

Die CMC-Lösungen mit den höchsten Sättigungsgraden C4 und C8 (S_{OKP} 4, 8) wiesen eine geringere Remineralisierungskapazität auf als die Lösung C2. Die Lösungen C4 und C8 neigten zur Präzipitation. Jedoch konnten in ihnen im Gegensatz zur Lösung C2 freie Kalziumionen gemessen werden (Tab. XIII). Die weitere Untersuchung des Präzipitats der Lösungen ergab die Bildung von amorphem Kalziumphosphat. Die Bildung des amorphen Kalziumphosphats erfolgte nicht nur in den Lösungen, sondern auch auf der vom CMC gebildeten Polymerschicht an der Schmelzoberfläche. Infolgedessen könnte es zu einer lokalen heterogenen Keimbildung gekommen sein, so dass die absorbierte Polymerschicht ihre Funktion als Ionenschwamm verlor. Dadurch waren weniger Kalzium und Phosphationen an der Schmelzoberfläche für eine Remineralisation verfügbar.

Bezogen auf den OKP- und DKPD-Sättigungsgrad scheint für eine erfolgreiche Remineralisation ein ideales Gleichgewicht zwischen der Bindung von Kalziumionen an das CMC in der absorbierten Polymerschicht an der Schmelzoberfläche und der Bildung von amorphem Kalziumphosphat von Vorteil zu sein.

Obwohl Leinsamen natürlicherweise Kalzium- und Phosphationen enthält, konnte durch die Basis allein bzw. durch weitere Zugabe der Ionen keine Remineralisation der Schmelzproben erreicht werden. Es sollte berücksichtigt werden, dass allen Leinsamenlösungen während der gesamten Versuchsdauer hohe Mengen an

Kalziumhydroxid zugegeben werden mussten, um den pH-Wert konstant bei 6,5 zu halten (Tab. XII). Der pH-Wert der Leinsamenlösungen sank dessen ungeachtet nach sieben Wochen rapide ab, so dass die Proben vorzeitig aus den Speichelersatzlösungen herausgenommen wurden. Der Grad der Sättigung der Kalzium-Phosphat-Salze ist indes stark vom pH-Wert abhängig. Ein sinkender pH-Wert erhöht die Löslichkeit der Kalzium-Phosphat-Salze [Larsen 1986]. Fällt also der pH-Wert, nimmt die Sättigung aller gelösten Salze ebenfalls ab [Larsen und Jensen 1986]. Infolgedessen führten fast alle Speichelersatzmittel auf Leinsamenbasis (Gr. 2 bis 7) trotz unterschiedlich hoher OKP-Sättigungen zu einer weiteren Zunahme des Mineralverlustes und der Läsionstiefe. Bei der Leinsamenlösung L8 mit der höchsten OKP-Sättigung (S_{OKP} 8) konnte keine signifikante Veränderung des Mineralverlustes nach Lagerung der Proben für fünf Wochen festgestellt werden. Diese Tatsache könnte damit zu erklären sein, dass trotz des häufig unter pH 6.5 liegenden pH-Wertes der Leinsamenlösungen, bei denjenigen mit einer S_{OKP} 8 meist eine leichte Übersättigung hinsichtlich relevanter Kalzium-Phosphat-Verbindungen, wie OKP oder DKPD vorlag.

Das kommerziell erhältliche Produkt Salinum[®], welches im Rahmen dieser Studie untersucht wurde, war hinsichtlich Oktakalziumphosphat (S_{OKP} 3), Hydroxylapatit (S_{HAP} 12,4) und Fluorapatit (S_{FAP} 34,6) gesättigt. Es enthält jedoch nur geringe Konzentrationen an Fluorid (0,08 mM). Die niedrigere Fluoridkonzentration und eine relativ hohe Viskosität (27,8) könnten erklären, weshalb Salinum[®] in der aktuellen Untersuchung nach fünfwöchiger Lagerung eine weitere Demineralisation der Schmelzproben verursachte. Die demineralisierende Eigenschaft von Salinum[®] wurde bereits in vergangenen Studien beobachtet [Meyer-Lückel *et al.* 2006]. Das Produkt ist aufgrund von pH-Instabilitäten auf dem Markt nicht mehr verfügbar.

Das ferner getestete kommerzielle Produkt Glandosane[®] (Gr. 9) führte nach fünf Wochen zu einem erheblichen Anstieg des Mineralverlustes und teilweise zu Erosionen der Oberfläche, welche sich nach zehn Wochen verstärkten. Glandosane[®] hatte im Vergleich zu Salinum[®] eine erheblich niedrigere Viskosität. Es wies jedoch aufgrund des geringen Kalzium- und Phosphatgehaltes (S_{OKP} 0,3), seines sauren pH-Wertes von 5,3 sowie des Fehlens von Fluorid ein stark demineralisierendes Potenzial in Bezug auf die Zahnhartsubstanzen auf, was ebenfalls schon in früheren Untersuchungen beobachtet wurde [Joyston-Bechal und Kidd 1987; Kielbassa *et al.* 2001; Meyer-Lueckel *et al.*, 2002; Tschoppe *et al.* 2008]. Dieses Produkt sollte bezahnten Patienten demnach nicht empfohlen werden.

7 Schlussfolgerungen

Aus den Ergebnissen dieser Studie lässt sich schlussfolgern, dass bezüglich OKP und DKPD theoretisch leicht gesättigte Speichelersatzmittel auf CMC-Basis in der Lage sind nach langen Versuchsperioden (5-10 Wochen) Schmelz *in vitro* zu remineralisieren. Eine CMC-Lösung mit einer theoretischen OKP-Sättigung von 2 und einer DKPD-Sättigung von 1,1 wies das höchste Remineralisationspotenzial auf, obwohl faktisch die Lösungen hinsichtlich OKP und DKPD ungesättigt waren. Eine Erhöhung der OKP-Sättigung führte zu keiner ausgeprägteren Remineralisation. Die Höhe der OKP-Sättigung hatte hierbei keinen Einfluss auf die physikalischen Parameter Viskosität, Kontaktwinkel und Oberflächenspannung.

Die Speichelersatzmittel auf Leinsamen- und Muzinbasis waren wegen der pH-Instabilität für die lange Versuchsdauer nicht geeignet.

Schlussfolgernd kann weiterhin gesagt werden, dass die getesteten kommerziellen Produkte Glandosane[®] und Salinum[®], von denen letzteres auf dem Markt nicht mehr erhältlich ist, dem bezahnten Patienten aus zahnmedizinischer Sicht nicht empfohlen werden sollten.

Die klinische Relevanz dieser Ergebnisse sollte in künftigen In-situ-Untersuchungen überprüft werden.

8 Zusammenfassung

Problemstellung: Die Xerostomie wird meist rein symptomatisch durch die Verabreichung von Speichelersatzmitteln therapiert. Viele dieser Mittel weisen jedoch ein demineralisierendes Potenzial auf die Zahnhartsubstanzen auf. Das Ziel dieser Studie war es, experimentelle Speichelersatzmittel auf der Basis von Carboxymethylcellulose (CMC), Leinsamen und Muzin mit unterschiedlichen Sättigungen bezüglich Oktakalziumphosphat (S_{OKP} : 0-8) und Dikalziumphosphatdihydrat (S_{DKPD} : 0-5,2) auf den Mineralgehalt und die Läsionstiefe von präde-mineralisierten bovinen Schmelzproben *in vitro* zu untersuchen. Zwei Kontrolllösungen auf der Basis von destilliertem Wasser sowie drei kommerzielle Speichelersatzmittel (Glandosane[®], Salinum[®] und Saliva Orthana[®]) wurden ebenfalls untersucht. **Material und Methoden:** Aus 85 frisch extrahierten Rinderfrontzähnen wurden 340 Schmelzproben gewonnen, welche nach Einbettung in Kunstharz und oberflächlicher Politur für 14 Tage (pH 4,95) demineralisiert wurden. Zuvor wurde ein gesunder Kontrollbereich mit Nagellack abgedeckt. Nach erfolgter Demineralisation wurde ein weiterer Teil der Oberfläche abgedeckt. Die Proben wurden auf 24 Speichelersatzlösungen aufgeteilt (n = 9-14) und fünf Wochen bei 37 °C gelagert, wobei die Lösungen alle 48 Stunden erneuert wurden. Anschließend wurde wiederum ein Teilbereich der Probe mit Nagellack abgedeckt, welcher als Kontrolle des Effektes nach fünf Wochen diente. Die Proben wurden nochmals unter identischen Bedingungen für fünf Wochen in den Medien gelagert, so dass ein zweiter Effektbereich nach zehn Wochen entstand. Im Anschluss wurden 100 µm dicke Dünnschliffe hergestellt, welche mit Hilfe der Mikroradiografie (TMR für Windows, Version 2.0.27.2) bezüglich Mineralverluste und Läsionstiefen ausgewertet wurden. **Ergebnisse:** Die getesteten Speichelersatzmittel führten fast alle zu einem neutralen Effekt bzw. zu einer Zunahme des Mineralverlustes und der Läsionstiefe ausgenommen die CMC-Lösung mit einer S_{OKP} 2 und S_{DKPP} 1,1 (C2), welche nach fünf als auch nach zehn Wochen Lagerung zu einer signifikanten Remineralisation der Schmelzproben ($p < 0,027$ t-Test) führte. Bei den Lösungen auf Leinsamen- bzw. Muzinlösungen kam es zu Instabilitäten des pH-Wertes, weshalb die Versuche teilweise abgebrochen wurden. **Schlussfolgerung:** Bezüglich Oktakalziumphosphat (S_{OKP} 2) theoretisch leicht gesättigte, faktisch aber ungesättigte Speichelersatzmittel auf CMC-Basis sind am besten in der Lage Zahnschmelz zu remineralisieren. Eine Erhöhung der OKP-Sättigung führte zu keiner ausgeprägteren Remineralisation.

9 Abstract

Objectives: Xerostomia is usually treated by the prescription of saliva substitutes. However many of these artificial salivas seem to have a demineralizing potential on teeth. The aim of the present study was to evaluate the effects of experimental saliva substitutes based on carboxymethylcellulose (CMC), linseed and mucin differing in saturation with respect to octacalcium phosphate (S_{OCP} : 0-8) and dicalcium phosphate dihydrate (S_{DCPD} : 0-5.2) on the mineral loss of pre-demineralized enamel *in vitro*. Three priority studied saliva substitutes (Glandosane[®], Salinum[®] and Saliva Orthana[®]) and two aqueous solutions (S_{OCP} : 0; 1) served as controls. **Materials and methods:** From 85 bovine teeth, specimens were prepared, embedded in epoxy resin and polished. The surface was partially covered with nail varnish (control of sound enamel) and demineralized (37 °C; pH 4,95) for 14 days. Afterwards the demineralized area was partially covered again. The samples (n = 9-14) were stored in 24 different solutions for five weeks first of all (37 °C) where the solutions were renewed every 24 hours. After five weeks the exposed area was likewise covered with nail varnish and the samples were stored in the solutions again for another five weeks. After ten weeks exposure the specimens were cut perpendicular to the enamel surface and the sections were ground to a uniform thickness of 100 µm. Contact microradiographs of the samples were obtained and studied with a digital image analysing system. Software (TMR for Windows, Version 2.0.27.2) was used to calculate mineral loss and lesion depth. **Results:** All tested saliva substitutes had rather neutral effects or caused an increase of mineral losses and lesion depths, except the CMC solution with S_{OCP} of 2 and S_{DCPD} of 1.1 (C2) which induced a significant remineralization after five and ten weeks of exposure ($p < 0,027$; t-test). For the experimental saliva substitutes based on linseed and mucin ph instabilities could be observed, which led to partial withdrawal. **Conclusions:** It can be concluded that with this *in vitro* setting CMC-based saliva solutions being theoretically slightly supersaturated (S_{OCP} 2) but nominally unsaturated with respect to OCP and DCPD can induce remineralization of enamel. This effect could not be observed with higher degrees of saturation.

10 Literaturverzeichnis

- Amaechi BT und Higham SM. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent* 2001;29: 371-376.
- Arends J, Christofferson J, Schuthof J und Smits MT. Influence of xylitol on demineralization of enamel. *Caries Res* 1984;18: 296-301.
- Arends J und Jongebloed W. Crystallites dimensions of enamel. *J Biol Buccale* 1978;6: 161-171.
- Arends J und Schuthof J. Effect of fluoridation on lesion depth and microhardness indentations of artificial white spot lesions. *Caries Res* 1981;15: 176-178.
- Atkinson JC, Grisius M und Massey W. Salivary hypofunction and xerostomia: diagnosis and treatment. *Dent Clin North Am* 2005;49: 309-326.
- Barasch A und Coke JM. Cancer therapeutics: an update on its effects on oral health. *Periodontol* 2007;44: 44-54.
- Ben-Aryeh H, Gutman D, Szargel R und Laufer D. Effects of irradiation on saliva in cancer patients. *Int J Oral Surg* 1975;4: 205-210.
- Bornstein M, Filippi, A., Buser, D. Früh- und Spätfolgen im intraoralen Bereich nach Strahlentherapie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2001;111: 61-68.
- Borsboom P, Arends J und van der Mei HC. Enamel lesion formation with and without fluorid in solution. *Caries Res* 1985;19: 396-402.
- Brown WE, Smith JP, Lehr JR und Frazier AW. Octacalciumphosphate and Hydroxyapatite. *Nature* 1962;196: 1048-1054.
- Brudevold F, Gron P und McCann H. Physico-Chemical Aspects of the Enamel-Saliva System. *Adv Fluorine Res* 1965;21: 63-78.
- Buskes JAKM, Christofferson J und Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with application. *Caries Res* 1985;19: 490-496.
- Carl W. Local radiation and systemic chemotherapy: preventing and managing the oral complications. *J Am Dent Assoc* 1993;124: 119-123.
- Chambers MS, Garden AS, Kies MS und Martin JW. Radiation-induced xerostomia in patients with head and neck cancer: pathogenesis, impact on quality of life, and management. *Head Neck* 2004;26: 796-807.
- Chiappin S, Antonelli G, Gatti R und De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta* 2007; 383: 30-40

Chow LC, Takagi S und Shih S. Effect of a two-solution fluoride mouth rinse on remineralization of enamel lesions in vitro. *J Dent Res* 1992;71: 443-447.

Chow LC. Solubility of calcium phosphates. Chow LC und Eanes ED (eds). *Monographs in Oral Science - Octacalcium Phosphate*. Basel, Karger 2001; 18: 94-111.

Christersson CE, Lindh L und Arnebrant T. Film-forming properties and viscosities of saliva substitutes and human whole saliva. *Eur J Oral Sci* 2000;108: 418-425.

Dibdin GH. The stability of water in human dental enamel studied by proton nuclear magnetic resonance. *Arch Oral Biol* 1972;17: 433-437.

Domingo D. The effects of electrostimulation on saliva production in postradiation head and neck cancer patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97: 464.

Dorozhkin SV und Epple M. Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew Chem Int Ed* 2002;41: 3130-3146.

Dörr W und Riesenbeck D. Mundhöhle. Dörr W, Zimmermann J und Seegenschmied M (eds.). *Nebenwirkungen in der Radioonkologie. Klinisches Kompendium*. Urban&Vogel, München 2000: 130-142.

Dreizen S, Brown LR, Handler S und Levy BM. Radiation-induced xerostomia in cancer patients. Effect on salivary and serum electrolytes. *Cancer* 1976;38: 273-278.

Epstein JB, Chin E und Jacobson J. The relationships among fluoride, cariogenic oral flora, and salivary flow rate during radiation therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;86: 286-292.

Epstein JB, van der Meij EH, Lunn R und Stevenson-Moore P. Effects of compliance with fluoride gel application on caries and caries risk in patients after radiation therapy for head and neck cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;82: 268-275.

Esser M, Tinschert J und Marx R. Material characteristics of the hard tissues of bovine versus human teeth. *Dtsch Zahnärztl Z* 1998;53: 713-717.

Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit. Gutachten des Wissenschaftlichen Gremiums für Lebensmittelzusatzstoffe, Aromastoffe, Verarbeitungshilfsstoffe und Materialien, die mit Lebensmitteln in Berührung kommen auf Ersuchen der Kommission über Parahydroxybenzoate (E214-219), 2004. Verfügbar unter: <http://www.efsa.europa.eu/de/sedocs/sedoc/83.html>.

Featherstone JD und Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981;15: 109-114.

Fejerskov O und Kidd E (eds.). *Dental caries*. Blackwell Munksgaard, Oxford 2008: 217-221.

Frank RM, Herdly J und Phillipe E. Acquired dental defects and salivary gland lesions after irradiation for carcinoma. *J Am Dent Assoc* 1965;70: 83.

Gebauer D, Volkel A und Colfen H. Stable prenucleation calcium carbonate clusters. *Science* 2008;322: 1819-1822.

Gelhard TB, Fidler V, s-Gravenmade EJ und Vissink A. Remineralization of softened human enamel in mucin- or CMC-containing artificial salivas. *J Oral Pathol* 1983;12: 336-341.

Goode RL und Smith RA. The surgical management of sialorrhea. *Laryngoscope* 1970; 80: 1078-1089

Grötz KA. Die trockene Mundhöhle: Ätiologie, Klinik, Diagnostik, Therapie. *Zahnärztliche Mitteilungen* 2002;22: 46.

Guchelaar HJ, Vermes A und Meerwaldt JH. Radiation-induced xerostomia: pathophysiology, clinical course and supportive treatment. *Support Care Cancer* 1997;5: 281-288.

Guijarro Guijarro B, Lopez Sanchez AF und Hernandez Vallejo G. Treatment of xerostomia. A review. *Med Oral* 2001;6: 7-18.

Harkins WD und Jordan HF. *J. Amer. Chem. Soc* 1939;52: 1751.

Hatton MN, Levine MJ, Margarone JE und Aguirre A. Lubrication and viscosity features of human saliva and commercially available saliva substitutes. *J Oral Maxillofac Surg* 1987;45: 496-499.

Hellwig E, Klimek J und Attin T (eds.) Einführung in die Zahnerhaltung. Urban&Schwarzenberg, München-Jena 2003: 3-5.

Imfeld T. Oligosialie und Xerostomie I: Basis Beispiele, Epidemiologie, Ätiologie, Pathologie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984a;94: 741-754.

Imfeld T. Oligosialie und Xerostomie II: Diagnose, Prophylaxe und Behandlung. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984b;94: 1083-1096.

Johnsson MS und Nancollas GH. The role of brushite and octacalcium phosphate in apatite formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992;3: 61-82.

Joyston-Bechal S und Kidd EA. The effect of three commercially available saliva substitutes on enamel in vitro. *Br Dent J* 1987; 163: 187-190.

Kaufmann D, Kelly J, Rosenberg L und al. e. Recent patterns of medication use in the ambulatory adult population of the United States: the Slone survey. *JAMA* 2002;283(3): 337-344.

Keene HJ, Daly T, Brown LR, Dreizen Sr, Drane JB und Horton IM. Dental caries and streptococcus mutans prevalence in cancer patients with irradiation-induced xerostomia: 1-13 years after radiotherapy. *Caries Res* 1981;15: 416-427.

Kidd E und Mejare I. Radiography for caries diagnosis. Fejerskov O und Kidd E (eds.). Dental caries. Blackwell Munksgaard, Oxford 2008: 69-87.

Kielbassa AM. Speichel, Orale Mikrobiologie und Bioadhäsion. Hugger A, Türp JC und Kerschbaum T (eds.). Curriculum Orale Physiologie. Quintessenz, Berlin 2006; 143-158.

Kielbassa AM, Hinkelbein W, Hellwig E und Meyer-Lueckel H. Radiation-related damage to dentition. Lancet Oncol 2006;7: 326-335.

Kielbassa AM und Meyer-Lueckel H. Die Auswirkungen von Speichelersatzmitteln und Mundspüllösungen auf Dentin. Schweiz Monatsschr Zahnmed 2001;111: 1060-1066.

Kielbassa AM und Shohadai SP. Die Auswirkungen von Speichelersatzmitteln auf die Läsionstiefe von demineralisiertem Schmelz. Dtsch Zahnärztl Z 1999;54: 757-763.

Kielbassa AM, Shohadai SP und Schulte-Monting J. Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel. Support Care Cancer 2001;9: 40-47.

Kielbassa AM, Wrbas KT, Dornfeld B, Hellwig E und Schade-Brittinger C. Zum Einfluss der tumortherapeutischen Bestrahlung zur Kariesentstehung im menschlichen Dentin. Dtsch Zahnärztl Z 1999;54: 31-37.

Lagerlof F und Oliveby A. Caries-protective factors in saliva. Adv Dent Res 1994;8: 229-238.

Larsen M. An investigation of the theoretical background for the stability of the calcium-phosphate salts and their mutual conversion in aqueous solutions. Arch Oral Biol. 1986;31: 757-761.

Larsen M und Jensen S. Solubility study of the initial formation of calcium orthophosphates from aqueous solutions at pH 5-10. Arch Oral Biol. 1986;31: 565-572.

Larsen MJ und Pearce EI. Saturation of human saliva with respect to calcium salts. Arch Oral Biol 2003;48: 317-322.

Leonard RJ, Bentley C und Haywood V. Salivary pH changes during 10% carbamide peroxide bleaching. Quintessence Int. 1994;25: 547-550.

Levine MJ, Aguirre A, Hatton MN und Tabak LA. Artificial salivas: present and future. J Dent Res 1987;66: 693-698.

Lyklema J. Interfacial Tension Measurement. Academic Press 2000.

Machtens E. Speicheldrüsenerkrankungen. Horch H-H (ed.) Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie II. Praxis Zahnheilkunde. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1991; 239-266.

Maier H, Tao ZZ, Adler D und Born A. Die Parotitis- ein kurzer Überblick über Ätiologie, Diagnostik und Therapie. Mikrobiologische Aspekte bei Erkrankungen im HNO-Bereich. Gustav Fischer, Stuttgart-New York 1990.

Margolis HC, Duckworth JH und Moreno EC. Composition and buffer capacity of pooled starved plaque fluid from caries-free and caries-susceptible individuals. J Dent Res 1988;67: 1476-1482.

Mellberg J und Loertscher K. Comparison of in vitro fluoride uptake by human and bovine enamel from acidulated phosphate-fluoride solutions. J Dent Res 1974;53: 64-67.

Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. J Dent Res 1992;71: 913-919.

Meyer-Lueckel H, Chatzidakis AJ und Kielbassa AM. Effect of various calcium/phosphates ratios of carboxymethylcellulose-based saliva substitutes on mineral loss of bovine enamel in vitro. J Dent 2007;35: 851-857.

Meyer-Lueckel H, Hopfenmuller W, von Klinggraeff D und Kielbassa AM. Microradiographic study on the effects of mucin-based solutions used as saliva substitutes on demineralised bovine enamel in vitro. Arch Oral Biol 2006;51: 541-547.

Meyer-Lueckel H und Kielbassa AM. Die Verwendung von Speichelersatzmitteln bei Patienten mit Xerostomie. Schweiz Monatsschr Zahnmed 2002;112: 1037-1058.

Meyer-Lueckel H und Kielbassa AM. Influence of calcium phosphates added to mucin-based saliva substitutes on bovine dentin. Quintessence Int 2006;37: 537-544.

Meyer-Lueckel H, Schulte-Monting J und Kielbassa AM. The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. Oral Dis 2002;8: 192-198.

Meyer-Lueckel H, Tschoppe P und Kielbassa AM. Effect of various $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ concentrations of linseed-based saliva substitutes on enamel in vitro. J Oral Rehabil 2006;33: 760-766.

Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Stenzel WR, Hopfenmuller W und Kielbassa AM. The effect of polymers used in saliva substitutes on demineralized bovine enamel in vitro. Am J Dent 2006;19: 308-312.

Momm F, Volegova-Neher NJ, Schulte-Monting J und Guttenberger R. Different Saliva Substitutes for Treatment of Xerostomia Following Radiotherapy A Prospective Crossover Study. Strahlenther Onkol 2005;181: 231-236.

Nieuw Amerongen AV, Oderkerk CH und Driessen AA. Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. Caries Res 1987;21: 297-309.

Nieuw Amerongen AV, Oderkerk CH und Veerman EC. Interaction of human salivary mucins with hydroxyapatite. J Biol Buccale 1989;17: 85-92.

Oesterle L, Shellhart W und Belanger G. The use of bovine enamel in bonding studies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;114: 514-519.

Pioch T. Veränderungen der Zahnhartsubstanzen. Kielbassa AM (ed.) *Strahlentherapie im Kopf- und Halsbereich*. Schlütersche, Hannover 2004:71.

Robert Koch Institut (RKI) und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland (eds.) *Krebs in Deutschland - Häufigkeiten und Trends*, 5. Auflage, Saarbrücken 2006.

Samandari F und Mai JK (eds.) *Funktionelle Anatomie für Zahnmediziner*. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin 1995: 222-229.

Schemehorn BR, Orban JC, Wood GD, Fischer GM und Winston AE. Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent* 1999;10: 13-16.

Schonekas K, Wagner W und Prott F. Amifostine- a radioprotector in locally advanced head and neck tumors. *Strahlenther Onkol* 1999;175: 27-29.

Schott Mikro-Ubbelohde-Viskosimeter. GmbH S-G. Schott Laborkatalog. Mainz 2008.

Schroeder HE (ed.) *Orale Strukturbilogie*. Thieme, Stuttgart -New York 1992: 73-79.

Sciubba JJ und Goldenberg D. Oral complications of radiotherapy. *Lancet Oncol* 2006;7: 175-183.

Seegenschmied M, Müller R-P, Höffken K, Junginger T und Sauer H. Lent Soma-Kriterien: Interdisziplinäre Bewertung von langfristigen Erfolgen in der Onkologie. *Dtsch Ärzteblatt* 2000;A 97: 2395-2401.

Shannon IL und Edmonds EJ. Effect of fluoride concentration on rehardening of enamel by a saliva substitute. *Int Dent J* 1978;28: 421-426.

Shellis RP. A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. *Comput Appl Biosci* 1988;4: 373-379.

Silverstone L. The significance of remineralization in caries prevention. *J Can Dent Assoc.* 1984;50: 157-167.

Silverstone LM, Wefel JS, Zimmerman BF, Clarkson BH und Featherstone MJ. Remineralization of natural and artificial lesions in human dental enamel in vitro. Effect of calcium concentration of the calcifying fluid. *Caries Res* 1981;15: 138-157.

Smith G, Smith AJ, Shaw L und Shaw MJ. Artificial saliva substitutes and mineral dissolution. *J Oral Rehabil* 2001;28: 728-731.

Sreebny LM. Recognition and treatment of salivary induced conditions. *Int Dent J* 1989;39: 197-204.

Sreebny LM und Schwartz SS. A reference guide to drugs and dry mouth. *Gerodontology* 1986;5: 75-99.

Stratmann U und Mokrys K. Mundtrockenheit - 1. Teil, Ursachen und Symptomatik. *Zahnärztl. Mittellg.* 2000a;21: 62-64.

Stratmann U und Mokrys K. Mundtrockenheit - 2. Teil, Diagnostik und Therapiekonzepte. *Zahnärztl. Mittellg.* 2000b;22: 42.

Strietzel FP, Martin-Granizo R, Fedele S, Lo Russo L, Mignogna M, Reichart PA und Wolff A. Electrostimulating device in the management of xerostomia. *Oral Dis* 2007;13: 206-213.

Takagi S, Chow LC, Shih S und Sieck BA. Effect of a two-solution fluoride mouth rinse on deposition of loosely bound fluoride on sound root tissue and remineralization of root lesions in vitro. *Caries Res* 1997;31: 206-211.

Ten Cate J, Jongebloed W und Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. IV. Influence of fluorides and diphosphonates on short- and long-term remineralization. *Caries Res* 1981;15: 60-69.

Ten Cate J, Larsen M, Pearce E und Fejerskov O. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. Fejerskov O und Kidd E (eds.). *Dental caries*. Blackwell Munksgaard, Oxford 2008: 210-230.

Tschoppe P, Meyer-Lueckel H und Kielbassa AM. Effect of carboxymethylcellulose-based saliva substitutes on predemineralised dentin evaluated by microradiography. *Arch Oral Biol* 2008;53: 250-256.

Tschoppe P, Meyer-Lueckel H, Toll R und Kielbassa AM. In-vitro-Studie zur Untersuchung eines neuen Speichelersatzmittels (Saliva natura[®] auf Schmelz und Dentin. *Laryngorhinotol* 2007;86: 723-727.

Van der Reijden WA, Buijs MJ, Damen JJ, Veerman EC, Ten Cate JM und Nieuw Amerongen AV. Influence of polymers for use in saliva substitutes on de- and remineralization of enamel in vitro. *Caries Res* 1997;31: 216-223.

Van der Reijden WA, Van der Kwaak H, Vissink A, Veerman EC und Nieuw Amerongen AV. Treatment of xerostomia with polymer-based saliva substitutes in patients with Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1996;39: 57-63.

Van der Reijden WA, Veerman EC und Nieuw Amerongen AV. Rheological properties of commercially available polysaccharides with potential use in saliva substitutes. *Biorheology* 1994;31: 631-642.

Van der Reijden WA, Vissink A, Veerman EC und Nieuw Amerongen AV. Treatment of oral dryness related complaints (xerostomia) in Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 1999;58: 465-474.

Vissink A, 's-Gravenmade EJ, Gelhard TB, Panders AK und Franken MH. Rehardening properties of mucin- or CMC-containing saliva substitutes on softened

human enamel. Effects of sorbitol, xylitol and increasing viscosity. *Caries Res* 1985;19: 212-218.

Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, Jansma J und Coppes RP. Prevention and treatment of the consequences of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14: 213-225.

Vissink A, De Jong HP, Busscher HJ, Arends J und s'Gravenmade EJ. Wetting properties of human saliva and saliva substitutes. *J Dent Res* 1986;65: 1121-1124.

Vissink A, s'Gravenmade EJ, Panders AK, Olthef A, Vermey A, Huisman MC und Visch LL. Artificial saliva reservoirs. *J Prosthet Dent* 1984;52: 710-715.

Vissink A, Waterman HA, s'Gravenmade EJ, Panders AK und Vermey A. Rheological properties of saliva substitutes containing mucin, carboxymethylcellulose or polyethylenoxide. *J Oral Pathol* 1984;13: 22-28.

Vogel GL, Chow LC, Carey CM, Schumacher GE und Takagi S. Effect of a calcium preinse on salivary fluoride after a 228-ppm fluoride rinse. *Caries Res* 2006;40: 178-180.

Wasserman TH, Brizel DM, Henke M, Monnier A und Eschwege F. Influence of intravenous amifostine on xerostomia tumor control, and survival after radiotherapy for head-and-neck cancer: 2-year follow-up of a prospective, randomized, phase III trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005;63: 985-909.

Willich N, Gundacker K, Zwingers T und Rohloff R. Die Entwicklung von Strahlenkaries nach Hochdosis Bestrahlung. *Strahlenther Onkol* 1988;164: 466-473.

Wolff MS und Kleinberg I. The effect of ammonium glycopyrrolate (Robinul-) induced xerostomia on oral mucosal wetness and flow of gingival cervical fluid in humans. *Arch Oral Biol* 1999;44: 97-102.

11 Anhang

11.1 Materialliste

- Mat 1 Analysewaage Typ AG204; Mettler, Gießen, Deutschland
- Mat 2 Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat 3 Carboxymethylcellulose; Sigma, Steinheim, Deutschland
- Mat 4 CCD Videokamera Modul XC77CE; Tokio, Sony, Japan
- Mat 5 CRT Brutschrank Incubat; Melag, Berlin, Deutschland
- Mat 6 Diffraktometer PDS 120; Nonius, Solingen, Deutschland
- Mat 7 Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat 8 Falcon Probenröhrchen 50 ml; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 9 Flouridlösung 0,1 M; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
- Mat 10 Glasbehälter feuerfest, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 11 High speed holographic Film So-253; Kodak, Stuttgart, Deutschland
- Mat 12 Ionenelektrode Typ 96-09 BNC Orion Auto chemistry System 960; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
- Mat 13 Kaliumchlorid 99,5-100,5 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 14 Kaliumdihydrogenphosphat min. 98 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 15 Kaliumhydroxid-Plätzchen min. 85 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 16 Kalziumchlorid $\geq 90,0$ % wasserfrei gepulvert; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 17 Kalziumelektrode Ca-ISE; Metrohm, Filderstadt, Deutschland
- Mat 18 Kamera DCC; Krüss, Hamburg, Deutschland
- Mat 19 Kamera Kontax RTS; Yashika Co., LTD, Tokio, Japan
- Mat 20 Mikrokapillarviskosimeter Ubbelohde; Schott, Mainz, Deutschland
- Mat 21 Kontaktwinkelmessgerät G 10; Krüss, Hamburg, Deutschland
- Mat 22 Leinsamen ganze Körner; Vitalia, Sauerlach, Deutschland
- Mat 23 Leukofix; Beiersdorf, Hamburg, Deutschland
- Mat 24 Magnesiumchlorid > 98 % wasserfrei; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 25 Methylendiphosphonsäure >98 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 26 Methyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %, Merck; Darmstadt, Deutschland
- Mat 27 Mikrometerschraube Digimatic Bügelmessschraube; Mitutoyo GmbH, Kawasaki, Japan
- Mat 28 Mikropipette Acura 821; Socorex, Lausanne, Schweiz

- Mat 29 Milchsäure etwa 90 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 30 Muzin vom Schweinemagen Typ III; Sigma, Steinheim, Deutschland
- Mat 31 Nagellack Jet Set; L'Oréal, Karlsruhe, Deutschland
- Mat 32 Natriumchlorid min. 99,5 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 33 Natriumchlorid 0,9 % Lösung; Delta Select GmbH, Pfullingen, Deutschland
- Mat 34 Natriumfluorid min. 99,0 % reinst; Omikron GmbH, Neckarwestheim, Deutschland
- Mat 35 Objektträger; Diaplust, Oststeinbeck, Deutschland
- Mat 36 Optisches Emissionsspektroskop, ICP OES Optima 2100 DV; Elmer Perkin Fremont, USA
- Mat 37 pH-Meter GMH 3510; Greisinger, Regenstauf, Deutschland
- Mat 38 Platinring RI12; Krüss, Hamburg, Deutschland
- Mat 39 Propyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 40 Prozessor Tensiometer K12/T; Krüss, Hamburg, Deutschland
- Mat 41 Pufferlösung pH 4,00 und 7,00, Sigma-Aldrich; Steinheim, Deutschland
- Mat 42 Röntgenstrahlgenerator PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande
- Mat 43 Rührgerät IKA-Combimag RCT; Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland
- Mat 44 Salinum[®]; Sinclair, Surrey, United Kingdom
- Mat 45 Saliva Orthana[®]; Kastrup, Kopenhagen, Dänemark
- Mat 46 Sekundenkleber; Omnident GmbH, Rodgau, Deutschland
- Mat 47 Schleifpapier Körnung 500, 1200, 2500, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland
- Mat 48 Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat 49 Schleifsystem Exakt 400cs; Exakt, Norderstedt, Deutschland
- Mat 50 Sorbit; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 51 Technovit 4071; Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland
- Mat 52 Thymol > 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat 53 TISAB II 1:1; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
- Mat 54 TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande
- Mat 55 TMR-Probenhalter, Plano, Wetzlar, Deutschland
- Mat 56 Trennscheibe Hyperflex diamantiert; Komet, Lemgo Deutschland
- Mat 57 Tropfenkonturanalyse-System DAS 10; Krüss, Hamburg, Deutschland

-
- Mat 58 Ultra-Turrax T25; Janke & Kunkel, IKA®-Labortechnik, Staufen, Deutschland
- Mat 59 Ultrazentrifuge L 70; Beckmann Coulter, Krefeld, Deutschland
- Mat 60 Wasserstrahlenpumpe; Brand GmbH, Wertheim, Deutschland

11.2 Abkürzungsverzeichnis

CMC	Carboxymethylcellulose
DKPD	Dikalziumphosphatdihydrat
S _{DKPD}	Dikalziumphosphatdihydratsättigung
OKP	Oktakalziumphosphat
S _{OKP}	Oktakalziumphosphatsättigung
S _{Hap}	Hydroxylapatitsättigung
S _{FAP}	Fluorapatitsättigung
TMR	Transversale Mikroradiografie
%	Prozent
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
Mm	Millimol
mm ²	Quadratmillimeter
g	Gramm
L	Liter
ml	Milliliter
ppm	Parts per million
mg	Milligramm
H ₂ O	Wasser
Stabw	Standardabweichung
MW	Mittelwert
HCl	Salzsäure
KOH	Kalilauge
Vol. %	Volumenprozent
mA	Milliampere

kV	Kilovolt
OFS	Oberflächenspannung
KW	Kontaktwinkel
µl	Mikroliter
mm ³	Kubikmillimeter
U/min	Umdrehungen pro Minute
NaF	Natriumfluorid
F	Fluorid
Ca	Kalzium
PO ₄	Phosphat
KCl	Kaliumchlorid
NaCl	Natriumchlorid
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydratphosphat
CaCl ₂	Kalziumchlorid
ΔZ	Mineralgehalt
LT	Läsionstiefe
ΔΔZ	Änderung des Mineralgehaltes
ΔLT	Änderung der Läsionstiefe
°	Grad
C	Celsius
Ks	Löslichkeitsprodukt
DS	Sättigungsgrad
IAP	Ionenaktivitätsprodukt
ADI	acceptable daily intake (zulässige tägliche Aufnahmemenge)
WAXS	wide angle x-ray scattering

11.3 Danksagung

Herrn PD Dr. Hendrik Meyer-Lückel, MPH danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Betreuung und die Erstellung des Erstgutachtens.

Mein besonderer Dank gilt Herrn OA Dr. Peter Tschoppe für die stets freundliche und überaus hilfsbereite Betreuung von Beginn der Studie bis zur Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Ich danke Herrn Professor Dr. Andrej M. Kielbassa für die Möglichkeit, in den Laboratorien der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie zu arbeiten.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Rainer Toll von der Charité Berlin, sowie Frau Margit Barth, Frau Irina Shekova und Herrn Andreas Verch unter der Leitung von PD Dr. Helmut Cölfen vom Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenchemie in Potsdam für die große Hilfestellung während der gesamten Laborarbeiten danken.

Ich danke abschließend von ganzem Herzen meinen Eltern, meinem Freund und meinen Freunden für die unermüdliche Unterstützung.

11.4 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

11.5 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Sara Nasiri, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Der Einfluss der Oktakalziumphosphatsättigung experimenteller Speichelersatzmittel auf bovinen Schmelz *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.“

Datum:

Unterschrift