

Aus der Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie im
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Kiel an der
Christian Albrechts-Universität zu Kiel
und
der Abteilung für Zahnerhaltung und Präventivzahnmedizin
des CharitéCentrums 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Wirksamkeit einer Aluminiumfluorid- und Chlorhexidin- haltigen
Zahncreme im Vergleich zu einer Natriumfluorid- haltigen
Zahncreme in einem plaqueretentiven In-situ-Modell mit
kariösen Schmelzläsionen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Benedict Gninka

aus Melle

Datum der Promotion: 08.12.2017

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	ABSTRACT (DEUTSCH)	1
2	ABSTRACT (ENGLISH)	3
3	EINLEITUNG	5
4	LITERATURÜBERSICHT	7
4.1	Gesunder Zahnschmelz	7
4.1.1	<i>Chemische Zusammensetzung</i>	7
4.1.2	<i>Histologie</i>	8
4.2	Karies	9
4.2.1	<i>Histologie der Schmelzkaries</i>	11
4.3	Therapiemöglichkeiten der Karies	13
4.4	Fluoride	14
4.5	Fluoridierungsmöglichkeiten	15
4.6	Fluoride als Kariostatika und deren Reaktionen am Zahnschmelz	16
4.7	Häusliche Anwendung von Fluoriden	17
4.8	Chlorhexidin und seine Wirkungsweise	18
4.9	Kombination von Fluorid und Chlorhexidin	19
5	ZIEL DER STUDIE	21
5.1	Hypothesen	21
6	MATERIAL UND METHODE	22
6.1	Versuchsdesign	22
6.2	Aufklärung und Votum der Ethikkommission	23
6.3	Probandenrekrutierung und Screening	23
6.4	Instruktion	24
6.5	In-situ-Exposition	26

6.6 Herstellung der intraoralen Apparaturen	27
6.7 Herstellung der Schmelzproben	28
6.8 Demineralisationsprozess.....	29
6.9 Herstellung von Dünnschliffen	30
6.10 Auswertung mittels Transversaler Mikroradiografie (TMR)	31
6.11 Statistische Auswertung	33
7 ERGEBNISSE.....	35
8 DISKUSSION	39
8.1 Diskussion von Material und Methode.....	39
8.2 Diskussion der Ergebnisse	42
9 SCHLUSSFOLGERUNG	46
10 LITERATURVERZEICHNIS	47
11 ANHANG.....	57
11.1 Materialliste	57
11.2 Ergebnisübersicht.....	60
11.3 Veröffentlichung der vorliegenden Studie.....	61
11.4 Bemerkung	61
12 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG.....	62
12.1 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen.....	63
13 LEBENSLAUF	64
14 DANKSAGUNG	65

1 ABSTRACT (DEUTSCH)

Einleitung: Aufgrund der bisher unzureichenden Datenlage in Bezug auf die gleichzeitige Anwendung von fluorid- und chlorhexidinhaltigen Produkten, insbesondere als Kombinationsprodukt in Form einer Zahncreme, wurde diese doppelt verblindete, randomisierte In-situ-Kreuzstudie durchgeführt. Ziel war es, das Remineralisationspotential einer AlF_3 - und CHX- haltigen (1360 ppm/0,05 %) Zahncreme im Vergleich zu einer NaF-haltigen (1450 ppm) in einem plaqueretentiven Modell mit kariösen Schmelzläsionen *in situ* zu evaluieren.

Methodik: Für die vier experimentellen In-situ-Phasen von jeweils 28 Tagen trugen 18 Probanden intraorale Unterkiefer-Apparaturen, in deren vestibulären Flügeln demineralisierte (pH 4,95, 7 Tage) Schmelzproben bovinen Ursprungs eingelassen und von einem Kunststoffnetz bedeckt waren. Die Apparaturen wurden während der experimentellen Phase für 23 h am Tag getragen und nur zu den Mahlzeiten in einer 10%igen Zuckerlösung zur Substratzufuhr gelagert. Die Proben einer Seite der Apparatur wurden im Rahmen der vorgegebenen zweimal-täglichen Mundhygienemaßnahmen zusätzlich zum Auftragen des Speichel-Zahncreme-Gemisches mit einer Handzahnbürste mechanisch gereinigt. Dabei wurden in randomisierter Reihenfolge folgende Zahncremes verwendet: F/CHX: AlF_3 1360 ppm + CHX 0,05 % (Lacalut; Dr. Theiss Naturwaren, Homburg, Deutschland), F1450: NaF 1450 ppm (Blend-a-Med ProExpert Rundumschutz [Bam-PE]; Procter&Gamble, Schwalbach am Taunus, Deutschland), F500: NaF 500 ppm und F0: F-frei (F500, F0 experimentell, basierend auf Bam-PE). Vor Beginn der In-situ-Phase wurde zur Ermittlung des Ausgangsmineralverlustes ein kleiner Anteil jeder Läsion abgetrennt und mit Hilfe der Dünnschlifftechnik unter Verwendung der transversalen Mikroradiografie (TMR) ausgewertet. Nach Abschluss der In-situ-Phase erfolgte eine erneute Auswertung der Läsionen, um eine Differenz zur Ausgangssituation in Bezug auf den Mineralverlust ($\Delta\Delta Z$) feststellen zu können. Der mittlere Mineralverlust (Standardfehler) vor der In-situ-Phase betrug 2933 (26) Vol.% $\times\mu\text{m}$.

Ergebnisse: Nach Abschluss der In-situ-Phase zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich einer weiteren Demineralisation ($\Delta\Delta Z$) bei der Anwendung von F/CHX und F1450. Im Vergleich zur Anwendung von F500 und F0 war eine signifikant geringere Progression der Demineralisation bei der Anwendung von F/CHX festzustellen. Signifikante Unterschiede (gekennzeichnet durch >; $p < 0,05$; ANCOVA) für $\Delta\Delta Z$ waren F/CHX=F1450; F1450>F0; F1450=F500; F500>F0; F/CHX>F0; F/CHX>F500 für die mechanisch gereinigten Proben und F/CHX=F1450; F1450>F0; F1450=F500; F500=F0; F/CHX>F0; F/CHX>F500 für die nicht mechanisch gereinigten Proben. Mit Ausnahme der mit F/CHX mechanisch gereinigten Schmelzproben ($\Delta\Delta Z$: 260 (238) Vol.% $\times\mu\text{m}$) wiesen die Proben aller anderen Gruppen einen erhöhten Mineralverlust nach der In-situ-Periode auf.

Schlussfolgerung: Auf Grundlage dieser In-situ-Studie kann geschlussfolgert werden, dass eine 1360 ppm AlF_3/CHX -Zahncreme einen ähnlichen demineralisationshemmenden Effekt wie eine 1450 ppm NaF-Zahncreme besitzt. Zahncreme ohne Fluorid oder mit reduziertem Fluoridzusatz (500 ppm) konnte eine Demineralisation an einem plaqueretentiven Modell dagegen nicht verhindern.

2 ABSTRACT (ENGLISH)

Introduction: According to the scarce available literature concerning the induced effects of simultaneous application of fluoride and chlorhexidine, especially as a combination in form of toothpaste, this double-blinded, randomized, cross-over study was conducted. Aim of the study was to evaluate the inhibiting potential of further progression on plaque-retentive enamel caries lesions *in situ* by aluminum-fluoride (AlF₃; 1360 ppm)/chlorhexidine (0.05%) toothpaste compared to a regular NaF-toothpaste (1450 ppm).

Methods: For the four experimental in-situ-periods of 28 days, 18 participants wore intraoral-mandibular-appliances with demineralized (pH 4.95, 7d) bovine enamel specimens, inserted in the buccal flanges and covered by a plastic-mesh. The appliances were worn 23 h/day and stored in 10% sugar-solution only during meals. The specimens of one side of the appliances were within the preset twice daily oral hygiene measures in addition to applying the saliva-toothpaste-mixture mechanically cleaned with a manual toothbrush.

The following toothpastes were used in random order: F/CHX: AlF₃-1360 ppm + CHX 0.05% (Lacalut; Dr. Theiss Naturwaren, Homburg, Germany), F1450: NaF-1450 ppm (Blend-a-Med ProExpert Rundumschutz [Bam-PE]; Procter&Gamble, Schwalbach am Taunus, Germany), F500: NaF-500 ppm and F0: F-free (F500, F0 experimental, based on Bam-PE). To determine the initial value of demineralization a small part of each lesion was cut off to analyze the baseline demineralization by using the technique of thin-section transverse microradiography (TMR). After finishing the in-situ-period there was a second measurement of the degree of demineralization of the lesion to receive a value for the loss of mineralization in comparison to the initial value ($\Delta\Delta Z$). Mean baseline mineral loss (standard error) before the in-situ-period was 2933 (26) vol.% $\times\mu\text{m}$.

Results: After the in-situ-period there was no significant difference found for a further demineralization ($\Delta\Delta Z$) between the use of F/CHX and F1450. Compared to F500 and F0 the use of F/CHX showed a significantly less progression of demineralization.

Significant differences (indicated by >, $p < 0.05$, ANCOVA) for $\Delta\Delta Z$ were F/CHX=F1450; F1450>F0; F1450=F500; F500>F0; F/CHX>F0; F/CHX>F500 for the brushed specimens and F/CHX=F1450; F1450>F0; F1450=F500; F500=F0; F/CHX>F0; F/CHX>F500 for the non-brushed samples. Except for the brushed specimens of toothpaste D ($\Delta\Delta Z$: 260 (238) vol.% $\times\mu\text{m}$), specimens of all other groups revealed an increased mineral loss after the in-situ-period.

Conclusion: Based on this in-situ-study it can be concluded that the 1360 ppm AlF_3/CHX toothpaste has a similar demineralization inhibiting effect as 1450 ppm NaF toothpaste. In contrast toothpaste without fluoride or with reduced fluoride content (500 ppm) could not prevent demineralization in a plaque-retaining-model.

3 EINLEITUNG

Karies ist eine Erkrankung der Zahnhartsubstanzen. Vereinfacht dargestellt wird Zahnhartgewebe durch organische Säuren aufgelöst, die infolge der Verstoffwechslung von Zucker durch Bakterien der Mundhöhle entstehen. Tatsächlich handelt es sich hierbei aber um einen komplexen Vorgang der durch vermehrten Konsum fermentierbarer Kohlenhydrate verursacht, aber durch multiple Faktoren beeinflusst wird (EKSTRAND & ZERO 2012). Aufgrund des aktuellen Wissenschaftsstandes bezüglich der Ätiologie und Pathogenese der Karies kann durch den Einsatz präventiver Maßnahmen ein deutlicher Kariesrückgang erzielt werden. Dabei kommen verschiedene präventive Ansätze zum Tragen. Neben der gezielten Reinigung der Zahnhartsubstanz und einer kariespräventiven Ernährung kann sowohl die Mineralisation der Zahnhartsubstanz durch Fluorid als auch der bakterielle Biofilm durch chemische Substanzen, wie zum Beispiel Chlorhexidin, beeinflusst werden (PARIS et al. 2012b). Sowohl für die Applikation von Fluorid- als auch von Chlorhexidinlack besteht eine akzeptable klinische Evidenz (MEYER-LUECKEL & PARIS 2012). Bei regelmäßiger Verwendung von fluoridierter Zahncreme konnte in kontrollierten klinischen Studien eine kariespräventive Wirkung aufgezeigt werden (KIRKEGAARD 1977, AHRENS 1983, HAUGEJORDEN 1996). Daher sollte als Basisprävention fluoridhaltige Zahncreme verwendet werden (GÜLZOW et al. 2002). Dazu stehen Präparate mit sehr unterschiedlichen Fluoridverbindungen und Konzentrationen zur Auswahl. Hierbei ist die posteruptive Wechselwirkung zwischen Fluorid und Schmelz durch die lokale Applikation der Zahncreme weit wichtiger für die kariesprotektive Wirkung als die präeruptive Fluorideinlagerung (WIEGAND et al. 2005). Chlorhexidin stellt ein Chemotherapeutikum mit unspezifischer antimikrobieller Wirkung auf pathogene und nicht pathogene Bakterien dar. Dabei beruht der Wirkmechanismus von Chlorhexidin auf der Zerstörung der bakteriellen Zellmembran. Der in der Kariestherapie verbreitete Chlorhexidinlack führt zu einer Reduktion der Kariesinzidenz bei Hochrisikopatienten und hat eine präventive Wirkung vor allem bei Fissuren und Grübchen sowie bei Wurzelkaries (PARIS et al. 2012a). Trotz der guten Datenlage bezüglich der kariespräventiven Wirkung sowohl von Fluoriden als auch von Chlorhexidin, gibt es nur

wenige Studien über die Kombination beider Inhaltsstoffe, insbesondere in Form von Zahncreme. Deshalb war es Ziel dieser In-situ-Studie, zu klären, inwieweit sich eine Aluminiumfluorid- (AlF_3 ; 1360 ppm) und Chlorhexidin-haltige Zahncreme (0,05 %) von einer regulären Natriumfluorid-haltigen Zahncreme (NaF ; 1450 ppm) hinsichtlich der Remineralisation von Zahnschmelz unterscheidet.

4 LITERATURÜBERSICHT

4.1 Gesunder Zahnschmelz

Der Zahnschmelz stellt die äußerste Schicht des Zahnes im koronalen Anteil dar und bedeckt den darunterliegenden Dentin-Pulpa Komplex. Der hohe Feststoffanteil von anorganischen Bestandteilen (95 Gew.-%) spiegelt sich in der charakteristischen Eigenschaft, der großen Härte von 250 KHN (Knoop-hardness-numbers) an der Schmelz-Dentin Grenze und 390 KHN an der Schmelzoberfläche wider (SCHROEDER 2000, HELLWIG et al. 2009). Als weitere Bestandteile enthält der Schmelz 4 Gew.-% Wasser und 1 Gew.-% organische Bestandteile, wie Proteine und Lipide (SCHROEDER 2000). Zu Beginn der Schmelzbildung (Amelogenese) wird durch ekkrine Sekretion von den Ameloblasten eine Schmelzmatrix gebildet, die im Verlauf der präeruptiven Schmelzreifung, durch Kristallisation von Kalzium-Phosphat-Verbindungen und anschließendem Kristallwachstum, mineralisiert. Während der posteruptiven Schmelzreifung können noch bestehenden Defekte im Kristallgitter, durch die Aufnahme von Mineralien aus der Umgebung (Speichel, Nahrung), zum großen Teil ausgeglichen werden (HELLWIG et al. 2009). Nach Abschluss der Schmelzentwicklung bestehen zwar keine zellulären Reparaturmechanismen (HELLWIG et al. 2009), aber (bio-) chemische Reaktionen, wie die Einlagerung von Fluoriden, können stattfinden (HOFFMANN-AXTHELM 1995).

4.1.1 Chemische Zusammensetzung

Den Hauptanteil der anorganischen Bestandteile des Zahnschmelzes machen Kalzium und Phosphat aus, die in einem Verhältnis von 1:1,2 als Apatitverbindung, zumeist Hydroxylapatit vorliegen (HELLWIG et al. 2009). Aufgrund der Einschlüsse von weiteren Ionen, wie Karbonat-, Fluor-, Magnesium- und Natriumionen sowie über 40 weiteren Spurenelementen liegt Hydroxylapatit als stöchiometrisch nicht reine Form vor (BERKOVITZ et al. 1992, TEN CATE et al. 2003). Durch isomorphe Substitution der Hydroxylgruppen gegen Fluoridionen entsteht, abhängig von der Anzahl der

ausgetauschten Hydroxylgruppen, fluoridiertes Hydroxylapatit oder Fluorapatit (KÖNIG 1987), wobei diese Verbindungen eine erhöhte kristalline Stabilität aufweisen. Wird hingegen Karbonat in das Kristallgitter eingebaut, ist dieses gegenüber Hydroxylapatit säurelöslicher und tendiert daher schneller zur Demineralisation (HELLWIG et al. 2009). Eine Anreicherung des Schmelzes mit Fluorid ist auch nach vollendeter Amelogenese durch exogene Zufuhr, zum Beispiel fluoridhaltiger Zahncremes, möglich (GENTE et al. 1985). Die organische Matrix des ausgereiften Schmelzes setzt sich aus ca. 58 % Proteinen und 40 % Lipiden sowie einem geringen Anteil von Kohlenhydraten, Citrat und Laktat zusammen (SCHROEDER 2000, HELLWIG et al. 2009). Der größte Teil des im ausgereiften Schmelz vorkommenden Wassers (75 %) befindet sich, kristallin gebunden, in der Hydratationsschale der Apatitkristalle. Die restlichen 25 % liegen lose an organisches Material gebunden vor (GWINNETT 1992, HELLWIG et al. 2009). Das Porenvolumen des gesunden Schmelzes beträgt etwa 0,1 % (DARLING et al. 1961, SILVERSTONE 1973).

4.1.2 Histologie

In einem regelmäßig angeordnetem dreidimensionalen Muster bilden Kristalle aus Apatit (überwiegend Hydroxylapatit) mit einer Länge von 100 bis 1000 µm und ca. 40 nm Durchmesser die histologische Grundeinheit des Schmelzes, die als Schmelzprisma bezeichnet wird (EKSTRAND & ZERO 2012). Im Zentrum der Schmelzprismen sind die Schmelzkristalle, in paralleler Ausrichtung zur Längsachse der Prismen, dicht aneinandergelagert. In der Peripherie der Schmelzprismen, der sogenannten Prismenscheide, wechselt die Ausrichtung der Apatitkristalle bis zu einem Winkel von annähernd 90° zur Längsachse der Prismen. Dadurch greifen die Apatitkristalle der Prismenscheide in die ebenfalls quer liegenden Schmelzkristalle der interprismatischen Substanz, welches die hohe Festigkeit des Schmelzes begründet (PEARCE & NELSON 1989, SCHUMACHER et al. 1990). Der wellenförmige Verlauf der Prismen, sowohl in horizontaler als auch vertikaler Ebene, von der Schmelz-Dentin Grenze bis zur Schmelzoberfläche, spiegelt sich im polarisationsmikroskopischen Phänomen der Hunter-Schreger-Streifung wider und stellt sich als aufeinanderfolgende helle und dunkle Streifung in der inneren Schmelzhälfte dar (LÜLLMANN-RAUCH 2003). Häufig findet sich, aufgrund der dichten und parallelen Anordnung der Apatitkristalle zur

Schmelzoberfläche, eine ca. 20-30 µm dicke oberflächliche Schicht, die als prismenfreier Schmelz bezeichnet wird (HELLWIG et al. 2009). Charakteristisch für diese aprismatische Zone ist die erhöhte Härte, die dichtere Mineralisierung und die verminderte Säurelöslichkeit im Vergleich zum darunter befindlichen prismatischen Schmelz (DARLING et al. 1961). Bezüglich des anorganischen Gehalts von jeweils 86 Vol.% dicht gepackter Kristalle gibt es kaum Unterschiede zwischen prismatischem und aprismatischem Schmelz, die histologische Einteilung resultiert lediglich aus der Kristallanordnung (TEN CATE et al. 2003). Adsorbierte Ionen füllen den interkristallinen Raum aus (SILVERSTONE 1973, TEN CATE et al. 2003).

4.2 Karies

Der etymologische Hintergrund des Begriffs Karies findet sich im griechischen Verb *καρειζω* für „zerstören“ und im Begriff *κηρ* für „Tod, Todesgöttin“ und bedeutet ursprünglich „Morschheit, Fäulnis“ (NÖHRING 2004). Die heute allgemein akzeptierte Theorie der Kariesentstehung, ein chemoparasitärer Vorgang, wurde 1898 von Miller (HELLWIG et al. 2009) begründet und seitdem kontinuierlich weiterentwickelt. Karies stellt sich als eine sich lokal manifestierende, multifaktorielle, durch den hochfrequenten Konsum niedermolekularer Kohlenhydrate verursachte Erkrankung der Zahnhartsubstanz dar (KIDD et al. 1984, BORUTTA et al. 2006, HELLWIG et al. 2009), der eine Interaktion von potentiell pathologischen Mikroorganismen und potentiell pathogener ökologischer Faktoren zugrunde liegt. Die gegenwärtige Theorie der „ökologischen Plaquehypothese“ versucht den entscheidenden Einfluss eines häufigen Zuckerkonsums auf das kariogene Potential einer Plaque, durch eine ökologische Verschiebung innerhalb der bakteriellen Zusammensetzung, zu erklären. Infolge eines übermäßigen Angebotes niedermolekularer Zucker kommt es, verursacht durch säurebildende Bakterien in der Plaque, zu einem längeren und häufigeren pH-Wert-Abfall. Dieses führt zu einem Selektionsvorteil für azidogene (fähig zur schnellen Umwandlung von Zucker in Säure) und azidurische (fähig, niedrigen pH-Wert-Bedingungen zu widerstehen) Bakterien. Bei anhaltendem Zuckerkonsum kommt es zu einer positiven Rückkopplung, womit die Azidität der Umgebung aufrechterhalten wird um eine Karies zu initiieren (SHELLIS 2012). In dem beschriebenen Prozess metabolisieren die säurebildenden Bakterien Kohlenhydrate, wodurch die freigesetzten

Protonen der dissoziierten organischen Säuren einen Abfall des pH-Wertes in der Plaque auslösen, welches ab einem kritischen Wert von 5,2 bis 5,7 zum Herauslösen von Mineralien aus dem Kristallgefüge des Zahnschmelzes führt. Mit sinkender Zufuhr an fermentierbaren Kohlenhydraten und begünstigt durch die Pufferwirkung des Speichels kommt es wieder zu einem pH-Anstieg über das kritische Niveau. Durch die bei neutralem pH vorliegende Übersättigung in Bezug auf Hydroxyl- und Fluorapatit kommt es durch die umgekehrte Ionenbewegung zur Remineralisation der Zahnhartsubstanz (TEN CATE & FEATHERSTONE 1991, SCHROEDER 2000, EDGAR et al. 2004). Die Entstehung einer Karies ist als ein dynamischer Vorgang zu verstehen. Sind während eines Zeitintervalls mehr Ionen aus dem Schmelz diffundiert als in der Remineralisationsphase wieder aufgenommen werden konnten, wird der kariöse Prozess in Gang gesetzt und fortgeführt (SCHROEDER 2000). Dominiert die Demineralisation gegenüber der Remineralisation über längere Zeit, weiten sich kariöse Läsionen aus und es kommt in der Folge zu einer Kavitation der Oberfläche (SHELLIS 2012). Dieser irreversible Schaden am Gewebe kann durch mechanische Einwirkung am Zahnschmelz begünstigt werden (EKSTRAND & MARTIGNON 2012). Fissuren, Approximalfächen, Grübchen und zervikale Glattflächen stellen dabei aufgrund der erschwerten Reinigbarkeit Prädilektionsstellen für die Kariesentstehung dar (SCHROEDER 1997). Viele weitere Faktoren wie beispielsweise Speichelfluss und -zusammensetzung, sowie sozioökonomische Faktoren haben einen Einfluss auf die Entstehung der Karies (MENAHER 1980, FEJERSKOV & THYLSTRUP 1994). Dieser multifaktorielle Einfluss auf den Prozess der Kariesentstehung lässt sich in einem aktuellen Modell, welches sich an der „ökologischen Plaquehypothese“ orientiert, erkennen (Abb. 1). Dabei werden direkte (lokale) und indirekte Faktoren unterschieden. Die häufige Aufnahme von fermentierbaren Kohlenhydraten stellt den einzigen primär kausalen pathogenen Faktor in der Kariesätiologie dar. Demgegenüber steht eine Mehrzahl lokaler protektiver Faktoren. Die Wirtsabwehr (Immunsystem, physiologische Selbstreinigung) und Mundhygiene des Patienten begrenzen dabei die Anzahl der oralen Mikroorganismen. Zudem wird durch die Bestandteile des Speichels und durch Zuführung von Fluoriden und Kalziumverbindungen die Remineralisation der Zahnhartsubstanzen begünstigt. Daneben wirken eine Vielzahl indirekter Faktoren (Bildung, sozioökonomischer Status, Einkommen, Zahnarzt, Alter, Genetik) zwar nur

mittelbar, durch den Einfluss auf die direkten Faktoren, auf den Kariesprozess ein, sind aber teilweise stark mit diesem assoziiert (PARIS & MEYER-LUECKEL 2012).

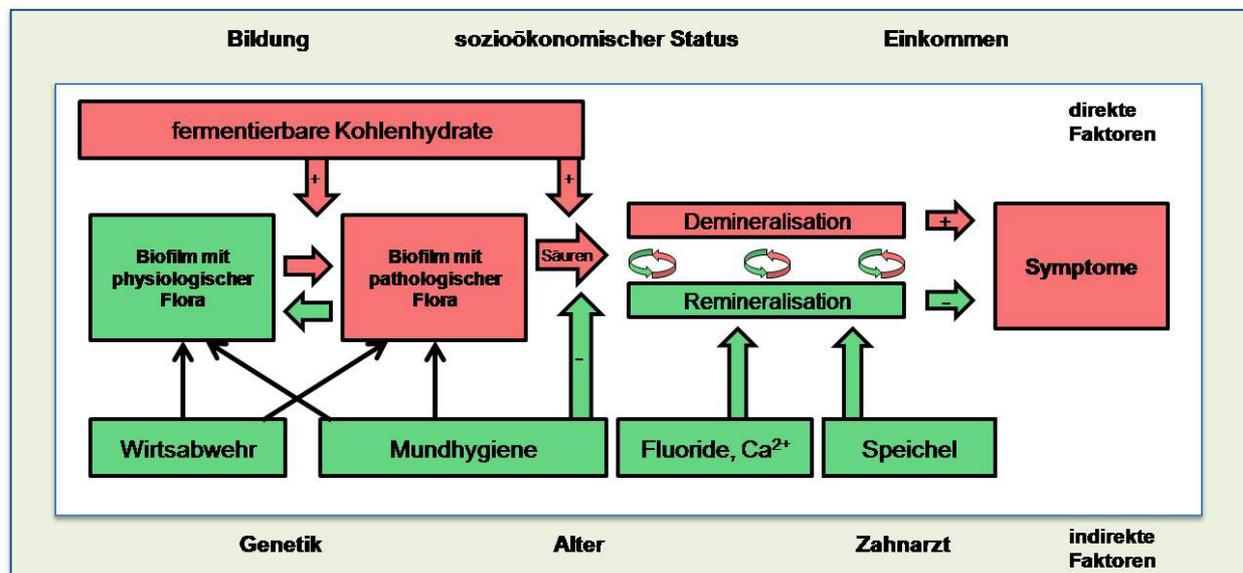


Abb. 1: Modell zur „ökologischen Plaquehypothese“ (PARIS & MEYER-LUECKEL 2012).

4.2.1 Histologie der Schmelzkaries

Aktive Schmelzkaries stellt sich klinisch als weiße, kreydige Verfärbung dar, in der Literatur als ‚incipient lesion‘, ‚white spot‘ oder ‚aktive initiale Kariesläsion‘ bezeichnet, wobei die Schmelzoberfläche angeraut sein kann, die Kontinuität jedoch intakt ist (HELLWIG et al. 2009). Die Farbveränderung beruht auf einer Wasser- und Lufteinlagerung in den Porositäten einer kariösen Läsion, die zu einer veränderten Lichtbrechung führt (KIDD et al. 2003). Kommt es zu einer Remineralisation der initialen Schmelzkaries, lagern sich häufig Genuss- und Lebensmittelfarbstoffe in die Oberfläche der Läsion ein. Dieses manifestiert sich klinisch als bräunliche Verfärbung, dem sogenannten ‚brown spot‘ (TEN CATE et al. 2003, KIDD & FEJERSKOV 2004). Durch Verwendung verschiedener Imbibitionsmedien können bei Dünnschliffen unter dem Polarisationsmikroskop vier verschiedene Zonen der Schmelzkaries dargestellt werden. Bei der Verwendung von Wasser als Imbibitionsmedium werden die ‚pseudointakte Oberflächenschicht‘ und der darunterliegende ‚Läsionskörper‘ sichtbar. Wird hingegen Chinolin als Imbibitionsmedium verwendet, lassen sich eine ‚dunkle Zone‘ unterhalb des

Läsionskörpers und die dem Dentin benachbarte ‚transluzente Zone‘ erkennen (HELLWIG et al. 2009).

Die oberflächlichste Zone ist die ‚pseudointakte Oberflächenschicht‘. Diese bei aktiven Läsionen raue, aber zunächst kavitationsfreie Oberfläche, entsteht durch die Präzipitation von Kalzium und Phosphat (HELLWIG et al. 2009). Die Dicke der Oberflächenschicht kann im Bereich von 30 bis 100 µm von Läsion zu Läsion variieren, da sie Ausdruck der Quantität der Remineralisationsvorgänge ist (BERGMAN & LIND 1966, HICKS & SILVERSTONE 1985). Unterhalb der Oberflächenschicht stellt der ‚Läsionskörper‘ mit etwa 25 % den Ort des größten Mineralverlustes dar (PEARCE & NELSON 1989). Speichelbestandteile, wie Wasser und Proteine, haben die Möglichkeit in die vergrößerten Poren zu penetrieren. Der Mineralverlust findet hauptsächlich im Bereich der Prismenkerne statt (PEARCE & NELSON 1989, FRANK 1990), wohingegen in den Prismenscheiden teilweise auch Remineralisationsvorgänge zu beobachten sind (SHELLIS & HALLSWORTH 1987). Im weiteren Verlauf in Richtung Pulpa befindet sich die ‚dunkle Zone‘ mit einem Mineralverlust von ungefähr 6 % (KLIMM 1997), welcher größtenteils in den Prismenscheiden stattfindet (SHELLIS & HALLSWORTH 1987). Eine mögliche Erklärung für dieses polarisationsoptische Phänomen der dunklen Zone liegt im Resultat von verschiedenen Remineralisationsprozessen (SILVERSTONE 1973, SILVERSTONE et al. 1988). Andere Autoren ziehen als Begründung die Okklusion von Poren mit organischem Material in Betracht (SHELLIS et al. 2002). Die am nächsten zur Pulpa gelegene ‚transluzente Zone‘ wird auch als Zone der fortschreitenden Demineralisation bezeichnet (HELLWIG et al. 2009). Weiterhin sind bei einer beginnenden Karies aber in dieser Zone auch die ersten Veränderungen im Schmelz, als Zeichen von Demineralisationsvorgängen, nachweisbar (SILVERSTONE et al. 1988). Der Mineralverlust spiegelt sich vor allem in den aufgeweiteten Schmelzprismen wider (SHELLIS & HALLSWORTH 1987). Die Genese der Poren beruht wahrscheinlich auf der Elution von säurelöslichem Karbonat aus dem Kristallgitter (HELLWIG et al. 2009). Aufgrund der aufgelockerten Schmelzstruktur können Säuren leicht in den Schmelz diffundieren (SHELLIS & HALLSWORTH 1987).

4.3 Therapiemöglichkeiten der Karies

Die Therapie der Karies erfolgt auf Basis einer umfassenden Diagnose und Therapieplanung. Dabei sollte bei der Diagnose, neben der Beurteilung des Kariesstadiums, die Kariesaktivität beurteilt werden, um eine adäquate Therapie hinsichtlich der Invasivität auswählen zu können. In diesem Zusammenhang müssen aktive und damit behandlungsbedürftige Stadien von inaktiven Stadien, die keiner Therapie (mehr) bedürfen, abgegrenzt werden. Vor diesem Hintergrund ist das Ziel vieler therapeutischer Maßnahmen die Arretierung der Karies. Die Therapiemöglichkeiten der Karies lassen sich anhand der Invasivität der Therapie in drei therapeutische Strategien gliedern: non-invasive, mikro-invasive und (minimal-) invasive.

Als non-invasive Maßnahmen werden dabei alle Therapien gezählt, die mit keiner Opferung von Zahnhartsubstanz einhergehen, sondern direkt an kausale Faktoren angreifen. Dazu zählen Maßnahmen zur Beeinflussung des Biofilms, der Mineralisation sowie eine gering kariogene Ernährung. Der Biofilm kann dabei durch verschiedene Ansatzpunkte beeinflusst werden (PARIS et al. 2012b). Die beiden klassischen Ansätze sind die mechanische Reinigung und die Applikation chemischer antimikrobieller Substanzen, wie zum Beispiel Chlorhexidin. Ein neuerer bisher experimenteller biologischer Ansatz beruht auf der Grundlage der ökologischen Plaquehypothese. Hierbei soll, durch Zugabe nicht kariogener Bakterien, eine Verringerung der Pathogenität der Plaque durch Veränderung der mikrobiologischen Zusammensetzung erreicht werden (PARIS et al. 2012a). Bei der Beeinflussung der Mineralisation kommt Fluoriden aufgrund des großen Einflusses im De- und Remineralisationsprozess eine besondere Bedeutung zu. Besonders bei regelmäßiger lokaler Anwendung haben sie einen (starken) kariespräventiven Effekt. Als ein weiterer positiver Faktor zur Remineralisation der Zahnhartsubstanz wird die Stimulation der Speichelsekretion angesehen. In Hinblick auf die Kariesätiologie hat die Ernährung eine zentrale Bedeutung. Eine Ernährungsberatung in Bezug auf eine möglichst gering kariogene Kost mit wenig niedermolekularen, fermentierbaren Kohlenhydraten ist daher ein wichtiges therapeutisches Instrument. Zusätzlich kann die Kariogenität von Nahrungsmitteln durch die Substitution von Zuckern durch natürliche oder synthetische Zuckerersatzstoffe reduziert werden.

Zu den mikro-invasiven Therapien zählen therapeutische Maßnahmen, welche nur eine minimale Veränderung der Zahnhartsubstanzen zur Folge haben. Hierzu zählen beispielsweise die Versiegelung von Fissuren und Glattflächen sowie die Kariesinfiltration. Ziel dieser Maßnahmen ist der Aufbau einer Diffusionsbarriere gegenüber dem potentiell kariogenen Biofilm auf (Versiegelung) bzw. innerhalb (Infiltration) einer kariösen Läsion.

Als (minimal-) invasive Therapien werden restaurative Maßnahmen bezeichnet, die, einhergehend mit der Entfernung bzw. Rekonstruktion kariös zerstörter Zahnhartsubstanz, das vorrangige Ziel haben, eine Progression der Erkrankung zu verhindern (PARIS et al. 2012b).

Die Möglichkeiten der verschiedenen Therapiestrategien sind aber begrenzt, die Remineralisierbarkeit einer nicht direkt der Zahnreinigung zugänglichen approximalen Karies mit eingebrochener Oberfläche wird beispielsweise als unwahrscheinlich eingestuft (KIDD & PITTS 1990). Infolgedessen wird von einigen Autoren eine (der Mundhygiene unzugängliche) Kavitation der Oberfläche als Schwellenkriterium für eine invasive Therapie angesehen, da diese eine Reinigung der Oberfläche nahezu unmöglich macht (MEJARE et al. 1998, NYVAD 2004).

4.4 Fluoride

Fluorid zählt zu den essentiellen Spurenelementen (MARINHO et al. 2002) und wird in der Zahnheilkunde in organischen oder anorganischen Verbindungen verwendet (SCHMID 1983). Fluoridverbindungen spielen heute eine zentrale Rolle in der Kariesprävention. Metabolismus, Toxikologie und Effektivität der verschiedenen Fluoridverbindungen gelten heutzutage als wissenschaftlich weitestgehend erforscht. Fluoride finden sich in unterschiedlich hohen Konzentrationen im Trinkwasser, im Erdreich, in der Luft und in Nahrungsmitteln wieder. Ein Erwachsener in Deutschland nimmt täglich etwa 0,4-0,6 mg Fluorid über die Nahrungsaufnahme zu sich (BERGMANN & BERGMANN 1995). Zu den mit der Nahrung aufgenommenen Fluoridverbindungen addieren sich noch die Fluoridverbindungen der fluoridhaltigen Kariostatika. Je nach verwendetem Mittel (Zahncreme, Tabletten), angewandter und verschluckter Menge ist der so hinzukommende Fluoridanteil unterschiedlich hoch. Von der mit der Nahrung aufgenommenen Fluoridmenge werden nur 60-80 % resorbiert, d. h. gelangen über den

Verdauungstrakt in das Blut und sind damit bioverfügbar. Wird im Rahmen der Kariesprävention anorganisches Fluorid zugeführt, liegt die Bioverfügbarkeit bei 80-100 %. Fluorid ist gekennzeichnet durch eine hohe Affinität zum Knochen und den Zahnhartsubstanzen. Das Skelett spielt dabei eine entscheidende Rolle in der Fluoridhomöostase, bei schwankender Fluoridzufuhr dient es als Auffang- und Ausgleichsreservoir. Ein kleiner Teil der aufgenommenen Fluoridverbindungen wird dauerhaft im Knochen retiniert, wodurch es zu einem kontinuierlichen Fluoridgehaltanstieg im Skelett bis zum 60. Lebensjahr und damit zu einer Stabilisierung der Knochen kommt. Infolge der hohen Affinität von Fluoriden zu Zahnhartsubstanzen lagern sich diese während der Zahnentwicklung, in der primären Mineralisation und vor allem in der präeruptiven Reifungsmineralisation, in den Zahnhartgeweben ab. Das Fluorid wird dabei vornehmlich in das Kristallgitter des Hydroxylapatits eingebaut. Der präeruptive Fluorideinbau reicht aber nicht aus, um den Zahn vor Karies zu schützen. Nach dem Zahndurchbruch bewirken weitere lokale Fluoridierungsmaßnahmen eine Zunahme der Fluoridkonzentration an der Schmelzoberfläche (HELLWIG et al. 2009).

4.5 Fluoridierungsmöglichkeiten

Im Allgemeinen unterscheidet man zwei Möglichkeiten der Fluoridierung: die lokale und die systemische (Abb. 2). Bei der systemischen Fluoridierung wird das Fluorid oral aufgenommen, im Darm resorbiert und steht somit systemisch zur Verfügung. Es lagert sich vornehmlich in der Zahnhartsubstanz und den Knochen ab. Ein kleinerer Teil des resorbierten Fluorids kann über das Sekret der Speicheldrüsen direkt mit der Zahnhartsubstanz in Kontakt kommen. Auch kommen fluoridhaltige Lebensmittel oder Medikamente bei der oralen Aufnahme zunächst direkt mit der Zahnhartsubstanz in Kontakt. Bei der lokalen Fluoridapplikation wirken die Fluoride direkt auf die Zahnoberfläche. Häufig verwendete Fluoridverbindungen sind dabei Aminfluorid, Natriumfluorid, Natriummonofluorophosphat und Zinnfluorid und werden in Form von Zahncremes, Mundspüllösungen, Fluoridgelen und -lacken appliziert. Bei der lokalen Anwendung von Fluoriden ist gerade bei Kleinkindern ein Verschlucken und damit eine systemische Wirkung zu beachten (HELLWIG et al. 2009).

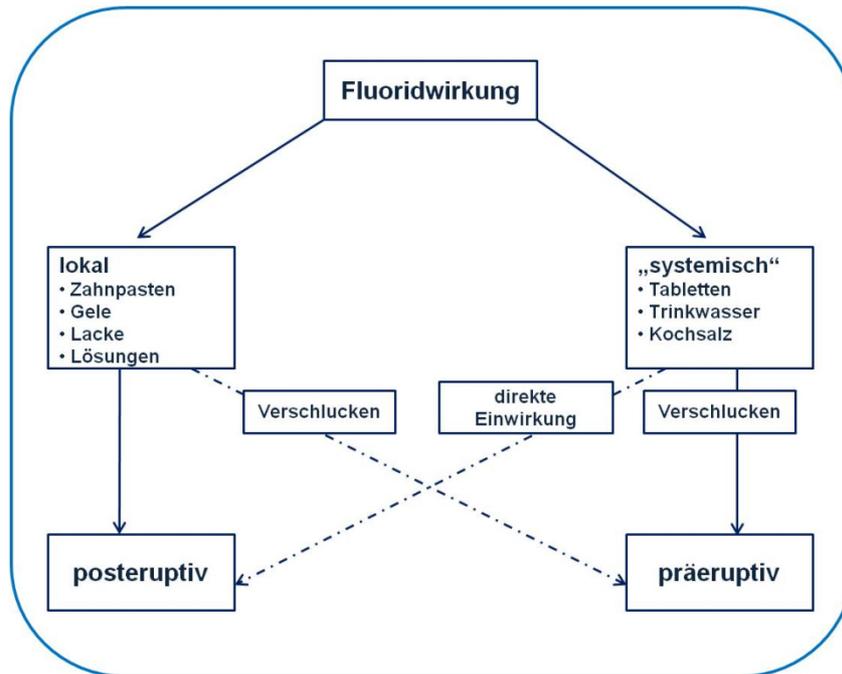


Abb. 2: Möglichkeiten der Fluoridgabe und ihre Wirkung (HELLWIG et al. 2009).

4.6 Fluoride als Kariostatika und deren Reaktionen am Zahnschmelz

Aufgrund des ständigen Einflusses kariogener Faktoren reicht oftmals die Inkorporation von Fluoriden in das Kristallgitter während der Zahnentwicklung nicht aus, um den Zahn dauerhaft vor kariösen Läsionen zu schützen. Vielmehr hat die tägliche Verwendung von fluoridhaltiger Zahncreme einen großen positiven Einfluss auf die Kariesprävention (NAUJOKS 1983, HAUGEJORDEN 1996, LEVY 2003). Der kariesprotektive Effekt von Fluoriden beruht vor allem auf der Interaktion mit der Schmelzoberfläche (HELLWIG et al. 2009). Dieser Effekt tritt auf, weil an der Kristalloberfläche des Apatits partiell OH^- Ionen durch F^- Ionen ersetzt werden und somit das Hydroxylapatit fluorapatitähnliche Eigenschaften erhält. Das entstehende fluoridierte Hydroxylapatit ist deutlich weniger löslich als stöchiometrisch reines Hydroxylapatit, sodass das Produkt der Remineralisation bei Anwesenheit von Fluorid kariesresistenter ist als das zuvor verlorene Mineral (SHELLIS 2012). Durch Reduktion der Säurelöslichkeit, sowie Hemmung der Demineralisation als auch Förderung der Remineralisation wirken Fluoride somit antikariogen (LYNCH et al. 2004). Bei hohen Fluoridkonzentrationen kann sich ein CaF_2 Präzipitats auf der Schmelzoberfläche oder innerhalb des Biofilms einhergehend mit einer initialen Auflösung des Schmelzminerals an der Oberfläche

bilden (DUSCHNER et al. 1984, BRUUN & GIVSKOV 1991). Das CaF_2 dient dabei als Fluoriddepot und gibt bei einem pH-Abfall Fluoridionen ab, die wie oben beschrieben die Demineralisation hemmen und die Remineralisation fördern (HELLWIG et al. 2009). Weiterhin können Fluoride auch fest in die Apatitstruktur eingebaut werden. Zum einen kommt es nach der Diffusion der Fluoride in den inneren Teil des Zahnschmelzes zu einer spezifischen Bindung an freie Bindungsstellen (z. B. OH^- , Ca^{2+} und HPO_3^{2-}) der Kristalloberfläche (BRUUN & GIVSKOV 1991, WIEGAND et al. 2005) und zum anderen zu einer unspezifischen Bindung wie z. B. in der Hydrationshülle der Kristalle (HELLWIG et al. 2009). Durch die Integration der Fluoride wird die Kristallinität verbessert, die Apatitstruktur stabilisiert, sowie die Säurelöslichkeit herabgesetzt (MURRAY et al. 1977). Da ein Teil der Fluoridionen in einer Substitutionsreaktion gegen die Hydroxylionen des Apatits ausgetauscht werden bzw. in der Schmelzreifung ausgetauscht worden sind, ist im Schmelz ein ca. 10 % Anteil Fluorapatit bzw. fluoridiertes Hydroxylapatit enthalten. Des Weiteren können Fluoride möglicherweise einen direkten Einfluss auf die Plaquebakterien haben. Mit steigender Fluoridkonzentration wird die metabolische Aktivität der Mikroorganismen beeinflusst und die Kolonialisierung gehemmt. Studien zeigen aber, dass aufgrund der notwendigen sehr hohen Fluoridkonzentrationen dieser Effekt keine klinische Relevanz hat (TWETMAN & EKSTRAND 2012).

4.7 Häusliche Anwendung von Fluoriden

Basis einer optimalen kariespräventiven Wirkung ist die regelmäßige Anwendung von Fluoriden. Eine Verminderung der Kariesprävalenz um 20-30 % konnte bei regelmäßigem Gebrauch von Fluoridzahncremes in klinischen Studien gezeigt werden (KIRKEGAARD 1977, HAUGEJORDEN 1996, HICKS & FLAITZ 2000). Der kariespräventive Effekt unterliegt im bleibenden Gebiss verschiedenen Parametern. Mit zunehmender Fluoridkonzentration in der Zahncreme, häufigerer Verwendung und höherer individueller Kariesaktivität erhöht sich die kariespräventive Wirkung. Die Fluoridkonzentration sollte in Zahncreme für Erwachsene und Kinder über 6 Jahren bei über 1000 ppm liegen. Aufgrund einer möglichen Intoxikation und einem erhöhten Fluoroserisiko (s. u.) werden in Deutschland für Kinder unter 6 Jahren Zahncremes mit einer Fluoridkonzentration von 500 ppm empfohlen. In Abhängigkeit vom individuellen Kariesrisiko wird der zusätzliche Gebrauch von fluoridhaltigen Spüllösungen, Lacken

und Gelen empfohlen (DGZMK 2013). Die Anwendung von Fluorid ist in therapeutischer Dosis für den Menschen unschädlich, bei einer Überdosierung kann es aber zu Vergiftungserscheinungen kommen (HELLWIG et al. 2009). Die kariespräventive Anwendung hat keinen negativen Einfluss auf das Skelettsystem, bei dauerhaft erhöhter Dosis kann es aber zu einer Skelettfluorose kommen, die sich klinisch als skelettale Veränderung, Mineralisation von Bändern und Gelenken, sowie Wachstumshemmung manifestiert. Wird während der Zahnentwicklung die empfohlene Dosis Fluorid dauerhaft überschritten, kann sich dieses in Veränderungen der Zahnhartsubstanz (Zahnfluorose) widerspiegeln. Diese fluorotischen Areale im Schmelz stellen in erster Linie lediglich einen optischen Makel dar, bei schweren Stadien kann es aber auch zu einer Kavitationsbildung kommen (KIDD et al. 1995, HELLWIG et al. 2009).

4.8 Chlorhexidin und seine Wirkungsweise

Der Wirkstoff Chlorhexidin kann durch seine chemische Struktur mit dem Biofilm interagieren und dabei die bakterielle Zellmembran zerstören (SCHEIE & PETERSON 2008). Chlorhexidin zählt zu den Bisbiguaniden und ist ein doppelwertiges, kationisches und reaktives Antiseptikum (ADDY & DOWELL 1986, JENKINS et al. 1993a, PERDIGAO et al. 1994). Chlorhexidin besitzt sowohl hydrophile als auch hydrophobe Eigenschaften und kann sowohl an extrazelluläre Komplexe als auch an negativ geladene Zellwände binden (LOE & SCHIOTT 1970, KOMOROWSKI et al. 2000). Durch diese Bindung wird das osmotische Zellgleichgewicht sowie die Organisation der Zellmembran gestört, wodurch niedermolekulare Stoffe die Zelle verlassen können (KOMOROWSKI et al. 2000). Der Defekt führt zur Denaturierung der intrazellulären Makromoleküle (FORSTEN & KARJALAINEN 1977), woraus bei hohen Chlorhexidinkonzentrationen der Untergang der Zelle resultiert (GREENSTEIN et al. 1986, JOHNSON 1995). Bei einer Konzentration von 0,06-35 % wirkt Chlorhexidin bakterizid, wobei in der Zahnheilkunde Konzentrationen von 0,06-2 % verwendet werden (KOMOROWSKI et al. 2000). Die Anlagerung von Bakterien an die Oberfläche des Zahnes wird sowohl durch die Reduktion der Gesamtanzahl der Bakterien als auch durch die mit der Pellikelformation an der Zahnoberfläche interferierende Bindung von Chlorhexidin an Bakterien und Speichel-Glykoproteine behindert (HJELJORD et al. 1973, AL-TANNIR & GOODMAN 1994). Chlorhexidin ist zum einen gegen viele grampositive und zum anderen gegen

gramnegative sowie fakultativ anaerobe und aerobe Bakterien wirksam. Des Weiteren erzielt es einen Effekt in unterschiedlicher Wirksamkeit gegen Viren und Pilze (GREENSTEIN et al. 1986, JOHNSON 1995, LIN et al. 2003). Charakteristisch für Chlorhexidin ist die hohe Substantivität, d. h. die zu beobachtende Verweil- und Wirkungsdauer, aufgrund der Anlagerung an negativ geladene Gewebe, wie die Schleimhaut und Hydroxylapatit (ROLLA et al. 1970, SCHIOTT et al. 1970, EMILSON et al. 1973, GJERMO et al. 1974). Die in den Eigenschaften von Chlorhexidin begründeten, Karies- und Gingivitis hemmenden Effekte wurden in vielen Studien belegt (VAN LOVEREN et al. 1996, VAN RIJKOM et al. 1996, ARENDS et al. 1997, ZAURA-ARITE & TEN CATE 2000). Die Anwendung von Chlorhexidin kann zu gelbbraunen Verfärbungen führen (LUOMA 1972, FLOTRA 1973, GREENSTEIN et al. 1986). Des Weiteren kann es bei längerer Nutzung von Chlorhexidin zu Geschmacksstörung der Empfindung süß, Mundtrockenheit und Verbrennungsempfindungen der Schleimhaut kommen (FLOTRA 1973, SCHAEKEN et al. 1991). Die dargestellten Nebenwirkungen sind nach Absetzen des Präparates reversibel. Die in der Literatur dargestellten Nebenwirkungen sind für die Anwendung von chlorhexidinhaltigen Mundspüllösungen beschrieben. Bei der Anwendung von chlorhexidinhaltigen Zahncremes und Lacken sind bisher keine Nebenwirkungen bekannt.

4.9 Kombination von Fluorid und Chlorhexidin

Bisher gibt es in der Literatur wenige Studien über die gleichzeitige Anwendung von Fluoriden und Chlorhexidin, wobei zudem als Anwendungsform bisher vornehmlich Spüllösungen gewählt wurden. Dabei weisen die Studien heterogene Ergebnisse auf. Eine In-vivo-Studie zeigte für die Anwendung der Kombination geringere Werte in den Parametern Läsionstiefen und Mineralverlust im Vergleich zu Fluoriden ohne Chlorhexidin auf (ULLSFOSS et al. 1994). Eine In-vitro-Studie kam zu dem Ergebnis einer nicht veränderten Fluoridaufnahme (KIRKEGAARD 1977). Eine weitere Studie legte eine verminderte Fluoridaufnahme an Rattenzähnen dar (NOVIKOV et al. 1980). Verglichen mit einem Placebo zeigten mehrere klinische Studien eine Reduktion der Bildung von Plaque und Gingivitis bei der Anwendung einer Fluorid-Chlorhexidin Kombination (JENKINS et al. 1993b, JOYSTON-BECHAL & HERNAMAN 1993, HOFFMANN et al. 2001). In einer Studie bei Individuen mit einem hohen Kariesrisiko führte die Anwendung einer

Chlorhexidin-Fluorid-Mundspüllösung zu einer signifikanten Gingivitis- und Kariesreduktion (LUOMA et al. 1978). Der Vergleich einer Kombination aus Fluorid und Chlorhexidin gegenüber einer reinen Chlorhexidinlösung zeigte eine gleichwertige (HOFFMANN et al. 2001) oder stärkere (MENDIETA et al. 1994) Plaquehemmung. In anderen Studien wurden keine signifikanten Unterschiede der Kombination beider Substanzen im Vergleich mit alleiniger Fluorid- (LUOMA et al. 1978) oder Chlorhexidinlösung (SPETS-HAPPONEN et al. 1991) beschrieben. Sowohl in einer Studie mit einem bakteriellen Demineralisationsmodell unter In-vitro-Bedingungen (VAN LOVEREN et al. 1996) als auch in einer Studie mit einem In-situ-Demineralisationsmodell (ZAURA-ARITE & TEN CATE 2000) über die Wirkung der Kombination von Fluorid- und Chlorhexidinlack im Vergleich zu einem Lack mit nur einem der Inhaltsstoffe, war die Kombination ebenso effektiv, wie der einzelne Inhaltsstoff. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Wirkung einer Zahncreme, die sowohl Fluorid als auch Chlorhexidin enthält, bisher noch nicht ausreichend durch Studien belegt ist.

5 ZIEL DER STUDIE

In der vorliegenden Studie sollte daher das Remineralisationspotential einer auf dem Markt erhältlichen Aluminiumfluorid- (1360 ppm) und Chlorhexidin- (0,05 %) haltigen Zahncreme (Lacalut) mit dem einer 1450 ppm Natriumfluorid-haltigen Zahncreme (Blend-a-Med ProExpert) verglichen werden. Dazu wurde mit Hilfe von demineralisierten, bovinen Schmelzproben, in einem plaqueretentiven In-situ-Modell, die Veränderung des Mineralverlusts und der Läsionstiefe bezogen auf die Ausgangssituation, nach Anwendung der Testzahncreme Lacalut und der Positivkontrolle Blend-a-Med ProExpert verglichen. Darüber hinaus wurde zur Validierung des In-situ-Modells eine Negativkontroll-Gruppe (0 ppm Fluorid) sowie eine Dosis-Wirkungskontroll-Gruppe (NaF^2 500 ppm) untersucht.

5.1 Hypothesen

- I. Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen der Aluminiumfluorid- (1360 ppm) und Chlorhexidin- (0,05 %) haltigen Testzahncreme Lacalut und der Natriumfluorid-haltigen Positivkontrolle Blend-a-Med ProExpert (1450 ppm) hinsichtlich der Remineralisation von Zahnschmelz.
- II. Es besteht eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der Positivkontrolle (NaF^2 1450 ppm), der Dosis-Wirkungskontrolle (NaF^2 500 ppm) und der Negativkontrolle (NaF^2 0 ppm).

Ein weiteres Ziel bestand darin, den Einfluss einer mechanischen Reinigung auf das Remineralisationspotential der Zahncremes zu untersuchen.

6 MATERIAL UND METHODE

6.1 Versuchsdesign

In dieser randomisierten, doppelblinden In-situ-Kreuzstudie sollte das Remineralisationspotential einer Aluminiumfluorid- (1360 ppm) und Chlorhexidin- (0,05 %) haltigen Zahncreme (Lacalut; Dr. Theiss Naturwaren, Homburg, Deutschland) (**F/CHX**) mit dem einer 1450 ppm Natriumfluorid-haltigen Zahncreme (Blend-a-Med ProExpert Rundumschutz [Bam-PE]; Procter&Gamble, Schwalbach am Taunus, Deutschland) (**F1450**) verglichen werden. Außerdem wurden eine Dosis-Wirkungskontrolle (NaF^2 500 ppm) (**F500**) und eine Negativkontrolle (0 ppm Fluorid) (**F0**) untersucht (F500, F0 experimentell, basierend auf Bam-PE). Dazu wurde mit Hilfe von demineralisierten, bovinen Schmelzproben, in einem plaqueretentiven In-situ-Modell, die Veränderung des Mineralverlusts und der Läsionstiefe bezogen auf die Ausgangssituation nach Anwendung der verschiedenen Zahncremes verglichen. Durch die Demineralisation wurden in den Schmelzproben künstliche kariöse Läsionen geschaffen. Diese Proben wurden von Probanden in einer intraoralen Apparatur getragen und sowohl vor als auch nach In-situ-Exposition mikroradiografisch untersucht und hinsichtlich der Mineralverlustdifferenz als Hauptzielparameter densitometrisch ausgewertet. Jede der Zahncremes wurde von den Probanden vier Wochen während der Tragezeit der Apparaturen und eine Woche vor Beginn jeder Expositionsphase angewendet. Die Hälfte der Proben wurde von den Probanden mit einer Handzahnbürste mechanisch gereinigt. Aufgrund des doppelblinden Designs war weder den Probanden noch den Betreuern bekannt, welches Präparat zu einem bestimmten Zeitpunkt verwendet wurde. Gewährleistet wurde dieses durch uniforme Verpackungen der verschiedenen Zahncremes, die lediglich mit der Probandennummer, einem Buchstaben für die Zahncreme und der Zyklusnummer beschriftet waren. Weiterhin verwendeten die Probanden aufgrund des Kreuzdesigns (cross-over) der Studie je nach Gruppe in den vier verschiedenen In-situ-Phasen unterschiedliche Zahncremes. Die Verblindung der Untersucher wurde erst im Anschluss an die vollständige Auswertung aufgehoben. Die verwendeten Zahncremes und Zahnbürsten wurden von der Firma

Procter&Gamble (Schwalbach am Taunus, Deutschland) bereit gestellt, welche diese Studie auch finanziell unterstützte.

6.2 Aufklärung und Votum der Ethikkommission

Aufgrund der Teilnahme von lebenden Individuen im Rahmen des In-situ-Studiendesigns wurde bei der Ethikkommission ein Antrag auf Erteilung eines Votums gestellt und dieses lag zu Studienbeginn vor (Christian-Albrechts-Universität zu Kiel; Nr. A139/10). Jeder der Studienteilnehmer wurde schriftlich mittels eines Probandeninformationsblattes und in der gesamten Gruppe mit Hilfe einer Präsentation über Sinn und Zweck der geplanten Studie aufgeklärt und konnte im Anschluss Fragen stellen. Des Weiteren wurden die entstehenden Belastungen und Ausschlusskriterien, die zum Abbruch der Studie hätten führen können, erörtert. Jeder Proband erhielt eine Aufwandsentschädigung in Höhe von 400 € für die Teilnahme.

6.3 Probandenrekrutierung und Screening

Die Probanden für die Studie wurden per Aushang im Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel rekrutiert. Die Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie beinhalteten ein Alter zwischen 18 und 65 Jahren sowie ein natürliches Gebiss. Bei jedem der Interessenten wurden die Ausschlusskriterien (Tab. 1) überprüft. Bei der Anamnese der Probanden wurden die Anwendung von Fluoridpräparaten, sowie die Ernährungsgewohnheiten erfasst. Es wurde eine dentale und parodontale Untersuchung durchgeführt, sowie ein Mundhygienestatus und die stimulierte Speichelflussrate (SSFR) erhoben. Bei Bedarf wurden vor Beginn der Studie aktive kariöse Läsionen behandelt.

Tab. 1: Ausschlusskriterien der Studie

<ul style="list-style-type: none"> • Proband jünger als 18 oder älter als 65 Jahre 	<ul style="list-style-type: none"> • Akute Infektionen und schwere Allgemeinerkrankungen
<ul style="list-style-type: none"> • Keine schriftliche Einwilligung 	<ul style="list-style-type: none"> • Letzte Einnahme von Antibiotika weniger als zwei Monaten vor Beginn oder während der Studie
<ul style="list-style-type: none"> • Teilnahme an weiteren klinischen Studien 	<ul style="list-style-type: none"> • Mundtrockenheit (SSFR <0,7 ml/min)
<ul style="list-style-type: none"> • Unzureichende Kooperationsbereitschaft, mangelhafte Mundhygiene 	<ul style="list-style-type: none"> • Allergie oder Unverträglichkeit gegen eines der verwendeten Materialien
<ul style="list-style-type: none"> • Fehlende Bereitschaft zum Verzicht auf den Konsum von fluoridhaltigen Lebensmitteln (bestimmte Tee- und Fischarten) 	<ul style="list-style-type: none"> • Herausnehmbare kieferorthopädische oder prothetische Apparaturen oder Schienen
<ul style="list-style-type: none"> • Personen mit reduziertem allgemeinen Gesundheitszustand 	<ul style="list-style-type: none"> • Einnahme von Medikamenten, die das Ergebnis der Studie beeinträchtigen könnten
<ul style="list-style-type: none"> • Drogen- oder Alkoholmissbrauch 	<ul style="list-style-type: none"> • Zum Zeitpunkt des Studienbeginns unbehandelte aktive kariöse Läsionen
<ul style="list-style-type: none"> • Bulimie 	<ul style="list-style-type: none"> • Schwere Parodontalerkrankungen
<ul style="list-style-type: none"> • Mögliche Schwangerschaft oder Stillzeit 	<ul style="list-style-type: none"> • Weniger als 20 Zähne

Insgesamt wurden 20 gesunde Probanden im Alter zwischen 23 und 52 Jahren in die Studie aufgenommen. Die Probanden wurden unterrichtet, dass eine Veränderung in Bezug auf die Ausschlusskriterien der Studie umgehend anzuzeigen ist und zum Abbruch der Studie für die betreffende Person führt. Des Weiteren wurde den Probanden erläutert, dass die weitere Teilnahme bei ärztlichen Bedenken oder einem Gesamtabbruch der klinischen Prüfung jederzeit vorzeitig beendet werden kann.

6.4 Instruktion

Neben einer schriftlichen Instruktion durch das Probandeninformationsblatt wurde jeder der Probanden persönlich mit der Handhabung und Anwendung der individuellen In-situ-Apparatur vor Beginn der ersten In-situ-Phase vertraut gemacht. Zusätzlich erfolgte eine Re-Instruktion und Motivation vor Beginn jeder weiteren In-situ-Phase. Weiterhin erhielt jeder Teilnehmer einen genauen Zeitplan, ein Putzprotokoll sowie ein

Ernährungsprotokoll. Das Ernährungsprotokoll erfasste für jede der vier In-Situ-Phasen den Zuckerkonsum, die Fluoridexposition sowie die Verweildauer der Apparatur in der Mundhöhle. Dadurch sollten die nötigen Verhaltensweisen täglich in Erinnerung gerufen und Abweichungen erfasst werden. Das Putzprotokoll dokumentierte in detaillierter Form die Integration der Apparatur in die tägliche Mundhygiene. Die Patienten wurden angehalten, die aufgelisteten Instruktionen morgens und abends im Rahmen der Mundhygiene durchzuführen.

Probandeninstruktion:

(Die folgenden Instruktionen sollten jeweils morgens und abends wiederholt werden)

1. Entnahme der In-situ-Apparatur aus dem Mund
2. Zähneputzen für 30 s mit Zahnbürste und der jeweiligen Zahncreme (ca. 1 cm langer Strang)
3. Ausspucken einer kleinen Menge (wird gezeigt) des Speichel-Zahncreme-Gemisches auf eine Seite der Apparaturen (Seite mit rotem Kunststoff)
4. Mechanische Reinigung der anderen Seite (weißer Kunststoff) mit dem auf der Zahnbürste befindlichen Speichel-Zahncreme-Gemisch für 10 s
5. Das Speichel-Zahncreme-Gemisch verbleibt anschließend auf beiden Seiten der Apparatur für weitere 110 s außerhalb der Mundhöhle. Während dieser Zeit werden die Zähne für weitere 90 s geputzt und anschließend der Mund ausgespült. Die Apparatur wird nach Ablauf der 110 s unter dem Wasserhahn abgespült
6. Sofortige Insertion der Apparatur in den Mund
7. Dort verbleibt die Apparatur für mindestens 30 min, ohne dass Sie essen, trinken oder rauchen sollten

Weiterhin wurde jeder Proband instruiert, keine Mundhygienemittel außer den jeweils zugeteilten zu verwenden, kein Kaugummi zu kauen und fluoridhaltige Lebensmittel zu meiden. Jeder Patient erhielt ebenfalls ein Päckchen mit nicht fluoridiertem Speisesalz (Selina Salz Jodsalz; Delto Products, Dordrecht, Niederlande). Um die Bildung einer potentiell kariogenen Plaque auf der Probenoberfläche zu ermöglichen, wurden die Probanden angewiesen, die Apparaturen nicht unter einem starken Wasserstrahl

abzuspülen und die Proben während aller extraoralen Verweilzeiten feucht zu lagern (Lock&Lock 180 ml; iSi Deutschland GmbH, Solingen, Deutschland; Apparatur mit feuchtem Taschentuch umwickelt). Die extraorale Zeit der Proben sollte insgesamt so kurz wie möglich gehalten werden. Während der Nahrungsaufnahme sollten die Apparaturen dreimal täglich für 20 min in einer 10%igen Zuckerlösung in einer Kunststoffdose (Lock&Lock 180 ml) gelagert werden, um eine Substratzufuhr für die potentiell kariogene Plaque zu gewährleisten. Zum Abschluss jeder In-situ-Phase sollten die Probanden die zur jeweiligen Phase gehörigen Studienmaterialien und das Ernährungsprotokoll zurückgeben. Die Lagerung der Proben erfolgte für jeden Probanden getrennt (24 Wellplatte; Sarstedt, Nürnbrecht, Deutschland) in 0,2%iger Thymollösung (Thymol > 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland).

6.5 In-situ-Exposition

Die Studie beinhaltete insgesamt vier In-situ-Phasen von jeweils 4 Wochen Tragezeit der Apparaturen und einer vorherigen Auswaschzeit von je einer Woche vor jeder Expositionsphase. Vor Beginn und nach Abschluss jeder In-situ-Phase erschien jeder Proband zu einem kurzen Kontrolltermin bei dem auch eine Remotivation und Reinstruktion vorgenommen wurde. Mit Beginn jeder Phase bekamen die Probanden zunächst nur die, der jeweiligen In-situ-Phase zugeordneten Zahncreme, eine Handzahnbürste (Oral-B Indicator; Procter&Gamble, Schwalbach am Taunus, Deutschland) und ein Ernährungsprotokoll ausgehändigt. Die einwöchige Auswaschphase wurde genutzt, um den Einfluss der zuvor benutzten Zahncreme auszuschließen und um neue Proben in die Apparaturen einzulassen. Zum Ende der Auswaschphase bekamen die Probanden die restlichen Materialien für die bevorstehende In-situ-Phase ausgehändigt: die vollständig bestückte, feucht gelagerte intraorale Apparatur in einer wasserdicht zu verschließenden Kunststoffdose (Lock&Lock 180 ml) sowie einen Liter steril filtrierte (Sterilfilter, Stericup millipor express plus 0,22 µm; Millipor Corporation, Billerica Massachusetts, USA) 10%ige Zuckerlösung.

6.6 Herstellung der intraoralen Apparaturen

Zur Fixierung der Schmelzproben während der In-situ-Phase wurde für jeden Patienten eine individuelle, herausnehmbare Unterkieferapparatur angefertigt (Abb. 3). Dafür wurde zunächst von jedem Patienten ein Unterkieferabdruck mit Alginat genommen, der anschließend in ein Gipsmodell überführt wurde. Im Anschluss wurden die zur Fixierung der Apparatur notwendigen Klammern aus federhartem Draht (Remanium Draht federhart 0,8 mm; Dentaurum, Ispringen, Deutschland) gebogen. Dabei wurde sowohl für die rechte als auch linke Seite eine Klammer hergestellt, die distal um den letzten Molaren verlief und lingual als auch vestibulär im Interdentalraum zwischen dem letzten und vorletzten Molaren endete. Für den vestibulären Frontzahnbereich wurde ein Bogen hergestellt, der das zentrale untere Lippenbändchen schützte. Im lingualen Interdentalbereich wurde zwischen dem letzten und vorletzten Molaren Kunststoffschilder (Orthocryl; Dentaurum, Pforzheim, Deutschland) an den Klammern angebracht und im vestibulären Bereich entstand zwischen dem ersten Molaren und dem ersten Prämolaren ein Kunststoffkörper (Orthocryl) zur Fassung von vier Schmelzproben zwischen den Drahtretentionen. Dabei wurde für eine Seite weißer und für die andere Seite rötlicher Kunststoff verwendet, um eine Verwechslung der Proben hinsichtlich der mechanischen Reinigung auszuschließen. Bei der Hälfte der intraoralen Apparaturen befand sich die rote Seite rechts, bei der anderen Hälfte auf der linken Seite. Nach Analyse des Ausgangs-Mineralverlustes wurden die Proben so ausgewählt und zwischen den einzelnen Apparaturen verteilt, dass sich sowohl im Vergleich der jeweiligen Probanden als auch zwischen der mechanisch gereinigten und nicht mechanisch gereinigten Seite ein möglichst gleichmäßiger Mittelwert für den Ausgangs-Mineralverlust ergab. Die Schmelzproben wurden mit Klebewachs (Supradent-Wachs; Chemisches Dental Labor Oppermann-Schwedler, Bonn, Deutschland) in den eingearbeiteten Vertiefungen fixiert, um ein mögliches Aspirieren oder Verschlucken zu vermeiden. Zur Simulation eines plaqueretentiven Approximalraumes wurde über zwei der vier Schmelzproben ein Kunststoffnetz (Perfect-Splint-System; Hager und Werken, Duisburg, Deutschland) angebracht (Abb. 4). Dieses wurde mittels Klebewachs (Supradent-Wachs) am Rand fixiert. Die beiden nicht bedeckten Schmelzproben wurden in einer anderen Arbeit im Rahmen eines Glattflächen-Modells ausgewertet und finden in dieser Arbeit keine Berücksichtigung.

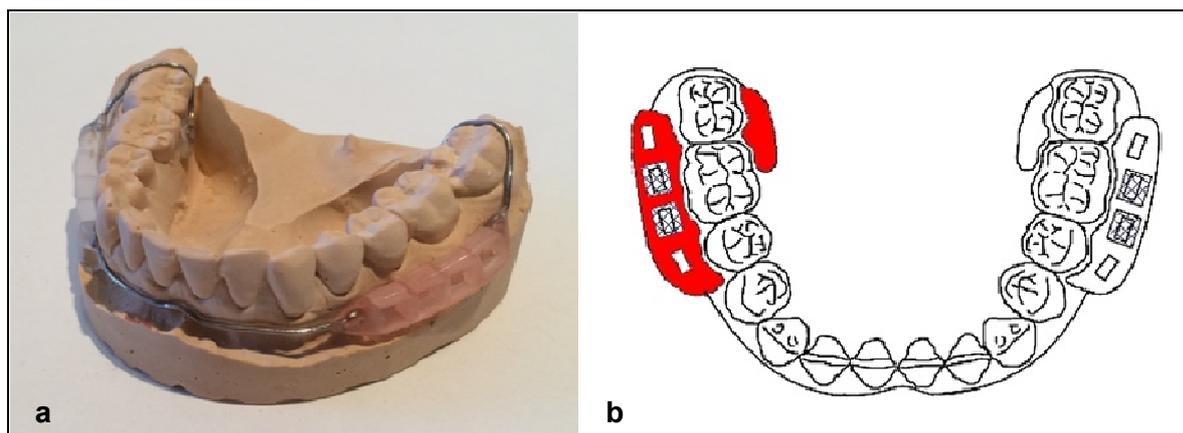


Abb. 3: (a) Darstellung der In-situ-Apparatur vor Bestückung mit Proben und (b) schematische Darstellung der Apparatur inklusive Proben und Kunststoffnetz (blau).

6.7 Herstellung der Schmelzproben

Zur Gewinnung der Schmelzproben wurden kariesfreie bovine Incisivi extrahiert, die bis zur weiteren Verwendung in verschließbaren Kunststoffbehältern (Frischhaltebox 4,5 l; Gies Kunststoffwerk, Niederaula, Deutschland) in 0,2 %iger Thymollösung (Thymol > 99 %) gelagert wurden. Mittels einer diamantierten Bandsäge (Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) wurden aus den Vestibulärflächen der bovinen Zähne Schmelzproben mit einer Größe von circa $5 \times 3,5 \times 3 \text{ mm}^3$ herausgetrennt, wobei zur Stabilisierung des Schmelzgefüges eine Schicht Dentin belassen wurde.

Darauffolgend wurde die Schmelzoberfläche unter Verwendung von Schleifpapier der Körnung 800 und 1200 (SiC-Paper 800, 1200, 305 mm; Struers, Ballerup, Dänemark) mittels einer Schleif- und Poliermaschine (Saphir 360E; ATM, Mammelzen, Deutschland) bei ständiger Wasserkühlung plan geschliffen. Im Anschluss erfolgte die Sterilisation der Proben durch Bedampfung mit Ethylenoxid bei 55°C und anschließender Lagerung für vier Wochen in steriler Kochsalzlösung (Isotonische Kochsalzlösung NaCl 0,9 %; Fresenius; Bad Homburg, Deutschland). Dabei wurde die Kochsalzlösung täglich gewechselt, damit sich mögliche Ethylenoxidreste lösen konnten. Anschließend wurde jede Probe mit Kunststoff ummantelt, so dass lediglich die Schmelzoberfläche zur In-situ-Exposition frei blieb. Daraufhin folgte eine Politur der Schmelzoberfläche mit Schleifpapier der Körnungen 2400 und 4000 (SiC-Paper) mittels einer Schleif- und Poliermaschine (Saphir 360E) unter permanenter Wasserkühlung. Im

Anschluss wurde mittels Nagellack (Express Finish Lacquer; Maybelline Jade L'Oréal, Düsseldorf, Deutschland) eine circa 1,5 mm breite Kontrollzone abgedeckt.

6.8 Demineralisationsprozess

Zur Simulation einer bestehenden Karies wurden in den Schmelzproben zunächst künstliche kariesähnliche Läsionen bei bestehender intakter Oberfläche im Bereich der Effektflächen erzeugt. Die Kontrollzone blieb durch den Schutzlack unverändert. Die Lagerung der Schmelzproben in der dazu verwendeten Demineralisationslösung (Tab. 2) erfolgte in verschließbaren Kunststoffbehältern (Frischhaltebox 4,5 l) in einem Brutschrank (B 6060; Heraeus, Hanau, Deutschland). Die Proben wurden für insgesamt 7 Tage bei einem pH-Wert von 4,95 und einer Temperatur von 37° C demineralisiert. Sowohl der pH-Wert als auch die Temperatur der Demineralisationslösung wurden täglich mit Hilfe eines pH-Meters (GMH-3550; Greisinger, Regenstauf, Deutschland) und entsprechender pH-Elektrode (GE100 BNC; Greisinger) kontrolliert und gegebenenfalls angepasst. Der pH-Wert wurde mittels einer Kaliumhydroxidlösung (10 M) beziehungsweise mit Salzsäure (15 % HCl) bei einer Abweichung wieder auf den Ausgangswert korrigiert.

Tab. 2: Zusammensetzung der Demineralisationslösung (BUSKES et al. 1985).

Inhaltsstoff	Konzentration in mmol/l	Menge	Ansatz
Kalziumchlorid-2-hydrat (CaCl ₂ ×2H ₂ O)	3	2,205g	zusammen 5 Liter
Kaliumhydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄)	3	2,041g	
Eisessig (CH ₃ COOH)	50	15,012g	
Kalilauge (KOH) 10M	ad pH5	23ml	
Methyldiphosphonsäure (MHDP) (CH ₂ [P(O)(OH) ₂] ₂)	0,006	5,3mg	
Thymol (C ₁₀ H ₁₄ O)	---	in Spuren	
Aqua dest.	55,6	ad 5 Liter	

6.9 Herstellung von Dünnschliffen

Sowohl vor Beginn als auch nach Beendigung der In-situ-Phase wurde von jeder Probe ein Dünnschliff erstellt, um die Schmelzprobe mikroradiografisch untersuchen zu können. Dieser Dünnschliff verlief quer zur Längsachse der Probe (Abb. 4). Zunächst wurde, um den Ausgangsmineralverlust der künstlichen Läsionen vor Beginn der In-situ-Phase auszuwerten, nach dem Demineralisationsprozess auf einer Seite ein Stirnflächenanteil des Einbettkunststoffes entfernt und die Schmelzprobe minimal angeschnitten. Diese Stirnfläche wurde im Anschluss mit Schleifpapier der Körnungen 2400 und 4000 (SiC-Paper 2400, 4000) mit einer Schleif- und Poliermaschine (Saphir 360E) unter permanenter Wasserkühlung poliert. Die polierte Oberfläche wurde daraufhin im rechten Winkel mit Sekundenkleber (Loctite 493 instant adhaesive; Loctite UK Ltd., Welwyn Garden City Hertfordshire, UK) auf einen Objektträger (Plexiglas 25×75×2 mm; patho-service GmbH, Oststeinbek, Deutschland) geklebt. Der Objektträger wurde anschließend an einem Sägeschlitten (Bandsäge Exakt 300cl) befestigt und ein Schnitt von etwa 250 µm Breite durchgeführt. Im automatisierten Schleif- und Poliergerät (Schleifsystem Exakt 400cs, Exakt Apparatebau) wurde ein Dünnschliff von 95-105 µm (Mikrometerschraube, Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan) erzeugt. Im Anschluss daran konnte der Dünnschliff wieder vorsichtig von dem Objektträger gelöst und mit Hilfe eines Streifens Tesafilm (Tesa SE; Hamburg, Deutschland) von circa 2 mm Breite im Probenhalter zur mikroradiografischen Darstellung befestigt werden. Zur Auswertung der Effektfläche nach Abschluss der In-situ-Phase wurde jede einzelne Probe zunächst wieder mittels Silikonform und Vaseline in Kunststoff (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) eingebettet. Danach erfolgte die Herstellung der Dünnschliffe analog zur Vorgehensweise der Prä-Expositions-Auswertung.

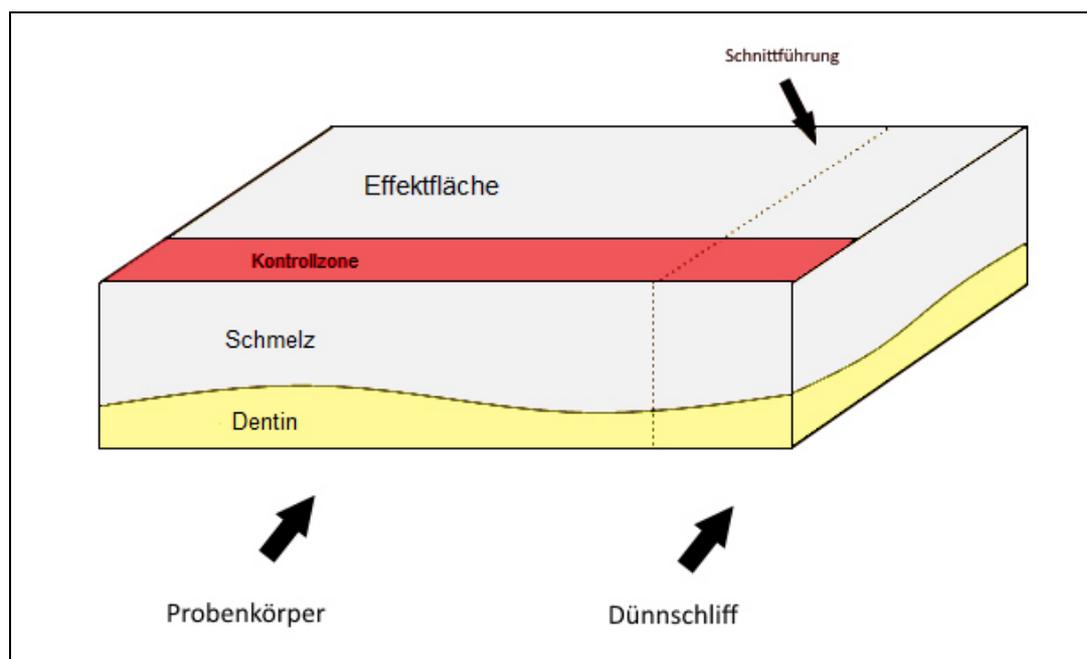


Abb. 4: Schematische Darstellung der Dünnschliffherstellung. Übersichtshalber nicht dargestellt: Seitliche Abdeckung durch Einbettungskunststoff.

6.10 Auswertung mittels Transversaler Mikroradiografie (TMR)

Je fünf der mit einem Dünnschliff bestückten Probenhalter (Probenhalter; Charité Facility Management, Mechanische Werkstätten, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland) wurden in einen Metallschlitten eingesetzt, welcher wiederum in einer Apparatur bestehend aus einem Röntgenstrahlgenerator (PW3830 X-ray generator; PANalytical, Almelo Niederlande), einer Röntgenröhre (Feinstruktur-Feinfokus-Röntgenröhre PW2213/20; PANalytical) und einem linsenfremigen Kameragehäuse positioniert wurde. Dieses Kameragehäuse war an der Röntgenröhre fixiert und eine Graustufeneichtreppe aus Aluminium war integriert. Durch die mechanische Arretierung der Proben war die Position jeder einzelnen Probe zwischen Röntgenstrahl und direkt vor dem hochauflösenden Film (Motion Picture Fuji fine grain positive film 71337; FUJIFILM Corporation, Tokyo, Japan) exakt definiert. Der Strahlengang verlief dadurch senkrecht zur Schnittebene der Schmelzproben wobei eine Belichtungszeit von 10 s bei 20 kV Spannung und 20 mA Stromstärke gewählt wurde. Die Entwicklung des Filmes erfolgte nach einem standardisierten Verfahren nach Herstellerangabe.

Nach abgeschlossener Entwicklung der Filme erfolgte die mikroradiografische Auswertung der Proben mit Hilfe eines Durchlichtmikroskops (Axioplan 2; Zeiss, Oberkochen, Deutschland) und einer Videokamera (CFW-1312M, Grayscale digital camera; Scion Corporation, Frederick, Maryland, USA) zur Digitalisierung der Filme. Die Läsionstiefe und der Mineralverlust wurden mittels einer speziellen Software (TMR/WIM Calculation Program v5.25; Joop de Vries, University of Groningen, Groningen, Niederlande) durch densitometrische Berechnung bestimmt. Zur Auswertung einer Probe wurde zunächst je ein Bild in dem in Abb. 5 gekennzeichnetem Bereich in zehnfacher Vergrößerung aufgenommen. Vor der Aufnahme eines Bildes wurden Ausrichtung, Schärfe und Lichtintensität manuell eingestellt. Zur eigentlichen densitometrischen Berechnung wurden aus diesen Bildern wiederum nur Bildausschnitte (Abb. 6) verwendet.

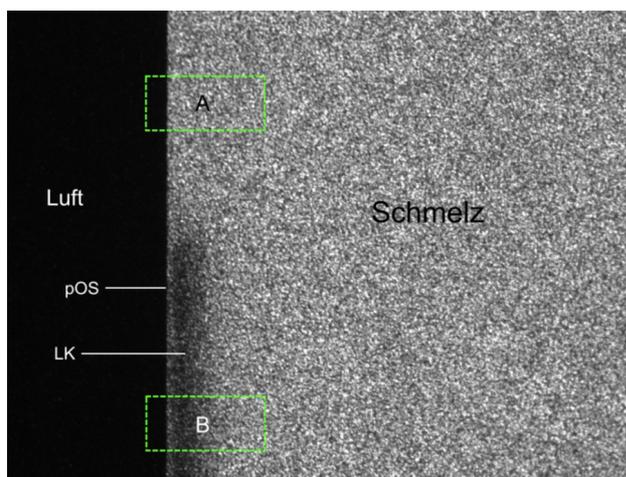
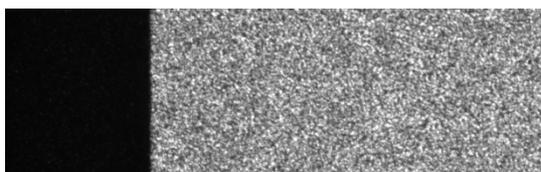
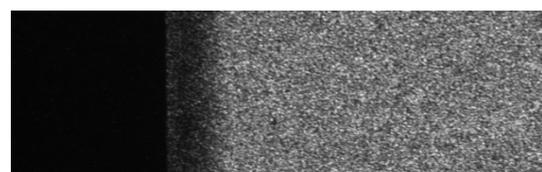


Abb. 5: Schematische Darstellung zur Anfertigung der Übersichtsaufnahmen (10-fache Vergrößerung).
Feld A (=Kontrollbereich) und Feld B (=Läsion); pOS: „pseudointakte“ Oberflächenschicht
LK: Läsionskörper



a=Kontrollbereich



b=Läsion

Abb. 6: Bildausschnitte einer exemplarisch ausgewählten Probe zur densitometrischen Berechnung. Bei der Auswahl der Ausschnitte sind genügend „Luft“ und gesunder Schmelz zur Kalibrierung der Software zu berücksichtigen.

Durch die Korrelation zwischen Grauwerten und Mineralgehalt kann aus den gemessenen Grauwerten der Probe der Mineralgehalt ($\text{Vol.}\% \times \mu\text{m}$) als Funktion der Tiefe (μm) dargestellt werden. Hierbei diente die Aluminiumeichtreppe aufgrund ihres dem Zahnschmelz sehr ähnlichen Attenuationskoeffizienten der Kalibrierung. Die erste Messung erfolgte jeweils in dem auch vor der Demineralisation *in vitro* abgedeckten und somit zu keinem Zeitpunkt exponierten Bereich (Abb. 6a). Die zweite Messung wurde typischerweise in der Mitte des visuell erfassbaren, demineralisierten Bereichs durchgeführt (Abb. 6b). Durch eine Überlagerung der Mikroradiogramme des Kontrollbereichs und der Läsion kann der Mineralverlust (ΔZ) als Fläche zwischen den beiden Mikroradiogrammen dargestellt werden. Die Läsionstiefe (LT) errechnet sich aus dem Abstand der Probenoberfläche bis zum Punkt, an dem der Mineralgehalt wieder 95 % des gesunden Zahnschmelzes entspricht. Die Mineralverlust- und Läsionstiefenmessungen wurden bei allen Proben in einem repräsentativen Bereich vor und nach der In-situ-Exposition durchgeführt und miteinander verglichen.

6.11 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurden die Daten der mikroradiografischen Auswertung tabellarisch geordnet (Excel 2010; Microsoft, Unterschleißheim, Deutschland), so dass jede Probe in Bezug auf Probennummer, Proband, Position und Behandlung (mechanische Reinigung/keine mechanische Reinigung) sowie ihre Zugehörigkeit zur verwendeten Zahncreme eindeutig identifizierbar war. Anschließend wurden die Daten mit einer Statistiksoftware (SPSS v18.0; SPSS, München, Deutschland) analysiert. Als Hauptzielparameter wurde die Mineralverlustdifferenz ausgewählt. Diese Änderung des Mineralverlustes wurde aus der Differenz der Ergebnisse nach Demineralisation *in vitro* (Ausgang) und nach Exposition *in situ* (Effekt) errechnet. Die Änderung der Läsionstiefe wurde analog dazu ermittelt.

Änderung des Mineralverlustes: $\Delta\Delta Z = \Delta Z_{\text{Ausgang}} - \Delta Z_{\text{Effekt}}$ ($\text{Vol.}\% \times \mu\text{m}$)

Änderung der Läsionstiefe: $\Delta LT = LT_{\text{Ausgang}} - LT_{\text{Effekt}}$ (μm)

Positive Werte für $\Delta\Delta Z$ und ΔLT zeigten eine Remineralisation an, negative Werte hingegen eine weitere Demineralisation. Die Kovarianzanalyse der Daten des Cross-

Over Design (ANCOVA) wurde durchgeführt, um Unterschiede in Bezug auf den Mineralverlust ($\Delta\Delta Z$) und die Läsionstiefe (ΔLT) zwischen den genutzten Zahncremes aufzuzeigen. Dabei wurden lediglich in Bezug auf den Parameter der mechanischen Reinigung (mechanische Reinigung/keine mechanische Reinigung) Untergruppen gebildet. Alle Tests wurden mit einem 5 %igen Signifikanzniveau überprüft.

7 ERGEBNISSE

Von den 20 Teilnehmern der Studie wurden vor Beginn der In-situ-Phase 2 Probanden aufgrund der Einnahme von Antibiotika ausgeschlossen. Alle 18 an der In-situ-Phase teilnehmenden Probanden (9 weiblich und 9 männlich; Alter 23-52 Jahre; Median 24 Jahre) hatten einen guten allgemeinen Gesundheitszustand, eine gute parodontale Gesundheit und es lag zu Beginn der In-Situ-Phase bei keinem der Teilnehmer eine aktive kariöse Läsion vor. Die individuelle Karieserfahrung der Probanden bewegte sich in einem Rahmen von 0-23 DMF-T (Median 3,5). Die stimulierten Speichelflussraten lagen zwischen 0,7 und 2,1 ml/min. Die Auswertung der Ernährungsprotokolle wies bei keinem der Studienteilnehmer auf einen regelmäßigen Konsum von hoch fluoridhaltigen Speisen oder Getränken hin. 16 der 18 Probanden trugen die Apparatur für 22-23 h täglich und absolvierten die vier In-situ-Phasen vollständig. Zwei Probanden missachteten das Studienprotokoll und wurden deshalb von der Analyse ausgeschlossen.

Von den insgesamt 256 Proben der In-situ-Phasen konnten 238 Proben ausgewertet und die Ergebnisse für den Mineralverlust und die Läsionstiefe der statistischen Auswertung zugeführt werden. Von den 18 nicht zu verwendenden Proben zeigten bei der Analyse der TMR-Bilder 15 Proben deutlich inhomogene oder erodierte Läsionen, sodass keine verlässliche Auswertung möglich war. Des Weiteren wurden drei Proben bei der Herstellung der Dünnschliffe beschädigt.

Vor der In-Situ-Phase wiesen die Proben einen mittleren Ausgangsmineralverlust (Standardfehler) von 2933 (26) Vol.% $\times\mu\text{m}$ bei einer Läsionstiefe von 80 (1) μm auf. Die Ergebnisse des t-Tests zur Überprüfung der Verteilung der Proben auf die intraoralen Apparaturen zeigten keinen signifikanten Unterschied im Hinblick auf den Mineralverlust und die Läsionstiefe ($p > 0,05$; t-Test).

Da die Mineralverlustdifferenz als Hauptzielparameter hinsichtlich des Vergleiches der Zahncremes ausgewählt wurde, stand diese bei der Betrachtung der Ergebnisse im

Vordergrund (Abb. 7, Tab. 3 im Anhang). Bei der Anwendung der Zahncremes F/CHX und F1450 war sowohl bei den mechanisch gereinigten als auch bei den nicht gereinigten Proben kein signifikanter Unterschied festzustellen ($p > 0,05$, ANCOVA).

Zur Validierung des gewählten In-situ-Modells sollte die Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen F1450, F500 und F0 überprüft werden. Die Ergebnisse im Vergleich von F1450 gegenüber F0 zeigten in beiden Gruppen eine signifikant geringere Zunahme der Demineralisation ($p < 0,05$) bei der Anwendung von F1450. Gegenüber F500 war bei der Anwendung von F1450 in keiner Gruppe ein signifikanter Unterschied nachzuweisen ($p > 0,05$). Bei dem Vergleich zwischen F500 und F0 traten differente Ergebnisse innerhalb der Behandlungsuntergruppen auf. Hierbei war nur bei den mechanisch gereinigten Proben eine signifikant geringere weitere Demineralisation ($p < 0,05$) während der In-situ Phase bei der Anwendung von F500 gegenüber F0 festzustellen.

Bei der Gruppe F/CHX konnte bei den mechanisch gereinigten Proben eine Remineralisation während der In-situ Phase festgestellt werden ($\Delta\Delta Z$: 260 (238) Vol.% $\times\mu\text{m}$). Ein solcher Mineralgewinn war bei keiner weiteren Behandlungsgruppe festzustellen. Sowohl im Vergleich zu F500 als auch zu F0 zeigte die Anwendung von F/CHX bei mechanisch gereinigten und nicht gereinigten Proben eine signifikant geringere Demineralisation ($p < 0,05$). Die weiteren nicht signifikanten Ergebnisse ($p > 0,05$) zeigten einen tendenziell kleineren Mineralverlust nach Abschluss der In-situ-Phase analog zu einem steigenden Fluoridgehalt. Weiterhin zeigten die Ergebnisse der mechanisch gereinigten Proben eine tendenziell kleinere Mineralverlustzunahme gegenüber den nicht gereinigten Proben. Einzig die Anwendung von F/CHX führte zu einem statistisch signifikanten Unterschied zwischen den mechanisch gereinigten und nicht gereinigten Proben ($p < 0,05$; t-Test).

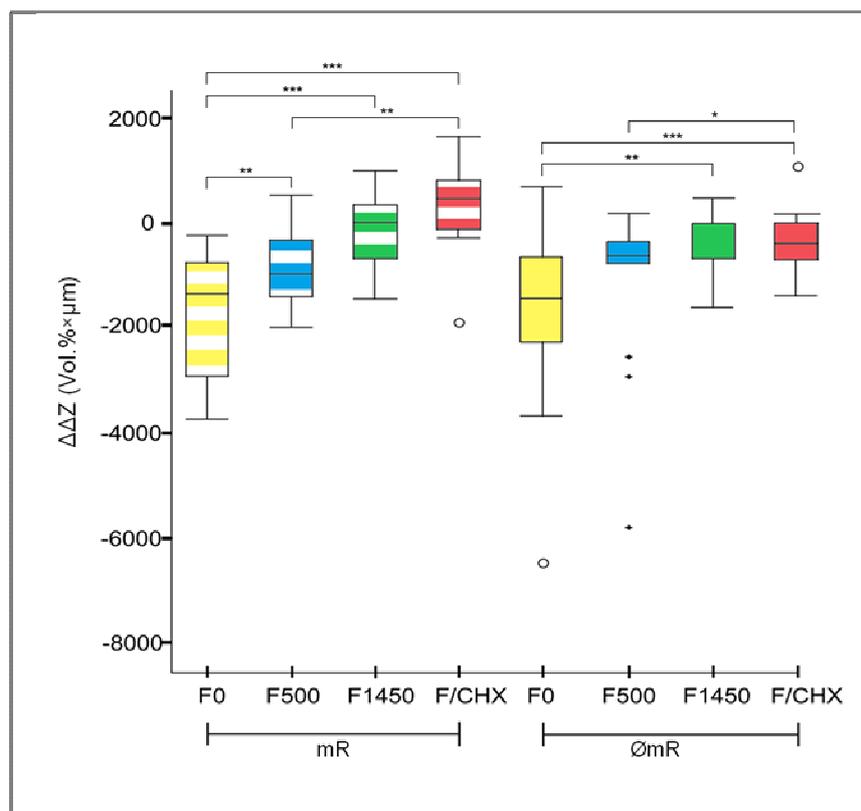


Abb. 7: Veränderungen des Mineralverlustes ($\Delta\Delta Z$) für beide Verfahren der mechanischen Reinigung; mR: mechanische Reinigung; ØmR: keine mechanische Reinigung
 gelb: F0; blau: F500; grün: F1450; rot: F/CHX
 Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen sind mit Sternen gekennzeichnet (*: $p \leq 0,05$; **: $p \leq 0,01$; ***: $p \leq 0,001$; t-Test).

Als sekundärer Parameter wurde die Veränderung der Läsionstiefe während In-situ-Exposition untersucht (Abb. 8, Tab. 4 im Anhang). Die statistische Auswertung zeigte dabei korrelierende Ergebnisse zur Mineralverlustdifferenz. Bei dem Vergleich der Anwendung von F/CHX und F1450 ergab sich auch für die Läsionstiefendifferenz kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$, ANCOVA). Bei der Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Beziehung zeigte sich eine signifikant geringere Läsionstiefenänderung bei der Anwendung von F1450 gegenüber F0 ($p < 0,05$). Im Vergleich von F1450 zu F500 ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$). Bei der Anwendung von F500 gegenüber F0 gab es, wie bei der Mineralverlustdifferenz, nur bei den mechanisch gereinigten Proben eine signifikant geringere Läsionstiefenänderung bei der Anwendung von F500 ($p < 0,05$). Auch die weiteren nicht signifikanten Ergebnisse zeigten eine tendenziell geringere Läsionstiefenzunahme nach In-situ-Exposition analog

zu einem steigenden Fluoridgehalt. Einzig die Anwendung von F/CHX führte bei den mechanisch gereinigten Proben zu einer Läsionstiefenabnahme. Die Ergebnisse der mechanisch gereinigten Proben zeigten analog zur Mineralverluständerung eine tendenziell geringere Läsionstiefenzunahme auf als die nicht mechanisch gereinigten Proben. Auch hier zeigte sich nur bei der Anwendung von F/CHX ein signifikanter Unterschied zwischen den mechanisch gereinigten und nicht gereinigten Proben ($p < 0,05$; t-Test).

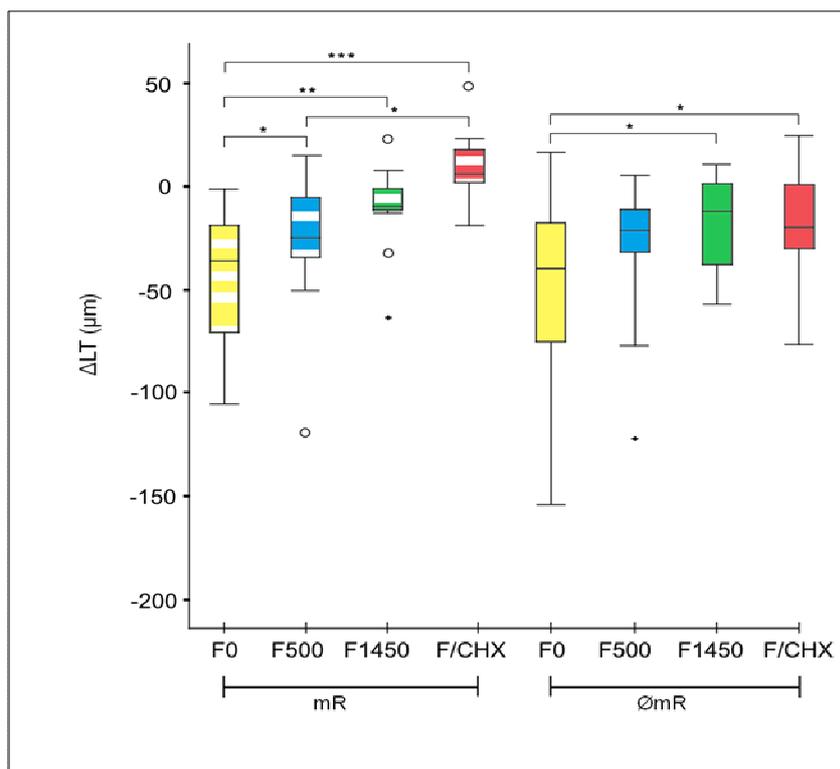


Abb. 8: Veränderungen der Läsionstiefe (ΔLD) für beide Verfahren der mechanischen Reinigung; mR: mechanische Reinigung; ØmR: keine mechanische Reinigung
gelb: F0; blau: F500; grün: F1450; rot: F/CHX
Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen sind mit Sternen gekennzeichnet (*: $p \leq 0,05$; **: $p \leq 0,01$; ***: $p \leq 0,001$; t-Test).

8 DISKUSSION

8.1 Diskussion von Material und Methode

In der durchgeführten Studie wurde der Einfluss von verschiedenen Zahncremes auf die Remineralisation von künstlichen kariösen Läsionen in bovinem Zahnschmelz *in situ* untersucht. Ein weiteres Ziel der Untersuchung bestand darin, den Einfluss einer regelmäßigen mechanischen Entfernung des Biofilms auf das Remineralisationspotential der Zahncremes zu untersuchen.

Die verwendete bilaterale Apparatur findet ihren Ursprung in einem der ersten verwendeten In-situ-Modelle, dem ICT (intraoral cariogenicity test model) (KOULOURIDES & VOLKER 1964), bei welchem Schmelz- oder Dentinproben in die bukkalen Flanken eingelassen werden konnten. Diese herausnehmbare Apparatur hat den Vorteil, dass während der In-situ-Phase stets die Möglichkeit besteht, etwaige Reparaturen durchzuführen, die inserierten Proben extraoral zu behandeln oder Messungen durchzuführen. Des Weiteren ist durch die bukkale Lage der Proben eine Beeinflussung durch die Zunge sowie eine Verschlechterung der Phonetik minimal (KOULOURIDES et al. 1974). Dieses Spangendesign wurde bereits in anderen Studien zur Wirkung fluoridierter Produkte verwendet (MEYER-LUECKEL et al. 2007, SCHIRRMEISTER et al. 2007). Aufgrund der Tatsache, dass die Mitarbeit der Probanden einen entscheidenden Einfluss auf die Gesamtergebnisse haben kann, wurde versucht, diese durch das Protokollieren der Ernährung und der Tragezeit, sowie wiederholte Instruktion und Motivation, zu erhöhen. Aus diesem Grund erfolgte auch eine randomisierte Verteilung der durch die Probanden mechanisch zu reinigenden Seite auf die intraoralen Apparaturen (rechts/links). Des Weiteren wurde die Studie als Doppelblindstudie durchgeführt, um nicht nur den Einfluss durch das Verhalten der Probanden, sondern auch der Betreuer auszuschließen. Der limitierte Tragekomfort der intraoralen Apparaturen kann zu einer reduzierten Akzeptanz durch die Studienteilnehmer führen. Die Mehrheit der Probanden erachtet bei In-situ-Studien eine relativ kurze Tragezeit der Apparaturen als zumutbar (FEATHERSTONE & ZERO 1992). Aufgrund der nur langsam

ablaufenden De- und Remineralisationsvorgänge der Zahnhartsubstanzen ist nur mit relativ geringen Veränderungen in den kariösen Läsionen zu rechnen. Um eine größtmögliche Akzeptanz der intraoralen Apparaturen bei der vorliegenden Studie zu erreichen, wurde deshalb bei der Gestaltung der Apparaturen auf ein möglichst schlankes Design Wert gelegt und die jeweilige Phasen-Tragezeit auf einen Zeitraum von 28 Tagen begrenzt.

Aufgrund der Möglichkeit der extraoralen Zufuhr kann bei In-situ-Studien ohne Bedenken ein hoch kariogenes Substrat gewählt werden, um eine Substratunterversorgung der potentiell kariogenen Plaque auszuschließen. Die tägliche Exposition der Schmelzproben von insgesamt 60 min in 10%iger Zuckerlösung erfolgte während der Nahrungsaufnahme der Probanden. Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch die zuvor verwendete Zahncreme auszuschließen, absolvierte jeder Proband eine einwöchige Auswaschphase mit der nächstfolgenden Zahncreme, wobei dieser Zeitraum auch in der Literatur als ausreichend angesehen wird (WALKER et al. 2010). Zur Erhöhung der Plaqueretention wurden die Schmelzproben, wie in anderen Studien zuvor, mit einem Kunststoffnetz belegt (HARA et al. 2003, ITTHAGARUN et al. 2005, COCHRANE et al. 2012). Dieses Vorgehen simuliert einen Approximalraum, der den Selbstreinigungskräften der Mundhöhle nur wenig zugänglich ist und damit die Bildung einer potentiell kariogenen Plaque begünstigt. Dieses plaqueretentive Modell wurde für diese Arbeit ausgewählt, da es bereits in einer vorherigen Studie (MEYER-LUECKEL et al. 2007) homogenere Ergebnisse erzielte als eine Ausrichtung von Schmelzproben zu einem realitätsnahen approximalen Bereich, der mittels einer Interdentalebürste zu reinigen war (MEYER-LUECKEL et al. 2015). Ein möglicher Nachteil des aufgelagerten Kunststoffnetzes könnte in der Beeinflussung des ökologischen Gleichgewichts innerhalb der Plaque liegen, wodurch auch ein Einfluss auf Remineralisationsvorgänge entstehen könnte (FEATHERSTONE & ZERO 1992).

Bedingt durch zahlreiche Vorteile gegenüber humanen Zähnen wurden bei dieser Studie bovine Zähne verwendet. Rinderzähne sind in größeren Mengen einfacher zu beschaffen, haben eine größere zu verwendende Oberfläche und zeigen hinsichtlich der Anzahl der kariösen Läsionen sowie der bisherigen Fluoridexposition geringere Differenzen als humane Zähne (GENTE et al. 1985, MELLBERG et al. 1992). Aufgrund der

großen Ähnlichkeit zwischen humanen und bovinen Zähnen in Bezug auf die chemische Zusammensetzung (ESSER 1998) als auch die ähnliche Anatomie und Mikrostruktur (NICKEL et al. 1987, OESTERLE et al. 1998) gilt boviner Zahnschmelz als probater Ersatz bei De- und Remineralisationsstudien in der Kariesforschung. Aufgrund der etwas vergrößerten Porosität von bovinem Zahnschmelz erfolgt die Demineralisation etwas schneller und weist aufgrund der größeren Homogenität der Zähne eine geringere Variabilität auf (MELLBERG et al. 1992). In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass sich die Ergebnisse eines In-situ-Modells hinsichtlich der Verwendung von boviner und humaner Zahnhartsubstanz zwar quantitativ aber nicht qualitativ unterscheiden (MELLBERG 1992, ZERO 1995).

Auch bei der Bearbeitung der Proben wurden etablierte Verfahren eingesetzt. Die Schaffung einer planparallelen Schmelzoberfläche durch Abtrag und Politur mittels Schleifpapier ermöglichte zum einen eine standardisierte Messung des Mineralverlustes mittels TMR und sorgte zum anderen für homogenere Demineralisationstiefen gegenüber unpolierten Proben (ZERO 1995). Die gewählte Demineralisationsmethode zur Schaffung künstlicher Schmelzkaries (BUSKES et al. 1985) hat sich in der Vergangenheit in verschiedenen Studien bewährt (MEYER-LUECKEL et al. 2007, PARIS & MEYER-LUECKEL 2010). Das zur Gassterilisation der Proben verwendete Ethylenoxid hat dabei einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Ergebnisse kariologischer In-situ-Versuche (THOMAS et al. 2007). Die Auswertung der Proben mit Hilfe der Dünnschlifftechnik und der darauf folgenden TMR sowie die mikrodensitometrische Auswertung mit Softwareunterstützung stellt den aktuellen Goldstandard für quantitätsbezogene Änderungen von Initialläsionen in Bezug zum Mineralgehalt dar (ZERO 1995).

Generell bieten In-situ-Studien die Möglichkeit, die zu untersuchenden Proben dem natürlichen Milieu der Mundhöhle zuzuführen. Dadurch wirken dieselben Einflussfaktoren auf De- und Remineralisationsvorgänge wie an natürlichen Zähnen auf die Proben (MANNING & EDGAR 1992). Im Gegensatz zu kostenintensiveren klinischen Studien, die meist erst nach Jahren Ergebnisse liefern können, sind bei In-situ-Studien bereits in einem relativ kurzen Zeitraum von mehreren Wochen relevante Informationen zu erwarten. Eine Ursache dafür liegt in der Möglichkeit der Anwendung von invasiven

Analysemethoden, wie zum Beispiel der Transversalen-Mikroradiografie (TMR). Bei klinischen Studien hingegen muss auf non-invasive aber auch weniger sensitive Verfahren zurückgegriffen werden (WEFEL 1990, ZERO 1995). Im Vergleich zu In-vitro-Versuchen stellt die oftmals begrenzte Anzahl an Probanden, einhergehend mit einer limitierten Anzahl zu untersuchender Proben, einen Nachteil bei In-situ-Versuchen dar.

In der vorliegenden Studie wurden vier verschiedenen Zahncremes untersucht. Zur Validierung des Modells wurden eine Zahncreme mit einem Fluoridgehalt von 1450 ppm (F1450) und eine Zahncreme ohne Fluorid (F0) angewandt. Dabei fungierte die Zahncreme F1450 als Positivkontrolle gegenüber der fluoridfreien Zahncreme F0 (Negativkontrolle). Weiterhin wurde neben der Testzahncreme F/CHX eine Zahncreme mit einem Fluoridgehalt von 500 ppm (F500) zur Kontrolle der Dosis-Wirkungs-Beziehung verwendet. Diesbezüglich zeigte eine systematische Übersichtsarbeit den kariespräventiven Effekt bei der häuslichen Anwendung von Zahncremes mit einer Fluoridkonzentration von über 1000 ppm im Vergleich zu einem fluoridfreien Placebo. Eine verminderte Fluoridkonzentration (440/500/550 ppm) konnte zwar einen tendenziellen aber nicht gleichermaßen signifikanten kariespräventiven Effekt erzielen (WALSH et al. 2010).

8.2 Diskussion der Ergebnisse

Die Haupthypothese der vorliegenden Studie nahm an, dass kein signifikanter Unterschied zwischen der Testzahncreme F/CHX und der Positivkontrolle F1450 hinsichtlich der Remineralisation von Zahnschmelz bestehen würde und wurde durch die gefundenen Ergebnisse angenommen. In der vorliegenden Studie wurde als Hauptzielparameter die Mineralverlustdifferenz vor und nach Exposition *in situ* untersucht. Die Ergebnisse der Testzahncreme F/CHX wiesen hierbei keinen signifikanten Unterschied zur Positivkontrolle F1450 auf, wobei sowohl bei den mechanisch gereinigten als auch bei den nicht mechanisch gereinigten Proben eine tendenziell stärkere Demineralisationshemmung der Testzahncreme als bei der Positivkontrolle festzustellen war. Die mit der Testzahncreme mechanisch gereinigten Proben waren die einzigen, die tendenziell keine weitere Demineralisation zeigten.

Die Sekundärhypothese besagte, dass eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der Positivkontrolle F1450, der Dosis-Wirkungskontrolle F500 und der Negativkontrolle F0 bestünde. Diese wurde durch die gefundenen Ergebnisse ebenfalls gestützt. Die für die Validierung des Modells benötigten Ergebnisse der Positivkontrolle F1450 im Vergleich zur Negativkontrolle F0 zeigten eine signifikant geringere Demineralisation bei der Anwendung der Positivkontrolle, wobei sich der größte Unterschied in quantitativer Hinsicht bei den mechanisch gereinigten Proben ergab. Unter Einbezug der Ergebnisse der Dosis-Wirkungskontrolle F500 zeigte sich in diesem Zusammenhang ein tendenziell positiver Effekt einer steigenden Fluoridkonzentration, der teilweise das Signifikanzniveau erreichte. Dieser positive Einfluss des Fluoridgehaltes auf die Remineralisation korreliert mit den Ergebnissen aus der Literatur (REED 1973, MELLBERG et al. 1992, TWETMAN et al. 2003). Durch die gefundenen Ergebnisse konnte das verwendete In-situ-Modell validiert werden.

Bisher gibt es nur wenige klinische Studien, welche die Wirkung von Chlorhexidin in Zahncremes untersucht haben. Diese sind auf klinische Parameter wie Plaquestatus, Papillenblutung, Verfärbung und Zahnsteinbildung begrenzt (JENKINS et al. 1993a, YATES et al. 1993, OLYMPIO et al. 2006, RATHE et al. 2007). Dabei konnte gezeigt werden, dass eine Zahncreme mit Natriumfluorid (1100 ppm) und Chlorhexidin (0,95 %) im Vergleich zu einer Zahncreme mit 1100 ppm Natriumfluorid bei dreimal täglicher Anwendung für drei Monate deutlich reduzierte Gingivitis-, Plaque- und Blutungsindizes aufwies (OLYMPIO et al. 2006). Bei der Anwendung einer Zahncreme mit Chlorhexidin-Digluconat (0,05 %), Aluminium-Laktat (0,8 %) und Aluminiumfluorid (1360 ppm) im Vergleich zu einer Zahncreme mit 1400 ppm Aluminiumfluorid über einen Anwendungszeitraum von sechs Monaten konnte eine Reduktion der Gingivitis gezeigt werden. Hierbei gab es keine signifikante Zunahme von Zahnstein oder Verfärbungen der Zähne (RATHE et al. 2007). Obwohl in der Literatur auch Hinweise bestehen, dass der positive kariostatische Einfluss von Fluoriden durch die gegensätzliche elektrische Ladung von Chlorhexidin (BARKVOLL et al. 1989, KOLAHİ & SOOLARI 2006) und die geringe Löslichkeit von AlF_3 (HOOK et al. 1994) verschlechtert werden könnte, zeigten die Ergebnisse der vorliegenden Studie keinen Hinweis darauf. Eine Übersichtsarbeit wies darauf hin, dass lösliche Aluminiumsalze einen kariostatischen Effekt besitzen (KLEBER & PUTT 1984). Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen könnte Aluminium

die Eigenschaften des (teilweise inaktivierten) Fluorids verbessern und möglicherweise durch eine Interaktion mit Apatit zur Bildung eines stabileren und weniger löslichen Minerals beitragen (INGRAM 1990).

Nach Abschluss der vierwöchigen In-situ-Phase ergab sich für alle Proben, bis auf die mit der Testzahncreme F/CHX mechanisch gereinigten Proben, eine weitere leichte Zunahme des Mineralverlusts im Vergleich zur Ausgangssituation. Dieses steht im Einklang mit den Ergebnissen einer anderen dreimonatigen In-situ-Studie mit einem den Approximal-Raum simulierenden Modell (SJOGREN et al. 1995). Die im Vergleich zu einer vorherigen In-situ-Studie unserer Arbeitsgruppe (PARIS et al. 2011) eher geringere Remineralisation bzw. weitere Demineralisation der Läsionen kann in den unterschiedlichen Ausgangsläsionen vor In-situ-Exposition begründet sein (TEN CATE 1994). Diese waren in der vorliegenden Studie mit 2933 Vol.% $\times\mu\text{m}$ deutlich geringer als in der vorherigen Studie unserer Arbeitsgruppe mit 4519 Vol.% $\times\mu\text{m}$. Läsionen mit geringerem Mineralverlust demineralisieren dabei stärker als solche mit größerem Mineralverlust (SCHAFER et al. 1992). Korrelierend damit kommt eine andere Studie mit einem den Approximal-Raum simulierenden Modell in einer Teilprothese zu der Schlussfolgerung, dass stärker demineralisierte Läsionen dazu neigen, unabhängig von der Behandlung, stärker zu remineralisieren (DUNIPACE et al. 1997).

In der durchgeführten Studie wurde sowohl der Mineralverlust als auch die Läsionstiefe der Proben vor und nach der In-situ-Exposition untersucht. In Studien verschiedener Arbeitsgruppen wird deutlich, dass der Mineralverlust im Vergleich zu der Läsionstiefe den aussagekräftigeren und sensitiveren Parameter darstellt. In den meisten Gruppen der vorliegenden Studie wurde eine Korrelation zwischen Mineralverlust und der Läsionstiefe beobachtet. Die Tatsache, dass dieses nicht bei allen Gruppen der Fall war, zeigt aber, dass sich ein Netto-Mineralgewinn nicht bis in die Tiefe einer Läsion auswirken muss. Einhergehend damit kann es durch eine Umverteilung der Mineralien in einer Läsion auch zu einer Reduktion der Läsionstiefe kommen, ohne dass es sich dabei um eine Remineralisation der gesamten Läsion handelt. Weiterhin spielt die Anordnung des verbliebenen Materials in der Ausgangsläsion eine direkte Rolle bei der Remineralisation *in situ* (LIPPERT et al. 2011). Deshalb wurde die Mineralverlustdifferenz

zwischen Prä- und Post- In-Situ-Phase in dieser Studie für die Zusammenfassung der Ergebnisse als Hauptzielparameter gewählt.

Des Weiteren wurde der Einfluss einer mechanischen Reinigung auf das Remineralisationspotential der verwendeten Zahncremes untersucht. Der Vergleich zwischen den Proben mit und ohne mechanische Reinigung zeigt einen tendenziell positiven Effekt der mechanischen Plaqueentfernung auf, der aber nur bei der Testzahnpaste F/CHX das Signifikanzniveau erreichte. Dieses unterstreicht zum einen die Wirksamkeit der Fluoridapplikation, zeigt aber auch, dass das in dieser Studie gewählte plaqueretentive Modell zwar der mechanischen Reinigung mit der Zahnbürste zugänglich ist, aber nur eine begrenzte Entfernung der Plaque zulässt.

9 SCHLUSSFOLGERUNG

Auf Grundlage der Ergebnisse dieser In-situ-Studie kann geschlussfolgert werden, dass die Testzahncreme F/CHX einen ähnlichen demineralisationshemmenden Effekt wie die Positivkontrolle F1450 besitzt. Ein reduzierter Fluoridzusatz (F500) sowie kein Fluoridzusatz (F0) können hingegen eine Demineralisation an einem plaqueretentiven Modell nicht im gleichen Maße hemmen. In der vorliegenden Studie konnte dargestellt werden, dass das verwendete plaqueretentive Modell in der Lage ist, einen signifikant geringeren Mineralverlust bei der Verwendung einer Natriumfluorid-haltigen Zahncreme (Positivkontrolle) gegenüber einer Zahncreme ohne Fluorid (Negativkontrolle) zu erzeugen. Daher erlaubt es der Studienaufbau, Aussagen zum Remineralisationspotential anderer Präparate (AlF₃- und CHX-haltige Zahncreme) zu treffen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass eine mechanische Reinigung mit einer Handzahnbürste nur einen geringfügigen Effekt auf die demineralisationshemmende Wirkung einer fluoridhaltigen Zahncreme aufweist. Der geringe Unterschied zur Behandlung ohne mechanische Reinigung spricht für die gute Wirksamkeit von fluoridhaltigen Präparaten bei der Kariesprävention.

10 LITERATURVERZEICHNIS

- ADDY M, DOWELL P: Dentine hypersensitivity: effect of interactions between metal salts, fluoride and chlorhexidine on the uptake by dentine. *J Oral Rehabil* 13: 599-605 (1986)
- AHRENS G: [Efficiency of fluoride dosage forms: solutions and gels]. *Dtsch Zahnarztl Z* 38 Suppl 1: 65-9 (1983)
- AL-TANNIR M A, GOODMAN H S: A review of chlorhexidine and its use in special populations. *Spec Care Dentist* 14: 116-22 (1994)
- ARENDS J, DUSCHNER H, RUBEN J L: Penetration of varnishes into demineralized root dentine in vitro. *Caries Res* 31: 201-5 (1997)
- BARKVOLL P, ROLLA G, SVENDSEN K: Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium lauryl sulfate in vivo. *J Clin Periodontol* 16: 593-5 (1989)
- BERGMAN G, LIND P O: A quantitative microradiographic study of incipient enamel caries. *J Dent Res* 45: 1477-84 (1966)
- BERGMANN K E, BERGMANN R L: Salt fluoridation and general health. *Adv Dent Res* 9: 138-43 (1995)
- BERKOVITZ B K B, HOLLAND G R, MOXHAM B J: *Oral Anatomy*. London (1992)
- BORUTTA A, REUSCHER G, HUFNAGL S, MOBIUS S: [Caries prevention with fluoride varnishes among preschool children]. *Gesundheitswesen* 68: 731-4 (2006)
- BRUUN C, GIVSKOV H: Formation of CaF₂ on sound enamel and in caries-like enamel lesions after different forms of fluoride applications in vitro. *Caries Res* 25: 96-100 (1991)
- BUSKES J A, CHRISTOFFERSEN J, ARENDS J: Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Res* 19: 490-6 (1985)
- COCHRANE N J, SHEN P, BYRNE S J, WALKER G D, ADAMS G G, YUAN Y, REYNOLDS C, HOFFMANN B, DASHPER S G, REYNOLDS E C: Remineralisation by chewing sugar-free gums in a randomised, controlled in situ trial including dietary intake and gauze to promote plaque formation. *Caries Res* 46: 147-55 (2012)

- DARLING A I, MORTIMER K V, POOLE D F, OLLIS W D: Molecular sieve behaviour of normal and carious human dental enamel. *Arch Oral Biol* 5: 251-73 (1961)
- DGZMK: Leitlinie "Fluoridierungsmaßnahmen zur Kariesprophylaxe" 2013. Deutschland: Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, 2013.
- DUNIPACE A J, HALL A F, KELLY S A, BEISWANGER A J, FISCHER G M, LUKANTSOVA L L, ECKERT G J, STOOKEY G K: An in situ interproximal model for studying the effect of fluoride on enamel. *Caries Res* 31: 60-70 (1997)
- DUSCHNER H, UCHTMANN H, DUSCHNER H A: [Mechanism of the effect of fluoride after Duraphat treatment]. *Dtsch Zahnärztl Z* 39: 705-9 (1984)
- EDGAR M, DAWES C, O'MULLANE D: Saliva and oral health. BDJ Books, London (2004)
- EKSTRAND K, MARTIGNON S: Visuell-taktile Detektion und Beurteilung. In: Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand K, (Hrsg): Karies. Thieme, Stuttgart: 77-94 (2012)
- EKSTRAND K, ZERO D T: Die Ökologie der Mundhöhle. In: Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand K, (Hrsg): Karies. Thieme, Stuttgart: 4-21 (2012)
- EMILSON C G, ERICSON T, HEYDEN G, MAGNUSSON B C: Uptake of chlorhexidine to hydroxyapatite. *J Periodontal Res Suppl* 12: 17-21 (1973)
- ESSER M: Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 53: 713-17 (1998)
- FEATHERSTONE J D, ZERO D T: An in situ model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. *J Dent Res* 71 Spec No: 804-10 (1992)
- FEJERSKOV O, THYLSTRUP A: Different concepts of dental caries and their implications. In: Thylstrup A, Fejerskov O, (Hrsg): Textbook of clinical cariology. Munksgaard, Copenhagen: 209-17 (1994)
- FLOTRA L: Different modes of chlorhexidine application and related local side effects. *J Periodontal Res Suppl* 12: 41-4 (1973)
- FORSTEN L, KARJALAINEN S: Effect of a Ca(OH)₂ solution and a chlorhexidine based detergent on the microbial activity of human carious teeth. *Acta Odontol Scand* 35: 275-80 (1977)
- FRANK R M: Structural events in the caries process in enamel, cementum, and dentin. *J Dent Res* 69 Spec No: 559-66 (1990)

- GENTE M, SONDERMANN U, LEHMANN K M: [Linear coefficient of thermal expansion for bovine enamel and dentin]. *Dtsch Zahnärztl Z* 40: 488-90 (1985)
- GJERMO P, BONESVOLL P, ROLLA G: Relationship between plaque-inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch Oral Biol* 19: 1031-4 (1974)
- GREENSTEIN G, BERMAN C, JAFFIN R: Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 57: 370-7 (1986)
- GÜLZOW H-J, HELLWIG E, HETZER G: Empfehlungen zur Kariesprophylaxe mit Fluoriden. *Dtsch Zahnärztl Z*: (2002)
- GWINNETT A J: Structure and composition of enamel. *Oper Dent Suppl* 5: 10-7 (1992)
- HARA A T, QUEIROZ C S, PAES LEME A F, SERRA M C, CURY J A: Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 37: 339-44 (2003)
- HAUGEJORDEN O: Using the DMF gender difference to assess the "major" role of fluoride toothpastes in the caries decline in industrialized countries: a meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol* 24: 369-75 (1996)
- HELLWIG E, KLIMEK J, ATTIN T: Einführung in die Zahnerhaltung. Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln (2009)
- HICKS M J, SILVERSTONE L M: Internal morphology of surface zones from acid-etched caries-like lesions: a scanning electron microscopic study. *J Dent Res* 64: 1296-301 (1985)
- HICKS M J, FLAITZ C M: Enamel caries formation and lesion progression with a fluoride dentifrice and a calcium-phosphate containing fluoride dentifrice: a polarized light microscopic study. *ASDC J Dent Child* 67: 21-8, 8 (2000)
- HJELJORD L G, ROLLA G, BONESVOLL P: Chlorhexidine-protein interactions. *J Periodontal Res Suppl* 12: 11-6 (1973)
- HOFFMANN-AXTHELM W: Lexikon der Zahnmedizin. Quintessenz-Verlag, Berlin (1995)
- HOFFMANN T, BRUHN G, RICHTER S, NETUSCHIL L, BRECX M: Clinical controlled study on plaque and gingivitis reduction under long-term use of low-dose chlorhexidine solutions in a population exhibiting good oral hygiene. *Clin Oral Investig* 5: 89-95 (2001)
- HOOK M, CHRISTOFFERSEN J, CHRISTOFFERSEN M R, LEONARDBSEN E S, RASSING M R, ROSTRUP E: Effects of aluminum (III) and fluoride on the demineralization of

- bovine enamel: a longitudinal microradiographic study. *Scand J Dent Res* 102: 198-201 (1994)
- INGRAM G S: Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res* 69 Spec No: 581-6; discussion 634-6 (1990)
- ITTHAGARUN A, KING N M, YIU C, DAWES C: The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions in situ. *Caries Res* 39: 251-4 (2005)
- JENKINS S, ADDY M, NEWCOMBE R: The effects of a chlorhexidine toothpaste on the development of plaque, gingivitis and tooth staining. *J Clin Periodontol* 20: 59-62 (1993a)
- JENKINS S, ADDY M, NEWCOMBE R: Evaluation of a mouthrinse containing chlorhexidine and fluoride as an adjunct to oral hygiene. *J Clin Periodontol* 20: 20-5 (1993b)
- JOHNSON B T: Uses of chlorhexidine in dentistry. *Gen Dent* 43: 126-32, 34-40 (1995)
- JOYSTON-BECHAL S, HERNAMAN N: The effect of a mouthrinse containing chlorhexidine and fluoride on plaque and gingival bleeding. *J Clin Periodontol* 20: 49-53 (1993)
- KIDD E A, JOYSTON-BECHAL S, BEIGHTON D: Marginal ditching and staining as a predictor of secondary caries around amalgam restorations: a clinical and microbiological study. *J Dent Res* 74: 1206-11 (1995)
- KIDD E A, FEJERSKOV O: What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 83 Spec No C: C35-8 (2004)
- KIDD E A M, RICHARDS A, THYLSTRUP A, FEJERSKOV O: The susceptibility of 'young' and 'old' human enamel to artificial caries in vitro. *Caries Res* 18: 226-30 (1984)
- KIDD E A M, PITTS N B: A reappraisal of the value of the bitewing radiograph in the diagnosis of posterior approximal caries. *Br Dent J* 169: 195-200 (1990)
- KIDD E A M, MEJARE I, NYVAD B: Clinical and radiographic diagnosis. In: Fejerskov O, Kidd E A M, (Hrsg): *Dental caries: The disease and its clinical management*. Blackwell Munksgaard, Oxford: 111-28 (2003)
- KIRKEGAARD E: In vitro fluoride uptake in human dental enamel from four different dentifrices. *Caries Res* 11: 24-9 (1977)
- KLEBER C J, PUTT M S: Aluminum and dental caries. A review of the literature. *Clin Prev Dent* 6: 14-25 (1984)

- KLIMM W: Kariologie. Hanser, München (1997)
- KOLAH J, SOOLARI A: Rinsing with chlorhexidine gluconate solution after brushing and flossing teeth: a systematic review of effectiveness. *Quintessence Int* 37: 605-12 (2006)
- KOMOROWSKI R, GRAD H, WU X Y, FRIEDMAN S: Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod* 26: 315-7 (2000)
- KÖNIG K G: Karies und Kariesprophylaxe. Thieme, Stuttgart (1987)
- KOULOURIDES T, VOLKER J F: Changes of Enamel Microhardness in the Human Mouth. *Ala J Med Sci* 1: 435-7 (1964)
- KOULOURIDES T, PHANTUMVANIT P, MUNKSGAARD E C, HOUSCH T: An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. *J Oral Pathol* 3: 185-96 (1974)
- LEVY S M: An update on fluorides and fluorosis. *J Can Dent Assoc* 69: 286-91 (2003)
- LIN S, ZUCKERMAN O, WEISS E I, MAZOR Y, FUSS Z: Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. *J Endod* 29: 416-8 (2003)
- LIPPERT F, LYNCH R J, ECKERT G J, KELLY S A, HARA A T, ZERO D T: In situ fluoride response of caries lesions with different mineral distributions at baseline. *Caries Res* 45: 47-55 (2011)
- LOE H, SCHIOTT C R: The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontal Res* 5: 79-83 (1970)
- LÜLLMANN-RAUCH R: Taschenlehrbuch Histologie. Thieme, Stuttgart (2003)
- LUOMA H: The effects of chlorhexidine and fluoride combinations on the potassium, sodium and phosphorus content and acid production of cariogenic streptococci. *Arch Oral Biol* 17: 1431-7 (1972)
- LUOMA H, MURTOMAA H, NUUJA T, NYMAN A, NUMMIKOSKI P, AINAMO J, LUOMA A R: A simultaneous reduction of caries and gingivitis in a group of schoolchildren receiving chlorhexidine-fluoride applications. Results after 2 years. *Caries Res* 12: 290-8 (1978)
- LYNCH R J, NAVADA R, WALIA R: Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes. *Int Dent J* 54: 304-9 (2004)

- MANNING R H, EDGAR W M: Intra-oral models for studying de- and remineralization in man: methodology and measurement. *J Dent Res* 71 Spec No: 895-900 (1992)
- MARINHO V C, HIGGINS J P, LOGAN S, SHEIHAM A: Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*: CD002279 (2002)
- MEJARE I, KALLESTAL C, STENLUND H, JOHANSSON H: Caries development from 11 to 22 years of age: a prospective radiographic study. Prevalence and distribution. *Caries Res* 32: 10-6 (1998)
- MELLBERG J R: Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 71 Spec No: 913-9 (1992)
- MELLBERG J R, PETROU I D, GROTE N E: A study of the ability of an in situ remineralization model to differentiate between the effects of two fluoride dentifrices that produced significantly different clinical caries results. *J Dent Res* 71: 1169-72 (1992)
- MENAKER L: The biologic basis of dental caries. Harper & Row, Hagerstown (1980)
- MENDIETA C, VALLCORBA N, BINNEY A, ADDY M: Comparison of 2 chlorhexidine mouthwashes on plaque regrowth in vivo and dietary staining in vitro. *J Clin Periodontol* 21: 296-300 (1994)
- MEYER-LUECKEL H, BITTER K, KIELBASSA A M: Effect of a fluoridated food item on enamel in situ. *Caries Res* 41: 350-7 (2007)
- MEYER-LUECKEL H, PARIS S: Mundgesundheitsförderung: Implementierung non-invasiver Interventionen und verhaltensmodifizierende Ansätze zur Beherrschung des Kariesprozess. In: Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand K, (Hrsg): Karies. Thieme, Stuttgart: 214-30 (2012)
- MEYER-LUECKEL H, WIERICHS R J, SCHELLWIEN T, PARIS S: Remineralizing efficacy of a CPP-ACP cream on enamel caries lesions in situ. *Caries Res* 49: 56-62 (2015)
- MURRAY J J, WINTER G B, HURST C P: Duraphat fluoride varnish. A 2-year clinical trial in 5-year-old children. *Br Dent J* 143: 11-7 (1977)
- NAUJOKS R: [Efficiency and economy of fluoride dosage forms: toothpaste]. *Dtsch Zahnarztl Z* 38 Suppl 1: 61-4 (1983)
- NICKEL R, SCHUMMER A, SEIFERLE E: Lehrband der Anatomie der Haustiere. Parey Berlin (1987)

- NÖHRING F J: Langenscheidts Fachwörterbuch Medizin. Langenscheidts Fachverlag Berlin/München (2004)
- NOVIKOV L L, TREIDE A, KOLESNIK A G, STOSSER L, SCHAPER R: [Effects of inorganic and organic fluorides combined with molybdenum and chlorhexidine upon processes of metabolism, fluoride content, and cariosity of the teeth of Wistar rats (author's transl)]. Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl 68: 3-8 (1980)
- NYVAD B: Diagnosis versus detection of caries. Caries Res 38: 192-8 (2004)
- OESTERLE L, SHELLHART W, BELANGER G: The use of bovine enamel in bonding studies. Am J Orthod Dentofacial Orthop 114: 514-9 (1998)
- OLYMPIO K P, BARDAL P A, DE M B J R, BUZALAF M A: Effectiveness of a chlorhexidine dentifrice in orthodontic patients: a randomized-controlled trial. J Clin Periodontol 33: 421-6 (2006)
- PARIS S, MEYER-LUECKEL H: Inhibition of caries progression by resin infiltration in situ. Caries Res 44: 47-54 (2010)
- PARIS S, SCHELLWIEN T, DÖRFER C E, MEYER-LÜCKEL H: Remineralizing effects of a CPP-ACP containing cream and prolonged NaF toothpaste application in situ. Caries Res 45: 197 (2011)
- PARIS S, DOERFER C, MEYER-LUECKEL H: Karieskontrolle durch Beeinflussung des Biofilms. In: Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand K, (Hrsg): Karies. Thieme, Stuttgart: 161-75 (2012a)
- PARIS S, EKSTRAND K, MEYER-LUECKEL H: Von der Diagnostik zur Therapie. In: Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand K, (Hrsg): Karies. Thieme, Stuttgart: 147-59 (2012b)
- PARIS S, MEYER-LUECKEL H: Paradigmenwechsel. In: Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand K, (Hrsg): Karies. Thieme, Stuttgart: 70-5 (2012)
- PEARCE E I, NELSON D G: Microstructural features of carious human enamel imaged with back-scattered electrons. J Dent Res 68: 113-8 (1989)
- PERDIGAO J, DENEHY G E, SWIFT E J, JR.: Effects of chlorhexidine on dentin surfaces and shear bond strengths. Am J Dent 7: 81-4 (1994)
- RATHE F, AUSCHILL T M, SCULEAN A, GAUDSZUHN C, ARWEILER N B: The plaque and gingivitis reducing effect of a chlorhexidine and aluminium lactate containing dentifrice (Lacalut aktiv) over a period of 6 months. J Clin Periodontol 34: 646-51 (2007)

- REED M W: Clinical evaluation of three concentrations of sodium fluoride in dentifrices. *J Am Dent Assoc* 87: 1401-3 (1973)
- ROLLA G, LOE H, SCHIOTT C R: The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *J Periodontal Res* 5: 90-5 (1970)
- SCHAEKEN M J, KELTJENS H M, VAN DER HOEVEN J S: Effects of fluoride and chlorhexidine on the microflora of dental root surfaces and progression of root-surface caries. *J Dent Res* 70: 150-3 (1991)
- SCHAFFER F, RAVEN S J, PARR T A: The effect of lesion characteristic on remineralization and model sensitivity. *J Dent Res* 71 Spec No: 811-3 (1992)
- SCHEIE A A, PETERSON F C: Antimicrobials in Caries Control. In: Fejerskov O, Kidd E A M, (Hrsg): *Dental Caries: The disease and its clinical management*. Blackwell Munksgaard, Oxford: 265-77 (2008)
- SCHIOTT C R, LOE H, JENSEN S B, KILIAN M, DAVIES R M, GLAVIND K: The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *J Periodontal Res* 5: 84-9 (1970)
- SCHIRRMESTER J F, SEGER R K, ALTENBURGER M J, LUSSI A, HELLWIG E: Effects of various forms of calcium added to chewing gum on initial enamel carious lesions in situ. *Caries Res* 41: 108-14 (2007)
- SCHMID H: *Chemie und Oberflächenwirkungen der Aminfluoride deutsch* *Zahnaerztl Z* 38: 9-13 (1983)
- SCHROEDER H: *Pathologie oraler Strukturen*. Karger, Freiburg (1997)
- SCHROEDER H: *Orale Strukturbiologie*. Thieme, Stuttgart, New York (2000)
- SCHUMACHER G H, SCHMIDT H, BÖRNIG H, RICHTER W: *Anatomie und Biochemie der Zähne*. Fischer, Stuttgart (1990)
- SHELLIS P: Ätiologie und Pathogenese der Karies. In: Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand K, (Hrsg): *Karies*. Thieme, Stuttgart: 23-41 (2012)
- SHELLIS R P, HALLSWORTH A S: The use of scanning electron microscopy in studying enamel caries. *Scanning Microsc* 1: 1109-23 (1987)
- SHELLIS R P, HALLSWORTH A S, KIRKHAM J, ROBINSON C: Organic material and the optical properties of the dark zone in caries lesions of enamel. *Eur J Oral Sci* 110: 392-5 (2002)

- SILVERSTONE L M: Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev* 3: 100-60 (1973)
- SILVERSTONE L M, HICKS M J, FEATHERSTONE M J: Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel. Part I. The dynamic nature of enamel caries. *Quintessence Int* 19: 683-711 (1988)
- SJOGREN K, BIRKHED D, RUBEN J, ARENDS J: Effect of post-brushing water rinsing on caries-like lesions at approximal and buccal sites. *Caries Res* 29: 337-42 (1995)
- SPETS-HAPPONEN S, LUOMA H, FORSS H, KENTALA J, ALALUUSUA S, LUOMA A R, GRONROOS L, SYVAOJA S, TAPANINEN H, HAPPONEN P: Effects of a chlorhexidine-fluoride-strontium rinsing program on caries, gingivitis and some salivary bacteria among Finnish schoolchildren. *Scand J Dent Res* 99: 130-8 (1991)
- TEN CATE J M, FEATHERSTONE J D: Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 2: 283-96 (1991)
- TEN CATE J M: In situ models, physico-chemical aspects. *Adv Dent Res* 8: 125-33 (1994)
- TEN CATE J M, LARSEN M J, PEARCE E I F, FEJERSKOV O: Chemical interactions between the tooth and oral fluids. In: Fejerskov O, Kidd E, (Hrsg): *Dental Caries: The disease and its clinical management*. Blackwell Munksgaard, Oxford: 49-68 (2003)
- THOMAS R Z, RUBEN J L, TEN BOSCH J J, HUYSMANS M C: Effect of ethylene oxide sterilization on enamel and dentin demineralization in vitro. *J Dent* 35: 547-51 (2007)
- TWETMAN S, AXELSSON S, DAHLGREN H, HOLM A K, KALLESTAL C, LAGERLOF F, LINGSTROM P, MEJARE I, NORDENRAM G, NORLUND A, PETERSSON L G, SODER B: Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: a systematic review. *Acta Odontol Scand* 61: 347-55 (2003)
- TWETMAN S, EKSTRAND K: Karieskontrolle durch Beeinflussung der De- und Remineralisation. In: Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand K, (Hrsg): *Karies*. Thieme, Stuttgart: 195-212 (2012)
- ULLSFOSS B N, OGAARD B, ARENDS J, RUBEN J, ROLLA G, AFSETH J: Effect of a combined chlorhexidine and NaF mouthrinse: an in vivo human caries model study. *Scand J Dent Res* 102: 109-12 (1994)
- VAN LOVEREN C, BUIJS J F, BUIJS M J, TEN CATE J M: Protection of bovine enamel and dentine by chlorhexidine and fluoride varnishes in a bacterial demineralization model. *Caries Res* 30: 45-51 (1996)

-
- VAN RIJKOM H M, TRUIN G J, VAN 'T HOF M A: A meta-analysis of clinical studies on the caries-inhibiting effect of chlorhexidine treatment. *J Dent Res* 75: 790-5 (1996)
- WALKER G D, CAI F, SHEN P, ADAMS G G, REYNOLDS C, REYNOLDS E C: Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate incorporated into sugar confections inhibits the progression of enamel subsurface lesions in situ. *Caries Res* 44: 33-40 (2010)
- WALSH T, WORTHINGTON H V, GLENNY A M, APPELBE P, MARINHO V C, SHI X: Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*: CD007868 (2010)
- WEFEL J S: Effects of fluoride on caries development and progression using intra-oral models. *J Dent Res* 69: 626-33 (1990)
- WIEGAND A, KRIEGER C, ATTIN R, HELLWIG E, ATTIN T: Fluoride uptake and resistance to further demineralisation of demineralised enamel after application of differently concentrated acidulated sodium fluoride gels. *Clin Oral Investig* 9: 52-7 (2005)
- YATES R, JENKINS S, NEWCOMBE R, WADE W, MORAN J, ADDY M: A 6-month home usage trial of a 1% chlorhexidine toothpaste (1). Effects on plaque, gingivitis, calculus and toothstaining. *J Clin Periodontol* 20: 130-8 (1993)
- ZAURA-ARITE E, TEN CATE J M: Effects of fluoride- and chlorhexidine-containing varnishes on plaque composition and on demineralization of dentinal grooves in situ. *Eur J Oral Sci* 108: 154-61 (2000)
- ZERO D T: In situ caries models. *Adv Dent Res* 9: 214-30; discussion 31-4 (1995)

11 ANHANG

11.1 Materialliste

- Mat. 01: Axioplan 2; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat. 02: Blend-a-Med ProExpert Rundumschutz [Bam-PE]; Procter&Gamble, Schwalbach am Taunus, Deutschland
- Mat. 03: B 6060; Heraeus, Hanau, Deutschland
- Mat. 04: CFW-1312M, Grayscale digital camera; Scion Corporation, Frederick, Maryland, USA
- Mat. 05: Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 06: Excel 2010; Microsoft, Unterschleißheim, Deutschland
- Mat. 07: Express Finish Lacquer; Maybelline Jade L'Oréal, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 08: Feinstruktur-Feinfokus-Röntgenröhre PW2213/20; PANalytical, Almelo, Niederlande
- Mat. 09: Frischhaltebox 4,5 l; Gies Kunststoffwerk, Niederaula, Deutschland
- Mat. 10: GMH-3550; Greisinger, Regenstauf, Deutschland
- Mat. 11: GE100 BNC; Greisinger, Regenstauf, Deutschland
- Mat. 12: Isotonische Kochsalzlösung NaCl 0,9 %; Fresenius; Bad Homburg, Deutschland
- Mat. 13: Lacalut; Dr. Theiss Naturwaren, Homburg, Deutschland
- Mat. 14: Lock&Lock 180 ml; iSi Deutschland GmbH, Solingen, Deutschland
- Mat. 15: Loctite 493 instant adhaesive; Loctite UK Ltd., Welwyn Garden City Hertfordshire, UK

-
- Mat. 16: Mikrometerschraube, Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan
- Mat. 17: Motion Picture Fuji fine grain positive film 71337; FUJIFILM Corporation, Tokyo, Japan
- Mat. 18: Oral-B Indicator; Procter&Gamble, Schwalbach am Taunus, Deutschland
- Mat. 19: Orthocryl; Dentauro, Pforzheim, Deutschland
- Mat. 20: Perfect-Splint-System; Hager und Werken, Duisburg, Deutschland
- Mat. 21: Plexiglas 25×75×2mm; patho-service GmbH, Oststeinbek, Deutschland
- Mat. 22: Probenhalter; Charité Facility Management, Mechanische Werkstätten, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland
- Mat. 23: PW3830 X-ray generator; PANalytical, Almelo Niederlande
- Mat. 24: Remanium Draht federhart 0,8 mm; Dentauro, Ispringen, Deutschland
- Mat. 25: Saphir 360E; ATM, Mammelzen, Deutschland
- Mat. 26: Schleifsystem Exakt 400cs; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 27: Selina Salz Jodsalz; Delto Products, Dordrecht, Niederlande
- Mat. 28: SiC-Paper 800, 1200, 2400, 4000, 305 mm; Struers, Ballerup, Dänemark
- Mat. 29: SPSS v18.0; SPSS, München, Deutschland
- Mat. 30: Sterilfilter, Stericup millipor express plus 0,22 µm; Millipor Corporation, Billerica Massachusetts, USA
- Mat. 31: Supradent-Wachs; Chemisches Dental Labor Oppermann-Schwedler, Bonn, Deutschland
- Mat. 32: Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland
- Mat. 33: Tesa SE; Hamburg, Deutschland
- Mat. 34: Thymol > 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat. 35: TMR/WIM Calculation Program v5.25; Joop de Vries, University of Groningen, Groningen, Niederlande

Mat. 36: 24 Well Platte; Sarstedt, Nürnbergrecht, Deutschland

11.2 Ergebnisübersicht

Tab. 3: Mineralverlustdifferenz nach In-situ-Phase und Ergebnisse des statistischen Vergleichs der Gruppen untereinander.

		Mineralverlustdifferenz (\emptyset)	Statistischer Vergleich der Behandlungsgruppen (p-Wert)		
	Zahncreme	$\Delta\Delta Z$ (Vol.% $\times\mu\text{m}$) (Standardfehler)	F500	F1450	F/CHX
Nicht gereinigt	F0	-1876,21 (355,94)	0,1298	0,0042	0,0010
	F500	-1188,58 (356,06)		0,1369	0,0486
	F1450	-513,19 (359,61)			0,5898
	F/CHX	-262,28 (369,81)			
Mechanisch gereinigt	F0	-1790,00 (234,46)	0,0036	<0,0001	<0,0001
	F500	-777,01 (235,05)		0,1099	0,0034
	F1450	-219,06 (252,62)			0,1785
	F/CHX	259,65 (238,00)			

Tab. 4: Läsionstiefendifferenz nach In-situ-Phase und Ergebnisse des statistischen Vergleichs der Gruppen untereinander.

		Läsionstiefendifferenz (\emptyset)	Statistischer Vergleich der Behandlungsgruppen (p-Wert)		
	Zahncreme	ΔLT (μm) (Standardfehler)	F500	F1450	F/CHX
Nicht gereinigt	F0	-46,72 (8,98)	0,1218	0,0271	0,0193
	F500	-31,59 (8,95)		0,4547	0,3861
	F1450	-24,40 (9,02)			0,8888
	F/CHX	-23,01 (9,19)			
Mechanisch gereinigt	F0	-42,43 (6,51)	0,0194	0,0052	<0,0001
	F500	-20,82 (6,60)		0,5373	0,0115
	F1450	-15,04 (7,05)			0,0566
	F/CHX	3,28 (6,62)			

11.3 Veröffentlichung der vorliegenden Studie

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie wurden publiziert:

MEYER-LUECKEL H, WIERICHS R J, GNINKA B, HELDMANN P, DOERFER C E, PARIS S: The effect of various model parameters on enamel caries lesions in a dose-response model in situ. J Dent 43: 1261-7 (2015)

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie wurden auf der 59. Jahrestagung der „European Organisation for Caries Research“ (ORCA) im Juni 2012 in Cabo Frio (Brasilien) präsentiert:

MEYER-LUECKEL H, HELDMANN P, GNINKA B, DOERFER C E, PARIS S: Randomized Dose-Response Trial on the Effects of Two Fluoride Toothpastes on Plaque-retaining Enamel Lesions in situ (2012)

11.4 Bemerkung

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wurde lediglich eine Form der sprachlichen Geschlechterzuordnung gewählt und auf eine Kennzeichnung geschützter Marken- und Produktnamen verzichtet.

12 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

„Ich, Benedict Gninka, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Wirksamkeit einer Aluminiumfluorid- und Chlorhexidin- haltigen Zahncreme im Vergleich zu einer Natriumfluorid- haltigen Zahncreme in einem plaqueretentiven In-situ-Modell mit kariösen Schmelzläsionen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Grafiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum:

Unterschrift:

12.1 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Benedict Gninka hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: MEYER-LUECKEL H, WIERICHS R J, GNINKA B, HELDMANN P, DOERFER C E, PARIS S: The effect of various model parameters on enamel caries lesions in a dose-response model in situ. J Dent 43: 1261-7 (2015)

Beitrag im Einzelnen:

Der Anteil an dieser Publikation umfasst die Probandenrekrutierung und -betreuung, Durchführung des In-situ-Versuchs inklusive Vor- und Nachbereitung sowie die Erhebung und Sammlung der Daten.

Publikation 2: MEYER-LUECKEL H, HELDMANN P, GNINKA B, DOERFER C E, PARIS S: Randomized Dose-Response Trial on the Effects of Two Fluoride Toothpastes on Plaque-retaining Enamel Lesions in situ (2012)

Beitrag im Einzelnen:

Der Anteil an dieser Publikation umfasst die Probandenrekrutierung und -betreuung, Durchführung des In-situ-Versuchs inklusive Vor- und Nachbereitung sowie die Erhebung und Sammlung der Daten.

Unterschrift des Doktoranden:

Datum:

Unterschrift:

13 LEBENS LAUF

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

14 DANKSAGUNG

Ein großes Dankeschön gilt meinem Doktorvater Herrn Univ.-Prof. Dr. S. Paris und Herrn Univ.-Prof. Dr. H. Meyer-Lückel für die Überlassung des interessanten Themas und die stets schnelle und freundliche Unterstützung bei der Realisierung dieser Arbeit.

Herrn Univ.-Prof. Dr. C. Dörfer danke ich für die Ermöglichung des wissenschaftlichen Arbeitens in der Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Kiel an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Der Firma Procter&Gamble danke ich besonders für die materielle und finanzielle Unterstützung der Studie.

Mein außerordentlicher Dank gilt meinem Freund und Kommilitonen Philipp Heldmann, ohne dessen Motivation diese Dissertation nicht zu realisieren gewesen wäre.

Mein herzlicher Dank gilt auch dem medizinisch-technischen Assistenten Herrn Michael Stiebritz, der mich bei der praktischen Durchführung der Studie sehr unterstützt hat und weiterhin danke ich Frau Dr. Romina Faulstroh für die stetige moralische Unterstützung.

Außerdem bedanke ich mich ganz herzlich bei meinen stets zuverlässigen Probanden, ohne die diese Studie gar nicht möglich gewesen wäre.

Ebenfalls herzlich bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern für die Ermöglichung des Studiums und der Dissertation und die stets tatkräftige Unterstützung bei allen meinen Vorhaben.