

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

DISSERTATION

Der Einfluss unterschiedlicher Mundhygieneprodukte auf das
Remineralisationsverhalten von Schmelzläsionen unter pH-Cycling-
Bedingungen – eine In-vitro-Studie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Gen Yamamura

aus Tokio, Japan

Datum der Promotion: 11.12.2015

In Liebe und Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1. Abstrakt.....	1
2. Abstract.....	2
3. Einleitung.....	3
4. Literaturübersicht	5
4.1. Zahnschmelz	5
4.2. Boviner Schmelz.....	7
4.3. Karies	9
4.4. Fluoride.....	12
4.5. Nanohydroxylapatit (nHA).....	17
5. Ziel der Arbeit	21
6. Material und Methode	22
6.1. Genereller Versuchsaufbau	22
6.2. Versuchsvorbereitung	22
6.2.1. Herstellung der Schmelzproben.....	23
6.2.2. Demineralisation der Schmelzproben.....	24
6.2.3. Herstellung und Zusammensetzung der Zahnpasta-Slurries.....	25
6.3. Gruppeneinteilung und Versuchsdurchführung.....	26
6.4. Transversale Mikroradiographie.....	29
6.4.1. Vorbereitung der Proben für die Mikroradiographie	29
6.4.2. Transversale Mikroradiographie (TMR)	30
6.4.3. Mikroradiographische Auswertung.....	32
6.5. Statistische Auswertung	33
7. Ergebnisse.....	34
7.1. Quantitative Auswertung.....	34
7.2. Auswertung des Mineralverlustes.....	34
7.3. Veränderung des Mineralgehaltes.....	37
7.4. Auswertung der Läsionstiefe.....	38
7.5. Veränderung der Läsionstiefe	39
7.6. Qualitative Auswertung.....	40

8. Diskussion	44
8.1. Diskussion von Material und Methode	44
8.1.1. Probenmaterial.....	44
8.1.2. Versuchsdurchführung	46
8.1.3. Transversale Mikroradiographie.....	46
8.1.4. pH-Cycling	47
8.1.5. pH-Werte der Remineralisationslösungen	48
8.1.6. Nanohydroxylapatit (nHA).....	48
8.1.7. Fluorid-Zahnpaste.....	48
8.1.8. Salviagalen fluoridfrei	49
8.2. Diskussion der Ergebnisse	50
9. Schlussfolgerung	53
10. Literaturverzeichnis	54
11. Anhang	63
11.1. Abkürzungsverzeichnis	63
11.2. Abbildungsverzeichnis	66
11.3. Tabellenverzeichnis	67
11.4. Materialliste	68
11.5. Geräteliste.....	70
11.6. Bearbeitungsprogramme (verwendete Software)	71
11.7. Nachdruckgenehmigungen.....	71
11.8. Eidesstattliche Versicherung	73
11.9. Lebenslauf	74
11.10. Danksagung.....	75

1. Abstrakt

Problemstellung: Initiale Schmelzläsionen lassen sich, solange die Oberfläche intakt ist, durch die Unterstützung unterschiedlicher Mundhygieneprodukte remineralisieren. Neuere Untersuchungen bestätigen die remineralisierenden Eigenschaften von Produkten mit Nanohydroxylapatiten (nHA). Daher könnten nHA eine Alternative zu Fluoriden darstellen, wobei die Unterschiede beider Substanzen hinsichtlich der remineralisierenden Eigenschaften jedoch nicht ausreichend belegt sind. **Zielsetzung:** Bei dieser Studie wurden die Unterschiede bezüglich der Remineralisationseigenschaften auf Initialläsionen von Fluorid oder Nanohydroxylapatit untersucht. **Material & Methoden:** 56 demineralisierte bovine Schmelzproben wurden mit vier verschiedenen Lösungen (1: Remineralisationslösung/Kontrolle; 2: Slurry aus Salviagalen fluoridfrei und Remineralisationslösung/Negativkontrolle; 3: Slurry aus BioRepair und Remineralisationslösung; 4: Slurry aus ColgateTotal und Remineralisationslösung) täglich zweimal für je zwei oder drei Wochen behandelt. Zusätzlich wurden die Proben einem 21-tägigen pH-Cycling ausgesetzt. Hierbei wurden die Proben täglich abwechselnd in Demineralisations- und Remineralisationslösungen gelagert. Anschließend wurden Dünnschliffe (100 µm) hergestellt, die hinsichtlich des Mineralgehalts (ΔZ_D) und der Läsionstiefen (ΔL_{tD}) mit Hilfe der transversalen Mikroradiographie ausgewertet wurden. **Ergebnisse:** Die Untersuchung zeigte, dass nur fluoridhaltige Präparate die Remineralisierung initialer Kariesläsionen fördern. Die fluoridhaltige Zahnpasta zeigte bereits nach zwei Wochen eine signifikante Remineralisation in jedem Bereich der Läsion ($p < 0,05$; ANOVA, Bonferroni). Nach drei Wochen konnte bei der fluoridhaltigen Paste eine noch deutlichere Remineralisation der Gesamtläsion festgestellt werden. Während des Untersuchungszeitraumes vermochten allerdings weder Fluorid- noch nHA-Präparate, die Läsionstiefe zu verringern. **Schlussfolgerung:** In der vorliegenden Studie konnte festgestellt werden, dass fluoridhaltige Zahnpasten die Remineralisation der Gesamtläsion fördern. Eine Remineralisation der Läsion durch Nanohydroxylapatit konnte nicht festgestellt werden. Die tägliche Anwendung von Nanohydroxylapatit zur Remineralisation von Initialläsionen stellt keine Alternative zur täglichen Anwendung von Fluorid dar. Fluoride sind nach wie vor das Mittel der Wahl hinsichtlich der Remineralisation initialer Schmelzläsionen.

Schlagwörter: Schmelz, Initialläsion, Karies, Demineralisation, Remineralisation, Mikroradiographie, Fluorid, Nanohydroxylapatit, pH-Cycling, Läsionstiefe, Mineralgehalt, Mineralverlust

2. Abstract

Statement of Problem: Initial caries lesions can be remineralized by means of using toothpastes as long as the enamel surface layer is not damaged. Nanohydroxyapatites (nHAP) have been discussed as alternative remineralizing agents to fluorides. Yet, there is only scanty information on true remineralization effects of nanohydroxyapatites. **Objectives:** The aim of this study was to evaluate the differences of remineralizing properties on initial caries lesion between dentrifice containing fluoride and dentrifice containing nanohydroxyapatite in daily use. **Materials & Methods:** 56 demineralized specimens prepared from bovine incisors were divided into four groups of 14 specimen each. Each specimen group was treated twice daily with one of the four different remineralizing agents used (1: remineralization solution/positive control; 2: slurry consisting of remineralization solution and a fluoride-free toothpaste ("Salviagalen fluoridfrei")/negative control; 3: slurry consisting of remineralization solution and a toothpaste ("BioRepair") containing nanohydroxyapatite; 4: slurry consisting of remineralization solution and a toothpaste ("ColgateTotal") containing sodium fluorides) for either two or three weeks. Additionally, the specimens underwent a pH-cycling for 21 days, and were stored alternately in demineralizing and remineralizing solutions. Subsequently, thin sections (100 μm) were prepared from each specimen for further investigations. Differences in mineral loss (ΔZ_D) and lesion depth (ΔL_{tD}) were evaluated using transversal micro-radiography. **Results:** Only the fluoride containing product showed remineralizing properties on initial caries lesion, indicating a remineralization of the whole lesion already after two weeks of treatment ($p < 0,05$; ANOVA, Bonferroni), whereas nanohydroxyapatite showed no remineralization of the lesion during the same period. Even a more significant remineralization of the whole lesion could be observed for the fluoridated toothpaste after three weeks. However, lesion depths were not reduced at all. **Conclusion:** Fluoride remineralizes the whole initial caries lesion, whereas nanohydroxyapatite does not promote remineralization at all. Daily use of nHA is not an alternative option to the regular use of fluoride with regard to remineralization of initial enamel lesions. Fluoride is still a "gold standard" for remineralizaion of initial enamel lesion.

Keywords: Enamel, initial lesion, caries, demineralization, remineralization, microradiography, fluoride, nanohydroxyapatite, pH-cycling, lesion depth, mineral content, mineral loss

3. Einleitung

Bis heute gelten Fluoride als "Goldstandard" zur Remineralisation initialer Kariesläsionen und zur Kariesprophylaxe [Zero 2006]. Die antikariöse und kariesprophylaktische Wirkung von Fluoriden wurde in zahlreichen Studien dargelegt und ist allgemein bekannt und akzeptiert [Clarkson *et al.* 1993; Marinho 2009; Walsh *et al.* 2010]. Fluoridierte Mundpflegeprodukte haben sehr viel zur Kariesprävention beigetragen [Mellberg und Chomicki 1983; Mellberg 1991; Wei und Yiu 1993], und die positive Wirkung der Fluoride findet Bestätigung im weltweiten Rückgang der Kariesprävalenz [von der Fehr 1994; Bratthall *et al.* 1996; von der Fehr und Haugejorden 1997; Marthaler 2004]. Verschiedene Untersuchungen haben in der Vergangenheit gezeigt, dass Demineralisationsprozesse durch die Behandlung von initialen Schmelzläsionen mit unterschiedlichen fluoridhaltigen Mundhygieneprodukten angehalten werden können. Von ebenso großer Bedeutung ist jedoch die remineralisierende Eigenschaft der Fluoride auf initiale Läsionen [Schafer 1989; ten Cate und Featherstone 1991; Wefel *et al.* 1995; ten Cate 1999; Featherstone 2008]. Bis dato wird die tägliche Anwendung fluoridierter Mundpflegeprodukte als das effektivste kariostatische Vorgehen angesehen [Twetman 2009].

Seit den 1980er Jahren werden Zahnpasten mit Nanohydroxylapatit auf dem Markt angeboten [Aoki *et al.* 1982; Kani *et al.* 1988; Ohashi *et al.* 1991]. Synthetisches Hydroxylapatit besitzt eine dem natürlichen Hydroxylapatit ähnliche Mineralzusammensetzung [Marcacci *et al.* 1999; Vandiver *et al.* 2005]; darüber hinaus ist Hydroxylapatit weder toxisch noch entzündungsauslösend [Roveri *et al.* 2008], wodurch es für die zahnmedizinische Anwendung interessant wird. Ferner rücken Produkte mit Nanohydroxylapatit immer mehr in den Fokus neuerer Untersuchungen zur Remineralisation initialer Schmelzläsionen, da unterschiedliche Autoren dem Nanohydroxylapatit auch gute Remineralisationseigenschaften bescheinigt haben [Onuma *et al.* 2005; Yamagishi *et al.* 2005; Li *et al.* 2008; Huang *et al.* 2009; Huang *et al.* 2011; Najibfard *et al.* 2011]. Auch wenn die genauen Mechanismen der Remineralisation durch Nanohydroxylapatit bisher nicht vollständig geklärt werden konnten [Hannig und Hannig 2012], scheint das Remineralisationsverhalten von Nanohydroxylapatit hinsichtlich einer initialen Schmelzläsion vielversprechend zu sein [Onuma *et al.* 2005; Yamagishi *et al.* 2005; Li *et al.* 2008; Huang *et al.* 2009; Huang *et al.* 2011; Najibfard *et al.* 2011], auch wenn vereinzelte Untersuchungen dies nicht eindeutig zeigen konnten [Tschoppe *et al.* 2011].

Trotz der vielen in den letzten Jahren gewonnenen, neuen Erkenntnisse zum Remineralisationsverhalten von Nanohydroxylapatit [Huang *et al.* 2011; de Carvalho *et al.* 2014; Haghgoo *et al.* 2014; Mielczarek und Michalik 2014; Mielczarek *et al.* 2015; Vyavhare *et al.* 2015] gibt es nur wenige Studien, die sich mit den unterschiedlichen Auswirkungen von Nanohydroxylapatit und Fluorid hinsichtlich der Veränderung des Mineralgehaltes und der Läsionstiefe nach einer Remineralisation auseinandergesetzt haben [Tschoppe *et al.* 2011]. Mithilfe eines zwei- bzw. dreiwöchigen pH-Cycling-Modells und der Simulation der Einwirkung eines der intraoralen In-vivo-Situation angepassten, idealisierten Zahnpasta-Speichel-Mischungsverhältnisses sollte daher diese Arbeit untersuchen, ob die tägliche Anwendung von Zahnpasten mit Nanohydroxylapatit als gleichwertige Alternative zur täglichen Anwendung von fluoridierten Zahnpasten geeignet ist.

4. Literaturübersicht

4.1. Zahnschmelz

Die für die Schmelzreifung zuständigen Ameloblasten bilden präeruptiv zunächst eine organische Schmelzmatrix, indem sie Matrixproteine ausscheiden. Die so gebildete Schmelzmatrix mineralisiert und reift aus [Schroeder 2000]. Während dieser präeruptiven Schmelzreifung findet eine Kristallisation von Kalzium-Phosphat-Verbindungen statt. Die Ameloblasten scheiden Kalzium (Ca^{2+}) und Phosphat (PO_4^{3-}) aus, und eine Kalziumzufuhr in die Schmelzmatrix findet statt [Deporter 1977]. Die Matrixproteine werden danach resorbiert und durch Wasser (H_2O) ersetzt [Robinson *et al.* 1978], das die bei der Schmelzreifung entstandenen Poren auffüllt. Der ausgereifte Schmelz ist avaskulär und azellulär, so dass ein zellulärer Reparaturmechanismus nach der Schmelzbildung nicht mehr gegeben ist. Bei der posteruptiven Schmelzreifung werden durch Aufnahme von Ca^{2+} und PO_4^{3-} kleine Gitterstrukturdefekte ausgeglichen [Gente *et al.* 1985]. Dennoch bleibt der Schmelz begrenzt permeabel. Er wirkt wie ein Sieb, bei dem Ionen sowohl in den Schmelz aufgenommen als auch herausgelöst werden können. Dieser physikalisch-chemische Mechanismus stellt die Grundlage der Kariesentstehung dar [Dibdin 1972].

Der ausgereifte Zahnschmelz hat eine Härte von 250 bis 390 KHN (Knoop hardness numbers). Er ist die härteste und sprödeste Substanz des menschlichen Körpers [Schemel *et al.* 1984]. Dabei nimmt die Härte von der Oberfläche bis zur Schmelz-Dentin-Grenze hin ab. Parallel zu dieser Eigenschaft nimmt auch die Dichte des Zahnschmelzes von der Zahnoberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze hin ab [Robinson *et al.* 1981]. Sie beträgt ca. 2,86 bis 3,01 mg/mm^3 [Weatherell *et al.* 1967].

Der Schmelz besteht zu ca. 93 bis 98 Gewichtsprozent (Gew.%) aus anorganischen Verbindungen. Den Hauptanteil dieses anorganischen Anteils machen die Kalziumphosphat-Verbindungen ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) aus, die in unterschiedlichen Formen (beispielsweise als Oktakalziumphosphat oder Dikalziumphosphatdihydrat) vorliegen können [Chow 2001; Dorozhkin und Epple 2002]. Röntgendiffraktionsanalysen zeigten, dass das Schmelzmineral größtenteils aus Hydroxylapatit (HAP) besteht.

Hydroxylapatite (HAP) stellen die stabilste und die energieärmste Form von Kalziumphosphat dar. Sie besitzen eine große Härte und eine vergleichsweise geringe Löslichkeit. Der reine HAP hat die stöchiometrische Formel $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Durch Einschlüsse von Karbonat (CO_3^{2-}), Fluorid (F^-), Natrium (Na^+), Magnesium (Mg^{2+}) und an-

deren Ionen kommen Abweichungen von dieser reinen Form vor, so dass der Hydroxylapatit nicht als stöchiometrisch reines Material angesehen werden darf [ten Cate *et al.* 2008]. Im Gegensatz zum Einbau von Mg^{2+} - oder CO_3^{2-} -Ionen in die HAP-Gitterstruktur, wodurch die Stabilität vermindert und die Löslichkeit des HAP-Gitters erhöht sind, bewirkt der Einbau von Fluor-Ionen eine Steigerung der Stabilität. Wenn Fluoride die Hydroxyl-Gruppen des Apatits teilweise [al-Khateeb *et al.* 1997] ersetzen, entstehen Fluorapatit ($Ca_{10}(PO_4)_6F_2$) oder Fluorhydroxylapatit ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_{2-x}F_x$) [Chow *et al.* 1980]. In der äußeren Schmelzschicht (ca. 50 μm) befinden sich ca. 20-fach mehr Fluoride als in tiefer gelegenen Schichten. Die restliche Substanz des Schmelzes setzt sich aus organischen Verbindungen und Wasser zusammen, das ca. 1,5 bis 4 Gew.% ausmacht. Den organischen Anteil des ausgereiften Schmelzes machen lösliche und nicht-lösliche Proteine mit ca. 58 %, Lipidanteile zu etwa 40 % und Spuren von Kohlenhydraten, Zitrat und Laktat aus [Driessens 1982; Nikiforuk 1985; Schroeder 2000]. Das Wasser liegt in zwei unterschiedlichen Formen vor; ca. 75 % bilden die Hydratationschale und ca. 25 % sind lose an organische Materie gebunden [Little und Casciani 1966].

Histologisch hat der Hydroxylapatit im Querschnitt eine hexagonale Form [Frank 1979]. Etwa hundert dieser Kristalle bilden ein Schmelzprisma (siehe Abbildung 1).

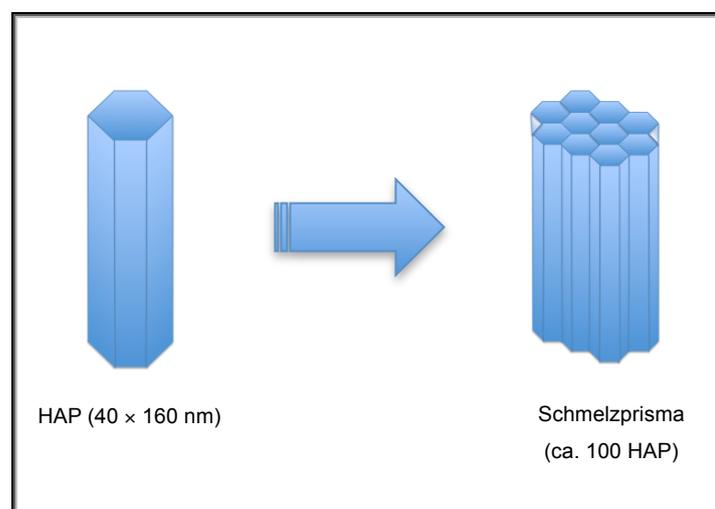


Abb. 1: Schematische Darstellung von HAP und Schmelzprisma, modifiziert nach Nikiforuk (1985)

Im Bereich der Höckerspitzen sind die Prismen um eine zentrale vertikale Höckerachse spiralförmig aufgewickelt [Osborn 1968]. Im Bereich der Seitenflächen des koronalen Anteils folgen sie in der inneren Hälfte einer wellenförmigen Anordnung [Osborn 1968]. Die Kristalle verlaufen im Prismenkern parallel zur Längsachse des entsprechenden Prismas. Zwischen den Prismen befindet sich die sogenannte interprismatische Substanz, in der die Kristalle ungeordnet liegen [Pilz 1985].

4.2. Boviner Schmelz

Sowohl die Mikrostrukturen als auch die Anteile der chemischen Hauptbestandteile (wie etwa PO_4^{3-} , Ca^{2+} und Mg^{2+}) von humanem und bovinem Schmelz ähneln sich sehr [Oesterle *et al.* 1998; de Dios Teruel *et al.* 2015] (siehe Tabelle I). Durch die Vergleichbarkeit beider Schmelzarten eignet sich somit boviner Schmelz besonders gut für In-vitro-Versuche. Dass die oberflächliche Zahnhartsubstanz der bovinen Dentition nahezu konstant bleibenden exogenen und endogenen Einflüssen und einer homogenen Nahrung unterliegt, zeichnet ebenfalls die hervorragende Verwendbarkeit des bovinen Schmelzes aus; dies gilt nicht zuletzt, da dadurch von einer gleichmäßigen Demineralisation und uniformen Reaktionsfähigkeit der Oberfläche ausgegangen werden kann [Mellberg 1992; Esser *et al.* 1998].

Tab. I: Chemische, physikalische und mechanische Eigenschaften von Human- und Bovinschmelz [Braden 1964; Gente *et al.* 1985; Roulet 1988; Schumacher 1990; Esser *et al.* 1998].

	Humanschmelz	boviner Schmelz
Kalzium (%)	34,9	31,8
Phosphor (%)	16,8	15,5
Magnesium (%)	0,2	0,4
Vickershärte (HV)	169,3	221,1
Wärmekapazität (J/kg·K)	0,8	0,8
Thermischer Ausdehnungskoeffizient (1/K)	11,4	11,2
Dichte (g/cm ³)	2,2	2,9

Trotz dieser Vergleich- und Verwendbarkeit des bovinen Schmelzes für Laborversuche sind Unterschiede zum humanen Schmelz vorhanden, die bei der

experimentellen Analyse berücksichtigt werden müssen. Der humane und der bovine Schmelz unterscheiden sich nämlich bezüglich des Fluoridgehalts. Der humane Schmelz unterliegt im Laufe der Lebensjahre unterschiedlichen Fluoridierungsmaßnahmen, während der bovine Schmelz im Vergleich dazu keinen unterschiedlichen Fluoridexpositionen ausgesetzt ist [Mellberg 1992]. Der Fluoridgehalt des bovinen Schmelzes (60 ppm) ist im Vergleich zu humanem Schmelz (280 ppm) deutlich geringer [Duschner *et al.* 1984]. Ferner ist zu erwähnen, dass der bovine Schmelz eine größere Porosität und größere Kristallstrukturen als der humane Schmelz hat [Moriwaki *et al.* 1968; Arends und Jongebloed 1978]. Damit geht auch eine höhere Diffusionsrate einher [de Rooij *et al.* 1980]. Dies scheint auch die Ursache zu sein, weshalb Demineralisationsprozesse bei bovinem Schmelz ca. dreimal schneller stattfinden als bei humanem [Flim und Arends 1977; Featherstone und Mellberg 1981].

Der humane Schmelz hat eine geringe Dichte und auch eine niedrigere Vickers-Härte (HV), besitzt aber im Gegensatz zu bovinem Schmelz einen marginal höheren Anteil an Kalzium (Ca^{2+}) und Phosphat (PO_4^{3-}) [Esser *et al.* 1998]. Auch wenn dieser vergleichsweise kleine Unterschied bezüglich des Kalziumanteils zwischen dem humanen und dem bovinen Schmelz nachweisbar ist, so bleibt dennoch das Verhältnis der Kalziumanteile zwischen der äußeren und inneren Schicht des Schmelzes jeweils analog [Davidson *et al.* 1973]. Die erhöhte Diffusionsrate an der Oberfläche des bovinen Schmelzes kann mittels Planschliff und Politur vermindert werden [de Rooij *et al.* 1980; Arends *et al.* 1983]. Zusätzlich verhindert das Planschleifen die Kontamination der Versuchs- bzw. Lagerungsflüssigkeit durch Fluoride aus der (natürlichen) Oberfläche des bovinen Schmelzes [Arends *et al.* 1983].

Sowohl humaner Schmelz als auch boviner Schmelz verhalten sich gegenüber Säuren ähnlich; dies gilt auch für die Remineralisation [Koulourides *et al.* 1974]. Daher kann der bovine Schmelz als Ersatz von humanem Schmelz für Re- und Demineralisationsversuche verwendet werden [Mellberg 1992; Yassen *et al.* 2011]. Ferner steht der bovine Schmelz im Vergleich zu humanem in nahezu beliebiger Menge für In-vitro-Studien zur Verfügung [Esser *et al.* 1998; Imfeld 2001]. Nicht zuletzt weist boviner Schmelz keine kariösen Läsionen auf [Mellberg 1992].

Abschließend kann gesagt werden, dass der bovine Schmelz für In-vitro-Untersuchungen, insbesondere für Studien, die eine Demineralisation voraussetzen, als Substituent für humanen Schmelz sehr gut geeignet ist. Zahlreiche vorangegangene

Studien basieren auf der Grundlage dieser Vergleichbarkeit zwischen humanem und bovinem Schmelz für Untersuchungen, die eine Läsionsbildung benötigen [Kielbassa *et al.* 2001; Meyer-Lueckel *et al.* 2002; Meyer-Lueckel *et al.* 2004; Kielbassa *et al.* 2005; Buzalaf *et al.* 2006; Kielbassa *et al.* 2006; Meyer-Lueckel *et al.* 2006; Paris *et al.* 2006; Kielbassa *et al.* 2009; Tschoppe *et al.* 2009; Hellwig *et al.* 2010; Zandim *et al.* 2011].

4.3. Karies

Karies ist in jeder Volksgruppe und in jedem Land auf der Welt omnipräsent [Fejerskov und Nyvad 1996]. Die Karies wird als eine multifaktorielle Erkrankung der Zahnhartsubstanzen beschrieben, in der kariogene (*Streptococcus mutans* und Lactobacillen) und nicht-kariogene Bakterien, Speichelbestandteile (Proteine, Enzyme, Kalzium, Phosphate, Fluoride) und vergärbare Kohlenhydrate (KH) beteiligt sind [Keyes 1960; Featherstone 1999; Hicks *et al.* 2003; Featherstone 2006; Selwitz *et al.* 2007; Kielbassa *et al.* 2009] und zusammen auftreten müssen (siehe Abbildung 2).

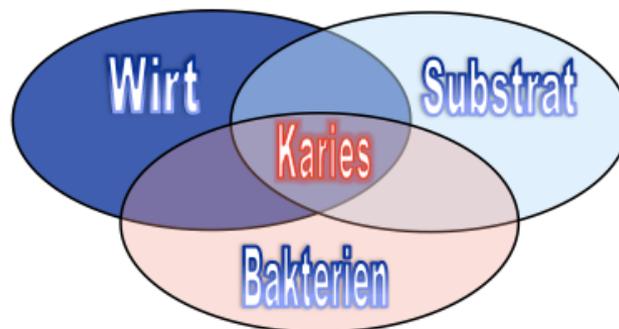


Abb. 2: Modifiziertes Kariesmodell nach Keyes [Keyes 1960] (eigene Darstellung)

Lange Zeit wurde die Kariesentstehung als ein irreversibler unidirektionaler Prozess betrachtet. Heutzutage versteht man jedoch die Kariesentstehung als eine ständige Abfolge von De- und Remineralisation der Zahnhartsubstanz, wobei die Demineralisation überwiegt [Koulourides 1966; Silverstone 1977; Larsen und Fejerskov 1989; Gao *et al.* 2001] (siehe Abbildung 3). Die Karies entsteht initial entlang der Interaktionsstelle zwischen dem dentalen Biofilm und der Schmelzoberfläche [Baehni und Takeuchi 2003; Marsh 2003; Hannig *et al.* 2004; Kidd und Fejerskov 2004; Marsh 2004; Twetman 2004; Hannig *et al.* 2005; Hara *et al.* 2006; ten Cate 2006]. In Gegenwart von vergärbaren

Kohlenhydraten (Saccharose, Glucose) produzieren orale kariogene Bakterien organische Säuren (z. B. Laktate, Acetate) [Von der Fehr *et al.* 1970; Featherstone 2004; Hicks *et al.* 2004; Hicks *et al.* 2004; Kielbassa *et al.* 2009]. Diese Säuren diffundieren in ihrer nicht-dissoziierten Form in den Schmelz und führen zu einer Demineralisation der Zahnstruktur [Featherstone *et al.* 1979; van Dijk *et al.* 1983]. Dies geschieht, wenn der pH-Wert von 7,0 auf beispielsweise 5,0 sinkt, so dass der kritische pH-Wert von 5,5, bei dem die Demineralisation beginnt, unterschritten wird, [Garcia-Godoy und Hicks 2008; Kielbassa *et al.* 2009]. Bei einem pH-Wert von 7,0 besteht ein Gleichgewicht aus De- und Remineralisation (siehe Abbildung 4). Durch die bakterielle Säureproduktion im Biofilm wird dieses Gleichgewicht zugunsten der Demineralisation verschoben (siehe Abbildung 5) [König 1987].

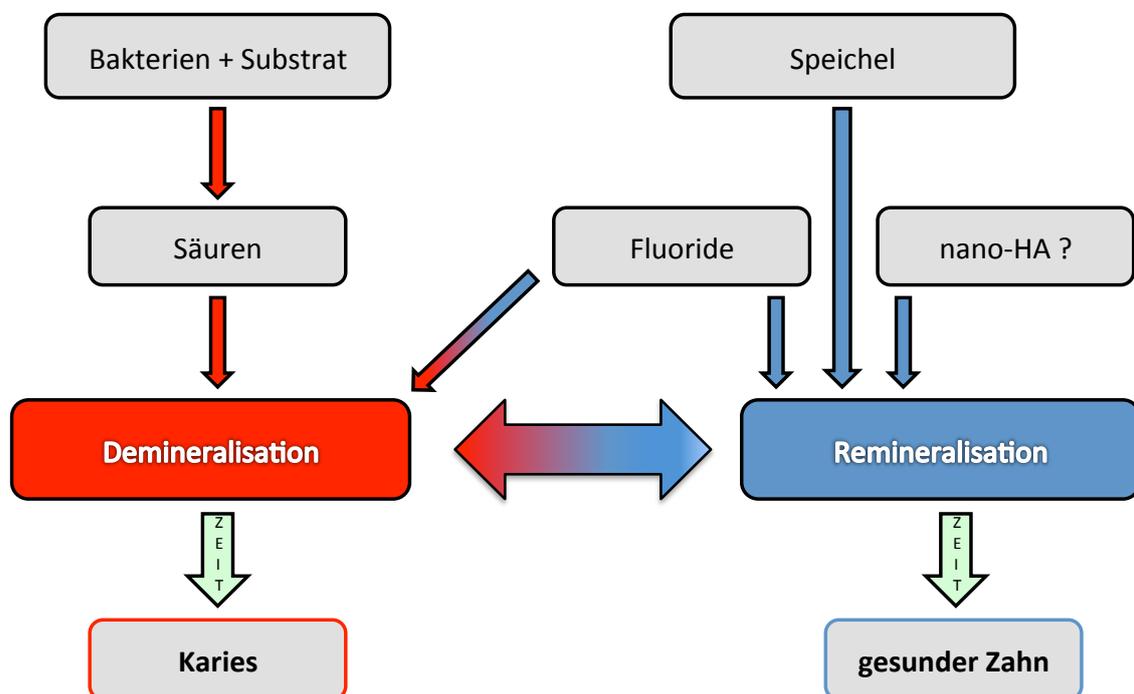


Abb. 3: Kariesentstehung als dynamischer Vorgang (eigene Darstellung)

Chemisch betrachtet werden dabei durch Dissoziation Protonen (H^+) aus den organischen Säuren freigesetzt, wodurch Phosphat-Ionen (PO_4^{3-}) zu HPO_4^{2-} und $H_2PO_4^-$ protoniert werden. Da die PO_4^{3-} -Konzentration bei niedrigem pH-Wert sinkt, werden nun

PO_4^{3-} und OH^- aus dem Zahn herausgelöst, um ein chemisches Gleichgewicht herzustellen. Dieser Prozess führt letzten Endes zur Freisetzung des Ca^{2+} aus der Zahnhartsubstanz und somit zur Auflösung des Zahnes [Dawes 2003]. Die gelösten Ionen diffundieren vom Läsionskörper durch schmale Poren nach außen und lagern sich an der Oberfläche bereits geschädigter Apatitkristalle an [Brown 1974; Moreno und Zahradnik 1974] (siehe Abbildungen 4 und 5).



Abb.4: Gleichgewicht aus De- und Remineralisation bei pH 7 [König 1987]

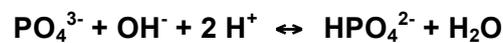


Abb.5: Verschobenes Gleichgewicht bei pH < 5,5 [König 1987]

Bis zu einem gewissen Grad kann der Speichel eine beginnende Karies remineralisieren, wenn eine Übersättigung der ionisch aktiven Produkte (IAP) in der Speichelflüssigkeit vorhanden ist [Dirks 1966; Driessens 1982; Hay *et al.* 1982; Kielbassa *et al.* 2009]. Beim Absinken des pH-Wertes in der Biofilmflüssigkeit kommt es jedoch im Umfeld der Zahnoberfläche zu einer IAP-Untersättigung, was letztlich zum Mineralverlust des Zahnes führt [Zhang *et al.* 2000]. Klinisch wird eine solche Initialkaries als sogenannter "White-Spot" sichtbar [Kidd 2011].

Histopathologisch kann man eine Demineralisation der Schicht unterhalb der noch bestehenden (pseudointakten) Oberflächenschicht erkennen (siehe Abbildung 6).

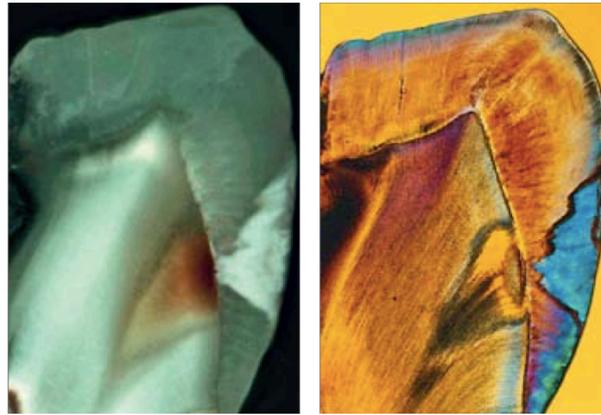


Abb. 6: Histologisch und mittels Polarisationsmikroskop dargestellte initiale Schmelzläsion (mit pseudointakter Oberflächenschicht und Läsionskörper); entnommen aus [Kielbassa *et al.* 2009], mit freundlicher Nachdruckerlaubnis des Verlages Quintessence Publishing.

Diese auch Läsionskörper genannte Zone kann bis zu 50 % seines ursprünglichen Mineralgehalts verloren haben [Silverstone 1973]. Solange diese initiale (pseudointakte) Oberflächenschicht (White-Spot-Läsion) noch vorhanden ist, ist das effektivste Mittel zur Karieskontrolle eine adäquat durchgeführte Mundhygiene (inklusive der vollständigen mechanischen Entfernung der Plaque), da so das Voranschreiten der Läsion verhindert und eine Remineralisation ermöglicht werden [Kielbassa *et al.* 2009]. Eine adäquat durchgeführte Mundhygiene behindert sogar bei Abwesenheit von Fluoriden die initiale Demineralisation [Kielbassa *et al.* 2000].

4.4. Fluoride

Fluoride werden als das Goldstandard-Agens bei den Mundhygieneprodukten betrachtet [Zero 2006]. Die antikariöse und kariesprophylaktische Wirkung der Fluoride wurde in vielen klinischen Studien untersucht [Clarkson *et al.* 1993; Marinho *et al.* 2002; Marinho 2009; Walsh *et al.* 2010; Marinho *et al.* 2013]. Seit der Entwicklung von topischen Fluoridagenzien in den 1940er Jahren wurde viel Energie zur Verbesserung [Esser *et al.* 1998] der Effektivität und der Applikationsweisen von Fluoriden investiert [Wefel 1982]. Fluoride werden auch als Hauptfaktor für die signifikante Abnahme der weltweit beobachtbaren Kariesprävalenz angesehen [Bratthall *et al.* 1996]. Fluoridierte Zahnreinigungsmittel haben seither sehr viel zur Prävention der Karies beigetragen [Mellberg und Chomicki 1983; Mellberg 1991; Wei und Yiu 1993]. In den letzten Dekaden

den wurde neben den Demineralisationsvorgängen in den Zahnhartsubstanzen auch die Wirkung von Fluoriden auf die Demineralisation untersucht [Cate und Arends 1977; Silverstone 1977; ten Cate und Featherstone 1991]. So wurde beispielsweise festgestellt, dass das Fluorid in Kombination mit einem demineralisierenden Speichelersatzmittel den Demineralisationseffekt deutlich reduziert [Zandim *et al.* 2011].

Auf der anderen Seite wurde ab den 1960er Jahren auch vermehrt die remineralisierende Wirkung der Fluoride, sowohl *in vitro* als auch *in vivo*, genauer untersucht [Koulourides *et al.* 1965; Dirks 1966; Groeneveld 1985]. Die Untersuchungen von Angmar-Mansson und Al-Khateeb [Angmar-Mansson *et al.* 1996; al-Khateeb *et al.* 1997] haben diese Wirkung ebenfalls bestätigt. Somit sind Fluoride in der Lage, nicht nur die Demineralisation zu hemmen, sondern vielmehr auch die Remineralisation zu fördern [Biesbrock *et al.* 1998; Lynch *et al.* 2004; Meyer-Lueckel *et al.* 2004; Kielbassa *et al.* 2009]. Die Remineralisation ist dabei häufig auf die äußeren 25 bis 50 μm der Schmelzschicht begrenzt [White 1987]; eine komplette Remineralisation des Läsionskörpers ist jedoch offenbar sehr schwer zu erreichen [ten Cate und Arends 1980]. Nichtsdestotrotz wird die tägliche Anwendung fluoridierter Mundpflegeprodukte als das effektivste kariostatische Vorgehen angesehen [Rolla *et al.* 1991; Twetman 2009].

Intraoral treten Fluoride in unterschiedlicher Form auf (siehe Abbildung 7). Man kann sie in 5 Kategorien einteilen [Arends und Christoffersen 1990; Buzalaf *et al.* 2011]:

1. **F_O** ("outer fluoride"): Fluorionen befinden sich außerhalb des Schmelzes (im Biofilm oder im Speichel)
2. **F_S** ("fluoride present in the solid phase"): Fluorionen sind in der Kristallgitterstruktur eingebunden (= Fluorhydroxylapatit)
3. **F_L** ("fluoride present at the enamel fluid"): Fluorionen sind in der Schmelzflüssigkeit vorhanden
4. **F_A** ("fluoride adsorbed to the crystal surface"): Fluorionen sind an den Kristallen lose gebunden
5. **CaF₂** ("CaF₂-like material"): auf dem Schmelz und im Biofilm eingelagerte Globuli nach Applikation eines hochkonzentrierten Fluoridproduktes fungieren als pH-kontrolliertes Fluorid- und Kalziumreservoir

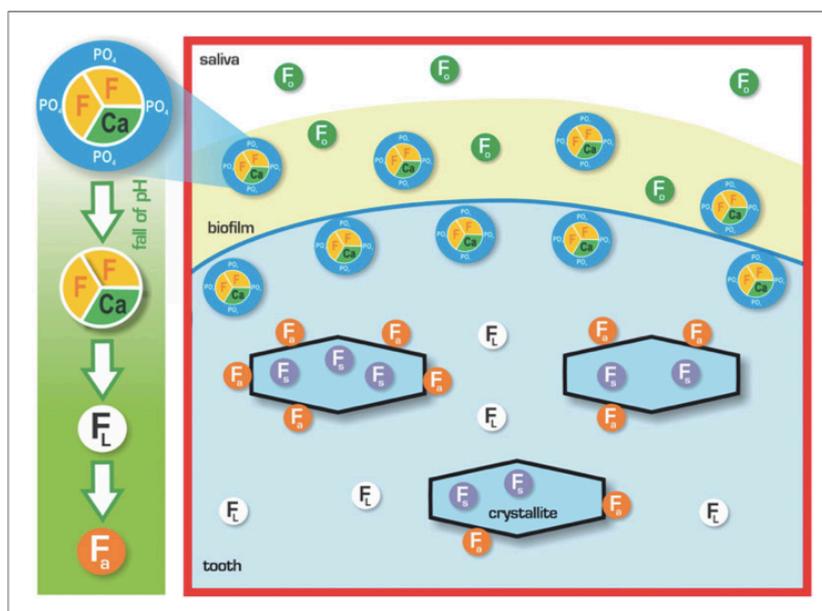


Abb. 7: Nach Arends und Christoffersen modifizierte schematische Darstellung von unterschiedlichen intraoralen Fluoridformen (entnommen aus [Buzalaf *et al.* 2011]; mit Nachdruckgenehmigung des Verlages Karger Publishers)

Die intraoralen Fluor-Ionen können sich nach Diffusion in den Zahnschmelz an freie Bindungsstellen im Kristallgitter binden, die aufgrund von Unregelmäßigkeiten während der Schmelzreifung entstehen [Ingram und Silverstone 1981]. Auch nach einer Demineralisation ist dies der Fall. Im Schmelz findet eine Demineralisation statt, wenn der pH-Wert von 5,5 unterschritten wird. Wenn der pH-Wert höher als 5,5 ist, findet dagegen eine Remineralisation statt [Amaechi und van Loveren 2013]. In Anwesenheit von Fluoriden werden die Remineralisationsprozesse beschleunigt, da eine Übersättigung des Fluorhydroxylapatits in der Flüssigkeit vorliegt (siehe Abbildung 8). Fluoride

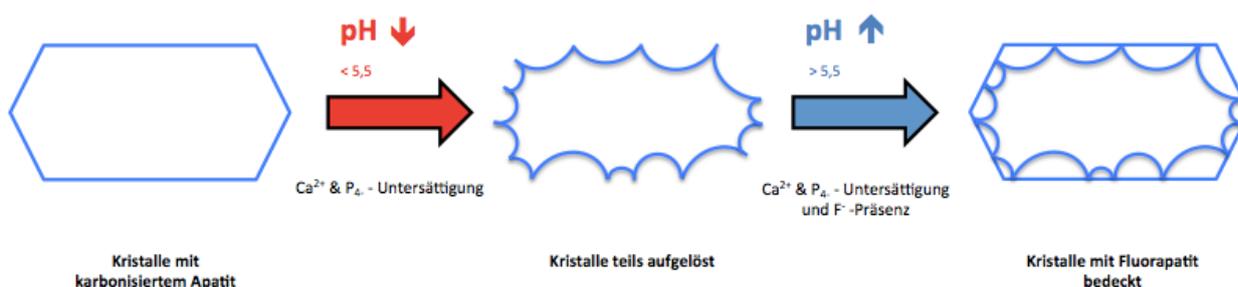


Abb. 8: Eigene schematische Darstellung der Remineralisation in Gegenwart von Fluoride (modifiziert nach [Featherstone 1999])

werden an die partiell demineralisierten Stellen der Kristalle gebunden. Die somit neu entstandenen Schmelzkristalle sind säureresistenter als der ursprüngliche Schmelz, und sie sind zudem karbonatarm [Buzalaf *et al.* 2011]. Karbonatfreie oder karbonatarmer Apatite sind weniger löslich als karbonathaltige [Featherstone 1999; ten Cate *et al.* 2008].

Nach mehreren Zyklen dieser De- und Remineralisationsphasen kann sich das Schmelzkristall von seinem Urzustand komplett unterscheiden [Featherstone 1999]. Es konnte gezeigt werden, dass der Fluoridgehalt im gesunden Schmelz niedriger ist als in einer Initialkaries, welche ständigen De- und Remineralisationsphasen unterlag. In der Oberflächenschicht einer Initialkaries fanden Weatherell und Mitarbeiter eine F^- -Konzentration von über 1100 ppm, wohingegen im gesunden, tiefer liegenden Schmelz nur 450 ppm beobachtet wurden [Weatherell *et al.* 1977]. Diese erhöhte F^- -Konzentration wird damit begründet, dass in der Oberflächenschicht eine fluoridgesteuerte Remineralisation und eine verbesserte F^- -Aufnahme stattgefunden hat, verursacht durch die poröse Oberfläche der Initialkaries [Hallsworth *et al.* 1975]. Ferner können Fluoride auch als Substitutionsreaktion anstelle von OH^- -Gruppen eingebaut werden, wodurch die Kristallinität verbessert wird.

Ein Hauptreaktionsprodukt nach einer lokalen Fluoridierung ist (wie bereits erwähnt) ein wegen seiner geringen Löslichkeit relativ stabiles kalziumfluoridähnliches Präzipitat (CaF_2) auf der Schmelzoberfläche [Duschner *et al.* 1984]. Es wird gebildet, wenn die F^- -Konzentration in der schmelzumgebenden Lösung 100 ppm übersteigt, und es fungiert auf diese Weise als pH-kontrolliertes Fluorid- und Kalzium-Reservoir. Allerdings dient das CaF_2 , das nach einer professionellen Fluoridapplikation gebildet wird, nicht als ein längerfristiges Fluorid-Reservoir, sondern geht nach und nach in Lösung [Hellwig *et al.* 2010]. Bei einem Abfall des oralen pH-Wertes kommt es zum Verlust der Adsorption des HPO_4^{2-} an das CaF_2 . Das CaF_2 spaltet sich anschließend, so dass es zur Freisetzung von Fluorid und Kalzium kommt (siehe Abbildung 7). Die so freigesetzten Fluoride werden als F_L der Remineralisation zur Verfügung gestellt [Rolla 1988; ten Cate *et al.* 2008]. Schließlich können sie dann an die partiell demineralisierten Stellen der Kristalle gebunden werden.

Bei gesundem Zahnschmelz führen Fluoride nur in höheren Konzentrationen (> 50 ppm) oder in Verbindung mit sauren pH-Werten zu einer Fluorideinlagerung [Fejerskov *et al.* 1994]. Beim Gebrauch von fluoridierten Zahnpasten wird zwar die Flu-

oridkonzentration im Speichel kurzfristig auf mehrere hundert ppm erhöht, allerdings wird kaum eine Aufnahme des Fluorids in die Apatitstruktur induziert [Bruun *et al.* 1982]. Dies wird mit der schlechten Haftung des Kalziumfluorids erklärt [Dijkman *et al.* 1982]. Dieses Präzipitat, welches sich bei der Fluoridapplikation auf der Zahnhartsubstanz niederschlägt, bleibt auf intaktem, v.a. glattem Schmelz, nur sehr kurzzeitig bestehen [Hellwig *et al.* 2010], und muss regelmäßig erneuert werden. Ferner muss der pH-Wert leicht sauer sein, damit eine gezielte positive Remineralisationswirkung durch Fluoride erzielt werden kann [Arnold *et al.* 2007]. Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass eine Remineralisation von den Kalzium-, Phosphat- und Fluoridkonzentration der remineralisierenden Lösung abhängt [Featherstone 2004; Hicks *et al.* 2004; Meyer-Lueckel *et al.* 2006; Westerman *et al.* 2006; Hicks und Flaitz 2007; Meyer-Lueckel *et al.* 2007]. Eine optimale Remineralisation findet bei relativ niedrigen Ca^{2+} -, PO_4^{3-} - und F^- -Konzentrationen statt [Garcia-Godoy und Hicks 2008].

Gleichzeitig findet durch die Präsenz von Fluoriden eine Hemmung der Demineralisation statt. Fluoride in der Schmelzflüssigkeit (F_L) werden bei einem Säureangriff an der Kristalloberfläche gebunden (F_A). So kann die Auflösung des Kristalles verhindert werden [Featherstone 1999]. Bei kompletter, 100%-iger Abdeckung der Kristalloberfläche mit F_A ist das Schmelzkristall vollständig vor bakterieninduzierten Säureangriffen geschützt, da dieser eine ähnliche Struktureigenschaft aufweist wie Fluorapatit. Bei einer unvollständigen Abdeckung des Kristalls werden die nicht abgedeckten Bereiche aufgelöst [Arends und Christoffersen 1990]. Je mehr F_L vorhanden sind, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass mehr F_A gebunden werden. Allerdings reichen bereits niedrige F^- -Konzentration (sub-ppm-Bereiche) aus, um die säureinduzierten Auflösung zu verhindern [Featherstone *et al.* 1990; ten Cate und Featherstone 1991].

Auf der anderen Seite jedoch ist in diesem Zusammenhang zu erwähnen, dass durch die Remineralisation der Oberflächenschicht mit Fluoriden die Remineralisation der darunter liegenden Schicht erschwert ist [Zantner *et al.* 2006]. Die Permeabilität von Ca^{2+} und PO_4^{3-} durch die mineralisierte Oberflächenschicht ist stark begrenzt [Pearce *et al.* 1995; Reynolds 1997; Larsen und Richards 2001]. So können fluoridierte Oberflächenschichten die klinisch-visuelle Diagnostik tieferliegender Läsionen, die sogenannte "hidden caries" [Ball 1986; Weerheijm *et al.* 1992] (oder auch "fluoride syndrome" [Millman 1984; Lewin 1985] genannt), erschweren.

Abschließend ist zu erwähnen, dass die gängigsten Fluoridverbindungen in fluoridierten Zahnpasten Natriumfluorid (NaF), Natriummonofluorophosphat (Na_2PFO_3), Zinnfluorid (SnF_2) und Aminfluorid (AmF) sind, wobei Aminfluorid deutlich besser die Schmelzläsion remineralisiert, wesentlich stabiler und weniger löslicher ist als andere Fluoridverbindungen [Arnold *et al.* 2006]. Die Reihenfolge der Remineralisationswirkung ist wie folgt: Natriumfluorid < Natriummonofluorophosphat < Aminfluorid [Arnold *et al.* 2006]. Die Überlegenheit von Aminfluorid gegenüber Natriumfluorid hinsichtlich der Remineralisationseigenschaft wird damit begründet, dass durch die Applikation von Aminfluorid anteilig mehr CaF_2 auf dem Schmelz gebildet wird [Hellwig *et al.* 2010]. Zudem konnten Arnold *et al.* feststellen, dass bei Anwendung von Aminfluoriden oder Natriummonofluorophosphaten der Läsionskörper wesentlich homogener remineralisiert [Arnold *et al.* 2006].

Die antimikrobielle Wirkung von Fluoriden soll hier nur kurz angesprochen werden, da sie nicht Gegenstand der vorliegenden Untersuchung ist. In Laborversuchen konnte gezeigt werden, dass Fluoride den Kohlenhydratmetabolismus der oralen Streptococci und Lactobacilli inhibieren [Balzar Ekenback *et al.* 2001]. Vor allem bei extrazellulär niedrigem pH-Wert wird das Fluorid als Flusssäure (HF) in die Bakterienzellen hinein transportiert, wo es dann in H^+ und F^- dissoziiert [Li und Bowden 1994]. Dies führt dazu, dass es in der Bakterienzelle zu einer Übersäuerung des Zytoplasmas kommt. Diese Übersäuerung kann den Glukosetransport in die Zelle hemmen. Ebenfalls inhibiert das Fluorid in der Zelle auch das Enzym Enolase und das protonen-freisetzende ATP [Sutton *et al.* 1987]. Auch wenn diese Mechanismen relativ gut untersucht sind, wird diskutiert, ob dieser Fluoridwirkung überhaupt eine entscheidende klinische Rolle bei der Kariesprävention beizumessen ist [ten Cate 1999].

4.5. Nanohydroxylapatit (nHA)

Die Nanotechnologie erfährt zurzeit ein rapides Wachstum und hat auch in der dentalen Forschung viel Potential. Unter Nanotechnologie versteht man die Herstellung funktionaler Materialien oder Systeme im Nanometerbereich (1-100 nm) [Hannig und Hannig 2012]. Das Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), im Schmelz als Hydroxylapatitkristalle mit einem Durchmesser von 25 bis 100 nm vorliegend, macht nicht nur den Hauptanteil des Hartgewebes im menschlichen Körper aus, sondern ist auch eine der wichtigsten synthetischen Biokeramiken in der medizinischen und der dentalen Forschung. Es findet

beispielsweise in Form von Dentalimplantaten, Knochenaugmentaten, in der orthopädischen Behandlung oder sogar als Drug-Delivery-System Verwendung [Kenney *et al.* 1985; Doremus 1992; Hench 1998; Suchanek und Yoshimura 1998; Burg *et al.* 2000; Gomez-Vega *et al.* 2000; Zhao *et al.* 2008].

Hydroxylapatit kann auf unterschiedlichste Weise gewonnen werden, wobei verschiedene Methoden der synthetische Herstellung möglich sind [Schmidt 2000; Cushing *et al.* 2004; Wang *et al.* 2005; Mao *et al.* 2007]: die Sol-Gel-Methode [Chai und Ben-Nissan 1999; Bezzi *et al.* 2003; Ben-Nissan und Choi 2006; Choi und Ben-Nissan 2007; Sun *et al.* 2007], die homogene Ausfällungsmethode [Zhang *et al.* 2001; Huang *et al.* 2004; Liou *et al.* 2004; Wang und Shaw 2007; Zhang und Lu *et al.* 2007; Ganesan und Epple 2008], die hydrothermale Methode [Liu *et al.* 1997; Suchanek *et al.* 2002; Chaudhry *et al.* 2006; Guo *et al.* 2007], die Verbrennungsmethode [Tas 2000] und die Sprüh-Trocknungs-Methode [Luo und Nieh 1995]. Die mannigfaltigen Verwendungsmöglichkeiten verdankt das Hydroxylapatit seiner hervorragenden Biokompatibilität und seiner chemischen und physikalischen Affinität zum Knochengewebe und knochenähnlichen Strukturen [Suchanek und Yoshimura 1998; Burg *et al.* 2000; Dorozhkin 2010]. Nicht nur, dass synthetisches Hydroxylapatit eine ähnliche Mineralzusammensetzung wie die des natürlichen Hydroxylapatits besitzt [Marcacci *et al.* 1999; Vandiver *et al.* 2005], sondern auch die Tatsache, dass das Hydroxylapatit nicht toxisch und nicht entzündungsauslösend ist [Roveri *et al.* 2008], machen es für die zahnmedizinische Anwendung interessant.

Im Handel erhältliche Zahnpasten, in denen Nanohydroxylapatit (nHA) enthalten sind, gibt es in Japan seit den 1980er Jahren [Aoki *et al.* 1982; Kani *et al.* 1988; Ohashi *et al.* 1991]. Eine randomisierte Studie aus dem Jahre 1989 bestätigte dem nHA offenbar günstige antikariöse Eigenschaften [Kani *et al.* 1989]. Auch wenn das Phänomen der Remineralisation (bzw. mechanische und atomare Remineralisationsmechanismen) der Initialkaries durch nHA-Anwendung noch nicht vollständig geklärt werden konnte [Hannig und Hannig 2012], berichten diverse Publikationen in den letzten Jahren über die remineralisierende Wirkung von nHA-haltigen Mundpflegeprodukten [Onuma *et al.* 2005; Yamagishi *et al.* 2005; Lu *et al.* 2007; Roveri *et al.* 2009; Huang *et al.* 2010; Orsini *et al.* 2010]. Es wurde ebenfalls berichtet, dass die Remineralisation einer Initialläsion durch nHA die Härte des demineralisierten Schmelzes steigert [Lu *et al.* 2007].

Eine sehr gute Affinität zur Schmelzoberfläche zeigte klinisch das Zink-Carbonat-nHA (ZnCO_3/nHA) [Roveri *et al.* 2009].

Die Kombination von Nanohydroxylapatit und Fluorid soll synergistisch die remineralisierende Effekte beider Substanzen verstärken [Kim 2007]. Jeong berichtet hingegen, dass zwischen nHA und Fluorid keine synergistischen Effekte bestehen [Jeong 2006]. Einige Studien berichten von einer guten Remineralisation einer künstlich erzeugten Initialläsion mit einer 4%-igen nHA-Suspension [Mielnik-Blaszczak *et al.* 2001; Li *et al.* 2007]. In einer dynamischen pH-Cycling-Studie wurde ebenfalls festgestellt, dass sich die remineralisierenden Effekte des nHA bis zu einer nHA-Konzentration von 10 % verstärken. Bei Konzentrationen über 10 % erreicht die Wirkung jedoch ein Plateau. Daraus lässt sich schließen, dass eine 10%-ige nHA-Konzentration für die Remineralisation von Initialkaries optimal ist [Huang *et al.* 2009].

So kann eine Oberflächenläsion von 20 μm bis 40 μm rückgängig gemacht werden [Li *et al.* 2008; Huang *et al.* 2010]. Auch eine Remineralisation des Läsionskörpers mit nHA wurde teilweise erreicht [Huang *et al.* 2010; Huang *et al.* 2011]. Untersuchungen haben ergeben, dass sowohl die nHA-Partikelgröße als auch der pH-Wert möglicherweise einen Einfluss auf die Remineralisation haben. So wurde festgestellt, dass die Remineralisation des Läsionskörpers verstärkt wird, wenn der pH-Wert von 7,0 auf 4,0 gesenkt wurde. Darüber hinaus wurde beschrieben, dass nHA die Schmelzläsion bei einem pH-Wert von 7,0 besser remineralisiert als Mikro-HA (μHA) derselben Konzentration [Huang *et al.* 2011]. Kalziumkarbonat- oder Apatit-Nanopartikel fungieren als Kalzium- und Phosphatreservoir, so dass eine Übersättigung vorliegt. Diese Anlagerung auf der Oberfläche fördert die Remineralisation der obersten Karieszone(n). Allerdings kann eine zu starke Mineralisation der Oberfläche dazu führen, dass eine Remineralisation des Läsionskörpers, ähnlich wie bei der Remineralisation der Oberflächenschicht durch Fluorid (siehe Kapitel 4.4), erschwert wird [Hannig und Hannig 2012].

Die Remineralisation der Oberflächenschicht soll auch den Effekt haben, dass Zahnpasten mit nHA-Anteilen zahnweißend wirken. Dieser Effekt wird damit begründet, dass eine gleichmäßig stattfindende Remineralisation der Oberflächenschicht dazu führt, dass die Reflexionsrate des Lichts positiv verändert wird [Niwa *et al.* 2001]. Ebenfalls können nHA-Zahnpasten die Hypersensibilität überempfindlicher Zähne reduzieren [Rimondini *et al.* 2007; Browning *et al.* 2012]. Kleine Oberflächendefekte des Zahnschmelzes, wie etwa kleinere Kratzer, können durch die Anlagerung der nHA-Kristalle

nivelliert werden. Die so entstandene Schicht ist offenbar wesentlich glatter als ursprünglich; allerdings ist die synthetische nHA-Deckschicht weniger kristallin als die des natürlichen Schmelzes [Lu *et al.* 2007; Roveri *et al.* 2008].

Ferner wurde berichtet, dass durch Bindungen des Nanohydroxylapatits an Proteine, Lipide, Polysaccharide sowie an andere Makromoleküle Mundgerüche verhindert werden können [Aoki 1994]. In Tierversuchen konnte zudem gezeigt werden, dass synthetisches nHA durch seine gut bindende Eigenschaft die bakterielle Kolonisierung auf Zahnoberflächen reduzieren kann [Lu *et al.* 2007]. Nanohydroxylapatit im Speichel kann im Anfangsstadium des Biofilms an den kariogenen *S. mutans* binden, so dass dieser von der dentalen Plaque gelöst werden soll. Auf diese Weise soll nHA die Plaquebildung beeinflussen können. Zusätzlich soll nHA durch seine Bindung an Glucane die Nährstoffe für *S. Mutans* entziehen und auf diese Weise dessen Biofilmwachstum erschweren können [Meng *et al.* 2007].

Vollständigkeitshalber soll hier noch erwähnt werden, dass Kodaka *et al.* festgestellt haben, dass nHA-Kristalle in Zahnpasten abrasiver sind als Zahnpasten mit Brushit oder Monetit [Kodaka *et al.* 1999].

5. Ziel der Arbeit

Hauptziel dieser In-vitro-pH-Cycling-Studie war, zu untersuchen, inwiefern das Nano-hydroxylapatit ein alternatives Remineralisationsagens initialer Schmelzläsionen im Vergleich zu Fluorid darstellen kann. Dazu wurden die Zahnpasten Salviagalen fluoridfrei (Zahnpasta ohne Fluorid), BioRepair (Zahnpasta mit Nanohydroxylapatit) und ColgateTotal (Zahnpasta mit Natriumfluorid; 1450 ppm) hinsichtlich ihrer Wirkung auf künstliche kariöse Läsionen in bovinem Schmelz untersucht.

Das Primärziel dieser mikroradiografischen Untersuchung war die Messung des Mineralverlustes und der Läsionstiefe nach zwei- und nach dreiwöchiger Behandlung der Schmelzproben mit den unterschiedlichen Produkten. Die Untersuchungsparameter waren der Mineralverlust ($\text{Vol}\% \times \mu\text{m}$) sowie die Läsionstiefe (μm) der Schmelzproben.

Die Fragestellung befasste sich mit der Veränderung des Mineralgehaltes sowie der Läsionstiefe in den Schmelzproben nach einer Prüfphase von zwei und nach einer Prüfphase von drei Wochen. Mithilfe eines pH-Cycling-Modells sollten die möglichen Unterschiede hinsichtlich der Remineralisationswirkung der unterschiedlichen Mundhygieneprodukte auf bestehende, künstlich erzeugte Schmelzläsionen erfasst werden. Des Weiteren sollten die zeitabhängigen (nach zwei und nach drei Wochen) Unterschiede hinsichtlich der Remineralisationswirkung der Produkte auf Initialläsionen *in vitro* untersucht werden.

Bei der Nullhypothese wurde von keinen signifikanten Unterschieden hinsichtlich Mineralverlust und Läsionstiefe der Schmelzproben zwischen der Anwendung von Nanohydroxylapatit und Fluorid ausgegangen. Die Alternativhypothese/Studienhypothese ging davon aus, dass signifikante Unterschiede bezüglich der Parameter Mineralverlust und Läsionstiefe bei den Schmelzproben, d. h. signifikanter Auswirkungen hinsichtlich des Remineralisationsverhaltens zwischen Nanohydroxylapatit und Fluorid, zu evaluieren waren.

6. Material und Methode

6.1. Genereller Versuchsaufbau

Zur Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Mundpflegeprodukte auf das Remineralisationsverhalten von Schmelzläsionen wurde ein modifiziertes pH-Cycling-Modell in Anlehnung an ten Cate [ten Cate *et al.* 2006] angewendet, um die sich im Tagesverlauf ständig verändernde orale Mundflora (hinsichtlich des pH-Wertes) zu simulieren. Das pH-Cycling wurde auf 21 Tage angesetzt, wobei an zwei Tagen in der Woche die Proben bei 100%-iger Luftfeuchtigkeit gelagert wurden. Als Schmelzproben wurde bovine Zahnhartsubstanz verwendet, da diese bezüglich der chemischen Zusammensetzung derjenigen von menschlichem Zahnschmelz ähnelt (siehe Kapitel 4.2.). Für die gesamte Versuchsdurchführung wurden ca. 100 Tage eingeplant (siehe Tabelle II).

Tab. II: Zeitplan der gesamten Studie.

	Art der Arbeit	Dauer
1	Beschaffung von bovinen Zähnen	1 Tag
2	Herstellung, Einbettung, Nachbearbeitung der Schmelzproben	ca. 11 Tage
3	Demineralisation von Schmelzproben	ca. 14 Tage
4	Kontrolle der Demineralisation exemplarisch an 6 Dünnschliffen	8 Tage
5	Praktische Durchführung des Versuches/pH-Cycling inkl. Behandlung mit Slurries bzw. Remin.-Lsg.	21 Tage
6	Anfertigung von Dünnschliffen	ca. 10 Tage
7	Durchführung TMR, Auswertung der Bilder	ca. 25 Tage

6.2. Versuchsvorbereitung

Für diese Studie wurden 64 frisch extrahierte Rinderfrontzähne (A. Moksel AG/VION Food, Buchloe, Deutschland) verwendet. Das noch an den Zähnen haftende Weichgewebe wurde entfernt, bevor die Wurzeln abgetrennt wurden. Anschließend wurden die Zähne in 0,9 %iger Kochsalzlösung (NaCl 0,9 % Fresenius; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) und bis zur weiteren Verarbeitung in einem Brutschrank bei einer der menschlichen Körpertemperatur entsprechenden konstanten Temperatur von 37 °C gelagert (Venticell 404; MMM Medcenter, Planegg, Deutschland).

6.2.1. Herstellung der Schmelzproben

Als erster Arbeitsschritt für die Schmelzprobenherstellung wurden aus den Labialflächen der bovinen Inzisivi, je nach Größe des Zahnes, jeweils zwei bis vier Schmelzproben ($4 \times 6 \times 4$ mm) unter Wasserkühlung (Bandsäge EXAKT 300CL; EXAKT, Norderstedt, Deutschland) herauspräpariert (siehe Abbildung 9).

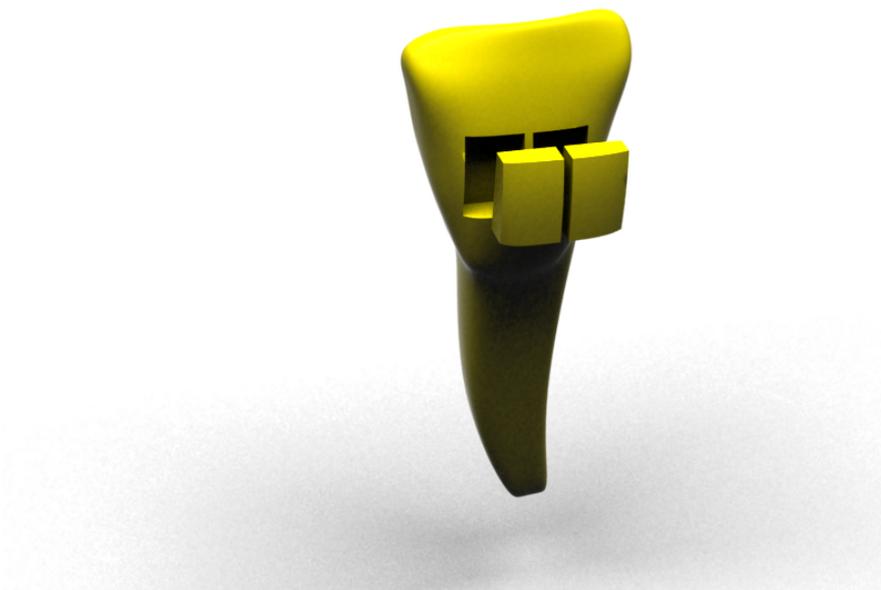


Abb. 9: Graphische Darstellung der Entnahme von Schmelzproben aus einem bovinen Inzisivus (eigene Darstellung)

Aus 60 hergestellten Schmelzproben wurden anschließend jeweils fünf Proben zu einer Gruppe zusammengefasst. Diese fünf Proben wurden anschließend mit Hilfe von Silikonformen in Kunstharz (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Werheim, Deutschland) eingebettet (siehe Abbildung 10). Die so entstandenen zwölf Kunstharzblöcke mit je fünf Schmelzproben wurden mit einer Poliermaschine (Labo Pol 25; Struers, Ballerup, Dänemark) bei 250 U/min und Schleifpapier aufsteigender Körnung (SiC, P1200/P2500/P4000; Buehler, Düsseldorf, Deutschland) zunächst geschliffen und anschließend poliert. So wurden die Schmelzoberflächen unter geringem Substanzabtrag (ca. 300 μ m der gesunden Schmelzoberfläche gingen dabei jeweils verloren) standardisiert und auf dieselbe Ebene parallelisiert. Im Anschluss an die Politur wurden der rechte äußerste Bereich der Probe und zwei in der Mitte der Probe befindlichen Bereiche

mit Nagellack (Jet-Set Diamant; L'Oreal Deutschland, Karlsruhe, Deutschland) abgedeckt (siehe Abbildung 10), so dass diese Bereiche als „gesunde Bereiche“ oder als „Kontrollbereiche“ dienen.

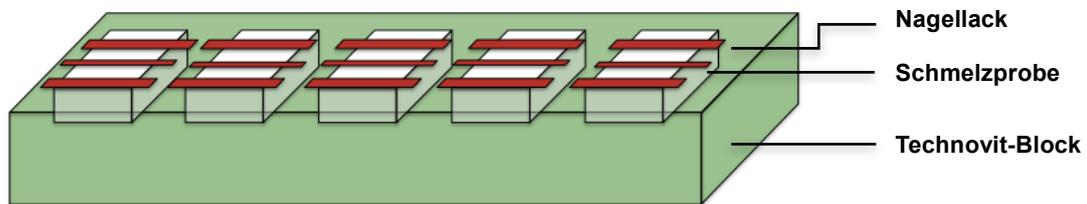


Abb. 10: Kunstharzblock mit 5 Schmelzproben (eigene Darstellung)

6.2.2. Demineralisation der Schmelzproben

Die hergestellten Proben wurden für 16 Tage bei konstanter Temperatur von 37 °C in einem Wärmeschrank demineralisiert. Hierfür wurden fünf Liter einer Demineralisationslösung nach Buskes (siehe Tabelle III) angesetzt, deren pH-Wert 4,95 betrug [Buskes *et al.* 1985]. Mit dieser Lösung wurde eine Demineralisationstiefe von ca. 125 µm an der Schmelzoberfläche geschaffen. Um neben der konstanten Temperatur auch einen konstanten pH-Wert über die komplette Demineralisationsphase zu gewährleisten, wurde der pH-Wert täglich mit Hilfe eines pH-Meters (pH-Meter GMH 3530; Greisinger, Regenstauf, Deutschland; Pufferlösung Buffer solution HI7007/HI7004; Hanna Instruments, Kehl am Rhein, Deutschland) kontrolliert und gegebenenfalls bei Abweichungen korrigiert. Dies erfolgte bei erhöhtem pH-Wert mit Salzsäure (HCl) und bei einem erniedrigten pH-Wert mit Kaliumhydroxid (KOH). Das Fortschreiten der Demineralisation wurde mittels transversaler Mikroradiographie regelmäßig kontrolliert.

Nach 16 Tagen war die gewünschte Läsionstiefe von 125 µm erreicht. Anschließend wurde ein weiterer Bereich der Probe mit Nagellack versiegelt. Dieser Bereich diente als Kontrolle der ursprünglichen Demineralisation für die vergleichende Untersuchung zwischen den gesunden, den Demineralisations- und den Effektbereichen. Nach der Demineralisation und der Abdeckung der Demineralisationsbereiche wurden die Proben erneut in 0,9%-iger Kochsalzlösung gelagert.

Tab. III: Zusammensetzung der Demineralisationslösung nach Buskes.

	Konzentration in mmol/l	Molare Masse in g/mol	Menge
CaCl ₂ × 2H ₂ O	3	147,02	2,205 g
KH ₂ PO ₄	3	136,09	2,041 g
MHDP	0,6	176,00	5,25 mg
CH ₃ COOH	50	60,05	15,12 g
KOH 10 M	ad pH 4,95	56,11	23 ml
Aqua dest.		18,00	Ad 5 l

6.2.3. Herstellung und Zusammensetzung der Zahnpasta-Slurries

Um die Einflüsse der Behandlungen von initialen Schmelzläsionen mit unterschiedlichen Mundpflegeprodukten auf das Remineralisationsverhalten zu untersuchen, wurden drei handelsübliche, sich hinsichtlich ihrer Wirkmechanismen unterscheidende Zahnpasten und zusätzlich eine Remineralisationslösung, bestehend aus einer HEPES-freien Remineralisationslösung (PT01AMK; [Tschoppe und Kielbassa 2011]) (Zusammensetzung siehe Tabelle IV), ausgewählt. Folgende handelsübliche Zahnpasten wurden für den Versuch verwendet:

1. *Salviagalen fluoridfrei* Zahnpasta (Zahnpasta **ohne Fluorid**; Madaus, Köln, Deutschland)
2. *BioRepair* Zahnpasta (Zahnpasta **mit Nanohydroxylapatit**; Dr. Wolff, Bielefeld, Deutschland)
3. *ColgateTotal* Zahnpasta (Zahnpasta **mit Natriumfluorid**, 1450 ppm; Colgate-Palmolive, Hamburg, Deutschland)

Ferner wurden für die Versuchsdurchführung mit den drei Zahnpasten geeignete Slurries hergestellt. Hierfür wurden die Zahnpasten im Verhältnis von 1:3 mit der bereits oben genannten Remineralisationslösung (PT01AMK) vermengt. Daraus ergab sich, dass die Slurries aus jeweils $\frac{1}{3}$ Anteil Zahnpasta und $\frac{2}{3}$ Anteil Remineralisationslösung bestanden. Um eine exakte Versuchsdurchführung gewährleisten zu können, wurde bei jedem Ansetzen der Slurries stets auf eine reproduzierbare Einstellung des pH-Wertes geachtet. Für den Slurry 1 (Salviagalen; Abbildung 11) wurde ein pH-Wert von 6,63, für

den Slurry 2 (BioRepair; Abbildung 12) ein pH-Wert von 7,55 und schließlich für den Slurry 3 (Colgate Total; Abbildung 13) ein pH-Wert von 6,75 gemessen. Die pH-Werte wurden bei jeder Slurry-Herstellung gemessen und bei jeder Herstellung konstant gehalten. In den Versuchstagen wurden alle Lösungen neu angesetzt. Vor jeder Verwendung der Slurries wurden diese durch einen Magnet-Rührer (IKA-Kombimag RCT; Jahnke & Kunkel, Staufen i. Breisgau, Deutschland) für eine Stunde gerührt, um homogene Lösungen für den Versuch zu erhalten.



Abb. 11: Salviagalen fluoridfrei



Abb. 12: BioRepair



Abb. 13: ColgateTotal

Die in diesem Versuch verwendete Remineralisationslösung (PT01AMK) basiert auf der Remineralisationslösung, die Buskes in seiner Veröffentlichung im Jahre 1985 [Buskes *et al.* 1985] für die Remineralisation für bovinen Schmelz angab, und die wie nachfolgend dargestellt modifiziert wurde (siehe Tabelle IV) [Tschoppe und Kielbassa 2011].

Tab. IV: Zusammensetzung der Remineralisationslösung (PT01AMK; pH 6,3).

	Menge
NaCl (0,9%)	5000 ml
K ₂ HPO ₄	1,462 g
CaCl ₂ × 2 H ₂ O	0,772 g
KH ₂ PO ₄	2,285 g
Methyl-4-Hydroxybenzoat	5,0 g
Propyl-4-Hydroxybenzoat	1,0 g

6.3. Gruppeneinteilung und Versuchsdurchführung

Die zwölf vorbereiteten Kunstharzblöcke mit den eingebetteten Schmelzproben wurden in vier Gruppen aufgeteilt. Jede Gruppe besaß demnach drei Probenblöcke mit jeweils

fünf Schmelzproben, also insgesamt 15 Schmelzproben pro Gruppe. Folgende Gruppen wurden für den Versuch definiert (siehe auch Tabelle V):

Gruppe 1: keine Zahnpasta; lediglich Remineralisationslösung (PT01AMK)

Gruppe 2: Salviagalen fluoridfrei (siehe Abbildung 11); $\frac{1}{3}$ anteilig, vermengt mit $\frac{2}{3}$ Anteilen Remineralisationslösung PT01AMK

Gruppe 3: BioRepair (siehe Abbildung 12); $\frac{1}{3}$ anteilig, vermengt mit $\frac{2}{3}$ Anteilen Remineralisationslösung PT01AMK

Gruppe 4: Colgate Total (siehe Abbildung 13); $\frac{1}{3}$ anteilig, vermengt mit $\frac{2}{3}$ Anteilen Remineralisationslösung PT01AMK

Tab. V: Verwendete Produkte, Probengruppen und Vorgehensweise.

Behandlungsprodukt	Code	aktives Präparat	Konzentration	Behandlung	pH
keine Zahnpasta	0	kein aktives Präparat	---	Putzen nur mit Remineralisationslösung	6,30
Fluoridfreie Zahnpasta ^a Chargen-Nr. D1001060	S	kein aktives Präparat	---	Slurry (ratio 1:3) Zahnpasta und Remineralisationslösung	6,63
ZnCO ₃ /n-HAP ^b Chargen-Nr. 101851005	B	Zinkcarbonat-nHA	20 Gew.%	und Putzen für 5 Sekunden und einer gesamten Kontaktzeit von 120 Sekunden	7,55
Fluoride ^c Chargen-Nr. CP(L)0269PI111	C	NaF	0,145 Gew.%		6,75

Nach jedem Putzen wurden die Proben mit destilliertem Wasser gespült (20 s).

^a Salviagalen Fluoridfrei, Madaus, Köln, Deutschland;

^b BioRepair, Dr. Kurt Wolff, Bielefeld, Deutschland;

^c Colgate Total, Colgate-Palmolive, Hamburg, Deutschland

Die Proben wurden einem 21-tägigen pH-Cycling (modifiziert nach [ten Cate und Duijsters 1982]) ausgesetzt. Während dieses pH-Cyclings erfuhren die Proben täglich abwechselnd Demineralisations- und Remineralisationsvorgänge (siehe Abbildung 14). Als Demineralisationslösung diente die bereits bei der Probenherstellung verwendete Lösung nach Buskes. Als Remineralisationslösung fand die oben beschriebene Remineralisationslösung PT01AMK Verwendung. Jede Gruppe wurde zudem zweimal täglich mit den jeweils vorbereiteten Slurries nach einer Demineralisationsphase geputzt (Treatment, siehe Abbildung 14). Um ein einheitliches Ergebnis zu erzielen, wurde für jede

Behandlung der Proben dieselbe Zahnbürste benutzt. Jede Schmelzprobe wurde für 5 Sekunden mit dem jeweiligen Slurry „geputzt“; anschließend wurden die Proben für weitere 115 Sekunden in den jeweiligen Slurries gelagert, so dass jede Probe bei jeder Behandlung eine Kontaktzeit von insgesamt 120 Sekunden hatte.

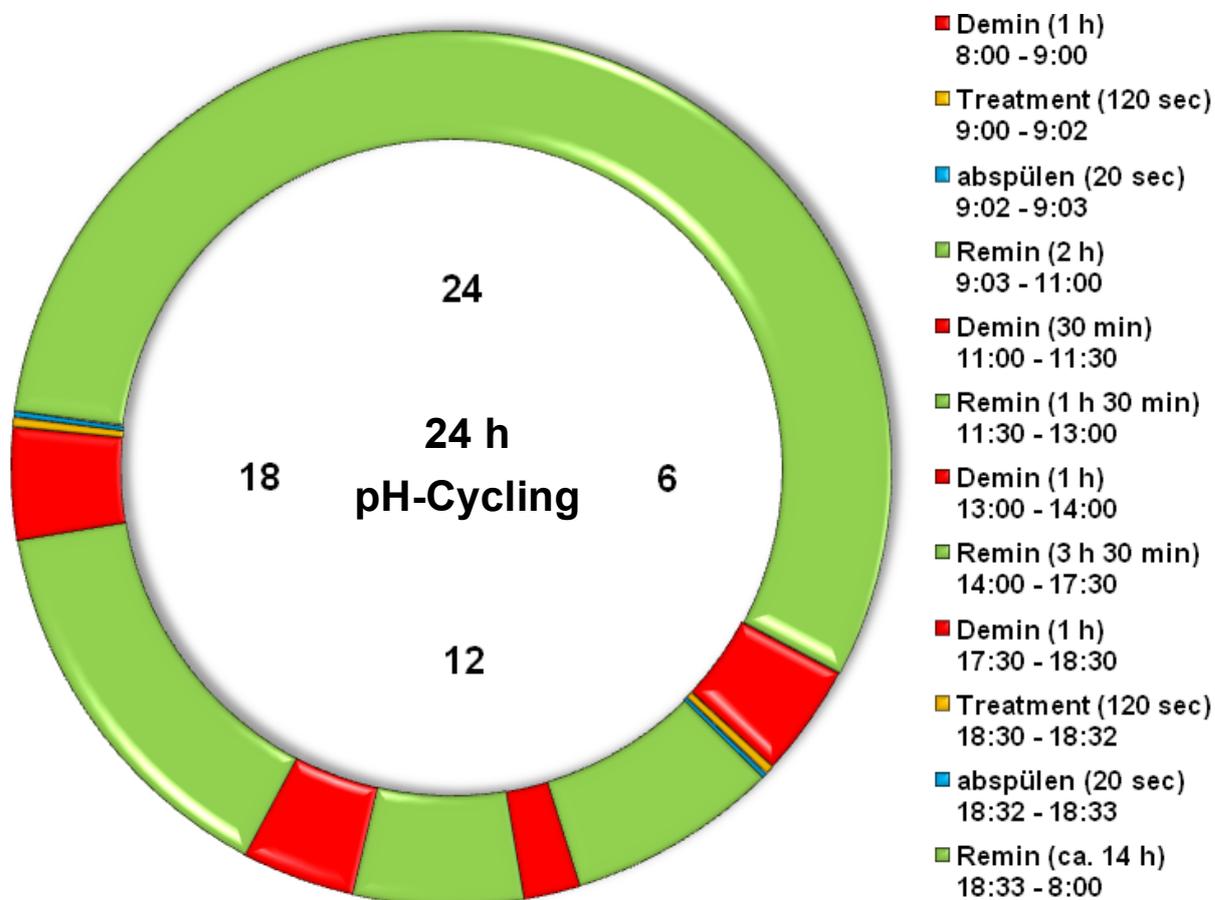


Abb. 14: Graphische Darstellung des pH-Cycling-Ablaufes (eigene Darstellung)

Nach der Kontaktzeit wurden die Proben mit destilliertem Wasser für 20 Sekunden abgespült. Sowohl die Remineralisationslösung als auch die Demineralisationslösung wurden täglich neu angesetzt, wobei der pH-Wert während des gesamten Versuches konstant gehalten wurde. Nach 14 Tagen wurde ein weiterer Bereich der Probe mit Nagellack abgedeckt. Dieser Bereich diente als Effektbereich (E2) zur Kontrolle der erfolgten Remineralisation durch die Behandlungen mit den unterschiedlichen Mundpflegeprodukten nach 14 Tagen (siehe Abbildung 15). Nach Beendigung des pH-Cyclings nach 21 Tagen erfolgte eine erneute Abdeckung des letzten verbliebenen Probenbereiches (E3) mit Nagellack. Dieser Bereich diente zur Kontrolle der nach 21 Tagen erfolg-

ten Remineralisation durch die unterschiedlichen Mundpflegeprodukte. Anders als die anderen Abdeckungen diene diese letzte Abdeckung jedoch lediglich dem Schutz während der Weiterverarbeitung für die Auswertung (siehe Abbildung 15).

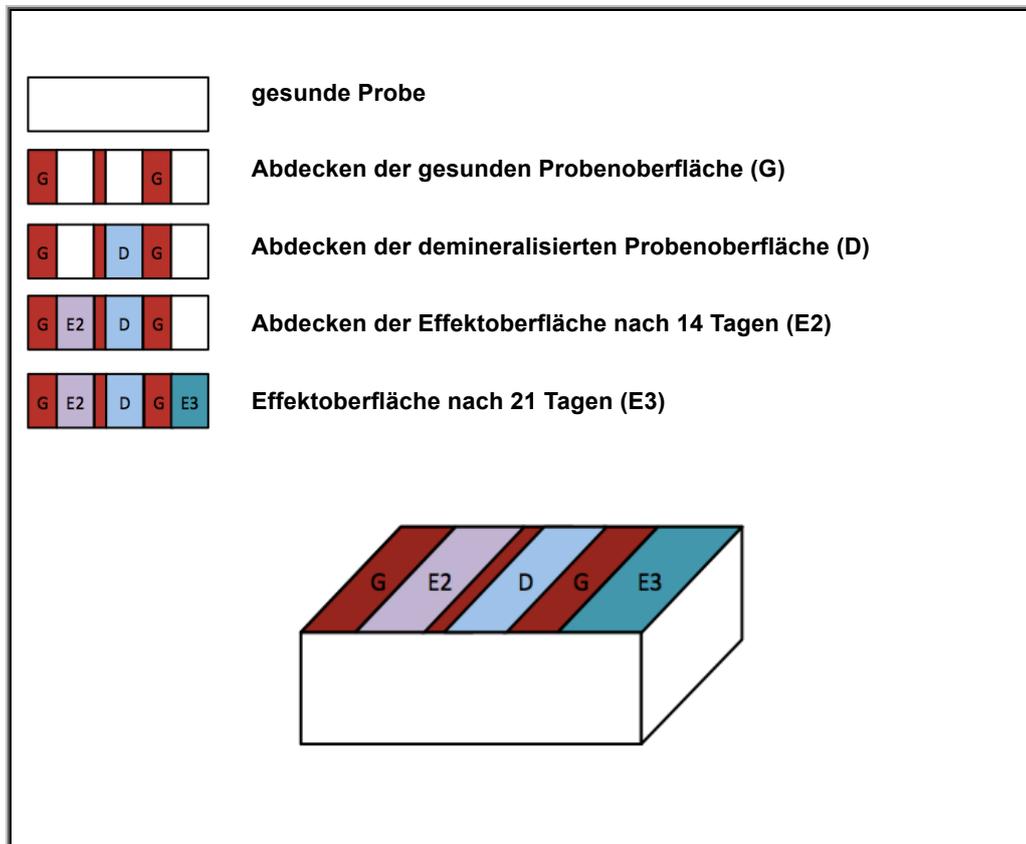


Abb. 15: Graphische Darstellung von den Effektbereichen der Schmelzprobe (eigene Darstellung)

6.4. Transversale Mikroradiographie

6.4.1. Vorbereitung der Proben für die Mikroradiographie

Die Proben wurden senkrecht zur Oberfläche entlang der Effektbereiche geschnitten (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) und die Schnittflächen mit der Poliermaschine und Schleifpapier (Körnung 4000) bearbeitet. Danach wurde ein Teil der Probe auf einen Objektträger aus Plexiglas (Diaplas, Oststeinbeck, Deutschland) mit Kleber (Sekundenkleber; Uhu, Bühl (Baden), Deutschland) befestigt. Anschließend wurden mit einer 200 µm dicken, diamantierten Bandsäge unter ständiger Wasserkühlung planparallele Schnitte von 300 µm Dicke angefertigt. Die Schnittge-

schwindigkeit der Säge wurde auf 200 U/min, die Vorschubkraft des Probentisches auf 50 g eingestellt. Die endgültige Parallelisierung und Glättung der Proben erfolgte in Anlehnung an frühere Studien mit gewässertem Schleifpapier in einer Mikroschleifapparatur (Exakt Mikroschleifsystem; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Dabei wurde eine definitive Schliffdicke von $100 \pm 10 \mu\text{m}$ hergestellt. Die Dicke wurde mit Hilfe eines digitalen Mikrometers (Digimatic Bügelmessschraube; Mitsutoyo, Kawasaki, Japan) bei einer Genauigkeit von 0,001 mm überprüft. Schließlich wurden die Dünnschliffe der Proben vorsichtig mit einem Skalpell von den Objektträgern entfernt und auf TMR-Probenhalter mit Leukoplaststreifen fixiert (siehe Abbildung 17).

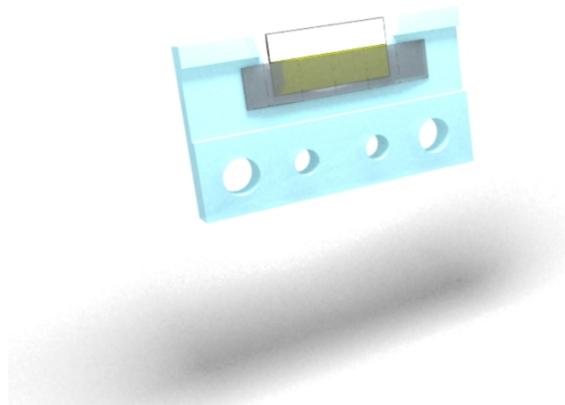


Abb. 16: Graphische Darstellung eines TMR-Probenhalters mit Dünnschliff (eigene Darstellung)

6.4.2. Transversale Mikroradiographie (TMR)

Die Verwendung der transversalen Mikroradiographie ermöglicht es, den Mineralverlust oder -gewinn ($\text{Vol. \%} \times \mu\text{m}$) und die Läsionstiefe (μm) einer Probe zu bestimmen. Jede zu untersuchende Probe wies fünf unterschiedliche Bereiche auf. Dabei handelte es sich zweimal um den gesunden Bereich (Kontrolle Gesund, G), den demineralisierten Bereich (Demineralisation, D), den Bereich nach 14-tägiger Behandlung (Effekt, E2) und den Bereich nach abschließender 21-tägiger Behandlung (Effekt, E3). Die Aufnahmen für die Mikroradiographie wurden in einem speziellen Kameragehäuse vorgenommen, welches mit der „Objektivseite“ am Röntgentubus eines Röntgengenerators gekoppelt war (siehe Abbildung 17).

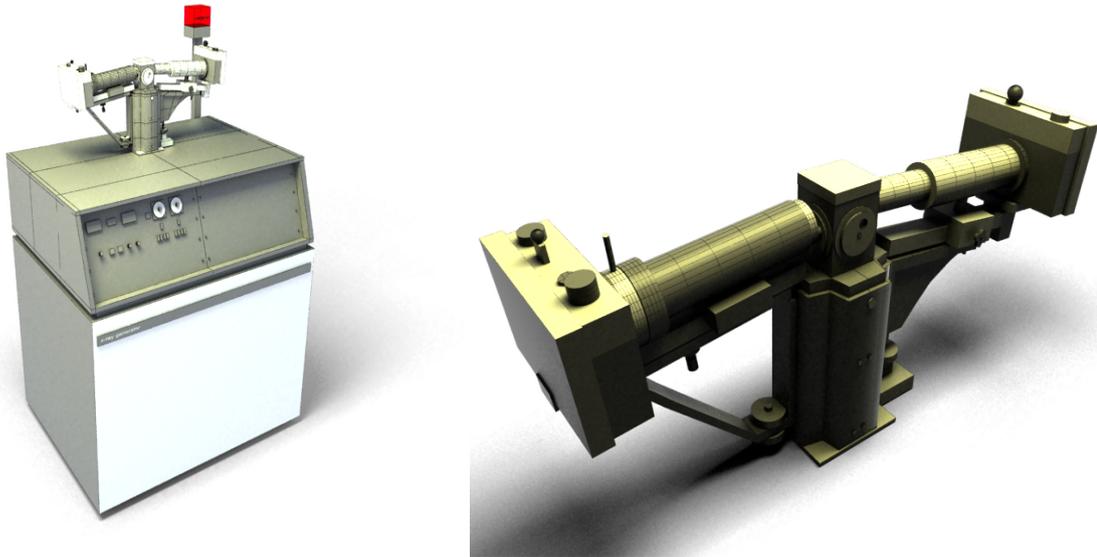


Abb. 17: Röntgenreät und Detaildarstellung von Kamera und Tubus (eigene Darstellung)

Das Kameragehäuse enthält auf Filmhöhe eine Aluminium-Eichtreppe (step wedge) für transversale Mikroradiogramme (siehe Abbildung 18). Rechts daneben befindet sich ein Aluminiumschlitten zur Aufnahme der Probenhalter (TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland), welche die Schmelzprobe während der mikroradiographischen Aufnahme in exakt gleicher Position zur Aluminium-Eichtreppe hält (siehe Abbildung 16).

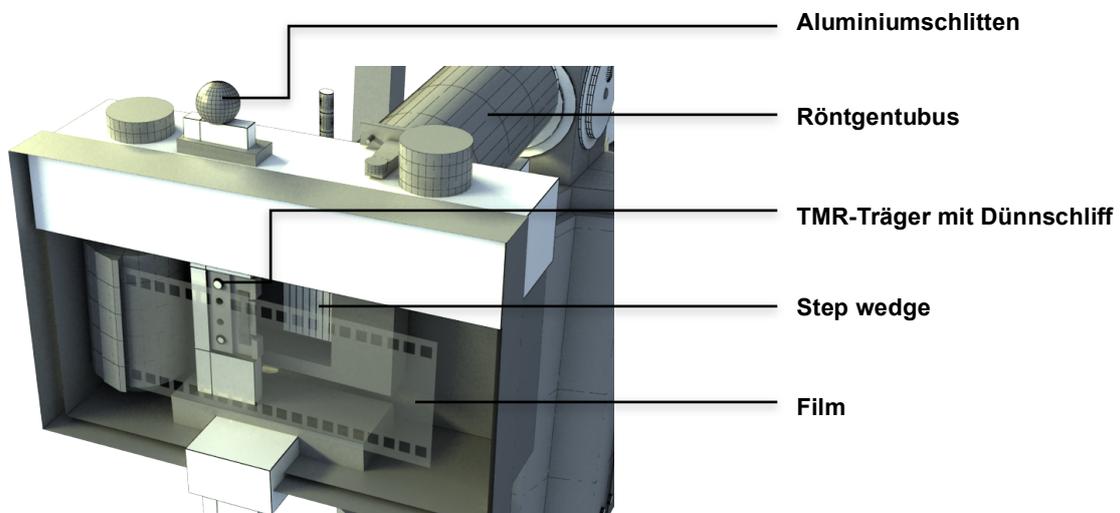


Abb. 18: Kameragehäuse (eigene Darstellung)

Der Aluminiumschlitten wird bei geschlossenem Kameragehäuse mit eingelegtem Film entnommen. Nach jedem Probenwechsel wurde der Aluminiumschlitten wieder bis zum Anschlag in das Kameragehäuse eingeschoben. Zur Erstellung der Mikroradiogramme wurde ein hochempfindlicher, hochauflösender holographischer Spezialfilm (high speed holographic film SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland), der in einer lichtundurchlässigen Kassette auf eine handelsübliche Filmrolle manuell aufgespult wurde, verwendet. Die Aluminium-Eichtreppe diente zur Kalibrierung des Computers bei der Auswertung der mikroradiographischen Filme. Die Dünnschliffe wurden im Randbereich vorsichtig von noch verbliebenen Kunstharzresten befreit, mit einem Handtuch vorsichtig getrocknet und auf dem Probenhalter fixiert. Aus der vertikal montierten Röntgenröhre (PW 1730; Phillips, Kassel, Deutschland) wurden von einer Kupferanode mit Nickelfilterung die Röntgenstrahlen auf einen hochauflösenden Film emittiert. Für die Schmelzproben wurde die Röhrenspannung auf 20 kV, der Röhrenstrom auf 20 mA und die Belichtungszeit auf 5 Sekunden eingestellt. Der Film wurde nach jeder Aufnahme bei geschlossenem Kameragehäuse weitergedreht. Um ein Austrocknen der Proben nach dem Röntgen zu vermeiden, wurden diese in Kochsalzlösung (NaCl-Lösung 0,9%; Delta Select, Pfullingen, Deutschland) aufbewahrt.

6.4.3. Mikroradiographische Auswertung

Die Untersuchung der mikroradiographischen Einzelaufnahmen wurde mit einem Durchlichtmikroskop (Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an dem eine Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan) angeschlossen war, durchgeführt (siehe Abbildung 19). Die Messung der Mineralveränderungen und Läsionstiefen in den Schmelzproben wurden mit der TMR Software (Transversal Micro Radiography für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research, Amsterdam, Niederlande) vorgenommen. Es erfolgte eine Bestimmung der Veränderung des Mineralgehaltes (ΔZ) und der Läsionstiefe (ΔLt) an den Proben nach Demineralisation (D), 2 Wochen Behandlung (E2) und 3 Wochen Behandlung (E3) jeweils unter Abzug des Ausgangswertes für Mineralverlust (ΔZ_G) bzw. Läsionstiefe (ΔLt_G) im gesunden Bereich. Diese korrigierten Werte wurden analysiert. Die Veränderungen des Mineralverlustes und der Läsionstiefe wurden folgendermaßen berechnet:

- Veränderung des Mineralverlustes nach 2 Wochen: $\Delta\Delta Z_2 = \Delta Z_D - \Delta Z_{E2}$
- Veränderung des Mineralverlustes nach 3 Wochen: $\Delta\Delta Z_3 = \Delta Z_D - \Delta Z_{E3}$
- Veränderung der Läsionstiefe nach 2 Wochen : $\Delta\Delta Lt_2 = \Delta Lt_D - \Delta Lt_{E2}$
- Veränderung der Läsionstiefe nach 3 Wochen : $\Delta\Delta Lt_3 = \Delta Lt_D - \Delta Lt_{E3}$

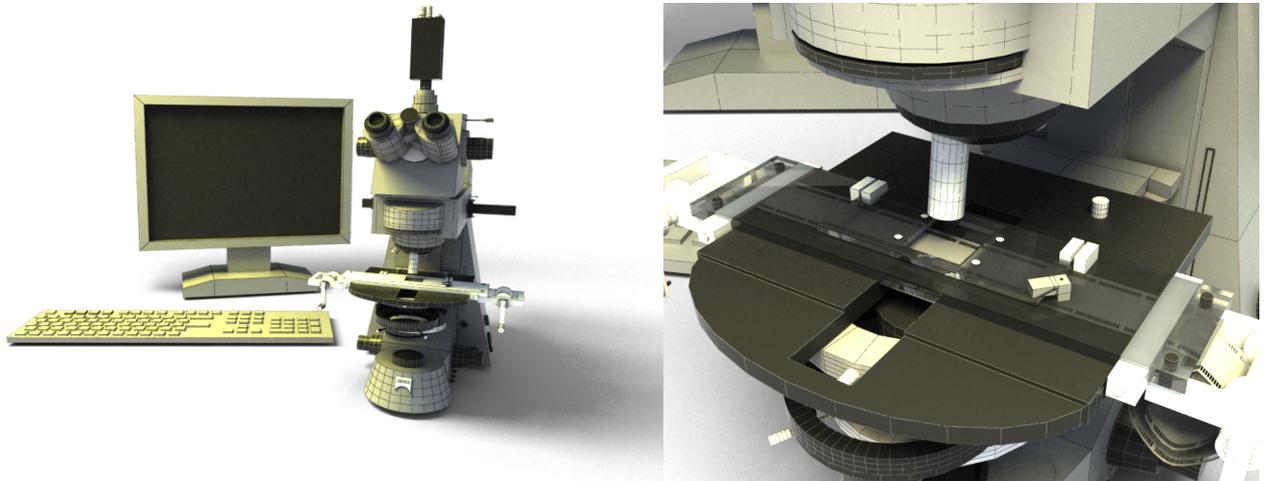


Abb. 19: Durchlichtmikroskop zur Auswertung der holographischen Filme und
Detaildarstellung der Filmhalterung (eigene Darstellung)

6.5. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der SPSS Software (IBM SPSS Statistics Version 20; IBM, Ehningen, Deutschland). Um die Messunterschiede für $\Delta\Delta Z$ und ΔLt innerhalb der Gruppen zu untersuchen, wurde die einfaktorielle ANOVA angewandt. Die Varianzanalyse erfolgte mit dem Post-hoc-Test nach Tukey. Die Analyse der Unterschiede des Mineralverlustes und der Läsionstiefe vor und nach der Lagerung/Behandlung wurden mit dem adjustierten, gepaarten t -Test ausgeführt (Bonferroni; Korrekturfaktor $\times 4$). Das Signifikanzniveau wurde auf 5% (zweiseitig) festgelegt. Die Fallzahl wurde an diejenige einer vorangegangenen Untersuchung angelehnt und danach bestimmt [Tschoppe *et al.* 2011].

7. Ergebnisse

Bei der Vorbereitung der Proben für die Mikroradiographie gingen bei den Gruppen 1 und 2 jeweils zwei Proben verloren, so dass bei diesen Gruppen jeweils 13 Proben für die Auswertung zur Verfügung standen ($n = 13$). Bei den Gruppen 3 und 4 konnten jeweils 15 Proben für die Auswertung fertiggestellt werden ($n = 15$).

7.1. Quantitative Auswertung

Die *in vitro* demineralisierten Schmelzproben zeigten alle eine pseudointakte Oberflächenschicht und einen Läsionskörper. Die Oberflächenschicht war wie vorgesehen stärker mineralisiert als der Läsionskörper. Ebenfalls konnten keine Anzeichen von erosiven Vorgängen auf den Oberflächen der Proben festgestellt werden. Nach der 16-tägigen Demineralisation unterschieden sich die Baseline-Mineralverluste (ΔZ_D) sowie die Läsionstiefen (L_{t_D}) zwischen den einzelnen Gruppen (Gr. 1 = Lagerung/Behandlung ohne Zahnpasta; Gr. 2 = Lagerung/Behandlung mit Salviagalen; Gr. 3 = Lagerung/Behandlung mit BioRepair; und Gr. 4 = Lagerung/Behandlung mit ColgateTotal) nicht signifikant ($p\text{-Wert}_{\Delta Z_D} = 0,610$; $p\text{-Wert}_{L_{t_D}} = 0,705$; ANOVA).

7.2. Auswertung des Mineralverlustes

Tabelle VI zeigt die mittleren Mineralverluste bezüglich der gesamten Läsion und die dazugehörigen Konfidenzintervalle der jeweiligen Gruppen. Die Messergebnisse des demineralisierten Bereichs (ΔZ_D : Anfangswert) sowie die der Effektbereiche der Proben nach einem Zeitraum von zwei (ΔZ_{E2}) und drei Wochen (ΔZ_{E3}) sind dargestellt.

Nach zwei wie auch nach drei Wochen Lagerung/Putzen ohne Zahnpasta unterschieden sich die Werte des Mineralverlustes (ΔZ_{E2} ; ΔZ_{E3}) nicht signifikant vom ΔZ_D -Wert ($p\text{-Wert}_{0_{E2}} = 1,000$; $p\text{-Wert}_{0_{E3}} = 0,459$). Hingegen konnten nach drei Wochen Lagerung/Behandlung mit allen drei Zahnpflegeprodukten signifikante Unterschiede zum ΔZ_D -Wert bezüglich des Mineralverlustes (ΔZ_{E3}) festgestellt werden ($p\text{-Wert}_{S_{E3}} = 0,008$; $p\text{-Wert}_{B_{E3}} = 0,032$; $p\text{-Wert}_{C_{E3}} = 0,003$). Signifikante Unterschiede bezüglich des Mineralverlustes (ΔZ_{E2}) nach zwei Wochen Lagerung/Behandlung im Vergleich zum Anfangswert (ΔZ_D) konnten bei Salviagalen und BioRepair nicht festgestellt werden ($p\text{-Wert}_{S_{E2}} = 0,088$; $p\text{-Wert}_{B_{E2}} = 0,068$). Nur bei Colgate Total wurde ein signifikanter Wert ermittelt ($p\text{-Wert}_{C_{E2}} = 0,012$).

Tab. VI: Mittelwert (MW) mit Konfidenzintervall (CI 95%) von Mineralverlust (ΔZ ; Vol% \times μm) der gesamten Läsion von Schmelzproben nach In-vitro-Demineralisation (ΔZ_D) und Lagerung/Behandlung für zwei (ΔZ_{E2}) und drei Wochen (ΔZ_{E3}).

code	Mineralverlust der gesamten Läsion (Vol% \times μm)							
	ΔZ_D		ΔZ_{E2}		Demin-effekt ₂	ΔZ_{E3}		Demin-effekt ₃
	MW	CI 95%	MW	CI 95%	<i>p</i>	MW	CI 95%	<i>p</i>
0	6534	7510;5558	6308	7441;5174	1	6369	7401;5337	0,459
S	6024	6824;5225	5101	5825;4377	0,088	5065	6332;4856	0,008
B	5879	6659;5097	5391	6129;4653	0,068	5260	5894;4626	0,032
C	6364	7127;5600	5324	6169;4479	0,012	3748	4516;2980	0,003

p-Werte der Unterschiede zwischen den Werten nach Demineralisation und Lagerung für zwei (Demin-Effekt₂) oder drei Wochen (Demin-Effekt₃) innerhalb jeder Gruppe (Schmelzgruppen 1 und 2, n = 13, Gruppen 3 und 4, n = 15), wie durch adjustierte gepaarte *t*-Tests analysiert. Paare, die sich signifikant unterscheiden, sind schwarz markiert (**Schwarz: Remineralisation**). Behandlungs-Codes: 0 = Putzen ohne Zahnpasta; S = Putzen mit Salviagonalen fluoridfrei-Zahnpasta; B = Putzen mit BioRepair-Zahnpasta (ZnCO₃/n-HAp 20 Gew.%); C = Putzen mit Colgate Total-Zahnpasta (NaF 0,145 Gew.%)

Analog dazu wurden die erhobenen Daten zu Mineralverlusten sowohl des Oberflächenbereichs (siehe Tabelle VII) als auch die des inneren Bereiches (siehe Tabelle VIII) des Läsionskörpers nach Lagerung/Behandlung nach zwei (ΔZ_{E2}) und drei Wochen (ΔZ_{E3}) separat voneinander ausgewertet.

Die Werte des Mineralverlustes in der Oberflächenschicht nach zwei und drei Wochen (ΔZ_{E2} ; ΔZ_{E3}) bei den Gruppen Lagerung/Behandlung ohne Zahnpasta, Lagerung/Behandlung mit Salviagonalen und Lagerung/Behandlung mit BioRepair unterschieden sich nicht signifikant von den entsprechenden ΔZ_D -Anfangswerten (p-Wert_{0_E2} = 1,000; p-Wert_{0_E3} = 1,000; p-Wert_{S_E2} = 0,0528; p-Wert_{S_E3} = 0,152; p-Wert_{B_E2} = 1,000; p-Wert_{B_E3} = 0,640).

Nur bei ColgateTotal wurden signifikante Werte sowohl nach zwei (ΔZ_{E2}) als auch nach drei (ΔZ_{E3}) Wochen Lagerung/Behandlung ermittelt (p-Wert_{C_E2}=0,004; p-Wert_{C_E3}=0,012).

Tab. VII: Mittelwerte (MW) und Konfidenzintervall (95%; CI) von Mineralverluste (ΔZ ; Vol% \times μm) der Oberflächenbereiche (Vol% \times μm) der Läsion nach Lagerung für zwei (ΔZ_{E2}) und drei Wochen (ΔZ_{E3}).

code	Mineralverlust der Oberflächenbereiche (Vol% \times μm)							
	ΔZ_D		ΔZ_{E2}		Demin- effekt ₂	ΔZ_{E3}		Demin- effekt ₃
	MW	CI 95%	MW	CI 95%	<i>p</i>	MW	CI 95%	<i>p</i>
0	841	1153;530	759	998;520	1	838	1046;631	1
S	888	1105;671	743	908;578	0,528	696	945;529	0,152
B	855	1075;634	809	1000;618	1	737	945;529	0,640
C	994	1241;746	514	719;308	0,004	447	663;231	0,012

p-Werte der Unterschiede zwischen Werten nach Demineralisation und Lagerung entweder zwei (Demin-Effekt₂) oder drei Wochen (Demin-Effekt₃) innerhalb jeder Gruppe (Schmelzgruppen 1 und 2, n = 13, Gruppen 3 und 4, n = 15) wie durch adjustierte gepaarte t-Tests analysiert wurden. Paare, die sich signifikant unterscheiden, sind markiert (**schwarz: Remineralisation**). Behandlungs-Codes: 0 = Putzen ohne Zahnpasta; S = Putzen mit Salviagonalen fluoridfrei-Zahnpasta; B = Putzen mit BioRepair-Zahnpasta (ZnCO₃/n-HAp 20 Gew.%); C = Putzen mit Colgate Total-Zahnpasta (NaF 0,145 Gew.%)

Die Werte des Mineralverlustes in der inneren Schicht des Läsionskörpers nach zwei und drei Wochen (ΔZ_{E2} ; ΔZ_{E3}) bei der Gruppe Lagerung/Behandlung ohne Zahnpasta unterschieden sich nicht signifikant zum entsprechenden ΔZ_D -Anfangswert (p-Wert_{0_E2} = 1,000; p-Wert_{0_E3} = 1,000). Nach zwei Wochen Lagerung/Behandlung (ΔZ_{E2}) der Proben mit Salviagonalen konnte ebenfalls keine Signifikanz festgestellt werden (p-Wert_{S_E2} = 0,052). Hingegen wurde ein signifikanter Unterschied zum entsprechenden ΔZ_D -Anfangswert nach drei Wochen (ΔZ_{E3}) Lagerung/Behandlung mit Salviagonalen festgestellt (p-Wert_{S_E3} = 0,008).

Nach zwei und drei Wochen Lagerung/Behandlung mit BioRepair (Nanohydroxylapatit) und Lagerung/Behandlung mit ColgateTotal (Natriumfluorid) unterschieden sich die Werte des Mineralverlustes (ΔZ_{E2} ; ΔZ_{E3}) signifikant von den entsprechenden ΔZ_D -Anfangswerten (p-Wert_{B_E2} = 0,020; p-Wert_{B_E3} = 0,028; p-Wert_{C_E2} = 0,014; p-Wert_{C_E3} = 0,003).

Tab. VIII: Mittelwerte (MW) und Konfidenzintervall (95%; CI) von Mineralverluste der innere Bereiche der Läsion (Vol% × µm) nach Lagerung für zwei (ΔZ_{E2}) und drei Wochen (ΔZ_{E3}).

code	Mineralverlust der inneren Bereiche (vol% × µm)							
	ΔZ_D		ΔZ_{E2}		Demin- effekt ₂	ΔZ_{E3}		Demin- effekt ₃
	MW	CI 95%	MW	CI 95%	<i>p</i>	MW	CI 95%	<i>p</i>
0	5693	6585;4800	5549	6671;4427	1	5530	6456;4604	1
S	5136	5749;4524	4358	4933;3783	0,052	4369	4978;3760	0,008
B	5024	5633;4415	4581	5162;4001	0,020	4523	5022;4024	0,028
C	5370	5967;4773	4810	5530;4091	0,014	3301	4038;2564	0,003

p-Werte der Unterschiede zwischen Werten nach Demineralisation und Lagerung entweder zwei (Demin-Effekt₂) oder drei Wochen (Demin-Effekt₃) innerhalb jeder Gruppe (Schmelzgruppen 1 und 2, n = 13, Gruppen 3 und 4, n = 15) wie durch adjustierte gepaarte t-Tests analysiert wurden. Paare, die sich signifikant unterscheiden, sind markiert (schwarz: Remineralisation). Behandlungs-Codes: 0 = Putzen ohne Zahnpasta; S = Putzen mit Salviagalen fluoridfrei-Zahnpasta; B = Putzen mit BioRepair-Zahnpasta (ZnCO₃/n-HAp 20 Gew.%); C = Putzen mit Colgate Total-Zahnpasta (NaF 0,145 Gew.%)

7.3. Veränderung des Mineralgehaltes

Der mittlere Mineralgehalt ($\Delta\Delta Z_E$; Vol% × µm) der demineralisierten Schmelzproben (Gruppen 1 und 2: n = 13; Gruppen 3 und 4: n = 15) nach der Lagerung/Behandlung ohne Zahnpasta bzw. Lagerung/Behandlung mit den drei Mundpflegeprodukten wurden jeweils für zwei ($\Delta\Delta Z_{E2}$) und drei Wochen ($\Delta\Delta Z_{E3}$) miteinander verglichen (siehe Abbildung 20).

Es konnten für die Gruppen 1 (Lagerung/Behandlung ohne Zahnpasta: Behandlungs-Code 0), 2 (Lagerung/Behandlung mit Salviagalen: Behandlungs-Code S), 3 (Lagerung/Behandlung mit BioRepair: Behandlungs-Code B) und 4 (Lagerung/Behandlung mit Colgate Total: Behandlungs-Code C) bezüglich der $\Delta\Delta Z_{E2}$ -Werte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen innerhalb der Lagerungs-/Behandlungszeit von zwei Wochen festgestellt werden. Hingegen wurde ein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe 4 (C) und den restlichen Gruppen bezüglich der Veränderung des Mineralgehaltes nach drei Wochen ($\Delta\Delta Z_{E3}$) festgestellt.

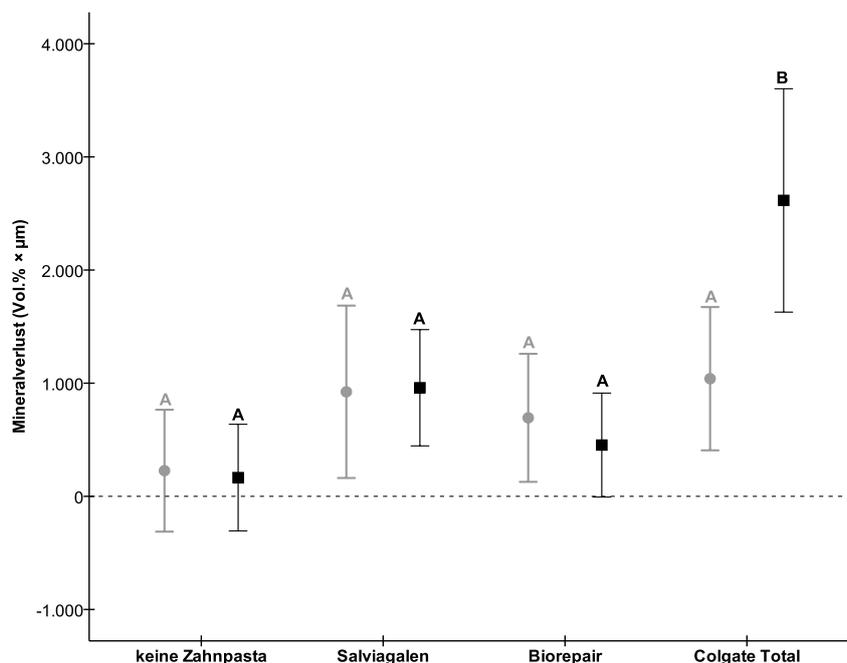


Abb. 20: Mittelwert (MW) und Konfidenzintervalle (95%) der Unterschiede von Mineralgehaltveränderung der gesamten Läsion ($\Delta\Delta Z$; Vol% \times μm) nach zwei (grau) und drei Wochen (schwarz) Lagerung/Behandlung. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen Gruppen innerhalb der Lagerungszeiten an ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey *Post-hoc*-Test)

7.4. Auswertung der Läsionstiefe

In Tabelle IX sind die mittleren Läsionstiefen (μm) und die dazugehörigen Konfidenzintervalle der jeweiligen Gruppen abgebildet. Die Messergebnisse des demineralisierten Bereichs (ΔL_{tD} : Anfangsläsionstiefe) sowie die der Effektbereiche der Proben nach einem Zeitraum von zwei (ΔL_{tE2}) und drei Wochen (ΔL_{tE3}) sind dargestellt (siehe Tabelle IX).

Die Messwerte der Läsionstiefen nach zwei Wochen (ΔL_{tE2}) zwischen den Gruppen 0, S, B und C und dem ΔL_{tD} -Anfangswert zeigen keine signifikanten Unterschiede ($p\text{-Wert}_{0_E2} = 1$; $p\text{-Wert}_{S_E2} = 0,056$; $p\text{-Wert}_{B_E2} = 0,0534$; $p\text{-Wert}_{C_E2} = 0,105$). Ebenfalls konnten in keiner Gruppe (0, S, B, C) nach drei Wochen Lagerung/Behandlung signifikante Unterschiede zum ΔL_{tD} -Wert bezüglich der Läsionstiefen (ΔL_{tE3}) festgestellt werden ($p\text{-Wert}_{0_E3} = 1,000$; $p\text{-Wert}_{S_E3} = 0,132$; $p\text{-Wert}_{B_E3} = 1,000$; $p\text{-Wert}_{C_E3} = 0,712$).

Tab. IX: Mittelwert (MW) mit Konfidenzintervall (CI 95%) von Läsionstiefe (Lt; μm) der Schmelzproben nach In-vitro-Demineralisation (ΔZ_D , Lt_D) und Lagerung/Behandlung für zwei (Lt_{E2}) und drei Wochen (ΔLt_{E3})

code	Läsionstiefe (μm)							
	Lt_D		Lt_{E2}		Demin- effekt ₂	Lt_{E3}		Demin- effekt ₃
	MW	CI 95%	MW	CI 95%	p	MW	CI 95%	p
0	171	187;155	179	204;154	1	178	201;155	1
S	168	185;152	149	164;134	0,056	157	173;140	0,132
B	172	186;159	169	184;153	0,534	170	186;154	1
C	179	197;162	195	217;173	0,105	196	219;173	0,712

p-Werte der Unterschiede zwischen den Werten nach Demineralisation und Lagerung für zwei (Demin-Effekt₂) oder drei Wochen (Demin-Effekt₃) innerhalb jeder Gruppe (Schmelzgruppen 1 und 2, n = 13, Gruppen 3 und 4, n = 15) wie durch adjustierte gepaarte t-Tests analysiert. Paare, die sich signifikant unterscheiden, sind ggf. markiert (**schwarz: Remineralisation**). Behandlungs-Codes: 0 = Putzen ohne Zahnpasta; S = Putzen mit Salviagonalen fluoridfrei-Zahnpasta; B = Putzen mit BioRepair-Zahnpasta (ZnCO₃/n-HAp 20 Gew.%); C = Putzen mit Colgate Total-Zahnpasta (NaF 0,145 Gew.%)

7.5. Veränderung der Läsionstiefe

Bei der Auswertung wurde die mittlere Läsionstiefe (ΔLt ; μm) der demineralisierten Schmelzproben (Gruppen 1 und 2: n = 13; Gruppen 3 und 4: n = 15) nach der Lagerung/Behandlung ohne Zahnpasta bzw. Lagerung/Behandlung mit den drei Mundpflegeprodukten jeweils für zwei (ΔLt_{E2}) und drei Wochen (ΔLt_{E3}) miteinander verglichen (siehe Abbildung 21). Ein signifikanter Unterschied bezüglich der Veränderung der Läsionstiefe nach drei Wochen Lagerung/Behandlung (ΔLt_{E3}) konnte zwischen den Gruppen 1 bis 4 nicht festgestellt werden. Nach zwei Wochen (ΔLt_{E2}) zeigte sich ein signifikanter Unterschied bezüglich der Läsionstiefenveränderung zwischen Gruppe 2 (Lagerung/Behandlung mit Salviagonalen) und Gruppe 4 (Lagerung/Behandlung mit Colgate Total), während zwischen diesen Gruppen und den Gruppen 1 und 3 kein signifikanter Unterschied bezüglich der Veränderung der Läsionstiefe festzustellen war.

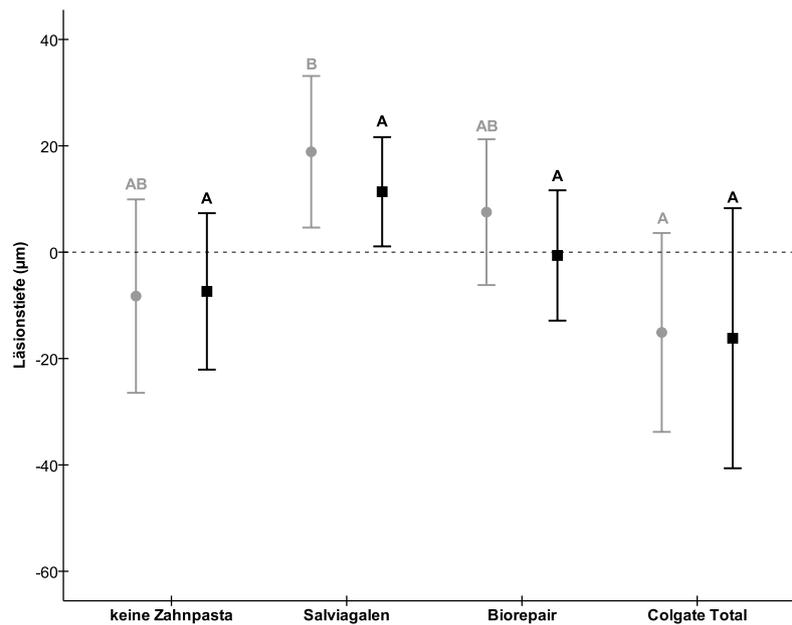


Abb. 21: Mittelwert (MW) und Konfidenzintervalle (95%) der Unterschiede von Läsionstiefen der gesamten Läsion (ΔL_t ; μm) nach zwei (grau) und drei Wochen (schwarz) Lagerung/Behandlung. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen Gruppen innerhalb jeder Lagerungszeit ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey *Post-hoc*-Test)

Ein signifikanter Unterschied bezüglich der Veränderung der Läsionstiefe nach drei Wochen Lagerung/Behandlung (ΔL_{tE3}) konnte zwischen den Gruppen 1 bis 4 (0, S, B, C) nicht festgestellt werden. Nach zwei Wochen (ΔL_{tE2}) ließ sich ein signifikanter Unterschied bezüglich der Läsionstiefenveränderung zwischen Gruppe 2 (S) und Gruppe 4 (C) feststellen, während zwischen diesen Gruppen und den Gruppen 1 (0) und 3 (B) kein signifikanter Unterschied bezüglich der Veränderung der Läsionstiefe festzustellen war.

7.6. Qualitative Auswertung

Die Mittelwerte des Mineralgehaltes der vier Gruppen (0, S, B und C) nach zwei und drei Wochen sind in der Abbildung 22 als Graphen dargestellt. Die jeweils dazugehörigen TMR-Bilder sind zur besseren Veranschaulichung des Mineralgehaltes unten angefügt (siehe Abbildungen 23-25). In den jeweiligen Abbildungen (zwei und drei Wochen)

sind die Mittelwerte aller Probenbereiche nach 16 Tagen Demineralisation als gepunktete Linien dargestellt. Diese Mittelwerte sollen die synthetisch hergestellten Initialläsionen der Schmelzproben inklusive der pseudointakten Oberflächenschicht und des Läsionskörpers wiedergeben. Dieser Mittelwertgraph dient als Referenz zur Verdeutlichung des Remineralisationserfolges (oder -misserfolges) durch die unterschiedlichen Behandlungen der Proben. Deutlich zu sehen ist ein Anstieg des Mineralgehalts der Läsion von der äußeren Schmelzoberflächenschicht bis zu seinem Maximum innerhalb der Oberflächenschicht und eine anschließende Abnahme des Mineralgehalts. Mit einer zunehmenden Läsionstiefe nimmt der Mineralgehalt im Läsionskörper ab, bis schließlich ein Minimum erreicht wird. Danach steigt der Mineralgehalt in der Tiefe der Läsion wieder bis zum gesunden Schmelzbereich an.

Die Mittelwertgraphen der Abbildung 22 (oben; zwei Wochen) zeigen die mittleren Mineralgehalte der Gruppen 1 bis 4 (0, S, B und C). Der Graph für die Proben der Gruppe 1 (0) hat einen ähnlichen Verlauf wie der der reinen Demineralisation. Alle drei anderen Gruppen (S, B und C) weisen einen höheren Mineralgehalt als Gr. 1 (0) auf. Dabei haben Gr. 2 und Gr. 3 (S und B) von der Schmelzoberfläche bis zum Minimum des Mineralgehalts im Läsionskörper einen vergleichbaren Mineralgehalt. Auch bei zunehmender Läsionstiefe blieben der Mineralgehalt der Proben der Gr. 2 (S) und der der Proben der Gr. 3 (B) vergleichbar. Den höchsten Mineralgehalt in der (pseudointakten) Oberflächenschicht und bis zum ca. äußeren $\frac{2}{3}$ des Läsionskörpers besaßen die Proben, die mit Natriumfluorid (C) behandelt wurden. Auffallend ist jedoch, dass der Mineralgehalt dieser Proben im inneren Drittel des Läsionskörpers bis zum gesunden Schmelz in der Läsionstiefe deutlich weniger mineralisiert war als bei den anderen Gruppen.

In der Abbildung 22 (unten; drei Wochen) zeigen die Mittelwertgraphen die mittleren Mineralgehalte der Gruppen 1 bis 4 nach drei Wochen. Auch hier ist festzustellen, dass die Proben der Gr. 1 (die die Lagerung/Behandlung ohne Zahnpasta erfahren haben) und diejenigen der Gr. 2 (Demineralisationsbereiche) einen ähnlichen Verlauf der Mittelwertgraphen besitzen. Zudem ist in der Abbildung zu erkennen, dass sich auch nach drei Wochen die Mineralgehalte der Proben von Gruppen 2 und 3 (Lagerung/Behandlung mit Salviagalen und Lagerung/Behandlung mit BioRepair) ähnlich verhalten. Die Deckungsgleichheit ist nach drei Wochen nicht zu übersehen. Bei beiden Gruppen ist der Mineralgehalt sowohl in der Oberflächenschicht als auch im Läsions-

körper, bis hin zum gesunden Schmelz in der Tiefe der Läsion, deutlich höher als der der unbehandelten Demineralisationsbereiche der Proben. Eine Ausnahme des Mittelwertgraphenverlaufs ist bei der Gr. 4 (Lagerung/Behandlung mit ColgateTotal) zu sehen. Deutlicher als nach zwei Wochen Lagerung/Behandlung (im Vergleich zu Gruppen 1 bis 3) ist nach drei Wochen ein noch höherer Mineralgehalt in der oberflächennahen Schicht und im Läsionskörper bis hin zum äußeren Viertel des Läsionskörpers festzustellen (Unterschied ca. 25 Vol% \times μm). Der Mineralgehalt im inneren Viertel der Läsion bis zum Bereich des gesunden Schmelzes ist im Mittel jedoch auch nach drei Wochen niedriger als bei den anderen Gruppen. Auffallend ist der hohe Mineralgehalt in der äußersten oberflächennahen Schicht im Maximum bei dieser Gruppe.

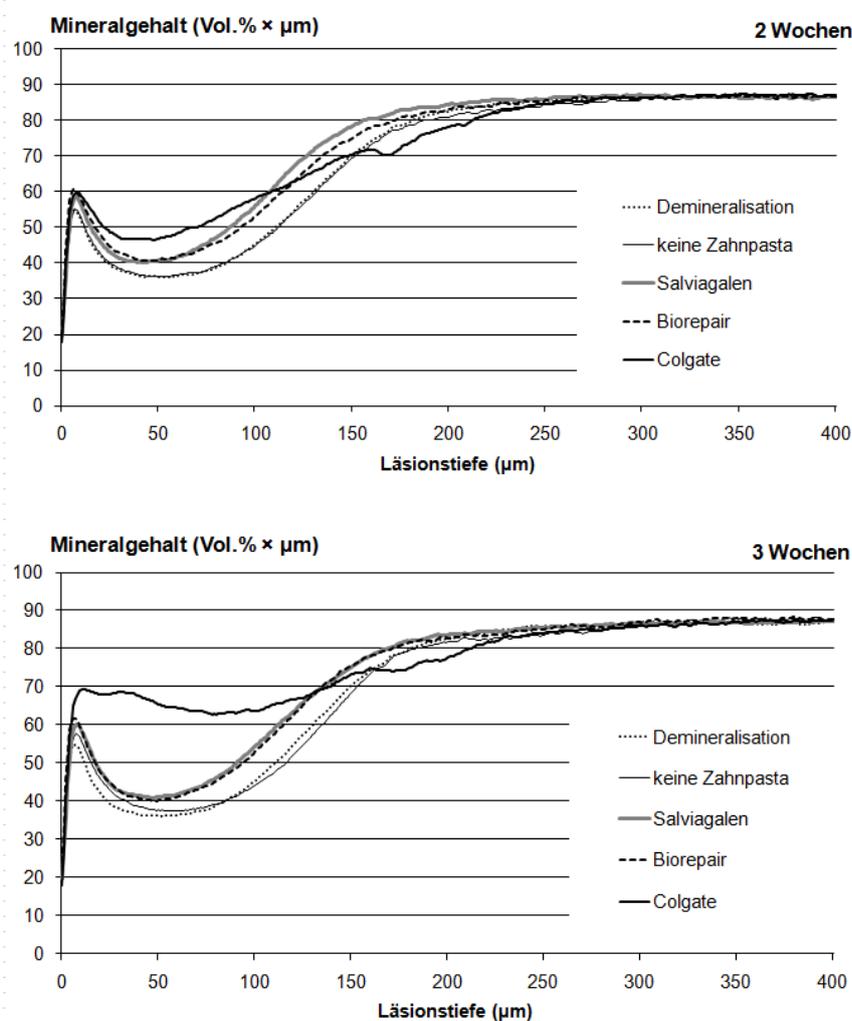


Abb. 22: Durchschnittlicher Mineralgehalt nach zwei und drei Wochen Lagerung/Behandlung von Schmelzproben

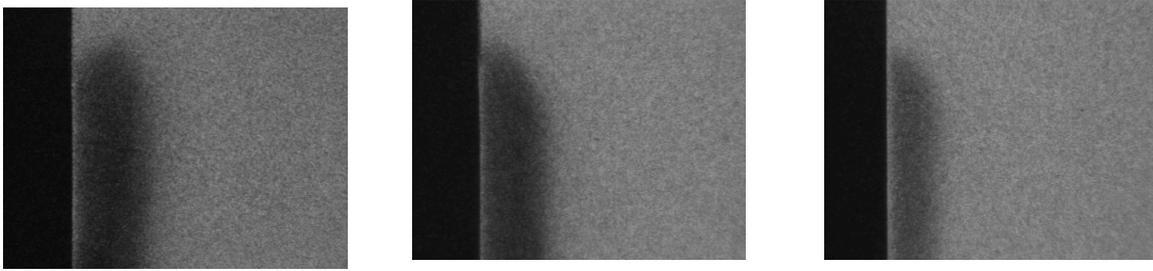


Abb. 23: Exemplarische TMR-Bilder der Gr.0 (D/E2/E3 von links nach rechts)

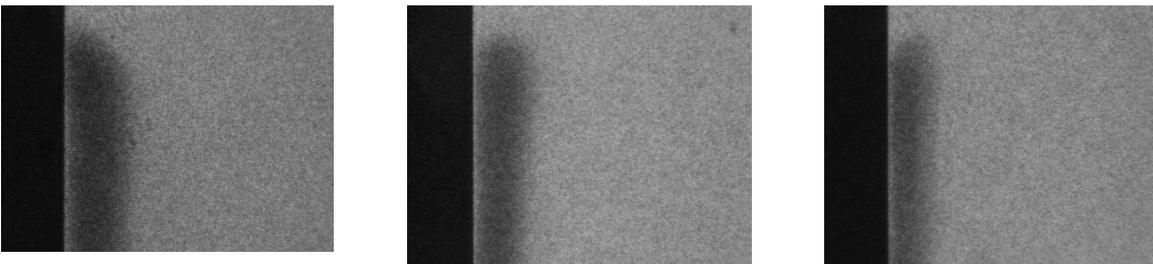


Abb. 24: Exemplarische TMR-Bilder der Gr. S (D/E2/D3 von links nach rechts)

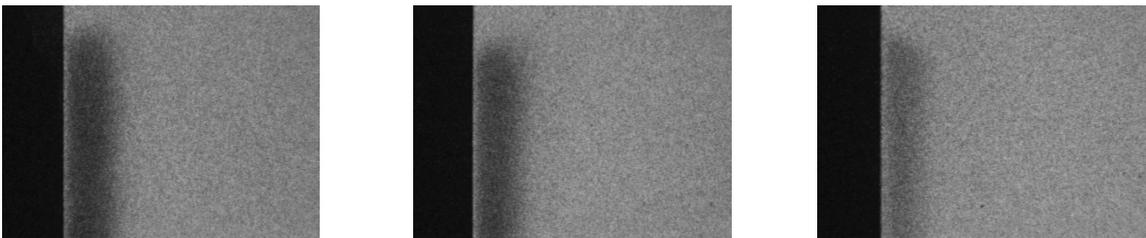


Abb. 25: Exemplarische TMR-Bilder der Gr. B (D/E2/D3 von links nach rechts)

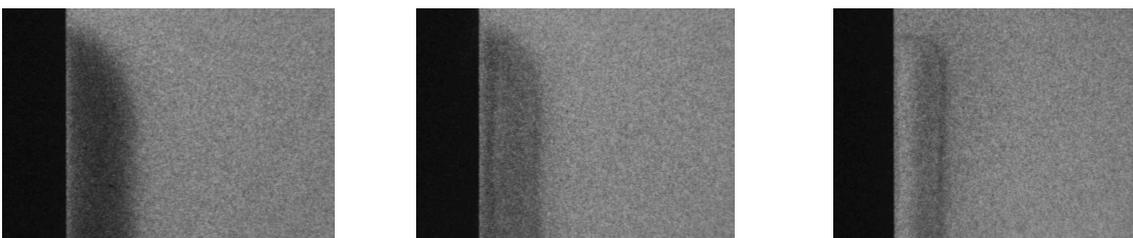


Abb. 25: Exemplarische TMR-Bilder der Gr. C (D/E2/D3 von links)

8. Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden In-vitro-Studie zeigten, dass bezüglich der gesamten Schmelzläsion nur die fluoridhaltige Zahnpasta (ColgateTotal) sowohl nach zwei als auch nach drei Wochen remineralisierende Effekte auf die Gesamtläsion hatte. Die remineralisierende Wirkung der Nanohydroxyapatit-haltigen Zahnpasta (BioRepair) auf die Gesamtläsion war mit derjenigen der Negativkontrolle (Salviagalen fluorid) vergleichbar und war kaum feststellbar. Auch im Oberflächenflächenbereich der Läsion konnte bei der nHA-haltigen Zahnpasta (BioRepair) weder nach zwei noch nach drei Wochen eine signifikant remineralisierende Wirkung festgestellt werden. Hingegen zeigte die fluoridhaltige Zahnpasta im Oberflächenbereich nach zwei und nach drei Wochen signifikant remineralisierende Auswirkungen. Die fluoridhaltige Zahnpasta hat bezüglich der Remineralisation nach drei Wochen insgesamt eine deutlich positive Wirkung gezeigt. Nach drei Wochen zeigte die fluoridhaltige Zahnpasta zudem die ausgeprägteste Mineralisation in der äußeren (pseudointakten) Oberflächenschicht (bis ca. 50 µm).

Die Nullhypothese, welche besagte, dass sich die Effekte von nHA und NaF hinsichtlich des Remineralisationsverhaltens auf bovinen Zahnschmelz nicht signifikant unterscheiden, konnte damit abgelehnt werden.

8.1. Diskussion von Material und Methode

8.1.1. Probenmaterial

In der vorliegenden Studie wurden bovine Zähne als Schmelzprobenmaterial verwendet. Boviner Schmelz als Ersatz für humanen Schmelz wurde bereits in zahlreichen Studien für sowohl Demineralisations- bzw. Remineralisationsversuche als auch für Untersuchungen der Haftkraft für Adhäsivsysteme verwendet [Nakamichi *et al.* 1983; Kielbassa *et al.* 2001; Meyer-Lueckel *et al.* 2002; Attin *et al.* 2003; Reis *et al.* 2004; Hannig *et al.* 2005; Buzalaf *et al.* 2006; Rios *et al.* 2006]. Trotz einiger geringer Unterschiede, wie etwa der größeren Porosität und größerer Kristallstrukturen [Moriwaki *et al.* 1968; Arends und Jongebloed 1978] oder auch der höheren Dichte und somit auch einer höheren Vickers-Härte [Esser *et al.* 1998] bei bovinen Zähnen, ähneln sich die Mikrostrukturen humaner und boviner Zahnhartsubstanz sehr deutlich (siehe Tabelle I). Ferner sind bovine Zähne einer homogenen Ernährung sowie keinerlei Fluoridierungsmaßnahmen ausgesetzt [Duschner *et al.* 1984], so dass sie für standardisierte Untersu-

chungen der Zahnhartsubstanzen geeignet sind. Nicht zu unterschätzen ist auch die Tatsache, dass Rinderzähne leichter und in größeren Mengen beschafft werden können als humane Zähne. Die extrahierten Zähne wurden bis zum Versuchsbeginn in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt, um eine Austrocknung der Zähne zu vermeiden. So konnte gewährleistet werden, dass sich die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Zähne nicht verändern [Haller *et al.* 1993]. In den zahlreichen Studien mit bovinen Zahnhartsubstanzen, die bis dato beschrieben worden sind, variieren allerdings die Aussagen zum Zeitpunkt der Extraktion. Sehr häufig werden die Begriffe „frisch extrahiert“ (freshly extracted) [Amaechi *et al.* 1998; Lopes *et al.* 2003; Saleh und Taymour 2003; Attin *et al.* 2007] oder auch „kürzlich extrahiert“ (recently extracted) [Fonseca *et al.* 2004; Tschoppe *et al.* 2009] erwähnt. Viele Studien treffen aber auch überhaupt keine Aussage bezüglich des Extraktionszeitpunktes bzw. der Lagerungszeit [Feagin *et al.* 1969; Turssi *et al.* 2010]. Es kann dennoch davon ausgegangen werden, dass dem Zeitpunkt der Verwendung nach der Extraktion keine wesentliche Rolle auf das Versuchsergebnis beizumessen ist.

Die Proben wurden während der gesamten Versuchsdauer in einem Wärmeschrank aufbewahrt. Die Temperatur lag konstant bei 37 °C, was der menschlichen Durchschnittskörpertemperatur entsprechen sollte. Für die Behandlung wurden die Proben zweimal täglich für ca. 5 min aus dem Wärmeschrank entnommen. Da dies eine In-vitro-Studie war, war es wichtig, diese äußeren Umstände so gut wie möglich konstant zu halten. Die täglichen klinischen Temperaturschwankungen eines Menschen und auch die Variabilität zwischen Einzelpersonen bezüglich der Körpertemperatur wurden bewusst nicht berücksichtigt, um einen standardisierten Versuch durchzuführen und auch vergleichbare Ergebnisse zu erlangen.

Zu erwähnen ist aber nicht zuletzt auch die Tatsache, dass bei dieser In-vitro-Untersuchung nicht auf alle oralen Faktoren Rücksicht genommen werden konnte. Die Komplexität der Zahn-Pellikel-Plaque-Speichel-Interaktionen wurde mit dem vorliegenden Versuchsaufbau nicht simuliert. Künftige In-vitro-pH-Cycling-Studien sollten diesen Aspekt für die Untersuchung einbeziehen.

8.1.2. Versuchsdurchführung

Die Behandlung der Proben wurde mittels einer weichen Handzahnbürste und eines Zahnpasta-Remineralisationslösungs-Slurrys für 5 Sekunden (und einer Gesamtkontaktzeit von 120 Sekunden) zweimal täglich durchgeführt. Durch die Anwendung einer weichen Zahnbürste wurde versucht, die abrasiven Einflüsse auf die Probenoberflächen so minimal wie möglich zu halten. Ein eventueller Minimalverlust eines Teils des absoluten Ausgangsmineralgehalts durch Abrasion hat aber nicht unbedingt zur Folge, dass sich die Mineralverteilung bei einer Remineralisation negativ entwickelt [Kawasaki *et al.* 2000]. Ein negativer Effekt durch das Bürsten konnte nicht festgestellt werden. Die Behandlungen/das Putzen der Proben wurde manuell mit geringem Druck von einer Person durchgeführt. Diese manuelle Handhabung kann in der Tat als "nicht vollständig standardisiert" betrachtet werden; dies wäre beispielsweise durch die Verwendung von Zahnputzmaschinen möglich. Allerdings ist davon auszugehen, dass sich kleinste Abweichungen hinsichtlich des Kraftaufwands beim Putzen während der gesamten Studienzeit ausgleichen dürften, so dass diese minimalen Abweichungen zu vernachlässigen sein sollten. Zudem simuliert diese Methode die Art der Oberflächenexposition der geputzten Flächen (mit der Gesamtkontaktzeit von zweimal täglich zwei Minuten) einen realistisch vorstellbaren und vor allem reproduzierbaren Ablauf, inklusive einer menschlich bedingten Schwankung bei der klinischen Ausführung [Hunter 2000].

8.1.3. Transversale Mikroradiographie

Einige Dünnschliffe gingen bei der Vorbereitung für die TMR-Auswertung verloren. Das Hauptproblem war die Oberflächenverletzung bzw. der Oberflächenverlust der Dünnschliffe bei Säge- oder Poliervorgängen. Diese waren dann nicht mehr für die Auswertung verwendbar. Ein zusätzlicher neuer Dünnschliff für die TMR-Auswertung konnte aus dem nicht verwendeten Teil der Probe gewonnen werden. Allerdings war dies nur begrenzt möglich, da die ursprünglichen Proben, aus denen Dünnschliffe hergestellt wurden, sehr klein waren, so dass die Dünnschliffvorbereitung für die TMR nur drei bis maximal vier Mal pro Probe wiederholt werden konnte. Ein nicht-destruktives Analyseverfahren, wie etwa die T-WIM (transversal wavelength-independent microradiography) [Thomas *et al.* 2006], wurde nicht verwendet und auch nicht in Erwägung gezogen, da für die TMR-Auswertung genügend Proben hergestellt werden konnten. Außerdem ist zu erwähnen, dass es bei der Analyse mit T-WIM zu variierenden Film-zu-Objekt- oder

Quelle-zu-Film-Abständen kommen kann, wenn Proben verwendet werden, die keine normierten Abmaße aufweisen. Bei Verwendung der T-WIM können daher nichtvergleichbare Ergebnisse resultieren [Anderson *et al.* 1998].

Es ist in diesem Zusammenhang wichtig zu erwähnen, dass bei der TMR projektionsbedingte Unschärfen an der Schmelzoberfläche entstehen können, die bei der Auswertung der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen [Kielbassa *et al.* 2005]. Die Werte für die Demineralisation und die Effektbereiche nach zwei und drei Wochen wurden daher je um den Fehlerwert im gesunden Schmelzbereich korrigiert.

Kritisch zu betrachten ist auch an dieser Analyseemethode, dass zwar der Mineralgewinn in den mit unterschiedlichen Produkten behandelten initialen Läsionen dargestellt werden kann, jedoch aber nicht auszuschließen ist, dass eine Einlagerung anderer Kalzium-Phosphat-Verbindungen (z. B. Dikalziumphosphatdihydrat; DKPD) den Mineralgewinn verursachen kann. So könnte beispielsweise bei Salviagalen fluoridfrei trotz des Fehlens eines aktiven Präparates ein festzustellender Mineralgewinn beobachtet werden. Diese Überlegungen sind jedoch zum gegenwärtigen Zeitpunkt eher spekulativer Natur. Es ist daher davon auszugehen, dass diese Mineralgewinne vornehmlich auf die verwendete Remineralisationslösung zurückzuführen sind.

8.1.4. pH-Cycling

Auch wenn ein In-vitro-pH-Cycling-Modell als Goldstandard für Re- und Demineralisationsversuche etabliert ist [ten Cate und Duijsters 1982], so muss dennoch die Tatsache in Betracht gezogen werden, dass *in vivo* alle Zahnpasten mit der Mundflüssigkeit verdünnt werden. Diese Mischung mit der Mundflüssigkeit ist klinisch stark von der individuellen Speichelsekretion und Speichelzusammensetzung abhängig [Duke und Forward 1982]. In dieser Studie wurden Slurrys hergestellt, die aus einem Drittel Zahnpasta und zwei Dritteln Remineralisationslösung (als synthetischer Speichelersatz) bestanden. So wurde ein der intraoralen In-vivo-Situation angepasstes idealisiertes Zahnpasta-Speichel-Mischungsverhältnis verwendet. Trotz der Limitation bezüglich dieses idealisierten intraoralen Vorgangs erscheint die hier angewandte Methodik zur Feststellung der Remineralisationsprozesse der Initialläsionen gut geeignet, zumal dadurch eine Standardisierung erreicht werden konnte.

8.1.5. pH-Werte der Remineralisationslösungen

Eine wesentliche Rolle bei der De- und Remineralisation des Zahnschmelzes wird dem pH-Wert beigemessen. Eine erhöhte Remineralisation wurde bei fluoridhaltigen Zahnpasten bei einem pH-Wert von 5,24 festgestellt [Arnold *et al.* 2007]. Auf der anderen Seite wurde festgestellt, dass eine Karies arretiert wird und dass eine Remineralisation stattfindet, wenn der pH-Wert von 5,5 überschritten wird [Peters 2010]. Verglichen mit einem pH-Wert von 5,5 konnte eine erhöhte Mineralisierung bei kalziumphosphathaltigen Remineralisationslösungen bei einem pH-Wert von 6,5 festgestellt werden [Meyer-Lueckel *et al.* 2007].

Bezüglich eines optimalen pH-Wertes für eine Remineralisation bei nHA-haltiger Zahnpasta liegen bis dato kaum Daten vor. Eine deutlich bessere Remineralisation des Läsionskörpers wurde festgestellt, als der pH-Wert von 7,0 auf 4,0 gesenkt wurde [Huang *et al.* 2011]. Bei der vorliegenden Studie wurden die pH-Werte 7,55 bei nHA und 6,75 bei NaF gemessen. In künftigen Studiendesigns sollten daher auch die Einflüsse des pH-Wertes berücksichtigt werden.

8.1.6. Nanohydroxylapatit (nHA)

Bei der vorliegenden Studie wurden 20 nm große nHA-Partikel (in granulierter Form, 100 bis 150 nm) verwendet. Diese vergleichsweise kleinen Partikel dürften nach Angaben anderer Autoren für die Remineralisation günstig sein [Huang *et al.* 2011]. Die Konzentration des Zinkcarbonat-nHA in der hier verwendeten nHA-haltigen Zahnpasta lag bei 20 Gew.%. Huang *et al.* beschrieben in früheren Studien, dass die optimale Konzentration des nHA für die Remineralisation bei 10 Gew.% liege; eine höhere Konzentration steigere die remineralisierende Wirkung nicht [Huang *et al.* 2009]. Daher ist anzunehmen, dass die nHA-Konzentration des hier verwendeten Präparates keinen zusätzlich steigernden Remineralisationseffekt hatte.

8.1.7. Fluorid-Zahnpaste

Die in dieser Untersuchung verwendete Fluoridzahnpaste (Colgate Total) enthielt Natriumfluorid (NaF). Die Konzentration des NaF in der Zahnpaste lag bei 0,145 Gew.% (1450 ppm).

Für die vorliegende Studie wurde eine Zahnpaste mit NaF ausgewählt, da NaF eine in Zahnpasten häufig enthaltene Fluoridverbindung darstellt. Bei der Auswahl wurde ebenfalls darauf geachtet, dass eine Zahnpaste verwendet wird, deren F^- -Konzentration zwischen 1000 und 1500 ppm liegt. Dies war zum einen wichtig, da der Fluoridgehalt in den meisten herkömmlichen Zahnpasten 1000 bis 1500 ppm beträgt, zum anderen aber auch, da festgestellt worden ist, dass nur Fluorid-Zahnpasten mit F^- -Konzentration ≥ 1000 ppm deutliche kariespräventive Effekte zeigen [Walsh *et al.* 2010]. Die Auswahl der Zahnpasta mit einer F^- -Konzentration von 1450 ppm erfolgte in Hinblick auf die klinische Anwendung. Damit erfüllt die hier verwendete Fluorid-Zahnpaste die genannten Anforderungen.

8.1.8. Salviagonalen fluoridfrei

Die fluoridfreie Zahnpaste (Salviagonalen fluoridfrei) wurde bei dieser Studie als Negativkontrolle verwendet. Der Wirkstoff dieser Zahnpaste ist Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD; $CaHPO_4 \times 2 H_2O$), auch Brushit genannt. DKPD ist neben Oktakalziumphosphat (OKP; $Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4 \times 5 H_2O$) eine Vorstufe des Hydroxylapatits, wobei OKP eine direkte Vorstufe des Hydroxylapatits darstellt und DKPD erst durch Transformationsvorgänge über die Zwischenstufe OKP in Hydroxylapatit umgewandelt wird [Johnsson und Nancollas 1992; Dorozhkin und Epple 2002]. DKPD wurde in Zahnpasten beigefügt, um zu versuchen, die Remineralisation von tiefer liegenden Zonen der Schmelzläsion zu verstärken.

Obwohl Brushit eine der löslichsten Phasen des Kalziumphosphates darstellt, konnte dennoch keine Remineralisation der tiefer liegenden Zonen einer Karies *in vivo* festgestellt werden [Sullivan *et al.* 1997]; auch eine Verlangsamung der Kariesprogression konnte in einer klinischen Studie nicht gezeigt werden [Zhang *et al.* 1995]. Tung *et al.* haben festgestellt, dass sich bei Abwesenheit von Fluorid und bei einem pH-Wert von 6,8 DKPD nicht in Apatit konvertierte; hingegen wandelte sich DKPD in Anwesenheit von CaF_2 und bei einem pH-Wert ≤ 7 in einen gut kristallisierten Apatit [Tung *et al.* 1985]. DKPD steigert die Fluoridaufnahme in den Schmelz [Chow *et al.* 1980]. Die Reaktionsprodukte von DKPD und Fluorid sind Fluorapatit (FAP) und Kalziumfluorid (CaF_2), abhängig vom initialen Fluor-Kalzium-Verhältnis. Ein niedriges Fluor-Kalzium-Verhältnis führt zur Bildung von Fluorapatit; hingegen führt ein hohes Fluor-Kalzium-

Verhältnis zur Bildung von Kalziumfluorid [Wei *et al.* 1974].

In dieser Untersuchung wurde für Salviagonalen fluoridfrei der pH-Wert von 6,63 festgestellt. Da die Anwesenheit von Fluorid ausgeschlossen werden kann und dieser pH-Wert nahe 6,8 lag, ist davon auszugehen, dass sich DKPD nicht in Apatit umgewandelt hat. Damit war Salviagonalen fluoridfrei (ohne ein aktives Präparat) als Placebo-Agens geeignet.

8.2. Diskussion der Ergebnisse

Eine Überlegenheit bzw. Vergleichbarkeit bezüglich der remineralisierenden Wirkung der nHA-haltigen gegenüber bzw. mit der fluoridhaltigen Zahnpaste konnte nicht festgestellt werden. Es konnte jedoch eine auf die Gesamtläsion bezogene vergleichbare Veränderung des Mineralgehaltes zwischen der nHA-haltigen Zahnpaste (BioRepair) und der Negativkontrolle (Salviagonalen fluoridfrei) sowohl nach zwei als auch nach drei Wochen festgestellt werden. Im Oberflächenbereich der Läsion und auf die Gesamtläsion bezogen, zeigte allerdings nur NaF einen deutlichen Remineralisationseffekt. Dieses Ergebnis bestätigt frühere Untersuchungen, die gezeigt haben, dass NaF eine remineralisierende Wirkung auf Initiailläsionen hat [Koulourides *et al.* 1965; Dirks 1966; Groeneveld 1985]. Ebenfalls bestätigt dieses Ergebnis, dass eine fluoridhaltige Zahnpaste die Oberflächenschicht sehr gut remineralisiert [Pearce *et al.* 1995; Reynolds 1997; Larsen und Richards 2001].

Hingegen konnte eine effektive Remineralisationswirkung von nHA auf die Oberflächenschicht nicht gezeigt werden. Die Proben, die mit nHA-haltiger Zahnpasta behandelt wurden, hatten einen mit der Remineralisationslösung vergleichbaren Remineralisationseffekt; die Wirkung entsprach also der Gruppe, die ohne jegliches Mundhygieneprodukt behandelt wurde. Daraus könnte man schlussfolgern, dass nHA keinerlei Einfluss auf das Remineralisationsverhalten hat. Allerdings muss man in diesem Zusammenhang berücksichtigen, dass auch die Lösung [Buskes *et al.* 1985], die hier als Positivkontrolle verwendet wurde, ein Mineralisationspotential besitzt. Bei diesem Vergleich scheint die nHA-haltige Zahnpaste keine zusätzlichen Vorteile bezüglich der Remineralisation zu haben. Ob man einen Unterschied hinsichtlich der Remineralisation erhalten hätte, wenn eine Lösung mit noch geringeren remineralisierenden Potentialen als Positivkontrolle verwendet worden wäre [Tschoppe *et al.* 2011], kann daher nur spe-

kuliert werden. In künftigen pH-Cycling-Studien sollte dieser Aspekt berücksichtigt werden.

In einer vorangegangenen Studie wurde festgestellt, dass Zink-Carbonat-nHA (ZnCO_3/nHA) eine sehr gute Affinität zur Schmelzoberfläche besitzt [Roveri *et al.* 2009]. Die in dieser Studie verwendete nHA-haltige Zahnpasta (BioRepair) enthielt ebenfalls ZnCO_3/nHA . Betrachtet man den Durchschnittsmineralgehalt ($\text{Vol.}\% \times \mu\text{m}$) im Bereich der Schmelzoberfläche, so kann die von Rovieri *et al.* beschriebene Erkenntnis nicht bestätigt werden [Roveri *et al.* 2009]. Im Bereich der Schmelzoberfläche zeigte die nHA-haltige Zahnpaste (BioRepair) sowohl nach zwei als auch nach drei Wochen nur einen mit der Negativkontrolle (Salviagonalen fluoridfrei) vergleichbaren Durchschnittsmineralgehalt. Hingegen zeigte die fluoridhaltige Paste nach zwei Wochen einen deutlich höheren Remineralisationseffekt als die beiden oben genannten Zahnpasten (BioRepair und Salviagonalen fluoridfrei). Nach drei Wochen war der durchschnittliche Mineralgehalt bei NaF noch deutlich ausgeprägter als bei nHA (und bei der Negativkontrolle). Dies bestätigt die Erkenntnis, dass NaF die Schmelzoberfläche sehr gut remineralisieren kann.

Diese deutliche Mineralisation fand trotz eines nahezu neutralen pH-Wertes (6,75) statt. Es ist bekannt, dass Fluoride bei niedrigerem pH-Wert besser remineralisieren [Ogaard 2001]. Ebenfalls konnte bestätigt werden, dass durch die Remineralisation der Oberflächenschicht die darunter liegende Schicht schwerer remineralisiert wird, da mit zunehmender Remineralisation die Permeabilität von Ca^{2+} und PO_4^{3-} stark begrenzt wird [Weerheijm *et al.* 1992]. Trotz einer sehr guten Mineralisation der Oberflächenschicht nahm ab ca. 50 μm Läsionstiefe der durchschnittliche Mineralgehalt ab. Dieses Ergebnis bestätigt die Erkenntnis, dass sich die fluoridunterstützte Remineralisation auf die äußeren 25 bis 50 μm der Schmelzschicht konzentriert [White 1987].

Auch wenn die Remineralisation der gesamten Läsion bei der NaF-Gruppe signifikante Effekte zeigte, so konnte beobachtet werden, dass im inneren Drittel des Läsionskörpers (ab einer Läsionstiefe von ca. 120 bis 130 μm) der durchschnittliche Mineralgehalt der Proben, die mit NaF (Colgate Total) behandelt wurden, niedriger war als bei Proben, die mit nHA (BioRepair) oder der Negativkontrolle (Salviagonalen fluoridfrei) behandelt worden waren. Durch den Vergleich des Mineralgehalts der Proben mit NaF mit dem der komplett unbehandelten Proben (nur Demineralisation) kann festgestellt

werden, dass bei diesem Vergleich der Mineralgehalt der Proben aus der NaF-Gruppe unterlegen scheint.

Da eine zusätzliche, weitere Demineralisation durch die Behandlung/Lagerung mit Fluorid, v. a. nur im tiefsten Bereich der Läsion (120 bis 130 μm), höchst unwahrscheinlich scheint, ist davon auszugehen, dass der Remineralisationseffekt in der pseudointakten Oberflächenschicht und im Läsionskörper mit Kalziumphosphat aus den tiefer gelegenen Läsionsbereichen (und ggf. aus dem gesunden Schmelz) gespeist wurde [ten Cate *et al.* 2006; Tschoppe *et al.* 2011].

9. Schlussfolgerung

Die vorliegende In-vitro-Studie zeigte, dass Fluoride initiale Schmelzläsionen remineralisieren können; bei Verwendung von nHA konnte dies dagegen nicht beobachtet werden. Die fluoridhaltige Zahnpaste (Colgate Total) zeigte eine signifikante Remineralisation der gesamten Läsion schon bereits nach zwei Wochen. Nach drei Wochen war der Mineralgewinn noch deutlicher zu beobachten. Auffällig war zudem, dass die fluoridhaltige Zahnpaste eine signifikante Remineralisation im Oberflächenbereich der Läsion zeigte. Auch im inneren Bereich der Läsion zeigte die fluoridhaltige Zahnpaste eine signifikante Remineralisation. Die Nanohydroxyl-haltige Zahnpaste (BioRepair) hingegen zeigte nur einen mit der Negativkontrolle (Salviagalen fluoridfrei) vergleichbaren Mineralgehalt. Daraus lässt sich schließen, dass die Verwendung von nHA keinen remineralisierenden Effekt hat.

Dennoch vermögen es Fluoride nicht, die Läsionstiefe unter den gegebenen Versuchsbedingungen und dem hier gewählten Versuchszeitraum positiv (im Sinne einer Verkleinerung) zu verändern. Dies gilt letztlich auch für nHA.

Schlussfolgernd kann gesagt werden, dass zum jetzigen Zeitpunkt Fluoride nach wie vor das Mittel der Wahl hinsichtlich der Remineralisation von Initialkaries sind, da bei Anwendung von Fluorid die gesamte Läsion signifikant remineralisiert wird. In Rahmen eines Kurzzeitversuchs (drei Wochen) mit täglich zweimaliger Anwendung, vermögen es aber auch Fluoride nicht, die Läsionstiefe zu reduzieren.

10. Literaturverzeichnis

1. al-Khateeb S, Oliveby A, de Josselin de Jong E, Angmar-Mansson B. Laser fluorescence quantification of remineralisation in situ of incipient enamel lesions: influence of fluoride supplements. *Caries Res* 1997;31:132-140.
2. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors affecting the development of carious lesions in bovine teeth in vitro. *Arch Oral Biol* 1998;43:619-628.
3. Amaechi BT, van Loveren C. Fluorides and non-fluoride remineralization systems. *Monogr Oral Sci* 2013;23:15-26.
4. Anderson P, Levinkind M, Elliot JC. Scanning microradiographic studies of rates of in vitro demineralization in human and bovine dental enamel. *Arch Oral Biol* 1998;43:649-656.
5. Angmar-Mansson B, al-Khateeb S, Tranaeus S. Monitoring the caries process. Optical methods for clinical diagnosis and quantification of enamel caries. *Eur J Oral Sci* 1996;104:480-485.
6. Aoki H, Shimura N, Kuboki Y. Basic and clinical studies on hydroxyapatite and plaque. *Jpn Dent J* 1982;15:463-474.
7. Aoki H. Medical application of hydroxyapatite. Tokyo, Japan/St. Louis, USA: Ishiyaku EuroAmerica Inc., 1994:205-305.
8. Arends J, Christoffersen J. Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. *J Dent Res* 1990;69:601-605.
9. Arends J, Christoffersen J, Christoffersen MR, Schuthof J. Influence of fluoride concentration on the progress of demineralization in bovine enamel at pH 4.5. *Caries Res* 1983;17:455-457.
10. Arends J, Jongebloed WL. Crystallites dimensions of enamel. *J Biol Buccale* 1978;6:161-171.
11. Arnold WH, Dorow A, Langenhorst S, Gintner Z, Banoczy J, Gaengler P. Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. *BMC Oral Health* 2006;6:8.
12. Arnold WH, Haase A, Hacklaender J, Gintner Z, Banoczy J, Gaengler P. Effect of pH of amine fluoride containing toothpastes on enamel remineralization in vitro. *BMC Oral Health* 2007;7:14.
13. Attin T, Meyer K, Hellwig E, Buchalla W, Lennon AM. Effect of mineral supplements to citric acid on enamel erosion. *Arch Oral Biol* 2003;48:753-759.
14. Attin T, Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A. The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel: Erosion-abrasion experiments. *J Dent* 2007;35:773-777.
15. Baehni PC, Takeuchi Y. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Dis* 2003;9(Suppl 1):23-29.
16. Ball IA. The 'fluoride syndrome': occult caries? *Br Dent J* 1986;160:75-76.
17. Balzar Ekenback S, Linder LE, Sund ML, Lonnie H. Effect of fluoride on glucose incorporation and metabolism in biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *Eur J Oral Sci* 2001;109:182-186.
18. Ben-Nissan B, Choi AH. Sol-gel production of bioactive nanocoatings for medical applications. Part 1: an introduction. *Nanomedicine* 2006;1:311-319.
19. Bezzi G, Celotti G, Landi E, Torretta TMGL, Sopyan I, Tampieri A. A novel sol-gel technique for hydroxyapatite preparation. *Materials Chemistry and Physics* 2003;78:816-824.
20. Biesbrock AR, Faller RV, Bartizek RD, Court LK, McClanahan SF. Reversal of incipient and radiographic caries through the use of sodium and stannous fluoride dentifrices in a clinical trial. *J Clin Dent* 1998;9:5-10.
21. Braden M. Heat conduction in normal human teeth. *Arch Oral Biol* 1964;9:479-486.
22. Bratthall D, Hansel-Petersson G, Sundberg H. Reasons for the caries decline: what do the experts believe? *Eur J Oral Sci* 1996;104:416-422.
23. Brown WE. Physicochemical mechanisms of dental caries. *J Dent Res* 1974;53:204-216.
24. Browning WD, Cho SD, Deschepper EJ. Effect of a nano-hydroxyapatite paste on bleaching-related tooth sensitivity. *J Esthet Restor Dent* 2012;24:268-276.
25. Bruun C, Lambrou D, Larsen MJ, Fejerskov O, Thylstrup A. Fluoride in mixed human saliva after different topical fluoride treatments and possible relation to caries inhibition. *Community Dent Oral Epidemiol* 1982;10:124-129.
26. Burg KJ, Porter S, Kellam JF. Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2000;21:2347-2359.

27. Buskes JA, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Res* 1985;19:490-496.
28. Buzalaf MA, de Moraes Italiani F, Kato MT, Martinhon CC, Magalhaes AC. Effect of iron on inhibition of acid demineralisation of bovine dental enamel in vitro. *Arch Oral Biol* 2006;51:844-848.
29. Buzalaf MA, Pessan JP, Honorio HM, ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci* 2011;22:97-114.
30. Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. *Caries Res* 1977;11:277-286.
31. Chai CS, Ben-Nissan B. Bioactive nanocrystalline sol-gel hydroxyapatite coatings. *J Mater Sci Mater Med* 1999;10:465-469.
32. Chaudhry AA, Haque S, Kellici S, Boldrin P, Rehman I, Khalid FA, Darr JA. Instant nano-hydroxyapatite: a continuous and rapid hydrothermal synthesis. *Chem Commun* 2006;4:2286-2288.
33. Choi AH, Ben-Nissan B. Sol-gel production of bioactive nanocoatings for medical applications. Part II: current research and development. *Nanomedicine* 2007;2:51-61.
34. Chow LC. Calcium phosphate cements. *Monogr Oral Sci* 2001;18:148-163.
35. Chow LC, Guo MK, Hsieh CC, Hong YC. Reactions of powdered human enamel and fluoride solutions with and without intermediate $\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ formation. *J Dent Res* 1980;59:1447-1452.
36. Clarkson JE, Ellwood RP, Chandler RE. A comprehensive summary of fluoride dentifrice caries clinical trials. *Am J Dent* 1993;6:59-106.
37. Cushing BL, Kolesnichenko VL, O'Connor CJ. Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles. *Chem Rev* 2004;104:3893-3946.
38. Davidson CL, Boom G, Arends J. Calcium distribution in human and bovine surface enamel. *Caries Res* 1973;7:349-359.
39. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc* 2003;69:722-724.
40. de Carvalho FG, Vieira BR, Santos RL, Carlo HL, Lopes PQ, de Lima BA. In vitro effects of nano-hydroxyapatite paste on initial enamel carious lesions. *Pediatr Dent* 2014;36:85-89.
41. de Dios Teruel J, Alcolea A, Hernandez A, Ortiz Ruiz AJ. Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Arch Oral Biol* 2015;60:768-757.
42. de Rooij JF, Kolar Z, Arends J. Phosphate diffusion in whole bovine enamel at pH 7. *Caries Res* 1980;14:393-402.
43. Deporter DA. The early mineralization of enamel. Fine structural observations on the cellular localization of calcium with the potassium pyroantimonate technique. *Calcif Tissue Res* 1977;24:271-274.
44. Dibdin GH. The stability of water in human dental enamel studied by proton nuclear magnetic resonance. *Arch Oral Biol* 1972;17:433-437.
45. Dijkman AG, Tak J, Arends J. Fluoride deposited topical applications in enamel. KOH-soluble and acquired fluoride. *Caries Res* 1982;16:147-155.
46. Dirks OB. Post-eruptive Changes in Dental Enamel. *J Dent Res* 1966;45:503-511.
47. Doremus RH. Bioceramics. *J Mater Sci Mater Med* 1992;27:285-297.
48. Dorozhkin SV. Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates. *Acta Biomater* 2010;6:715-734.
49. Dorozhkin SV, Epple M. Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew Chem Int Ed Engl* 2002;41:3130-3146.
50. Driessens F. Mineral aspects of dentistry. *Monogr Oral Sci* 1982;10:11-215.
51. Duke SA, Forward GC. The conditions occurring in vivo when brushing with toothpastes. *Br Dent J* 1982;152:52-54.
52. Duschner H, Uchtmann H, Duschner HA. Mechanism of the effect of fluoride after Duraphat treatment. *Dtsch Zahnärztl Z* 1984;39:705-709.
53. Esser M, Tinschert J, Marx R. Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1998;53:713-717.
54. Feagin F, Koulourides T, Pigman W. The characterization of enamel surface demineralization, remineralization, and associated hardness changes in human and bovine material. *Arch Oral Biol* 1969;14:1407-1417.

55. Featherstone JD. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999;27:31-40.
56. Featherstone JD. The caries balance: the basis for caries management by risk assessment. *Oral Health Prev Dent* 2004;2 (Suppl 1):259-264.
57. Featherstone JD. Caries prevention and reversal based on the caries balance. *Pediatr Dent* 2006;28:128-132.
58. Featherstone JD. Dental caries: a dynamic disease process. *Aust Dent J* 2008;53:286-291.
59. Featherstone JD, Duncan JF, Cutress TW. A mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during in-vitro caries simulation on human tooth enamel. *Arch Oral Biol* 1979;24:101-112.
60. Featherstone JD, Glana R, Shariati M, Shields CP. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res* 1990;69:620-625.
61. Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981;15:109-114.
62. Fejerskov O, Larsen MJ, Richards A, Baelum V. Dental tissue effects of fluoride. *Adv Dent Res* 1994;8:15-31.
63. Fejerskov O, Nyvad B. Dental caries in the aging individual. In: Holm-Pederson P, Loe H, eds. *Text book of geriatric dentistry*. 2nd ed. Munksgaard, Copenhagen: Wiley-Blackwell, 1996.
64. Flim GJ, Arends J. Diffusion of ^{45}Ca in bovine enamel. *Calcif Tissue Res* 1977;24:59-64.
65. Fonseca RB, Haiter-Neto F, Fernandes-Neto AJ, Barbosa GA, Soares CJ. Radiodensity of enamel and dentin of human, bovine and swine teeth. *Arch Oral Biol* 2004;49:919-922.
66. Frank RM. Tooth enamel: current state of the art. *J Dent Res* 1979;58:684-694.
67. Ganesan K, Epple M. Calcium phosphate nanoparticles as nuclei for the preparation of colloidal calcium phosphate. *New J Chem* 2008;32:1326-1330.
68. Gao XJ, Fan Y, Kent RL, Jr., Van Houte J, Margolis HC. Association of caries activity with the composition of dental plaque fluid. *J Dent Res* 2001;80:1834-1839.
69. Garcia-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc* 2008;139(Suppl):25S-34S.
70. Gente M, Sondermann U, Lehmann KM. Linear coefficient of thermal expansion for bovine enamel and dentin. *Dtsch Zahnärztl Z* 1985;40:488-490.
71. Gomez-Vega JM, Saiz E, Tomsia AP, Marshall GW, Marshall SJ. Bioactive glass coatings with hydroxyapatite and Bioglass particles on Ti-based implants. 1. Processing. *Biomaterials* 2000;21:105-111.
72. Groeneveld A. Longitudinal study of prevalence of enamel lesions in a fluoridated and non-fluoridated area. *Community Dent Oral Epidemiol* 1985;13:159-163.
73. Guo X, Gough JE, Xiao P, Liu J, Shen Z. Fabrication of nanostructured hydroxyapatite and analysis of human osteoblastic cellular response. *J Biomed Mater Res A* 2007;82:1022-1032.
74. Haghgoo R, Rezvani MB, Salehi Zeinabadi M. Comparison of nano-hydroxyapatite and sodium fluoride mouthrinse for remineralization of incipient carious lesions. *J Dent (Tehran)* 2014;11:406-410.
75. Haller B, Hofmann N, Klaiber B, Bloching U. Effect of storage media on microleakage of five dentin bonding agents. *Dent Mater* 1993;9:191-197.
76. Hallsworth AS, Weatherell JA, Robinson C. Fluoride uptake and distribution in human enamel during caries attack. *Caries Res* 1975;9:294-299.
77. Hannig C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. *Arch Oral Biol* 2005;50:541-552.
78. Hannig C, Hannig M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci* 2005;113:2-13.
79. Hannig M, Fiebigler M, Guntzer M, Dobert A, Zimehl R, Nekrashevych Y. Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch Oral Biol* 2004;49:903-910.
80. Hannig M, Hannig C. Nanotechnology and its role in caries therapy. *Adv Dent Res* 2012;24:53-57.
81. Hara AT, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *J Dent Res* 2006;85:612-616.

82. Hay DI, Schluckebier SK, Moreno EC. Equilibrium dialysis and ultrafiltration studies of calcium and phosphate binding by human salivary proteins. Implications for salivary supersaturation with respect to calcium phosphate salts. *Calcif Tissue Int* 1982;34:531-538.
83. Hellwig E, Polydorou O, Lussi A, Kielbassa AM, Altenburger MJ. The influence of saliva on the dissolution of calcium fluoride after application of different fluoride gels in vitro. *Quintessence Int* 2010;41:773-777.
84. Hench L. Bioceramics. *J. Am Ceram Soc* 1998;81:1705-1728.
85. Hicks J, Flaitz C. Role of remineralizing fluid in in vitro enamel caries formation and progression. *Quintessence Int* 2007;38:313-319.
86. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *J Clin Pediatr Dent* 2003;28:47-52.
87. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent* 2004;28:119-124.
88. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). *J Clin Pediatr Dent* 2004;28:203-214.
89. Huang J, Best SM, Bonfield W, Brooks RA, Rushton N, Jayasinghe SN, Edirisinghe MJ. In vitro assessment of the biological response to nano-sized hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med* 2004;15:441-445.
90. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Combined effects of nano-hydroxyapatite and *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel lesion in vitro. *J Dent* 2010;38:811-819.
91. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res* 2011;45:460-468.
92. Huang SB, Gao SS, Yu HY. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater* 2009;4:034104.
93. Hunter M. Mechanical tooth wear: The role of individual toothbrushing variables and toothpaste abrasivity. In: Addy M, Embery G, Edgar W, eds. *Tooth Wear and Sensitivity*. London, England: Informa Healthcare, 2000:161-169.
94. Imfeld T. Comparison of the mechanical effects of a toothbrush and standard abrasive on human and bovine dentine in vitro. *J Clin Dent* 2001;12:92-96.
95. Ingram GS, Silverstone LM. A chemical and histological study of artificial caries in human dental enamel in vitro. *Caries Res* 1981;15:393-398.
96. Jeong S. Remineralization potential of new toothpaste containing nano-hydroxyapatite *Key Eng Mater* 2006;309-311:537-540.
97. Johnsson MS, Nancollas GH. The role of brushite and octacalcium phosphate in apatite formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992;3:61-82.
98. Kani T, Kani M, Isozaki A, Kato H, Fukuoka Y, Ohashi T, Tokumoto T. The effect of apatite-containing dentrifices on artificial caries lesions. *J Dent Health* 1988;38:364-365.
99. Kani T, Kani M, Isozaki A, Shintani H, Ohashi T, Tokumoto T. Effect of apatite-containing dentrifice on dental caries in school children. *J Dent Health* 1989;39:104-109.
100. Kawasaki K, Ruben J, Tsuda H, Huysmans MC, Takagi O. Relationship between mineral distributions in dentine lesions and subsequent remineralization in vitro. *Caries Res* 2000;34:395-403.
101. Kenney EB, Lekovic V, Han T, Carranza FA, Jr., Dimitrijevic B. The use of a porous hydroxylapatite implant in periodontal defects. I. Clinical results after six months. *J Periodontol* 1985;56:82-88.
102. Keyes PH. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. *Arch Oral Biol* 1960;1:304-320.
103. Kidd E. The implications of the new paradigm of dental caries. *J Dent* 2011;39(Suppl 2):S3-8.
104. Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 2004;83(Spec No C):C35-38.
105. Kielbassa AM, Gillmann L, Zantner C, Meyer-Lueckel H, Hellwig E, Schulte-Monting J. Profilometric and microradiographic studies on the effects of toothpaste and acidic gel abrasivity on sound and demineralized bovine dental enamel. *Caries Res* 2005;39:380-386.

106. Kielbassa AM, Hellwig E, Meyer-Lueckel H. Effects of irradiation on in situ remineralization of human and bovine enamel demineralized in vitro. *Caries Res* 2006;40:130-135.
107. Kielbassa AM, Muller J, Gernhardt CR. Closing the gap between oral hygiene and minimally invasive dentistry: a review on the resin infiltration technique of incipient (proximal) enamel lesions. *Quintessence Int* 2009;40:663-681.
108. Kielbassa AM, Oeschger U, Schulte-Monting J, Meyer-Lueckel H. Microradiographic study on the effects of salivary proteins on in vitro demineralization of bovine enamel. *J Oral Rehabil* 2005;32:90-96.
109. Kielbassa AM, Schendera A, Schulte-Monting J. Microradiographic and microscopic studies on in situ induced initial caries in irradiated and nonirradiated dental enamel. *Caries Res* 2000;34:41-47.
110. Kielbassa AM, Shohadai SP, Schulte-Monting J. Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel. *Support Care Cancer* 2001;9:40-47.
111. Kielbassa AM, Tschoppe P, Hellwig E, Wrbas KT. Effects of regular and whitening dentifrices on remineralization of bovine enamel in vitro. *Quintessence Int* 2009;40:103-112.
112. Kim MY, Kwon HK, Choi CH, Kim BI. Combined effects of nano-hydroxyapatite and NaF on remineralization of early caries lesion. *Key Eng Mater* 2007;330-332:1347-1350.
113. Kodaka T, Kobori M, Hirayama A, Abe M. Abrasion of human enamel by brushing with a commercial dentifrice containing hydroxyapatite crystals in vitro. *J Electron Microsc* 1999;48:167-172.
114. König K. *Karies und Parodontopathien. Äthiologie und Prophylaxe*. Stuttgart, Germany: Thieme, 1987.
115. Koulourides T. Dynamics of tooth surface-oral fluid equilibrium. *Adv Oral Biol* 1966;2:149-171.
116. Koulourides T, Feagin F, Pigman W. Remineralization of dental enamel by saliva in vitro. *Ann N Y Acad Sci* 1965;131:751-757.
117. Koulourides T, Phantumvanit P, Munksgaard EC, Housch T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. *J Oral Pathol* 1974;3:185-196.
118. Larsen MJ, Fejerskov O. Chemical and structural challenges in remineralization of dental enamel lesions. *Scand J Dent Res* 1989;97:285-296.
119. Larsen MJ, Richards A. The influence of saliva on the formation of calcium fluoride-like material on human dental enamel. *Caries Res* 2001;35:57-60.
120. Lewin DA. Fluoride syndrome. *Br Dent J* 1985;158:39.
121. Li B, Wang J, Zhao Z, Sui Y, Zhang Y. Mineralizing of nano-hydroxyapatite powders on artificial caries. *Rare Metal Mater Eng* 2007;36:128-130.
122. Li L, Pan H, Tao J, Xu X, Mao C, Gu X, Tang R. Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. *J Mater Chem* 2008;18:4079-4084.
123. Li YH, Bowden GH. The effect of environmental pH and fluoride from the substratum on the development of biofilms of selected oral bacteria. *J Dent Res* 1994;73:1615-1626.
124. Liou SC, Chen SY, Lee HY, Bow JS. Structural characterization of nano-sized calcium deficient apatite powders. *Biomaterials* 2004;25:189-196.
125. Little MF, Casciani FS. The nature of water in sound human enamel. A preliminary study. *Arch Oral Biol* 1966;11:565-571.
126. Liu HS, Chin TS, Lai LS, Chiu SY, Chung KH, Chang CS, Lui MT. Hydroxyapatite synthesized by a simplified hydrothermal method. *Ceram Int* 1997;23:19-25.
127. Lopes MB, Sinhoreti MA, Correr Sobrinho L, Consani S. Comparative study of the dental substrate used in shear bond strength tests. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17:171-175.
128. Lu KZ, Zhang JX, Meng XC, Li XY. Remineralization effect of the nano-HA toothpaste on artificial caries. *Key Eng Mater* 2007;330-332:267-270.
129. Luo P, Nieh TG. Synthesis of ultrafine hydroxyapatite particles by a spray dry method. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 1995;3:75-78.
130. Lynch RJ, 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* 2004;54:304-309.
131. Mao Y, Park TJ, Zhang F, Zhou H, Wong SS. Environmentally friendly methodologies of nanostructure synthesis. *Small* 2007;3:1122-1139.
132. Marcacci M, Kon E, Zaffagnini S, Giardino R, Rocca M, Corsi A, Benvenuti A, Bianco P, Quarto R, Martin I, Muraglia A, Cancedda R. Reconstruction of extensive long-bone defects in sheep using porous hydroxyapatite sponges. *Calcif Tissue Int* 1999;64:83-90.

133. Marinho VC. Cochrane reviews of randomized trials of fluoride therapies for preventing dental caries. *Eur Arch Paediatr Dent* 2009;10:183-191.
134. Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;CD002279.
135. Marinho VC, Worthington HV, Walsh T, Clarkson JE. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;7:CD002279.
136. Marsh PD. Plaque as a biofilm: pharmacological principles of drug delivery and action in the sub- and supragingival environment. *Oral Dis* 2003;9 (Suppl 1):16-22.
137. Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 2004;38:204-211.
138. Marthaler TM. Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res* 2004;38:173-181.
139. Mellberg JR. Fluoride dentifrices: current status and prospects. *Int Dent J* 1991;41:9-16.
140. Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 1992;71:913-919.
141. Mellberg JR, Chomicki WG. Fluoride uptake by artificial caries lesions from fluoride dentifrices in vivo. *J Dent Res* 1983;62:540-542.
142. Meng XC, Lv KL, Zhang JX, Qu DL. Caries inhibitory activity of the nano-HA in vitro. *Key Eng Mater* 2007;330-332:251-254.
143. Meyer-Lueckel H, Chatzidakis AJ, Kielbassa AM. Effect of various calcium/phosphates ratios of carboxymethylcellulose-based saliva substitutes on mineral loss of bovine enamel in vitro. *J Dent* 2007;35:851-857.
144. Meyer-Lueckel H, Schulte-Monting J, Kielbassa AM. The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 2002;8:192-198.
145. Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Kielbassa AM. Effect of various Ca²⁺/PO₄(³⁻) concentrations of linseed-based saliva substitutes on enamel in vitro. *J Oral Rehabil* 2006;33:760-766.
146. Meyer-Lueckel H, Umland N, Hopfenmuller W, Kielbassa AM. Effect of mucin alone and in combination with various dentifrices on in vitro Remineralization. *Caries Res* 2004;38:478-483.
147. Mielczarek A, Gedrange T, Michalik J. An in vitro evaluation of the effect of fluoride products on white spot lesion remineralization. *Am J Dent* 2015;28:51-56.
148. Mielczarek A, Michalik J. The effect of nano-hydroxyapatite toothpaste on enamel surface remineralization. An in vitro study. *Am J Dent* 2014;27:287-290.
149. Mielnik-Blaszczak M, Krawczyk D, Pels E. The application of synthetic hydroxyapatite in children and adolescents in various clinical cases. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med* 2001;56:95-98.
150. Millman CK. Fluoride syndrome. *Br Dent J* 1984;157:341.
151. Moreno EC, Zahradnik RT. Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro. *J Dent Res* 1974;53:226-235.
152. Moriwaki Y, Kani T, Kozatani T, Tsutsumi S, Shimode N, Yamagata R. The crystallinity change of bovine enamel during maturation. *Jpn J Dent Mat* 1968;9:78-85.
153. Najibfard K, Ramalingam K, Chedjieu I, Amaechi BT. Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *J Clin Dent* 2011;22:139-143.
154. Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. *J Dent Res* 1983;62:1076-1081.
155. Nikiforuk G. *Understanding Dental Caries 1 & 2*. Basel, Switzerland: S. Karger, 1985.
156. Niwa M, Sato T, Li W, Aoki H, Aoki H, Daisaku T. Polishing and whitening properties of toothpaste containing hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med* 2001;12:277-281.
157. Oesterle LJ, Shellhart WC, Belanger GK. The use of bovine enamel in bonding studies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;114:514-519.
158. Ogaard B. CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res* 2001;35(Suppl 1):40-44.
159. Ohashi T, Kani T, Isozaki A, Nishida A, Tokumoto T, Ishizu E, Kuwahara Y, Kanni, M. Remineralization of artificial caries lesions by hydroxyapatite. *J Dent Hlth* 1991;41:214-223.
160. Onuma K, Yamagishi K, Oyane A. Nucleation and growth of hydroxyapatite nanocrystals for nondestructive repair of early caries lesions. *J Crystal Growth* 2005;282:199-207.

161. Orsini G, Procaccini M, Manzoli L, Giuliodori F, Lorenzini A, Putignano A. A double-blind randomized-controlled trial comparing the desensitizing efficacy of a new dentifrice containing carbonate/hydroxyapatite nanocrystals and a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice. *J Clin Periodontol* 2010;37:510-517.
162. Osborn JW. The cross-sectional outlines of human enamel prisms. *Acta Anat* 1968;70:493-508.
163. Osborn JW. Directions and interrelationship of prisms in cuspal and cervical enamel of human teeth. *J Dent Res* 1968;47:395-402.
164. Paris S, Meyer-Lueckel H, Mueller J, Hummel M, Kielbassa AM. Progression of sealed initial bovine enamel lesions under demineralizing conditions in vitro. *Caries Res* 2006;40:124-129.
165. Pearce EI, Larsen MJ, Cutress TW. Studies on the influence of fluoride on the equilibrating calcium phosphate phase at a high enamel/acid ratio. *Caries Res* 1995;29:258-265.
166. Peters MC. Strategies for noninvasive demineralized tissue repair. *Dent Clin North Am* 2010;54:507-525.
167. Pilz M. *Praxis der Zahnerhaltung und oralen Prävention*, 1st ed. München, Germany: Carl Hanser, 1985:19-83.
168. Reis AF, Giannini M, Kavaguchi A, Soares CJ, Line SR. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth. *J Adhes Dent* 2004;6:117-121.
169. Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997;76:1587-1595.
170. Rimondini L, Palazzo B, Iafisco M, Canegallo L, Damarosi F, Merlo M, Roveri N. The remineralizing effect of carbonate-hydroxyapatite nanocrystals on dentine. *Mater Sci Forum* 2007;539-543:602-605.
171. Rios D, Honorio HM, Magalhaes AC, Buzalaf MA, Palma-Dibb RG, Machado MA, da Silva SM. Influence of toothbrushing on enamel softening and abrasive wear of eroded bovine enamel: an in situ study. *Braz Oral Res* 2006;20:148-154.
172. Robinson C, Fuchs P, Deutsch D, Weatherell JA. Four chemically distinct stages in developing enamel from bovine incisor teeth. *Caries Res* 1978;12:1-11.
173. Robinson C, Weatherell JA, Hallsworth AS. Distribution of magnesium in mature human enamel. *Caries Res* 1981;15:70-77.
174. Rolla G. On the role of calcium fluoride in the cariostatic mechanism of fluoride. *Acta Odontol Scand* 1988;46:341-345.
175. Rolla G, Ogaard B, Cruz Rde A. Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: a review. *Int Dent J* 1991;41:171-174.
176. Roulet JF. Material parameters and their effects on clinical use. *Dtsch Zahnarzt Z* 1988;43:887-892.
177. Roveri N, Battistella E, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, Lelli M, Palazzo B, Rimondini L. Synthetic biomimetic carbonate-hydroxyapatite nanocrystals for enamel remineralization. *Adv Mater Res* 2008;47-50:821-824.
178. Roveri N, Battistella E, Bianchi CL, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, Lelli M, Naldoni A, Palazzo B, Rimondini L. Surface enamel remineralization: biomimetic apatite nanocrystals and fluoride ions different effects. *J Nanomater* 2009;2009:9.
179. Saleh F, Taymour N. Validity of using bovine teeth as a substitute for human counterparts in adhesive tests. *East Mediterr Health J* 2003;9:201-207.
180. Schafer F. Evaluation of the anticaries benefit of fluoride toothpastes using an enamel insert model. *Caries Res* 1989;23:81-86.
181. Schemel W, Hummel K, Krekeler G. Hardness tests on the enamel, dentin and cementum of living human teeth. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984;94:1029-1041.
182. Schmidt HK. Nanoparticles for ceramic and nanocomposite processing. *Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology* 2000;353:165-179.
183. Schroeder H. *Orale Strukturbiologie*. 5th ed. Stuttgart, Germany: Thieme, 2000:37-85.
184. Schumacher G. *Anatomie und Biochemie der Zähne*. Stuttgart, Germany/New York, USA: Gustav Fischer Verlag 1990.
185. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007;369:51-59.
186. Silverstone LM. Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev* 1973;3:100-160.

187. Silverstone LM. Remineralization phenomena. *Caries Res* 1977;11(Suppl 1):59-84.
188. Suchanek W, Yoshimura M. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *J Mater Res* 1998;13:94-117.
189. Suchanek WL, Shuk P, Byrappa K, Riman RE, TenHuisen KS, Janas VF. Mechanochemical-hydrothermal synthesis of carbonated apatite powders at room temperature. *Biomaterials* 2002;23:699-710.
190. Sullivan RJ, Charig A, Blake-Haskins J, Zhang YP, Miller SM, Strannick M, Gaffar A, Margolis HC. In vivo detection of calcium from dicalcium phosphate dihydrate dentifrices in demineralized human enamel and plaque. *Adv Dent Res* 1997;11:380-387.
191. Sun W, Chu C, Wang J, Zhao H. Comparison of periodontal ligament cells responses to dense and nanophase hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med* 2007;18:677-683.
192. Sutton SV, Bender GR, Marquis RE. Fluoride inhibition of proton-translocating ATPases of oral bacteria. *Infect Immun* 1987;55:2597-2603.
193. Tas AC. Combustion synthesis of calcium phosphate bioceramic powders. *J Eur Ceram Soc* 2000;20:2389-2394.
194. ten Cate JM. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 1999;57:325-329.
195. ten Cate JM. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. *Odontology* 2006;94:1-9.
196. ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro: III. A study of the deposition mechanism. *Caries Res* 1980;14:351-358.
197. ten Cate JM, Buijs MJ, Miller CC, Exterkate RA. Elevated fluoride products enhance remineralization of advanced enamel lesions. *J Dent Res* 2008;87:943-947.
198. ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982;16:201-210.
199. ten Cate JM, Exterkate RA, Buijs MJ. The relative efficacy of fluoride toothpastes assessed with pH cycling. *Caries Res* 2006;40:136-141.
200. ten Cate JM, Featherstone JD. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991;2:283-296.
201. Thomas RZ, Ruben JL, de Vries J, ten Bosch JJ, Huysmans MC. Transversal wavelength-independent microradiography, a method for monitoring caries lesions over time, validated with transversal microradiography. *Caries Res* 2006;40:281-291.
202. Tschoppe P, Kielbassa AM. Remineralization of bovine enamel subsurface lesions: effects of different calcium-phosphate saturations in buffered aqueous solutions. *Quintessence Int* 2011;42:501-514.
203. Tschoppe P, Neumann K, Mueller J, Kielbassa AM. Effect of fluoridated bleaching gels on the remineralization of predemineralized bovine enamel in vitro. *J Dent* 2009;37:156-162.
204. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent* 2011;39:430-437.
205. Tung MS, Chow LC, Brown WE. Hydrolysis of dicalcium phosphate dihydrate in the presence or absence of calcium fluoride. *J Dent Res* 1985;64:2-5.
206. Turssi CP, Messias DF, Corona SM, Serra MC. Viability of using enamel and dentin from bovine origin as a substitute for human counterparts in an intraoral erosion model. *Braz Dent J* 2010;21:332-336.
207. Twetman S. Antimicrobials in future caries control? A review with special reference to chlorhexidine treatment. *Caries Res* 2004;38:223-229.
208. Twetman S. Caries prevention with fluoride toothpaste in children: an update. *Eur Arch Paediatr Dent* 2009;10:162-167.
209. van Dijk JW, Borggreven JM, Driessens FC. Diffusion in mammalian tooth enamel in relation to the caries process. *Arch Oral Biol* 1983;28:591-597.
210. Vandiver J, Dean D, Patel N, Bonfield W, Ortiz C. Nanoscale variation in surface charge of synthetic hydroxyapatite detected by chemically and spatially specific high-resolution force spectroscopy. *Biomaterials* 2005;26:271-283.
211. von der Fehr FR. Caries prevalence in the Nordic countries. *Int Dent J* 1994;44:371-378.

212. von der Fehr FR, Haugejorden O. The start of caries decline and related fluoride use in Norway. *Eur J Oral Sci* 1997;105:21-26.
213. Von der Fehr FR, Loe H, Theilade E. Experimental caries in man. *Caries Res* 1970;4:131-148.
214. Vyavhare S, Sharma DS, Kulkarni VK. Effect of three different pastes on remineralization of initial enamel lesion: an in vitro study. *J Clin Pediatr Dent* 2015;39:149-160.
215. Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Appelbe P, Marinho VC, Shi X. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;CD007868.
216. Wang J, Shaw LL. Morphology-enhanced low-temperature sintering of nanocrystalline hydroxyapatite. *Adv Mater* 2007;19:2364-2369.
217. Wang X, Zhuang J, Peng Q, Li Y. A general strategy for nanocrystal synthesis. *Nature* 2005;437:121-124.
218. Weatherell JA, Deutsch D, Robinson C, Hallsworth AS. Assimilation of fluoride by enamel throughout the life of the tooth. *Caries Res* 1977;11(Suppl 1):85-115.
219. Weatherell JA, Weidmann SM, Hamm SM. Density patterns in enamel. *Caries Res* 1967;1:42-51.
220. Weerheijm KL, Gruythuysen RJ, van Amerongen WE. Prevalence of hidden caries. *ASDC J Dent Child* 1992;59:408-412.
221. Wefel JS. Artificial lesion formation and fluoride uptake after TIF4 applications. *Caries Res* 1982;16:26-33.
222. Wefel JS, Jensen ME, Triolo PT, Faller RV, Hogan MM, Bowman WD. De/remineralization from sodium fluoride dentifrices. *Am J Dent* 1995;8:217-220.
223. Wei SH, Tang TE, Wefel JS. Reactions of dicalcium phosphate dihydrate with fluoride solutions. *J Dent Res* 1974;53:1145-1154.
224. Wei SH, Yiu CK. Evaluation of the use of topical fluoride gel. *Caries Res* 1993;27(Suppl 1):29-34.
225. Westerman GH, Hicks MJ, Flaitz CM, Powell GL. In vitro caries formation in primary tooth enamel: role of argon laser irradiation and remineralizing solution treatment. *J Am Dent Assoc* 2006;137:638-644.
226. White DJ. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries. I. Effects on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. *Caries Res* 1987;21:126-140.
227. Yamagishi K, Onuma K, Suzuki T, Okada F, Tagami J, Otsuki M, Senawangse P. Materials chemistry: a synthetic enamel for rapid tooth repair. *Nature* 2005;433:819.
228. Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci* 2011;53:273-282.
229. Zandim DL, Tschoppe P, Sampaio JE, Kielbassa AM. The influence of daily application of fluoride products on subsurface bovine enamel lesions stored in saliva substitutes. *Am J Dent* 2011;24:277-283.
230. Zantner C, Martus P, Kielbassa AM. Clinical monitoring of the effect of fluorides on long-existing white spot lesions. *Acta Odontol Scand* 2006;64:115-122.
231. Zero DT. Dentifrices, mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies. *BMC Oral Health* 2006;6(Suppl 1):S9.
232. Zhang H, Li S, Yan Y. Dissolution behavior of hydroxyapatite powder in hydrothermal solution. *Ceram Int* 2001;27:451-454.
233. Zhang Y, Lu J. A simple method to tailor spherical nanocrystal hydroxyapatite at low temperature. *J Nanopart Res* 2007;9:589-594.
234. Zhang YP, Din CS, Miller S, Nathoo SA, Gaffar A. Intra-oral remineralization of enamel with a MFP/DCPD and MFP/silica dentifrice using surface microhardness. *J Clin Dent* 1995;6:148-153.
235. Zhang YP, Kent RL, Jr., Margolis HC. Enamel demineralization under driving forces found in dental plaque fluid. *Eur J Oral Sci* 2000;108:207-213.
236. Zhao H, He W, Wang Y, Zhang X, Li Z, Yan S, Zhou W, Wang G. Biomineralization of large hydroxyapatite particles using ovalbumin as biosurfactant. *Mater Letters* 2008;62:3603-3605.

11. Anhang

11.1. Abkürzungsverzeichnis

1/K	Thermischer Ausdehnungskoeffizient
Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
°C	Grad Celsius
Ca²⁺	Kalzium
CaF₂	Kalziumdifluorid
CaHPO₄ × 2 H₂O	Dikalziumphosphatdihydrat
Ca₈(HPO₄)₂(PO₄)₄ × 5 H₂O	Oktakalziumphosphat
Ca₁₀(PO₄)₆F₂	Fluorapatit
Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂	Hydroxylapatit
Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂-xF_x	Fluorhydroxylapatit
CI	Konfidenzintervall
D	Demineralisation (Probenbereich)
Demin.	Demineralisation
DKPD	Dikalziumphosphatdihydrat
E₂	Effekt nach zwei Wochen (Probenbereich)
E₃	Effekt nach drei Wochen (Probenbereich)
F⁻	Fluorid
F_O	outer fluoride
F_S	fluoride present in the solid phase
F_L	fluoride present at the enamel fluid
F_A	fluoride adsorbed to the crystal surface
Fa.	Firma
FAP	Fluorapatit

G	Gesund (Probenbereich)
g	Gramm
g/cm³	Dichte
Ger.	Gerät
Gew. %	Gewichtsprozent
Gr.	Gruppe
H⁺	Proton
H₂O	Wasser
HAP	Hydroxylapatit
HCl	Salzsäure
HV	Vickershärte
IAP	ionisch aktives Produkt
J/g × K	Wärmekapazität
KH	Kohlenhydrate
KHN	Knoop-hardness number
KOH	Kaliumhydroxid
kV	Kilovolt
Lsg.	Lösung
ΔΔLt	Veränderung der Läsionstiefe
ΔΔLt₂	Veränderung der Läsionstiefe nach 2 Wochen
ΔΔLt₃	Veränderung der Läsionstiefe nach 3 Wochen
ΔLt_D	Anfangsläsionstiefe
ΔLt_{E2}	Läsionstiefe nach zwei Wochen
ΔLt_{E3}	Läsionstiefe nach drei Wochen
ΔLt_G	Ausgangswert für Läsionstiefe
mA	Milliampere
Mg²⁺	Magnesium

μHA	Mikrohydroxylapatit
min	Minuten
mm	Millimeter
μm	Mikrometer
MW	Mittelwert
Na⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NaF	Natriumfluorid
nHA	Nanohydroxylapatit
nm	Nanometer
OH⁻	Hydroxyl-Ion
OKP	Oktakalziumphosphat
p	p-Wert
P₄	Phosphor
pH	potentia hydrogenii
PO₄³⁻	Phosphat
ppm	parts per million
Remin.	Remineralisation
S. mutans	Streptococcus mutans
sec	Sekunden
Tab.	Tabelle
TMR	Transversale Mikroradiographie
U/min	Umdrehung in der Minute
Vol. %	Volumenprozent
ΔΔZ	Veränderung des Mineralgehaltes
ΔΔZ₂	Veränderung des Mineralverlustes nach 2 Wochen
ΔΔZ₃	Veränderung des Mineralverlustes nach 3 Wochen

ΔZ_D	Baseline-Mineralverluste
$\Delta\Delta Z_E$	mittlerer Mineralgehalt
ΔZ_{E2}	Mineralverlust nach zwei Wochen
ΔZ_{E3}	Mineralverlust nach drei Wochen
$\Delta\Delta Z_{E2}$	mittlerer Mineralgehalt nach zwei Wochen
$\Delta\Delta Z_{E3}$	mittlerer Mineralgehalt nach drei Wochen
ΔZ_G	Ausgangswert für Mineralverlust
ZnCo₃/n-HA	Zink-Karbonat-Nanohydroxylapatit

11.2. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1** Schematische Darstellung von HAP und Schmelzprisma nach Nikiforuk
- Abb. 2** Kariesmodell modifiziert nach Keyes
- Abb. 3** Kariesentstehung als dynamischer Vorgang
- Abb. 4** Gleichgewicht aus De- und Remineralisation bei pH 7
- Abb. 5** Vershobenes Gleichgewicht bei pH < 5,5
- Abb. 6** Histologisch und mittels Polarisationsmikroskop dargestellte initiale Schmelzläsion (mit der pseudointakten Oberflächenschicht und dem Läsionskörper)
- Abb. 7** Nach Arends und Christoffersen modifizierte schematische Darstellung von unterschiedlichen intraoralen Fluoridformen
- Abb. 8** Schematische Darstellung der Remineralisation in Gegenwart von Fluoriden nach Featherstone
- Abb. 9** Graphische Darstellung der Entnahme von Schmelzproben aus einem bovinen Inzisivus
- Abb. 10** Kunstharzblock mit 5 Schmelzproben
- Abb. 11** Salviagonalen fluoridfrei

Abb. 12	BioRepair
Abb. 13	Colgate Total
Abb. 14	Graphische Darstellung des pH-Cycling-Ablaufes
Abb. 15	Graphische Darstellung von den Effektbereichen der Schmelzprobe
Abb. 16	Graphische Darstellung eines TMR-Probenhalters mit Dünnschliff
Abb. 17	Röntgengerät und Detaildarstellung von Kamera und Tubus
Abb. 18	Kameragehäuse
Abb. 19	TMR-Durchlichtmikroskop und Detaildarstellung der Filmhalterung
Abb. 20	Mittelwert und Konfidenzintervalle der Unterschiede von Mineralgehaltveränderung der gesamten nach zwei und drei Wochen Lagerung/Behandlung
Abb. 21	Mittelwert und Konfidenzintervalle der Unterschiede von Läsionstiefen der gesamten Läsion nach zwei und drei Wochen Lagerung/Behandlung
Abb. 22	Durchschnittlicher Mineralgehalt nach zwei und drei Wochen Lagerung/Behandlung von Schmelzproben
Abb. 23	Exemplarische TMR-Bilder der Gr.0
Abb. 24	Exemplarische TMR-Bilder der Gr.S
Abb. 25	Exemplarische TMR-Bilder der Gr.B
Abb. 26	Exemplarische TMR-Bilder der Gr.C

11.3. Tabellenverzeichnis

Tab. I	Chemische, physikalische und mechanische Eigenschaften von Human- und Bovinschmelz
Tab. II	Zeitplan der gesamten Studie
Tab. III	Zusammensetzung der Demineralisationslösung nach Buskes

Tab. IV	Zusammensetzung der Remineralisationslösung (PT01AMK) / pH 6,3
Tab. V	Behandlungsprodukte, Systeme und Probengruppen
Tab. VI	Mineralverlust der gesamten Läsion
Tab. VII	Mineralverlust der Oberflächenbereiche
Tab. VIII	Mineralverlust der inneren Bereiche
Tab. IX	Läsionstiefe

11.4. Materialliste

Mat. 1	Agfa Agepon; Agfaphoto Holding, Leverkusen, Deutschland
Mat. 2	Auswertungssoftware; Transversal Microradiography (TMR for Windows, Version 2.0.27.2), Inspektor Research, Amsterdam, Niederlande
Mat. 3	Aqua dest. „Ampuwa [®] “ Spüllösung, Steriles pyrogenfreies Aqua ad iniectionabilia; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
Mat. 4	Belichtungswerte Röntgen; Fuji-Film: Schmelz: 20 kV, 20 mA, 05 sec., Dentin:20kV,10 mA, 05sec.; Kodak-Film: Schmelz: 20 kV, 20 mA, 10 sec., Dentin:20 kV, 15 mA, 10 sec.
Mat. 5	BioRepair; Zahnpasta, Dr. Kurt Wolff, Bielefeld, Deutschland
Mat. 6	Buskes Bestandteile; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 7	ColgateTotal; Zahnpasta, Colgate-Palmolive, Hamburg, Deutschland
Mat. 8	Ethanol, 100 %, vergällt; Herbeta Arzneimittel, Berlin, Deutschland
Mat. 9	Ethanol, absolut, (unvergällt); J.T.Baker, Deventer, Niederlande
Mat. 10	“Falcon-Röhrchen”; Zentrifugenröhrchen m.Stehrand, 50 ml,

- VWR, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 11** Film-Magazin; Hama Dayroll, Hama, Monheim, Deutschland
- Mat. 12** Fuji-Film; Motion Picture safety film Fuji fine grain positive film 71337, FUJIFILM Corporation, Tokio, Japan
- Mat. 13** Hepes Buffer, 1 M; Biochrom AG, Berlin, Deutschland
- Mat. 14** Klebeband „Leukofix“; BSN medical, Hamburg, Deutschland
- Mat. 15** Kodak-Film; High Speed Holografic Film; Kodak SO 253; Stuttgart, Deutschland
- Mat. 16** Kodak Professional D-19; Eastman Kodak Company, Rochester, USA
- Mat. 17** Kunststoff Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Werheim, Deutschland
- Mat. 18** Magnet-Rührer IKA-Kombimag RCT; Jahnke & Kunkel GmbH, Staufen i. Breisgau, Deutschland
- Mat. 19** NaCl 0,9 % Fresenius; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
- Mat. 20** Nagellack Jet-Set Diamant; L'Oréal Deutschland, Karlsruhe, Deutschland
- Mat. 21** Objektträger Plexiglas-Objektträger (25 × 75 × 2 mm); dia-plus, Oststeinbek, Deutschland
- Mat. 22** pH-Elektrode GE 100 BNC, Standard-pH-Elektrode; Greisinger, Regenstauf, Deutschland
- Mat. 23** Pufferlösungen Buffer solution HI 7007 (pH 7,01) / HI 7004 (pH 4,01); Hanna Instruments, Kehl am Rhein, Deutschland
- Mat. 24** Rinderzähne; A. Moksel AG / VION Food, Buchloe, Deutschland
- Mat. 25** Röntgenröhre; Feinstruktur-Feinfokus-Röntgenröhre (FF), Type: PW 2213/20, Panalytical, Kassel, Deutschland
- Mat. 26** Salviagalen fluoridfrei Zahnpasta; Madaus, Köln, Deutschland

- Mat. 27** Schleifpapier (Dünnschliffe) WS flex 18 C, SiC, P 1200 – 4000; Hermes Schleifmittel, Hamburg, Deutschland
- Mat. 28** Schleifpapier (manuelle Probenherstellung) Schleifpapier, SiC, P 1000 – 4000; Buehler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 29** Sekundenkleber (Cyanacrylatkleber); OmniDent, Rodgau, Deutschland
- Mat. 30** Tetenal Superfix Plus; TETENAL, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 31** TMR-Probenhalter; Charité Facility Management, Mechanische Werkstätten (Campus Benjamin Franklin), Berlin, Deutschland

11.5. Geräteliste

- Ger. 1** Brut / Wärmeschrank; Venticell 404, MMM Medcenter, Planegg, Deutschland
- Ger. 2** Bügel-Messschraube Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan
- Ger. 3** CCD-Videokamera Modul XC 77 CE; Sony, Tokio, Japan
- Ger. 4** Durchlichtmikroskop „Axioskop 2“; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Ger. 5** pH-Meter GMH 3530 (GMH 3510); Greisinger, Regenstauf, Deutschland
- Ger. 6** Röntgenstrahlengenerator PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande
- Ger. 7** Säge EXAKT Trennschleifsystem 300 CL; EXAKT, Norderstedt, Deutschland
- Ger. 8** Schleifgerät (Dünnschliffe) EXAKT Mikroschleifsystem 400 CS; EXAKT, Norderstedt, Deutschland

- Ger. 9** Schleifgerät (manuelle Probenherstellung) Labo Pol 25;
Struers, Ballerup, Dänemark / Willich, Deutschland
- Ger. 10** Waage Sartorius Excellence E 2000 D; Sartorius, Göttingen,
Deutschland

11.6. Bearbeitungsprogramme (verwendete Software)

- Prog. 1** Auswertungssoftware Transversal Microradiography (TMR
für Windows, Version 2.0.27.2); Inspektor Research, Amsterdam,
Niederlande
- Prog. 2** Statistiksoftware IBM SPSS Statistics Version 20; IBM,
Ehningen, Deutschland

11.7. Nachdruckgenehmigungen

Nachdruckgenehmigung 1

Quintessence Publishing

Sehr geehrter Herr Yamamura,

wir erlauben Ihnen die Nutzung der Abbildungen 3a und 3b aus „Closing the gap between oral hygiene and minimally invasive dentistry: A review on the resin infiltration technique of incipient (proximal) enamel lesion“ unter der Voraussetzung, dass Sie die Quelle, den Quintessenz Verlag sowie die Autoren, korrekt benennen.

Viel Erfolg bei Ihrer Dissertation!

Mit freundlichen Grüßen

Frau Chris Kaufmann

quintessenz.tv _ ein _ unternehmen _ der
internationalen quintessenz verlagsgruppe
Ifenpfad 2-4
12107 Berlin
www.quintessenz.tv
c.kaufmann@quintessenz.tv
Tel_ 030-887 133 - 21
Fax_ 030-887 133 - 15
Mobil_ 0171-461 38 83
Quintessenz TV Gesellschaft für
zahnmedizinische TV-Programme mbH
Geschäftsführer: Dr. rer. biol. hum. Alexander Ammann
Registergericht: Berlin 93 HRB 87.899

Nachdruckgenehmigung 2

Karger Publishers

RightsLink



Thank You For Your Order!

Dear Mr. Gen Yamamura,

Thank you for placing your order through Copyright Clearance Center's RightsLink service. Karger Publishers has partnered with RightsLink to license its content. This notice is a confirmation that your order was successful.

Your order details and publisher terms and conditions are available by clicking the link below:

<http://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=c32edd59-6f84-429f-81b1-1ca993fef2e3>

Order Details

Licensee: Gen Yamamura

License Date: Jul 7, 2015

License Number: 3663581370343

Publication: Karger Book

Title: Mechanisms of Action of Fluoride for Caries Control

Type Of Use: Thesis/Dissertation

Total: 18.13 EUR

Additional use, including printing, translating, and further dissemination of this content, requires permission from Karger Publishers.

To access your account, please visit <https://myaccount.copyright.com>.

Please note: Online payments are charged immediately after order confirmation; invoices are issued daily and are payable immediately upon receipt.

To ensure that we are continuously improving our services, please take a moment to complete our [customer satisfaction survey](#).

11.8. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Gen Yamamura, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: "Der Einfluss unterschiedlicher Mundhygieneprodukte auf das Remineralisationsverhalten von Schmelzläsionen unter pH-Cycling-Bedingungen - eine In-vitro-Studie" 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, Graphiken und Tabellen) 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: 11.12.2015

Unterschrift

11.9. Lebenslauf

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

11.10. Danksagung

Mein allerherzlichster Dank gilt meinem Doktorvater und ehemaligen Chef, Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Andrej M. Kielbassa, für die Überlassung des Themas und für die sehr gute, v.a. in jeglicher Hinsicht sehr lehrreiche, wissenschaftliche Betreuung. Seine fachliche Unterstützung, präzisen Ratschläge, konstruktiven Kritiken sowie seine immerwährende positive Ermutigung haben sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ebenfalls danke ich Herrn Privatdozenten Dr. Peter Tschoppe für die tolle Betreuung und seine ständige Ansprechbarkeit während der gesamten Versuchsdurchführung.

Frau Anette Steinke und Herrn Rainer Toll danke ich für die technische Unterstützung und für die große Hilfestellung während der gesamten Laborarbeiten.

Sehr verbunden bin ich außerdem meinem ehemaligen Kollegen Michael Eichhorn, der mich bei der Anfertigung einiger graphischer Darstellungen unterstützt hat.

Abschließend möchte ich mich von ganzem Herzen bei meiner Familie bedanken, die stets an mich glaubt und immer hinter mir steht.