

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

DISSERTATION

**Mikroradiografische Untersuchungen
zum Einfluss unterschiedlicher Lagerungsmedien
und der Politur auf die In-vitro-De- und -Remineralisation
von bovinem und humanem Schmelz**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Jochen Peter Baumeister
aus Salzburg/Österreich

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. A. M. Kielbassa
 2. Priv.-Doz. Dr. I. Peroz
 3. Prof. Dr. H. Lang

Datum der Promotion: 04.02.2011

gewidmet meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Entwicklung und Zusammensetzung von humanem Schmelz	3
2.2	Grundlagen der Kariesentstehung	4
2.3	Struktur der Schmelzläsion	6
2.4	Mechanismen der Remineralisation	7
2.5	In-vitro-Kariesversuche	8
2.6	Lagerungsmedien und deren Desinfektionswirkung	9
2.6.1	Allgemeines	9
2.6.2	Physiologische Kochsalzlösung	10
2.6.3	Alkohol	11
2.6.4	Formalin	13
2.6.5	Wasserstoffperoxid	15
2.6.6	Thymol	17
3	Ziel der Untersuchung	20
4	Material und Methode	21
4.1	Genereller Versuchsaufbau	21
4.2	Lagerungsbedingungen	21
4.2.1	Versuch 1	21
4.2.2	Versuch 2	22
4.3	Vorbereitung der Schmelzproben	23
4.4	Demineralisation der Schmelzproben	24
4.5	Remineralisation der Schmelzproben	25
4.6	Vorbereitung der Proben für die Mikroradiografie	26
4.7	Herstellen der Mikroradiogramme	27
4.8	Mikroradiografische Auswertung	28
4.9	Statistische Auswertung	29
5	Ergebnisse	31
5.1	Quantitative Auswertung	31
5.1.1	Auswertung Versuch 1 (bovine Zähne)	31
5.1.2	Auswertung Versuch 2 (humane Zähne)	34

5.2	Qualitative Auswertung	44
5.2.1	Mikroradiografische Auswertung einer Schmelzprobe	44
5.2.2	Mittelwertgrafiken für die verschiedenen Lagerungsmedien	46
6	Diskussion	49
6.1	Rinderzähne im Vergleich zu humanen Zähnen	49
6.2	Entnahmestelle	50
6.3	Methoden zur Erzeugung artifizierlicher Karies	50
6.4	Analytisches Verfahren	51
6.5	Kontrollgruppen	52
6.6	Physiologische Kochsalzlösung	54
6.7	Formalin und Alkohol	54
6.8	Wasserstoffperoxid	55
6.9	Thymol	59
6.10	Politur	60
7	Schlussfolgerung	64
8	Zusammenfassung	65
8.1	Deutsche Zusammenfassung	65
8.2	Summary	66
9	Literaturverzeichnis	67
10	Anhang	75
10.1	Tabellen	75
10.2	Materialliste	81
10.3	Lebenslauf	84
10.4	Danksagung	85
10.5	Eidesstattliche Erklärung	86

1 Einleitung

In der Kariologie sind klinische Studien sehr schwierig umzusetzen, da in der Regel eine Vielzahl von Versuchspersonen benötigt werden, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Gleichzeitig müssen ethische Aspekte beachtet werden, da z. B. keine irreversiblen Schäden an der Zahnhartsubstanz von Probanden entstehen dürfen. Alternativ werden deshalb viele Studien *in vitro* oder *in situ* durchgeführt, in denen extrahierte humane oder bovine Zähne Verwendung finden. Extrahierte Zähne werden nicht nur in Studien zur Kariologie, sondern auch in der Endodontie, zur Erforschung von Schmelz- und Dentinadhäsiven und zum Erlernen von Präparationstechniken in Studentenkursen verwendet. Die Herkunft der menschlichen Zähne ist in der Regel nicht nachvollziehbar, denn es ist notwendig, in mehreren Praxen bzw. Kliniken gleichzeitig zu sammeln, um genügend Zahnmaterial in einem adäquaten Zeitraum zu erhalten.

Dies bringt hygienische Probleme mit sich. Nach der Extraktion weisen Zähne häufig blutige Gewebereste an der Wurzeloberfläche auf, die einen Nährboden für potentiell pathogene Mikroorganismen darstellen und deren Vermehrung fördern. In der Literatur ist beschrieben, dass pathogene Erreger bei Raumtemperatur unterschiedlich lang überleben. Das Hepatitis-A-Virus beispielsweise kann außerhalb des Wirts mehrere Monate, das Hepatitis-B-Virus mehrere Wochen existieren. Dem Tuberkuloseerreger wurde eine Überlebensdauer von Tagen bis Wochen bescheinigt [MILLER und PALENIK 1980].

Auch während der Gewinnung der Zahnproben besteht Infektionsgefahr. Das Separieren mittels einer Trennscheibe oder einer Bandsäge unter ausreichender Wasserkühlung führt zu einer starken Aerosolbildung. Daher wurden in der Literatur Schutzmaßnahmen beschrieben. So wurde empfohlen, bei diesen vorbereitenden Arbeiten Mundschutz, Handschuhe und Schutzbrille zu tragen [SCHULEIN 1994]. Der Mundschutz allein bietet jedoch nicht den erwarteten Schutz gegen durch die Luft übertragene Krankheitserreger [LEE *et al.* 2008]. Problematisch ist auch die Fixierung der feuchten Zähne für eine exakte Probengewinnung. Die Gefahr, sich versehentlich eine Schnittverletzung mit Trennscheiben oder anderen rotierenden Instrumenten zuzuziehen, ist mehr oder weniger ständig gegeben. Eine deutliche Keimreduzierung an

dem Versuchsmaterial wäre deshalb schon während der Sammelperiode erstrebenswert, um das Infektionsrisiko zu minimieren.

Dabei stellt sich die Frage, ob die langfristige Aufbewahrung in einem Desinfektionsmittel wie Alkohol, Formalin, Wasserstoffperoxid oder Thymol eine Veränderung oder Beeinflussung der Zahnhartsubstanz zur Folge hat, die sich auf das Ergebnis der nachfolgenden In-vitro- oder In-situ-Versuche auswirkt. Vorherige strukturelle Veränderungen der Zahnhartsubstanz durch Lagerungsmedien könnten beispielsweise in kariologischen Studien die künstlich induzierten/remineralisierten Kariesläsionen in Bezug auf Läsionstiefe und Mineralverlust beeinflussen. Obwohl in der Literatur mehrere Möglichkeiten der Lagerung von Zähnen beschrieben werden [AMAECHEI *et al.* 1998, LOPES *et al.* 2002], scheint ein einheitliches Lagerungsverfahren jedoch nicht zu existieren. Somit stellt sich konkret die Frage, ob die unterschiedlichen Praktiken (Lagerungsmedien) einen Einfluss auf die De- oder Remineralisation haben können und in welchem Lagerungsmedium die gewonnenen, humanen bzw. bovinen Zähne während der Sammelperiode gelagert werden können.

Neben den unterschiedlichen Lagerungsmedien wird auch die Vorbereitung des Zahnmaterials für den jeweiligen Versuchsaufbau in der Kariologie unterschiedlich beschrieben. Vor allem die Planpolitur von Zahnoberflächen ist bei den Versuchsaufbauten ein gängiges Prozedere. Fraglich ist, inwieweit diese Verarbeitung der Proben die In-vitro-De- und -Re-mineralisation des Schmelzes beeinflusst.

2 Literaturübersicht

2.1 Entwicklung und Zusammensetzung von humanem Schmelz

Zahnschmelz ist nach seiner Ausreifung die härteste und am stärksten mineralisierte Substanz des menschlichen Organismus [SCHROEDER 2000]. Er wird in drei Phasen in Zellen ektodermalen Ursprungs, den Ameloblasten, gebildet: (1) Sekretion der Schmelzmatrix, (2) präeruptive und (3) posteruptive Schmelzreifung.

Die von den Ameloblasten sezernierte Schmelzmatrix besteht größtenteils aus Proteinen, 1-2 % Kohlenhydraten und Lipiden. Die initial mineralisierte Schmelzmatrix wird durch die präeruptive Schmelzreifung in ein kristallines Gefüge überführt, welches hauptsächlich aus Hydroxylapatit besteht. Dies erfolgt unter anderem durch Wachstum der Schmelzkristalle und durch eine Verdichtung und Erhärtung der Matrix [SCHROEDER 2000].

Anfängliche Fehlstellen und Porositäten in der Gitterstruktur werden durch Aufnahme von Mineralien (Kalzium, Phosphat und Fluorid) aus dem Speichel, durch Nahrung und lokale Fluoridierungsmaßnahmen nach dem Zahndurchbruch zum großen Teil korrigiert. Durch diesen Prozess der posteruptiven Schmelzreifung werden die Apatitkristalle widerstandsfähiger gegen Säureangriffe [DRIESENS 1982].

Humaner Zahnschmelz weist eine durchschnittliche Härte von 350-390 KHN an seiner Oberfläche und von 250 KHN an der Schmelz-Dentin-Grenze auf. Diese Härteabnahme korreliert mit der allgemeinen Abnahme der Mineraldichte von der Oberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze [ROBINSON *et al.* 1981].

Humaner Zahnschmelz besteht aus den drei Komponenten anorganische Matrix, Wasser und organische Matrix. Der Zahnschmelz hat einen hohen anorganischen Anteil, der im Bereich von 93 bis 98 Gewichtsprozent (Gew.%) liegt. Die Hauptkomponenten des kristallinen Anteils des Schmelzes sind Kalzium, Phosphor, Karbonat, Magnesium und Natrium. In den Apatitverbindungen liegt Kalzium zu Phosphor im Verhältnis von 1,8 und 2,4 vor [SCHROEDER 2000]. Hauptsächlich kommen im Zahnschmelz Hydroxylapatitverbindungen vor, die jedoch durch interne Substitutionsreaktionen der Hydroxylgruppen zur Bildung von Fluorapatit und

fluoridiertem Apatit mit stabilerer Kristallgitterstruktur führen können. Außerdem enthält der Zahnschmelz auch eine Reihe von Spurenelementen [SCHROEDER 2000].

Wasser ist die zweitgrößte Komponente des Schmelzes mit einem Anteil von 4 Gew.%. Drei Viertel des Wassers ist kristallin als Hydratationsschale gebunden, der Rest befindet sich in der organischen Matrix. Diese organische Matrix ist die kleinste Komponente des Schmelzes (1 Gew.%) und sie besteht aus Proteinen (58 %), Lipiden (40 %), Spuren von Kohlenhydraten, Zitrat und Laktat [SCHROEDER 2000, HELLWIG *et al.* 2003a].

Histologisch zeigt der Schmelz im Querschnitt hexagonale Apatitkristalle, wobei etwa hundert Schmelzkristalle ein Schmelzprisma bilden. Die Schmelzprismen verlaufen in horizontaler und vertikaler Richtung wellenförmig, sie reichen von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Schmelzoberfläche. Dabei verlaufen die Kristalle im Prismenkern parallel zur Längsachse des entsprechenden Prismas, wobei sie im Randbereich immer mehr auffächern. Zwischen den Prismen befindet sich die interprismatische Substanz, in der die Apatitkristalle ungeordnet liegen [PILZ 1985].

Die Konzentration der unterschiedlichen Mineralien schwankt von der Oberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze stark. So fällt die Konzentration von Kalzium, Fluorid, Chlorid, Eisen und Zinn von der Schmelzoberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze ab, wobei die Konzentration von Wasser, Karbonat, Magnesium und Natrium in derselben Richtung zunimmt [HELLWIG *et al.* 2003a]. In der obersten, circa 50 µm dicken Schmelzschicht befindet sich etwa 20fach mehr Fluorid als in tiefer gelegenen Schichten [SCHROEDER 2000]. Diese unterschiedlichen Konzentrationen haben einen Einfluss auf die Progression der Karies [ARENDS *et al.* 1983].

2.2 Grundlagen der Kariesentstehung

In einer der ersten modernen Kariestheorien stand der rein chemische Prozess im Mittelpunkt [KLIMM 1997a]. Von diesem Prozess beeinflusst, fügte W. D. Miller 1889 in seinem Werk „Die Mikroorganismen der Mundhöhle“ die parasitäre Komponente hinzu. Sein Werk gilt bis heute als Fundament der modernen Kariestheorien [MILLER 1889]. Die in diesem Werk beschriebene, Karies verursachende Mikroflora wurde später durch die weiteren primären Kariesfaktoren Wirt (Zähne) und Substrat (Nahrung) ergänzt [KEYES 1962]. Vervollständigt wurde die bis heute allgemein gültige Tetrade der

Kariesentstehung mit dem wichtigen Faktor Zeit [KÖNIG 1971], der das Alter der Plaque, die Retentionszeit des potentiell kariogenen Substrats und die Häufigkeit der Substratzufuhr beinhaltet. Das Zusammenwirken dieser vier Faktoren führt in der Schnittmenge zur Kariesentstehung (Abbildung 1).

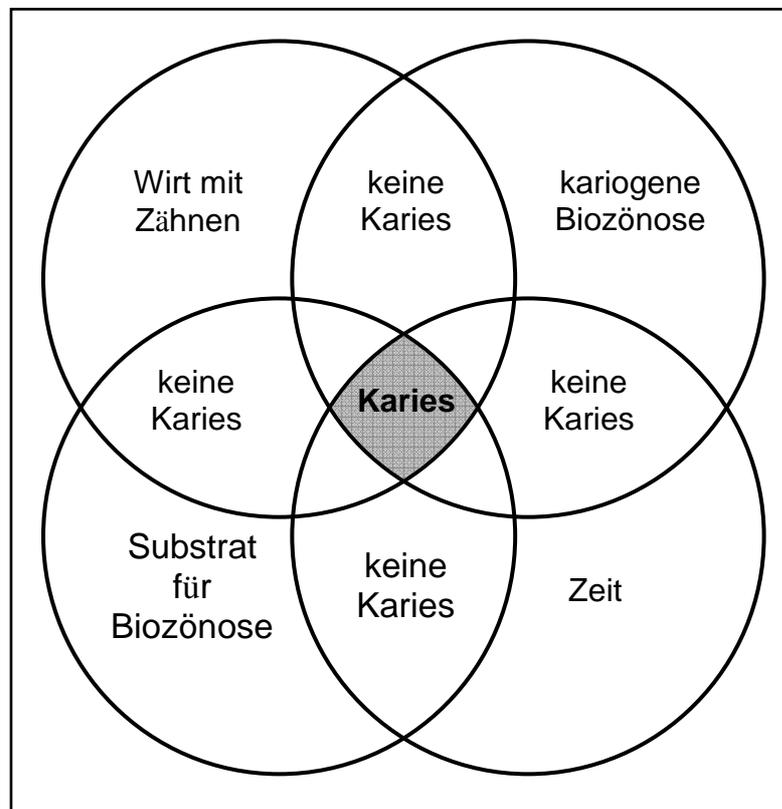


Abb. 1: Tetrade der Kariesätiologie [KLIMM 1997a].

Häufige Zufuhr von kariogener Nahrung führt zu einem Überwiegen säuretoleranter und säurebildender Mikroorganismen in der Plaque. Diese Dysbakterie wird durch eine Vielzahl von Faktoren, wie beispielsweise eine reduzierte Abwehrleistung des Speichels oder schlechte Mundhygiene, verstärkt. Niedermolekulare Kohlenhydrate werden durch Plaquemikroorganismen zur Energiegewinnung unter Bildung von Säuren abgebaut. Die Folge ist ein Abfall des pH-Wertes unter den für Schmelz kritischen Wert von 5,5. Durch die hohe Konzentration von Wasserstoffionen werden PO_4^{3-} -Ionen und OH^- Ionen aus dem Schmelzgefüge gelöst.

2.3 Struktur der Schmelzläsion

Als initiale kariöse Läsionen bezeichnet man auf den Schmelz begrenzte kariöse Frühläsionen, die noch nicht zu einer Kavitation geführt haben. Ausgelöst werden die initialen Schmelzläsionen durch ein Überwiegen der Demineralisation. Histopathologisch stellt die initiale Glattflächenkaries zumeist einen anfangs flachen, später steilen Kegel dar, dessen Grundfläche auf der Schmelzoberfläche steht und dessen Spitze dentinwärts gerichtet ist [DRIESENS 1982]. Lokalisiert sind diese sich makroskopisch als kreidige Flecken (white spot lesions) darstellenden Areale an habituell unsauberen Zonen (Grübchen, Approximalraum, Fissuren und Gingivasulkus). Von der Schmelzoberfläche zur Dentinschicht lassen sich durch polarisationsmikroskopische Untersuchungen vier unterschiedliche Zonen der Schmelzkaries betrachten [SILVERSTONE *et al.* 1988].

Oberflächenzone:

Eine Initialkaries weist eine etwa 30 µm dicke Oberflächenschicht auf [KLIMM 1997b]. Die pseudointakte Oberfläche hat einen Mineralverlust von 1-10 %. In der Oberflächenschicht befinden sich kleine bis mittelgroße Poren, deren Volumen kleiner ist als 5 %. Für die Oberflächenzone ist eine negative Doppelbrechung charakteristisch [HELLWIG *et al.* 2003b].

Die Bildung der pseudointakten Oberflächenschicht wird durch die Ionenkonzentration in der Plaque gefördert. In Folge eines pH-Wertabfalls in der Plaque dringen Wasserstoffionen interprismatisch in den Schmelz ein und es kommt zum Ausstrom von Mineralien. Durch die Ionenkonzentration in der Plaque verlangsamt sich der Ausstrom zur Schmelzoberfläche bis hin zur Ausfällung an der Oberfläche, wodurch die Oberfläche der Schmelzläsion in diesem initialen Stadium erhalten wird [ARENDS und CHRISTOFFERSEN 1986, KLIMM 1997b]. Nach Wegfall des kariogenen Substrates steigt der pH-Wert in der Plaque, und über Remineralisationsprozesse werden zusätzlich Mineralien aus der Plaque in die Oberflächenschicht eingelagert. Diese Repräzipitations- und Remineralisationsvorgänge sind für die Bildung von großen Kristallen verantwortlich, die in der Oberflächenschicht unter dem Elektronenmikroskop zu sehen sind.

Zentrum der Läsion:

Charakteristisch für die Initialkaries des Schmelzes ist eine Demineralisation; die stärkste Entkalkung findet unter der pseudointakten Oberflächenschicht im Zentrum der Läsion (Läsionskörper) statt [KLIMM 1997b]. In dieser Zone wird der größte Mineralverlust (durchschnittlicher Mineralverlust 25-60 %) beobachtet. Das Porenvolumen beträgt im Zentrum 25 % und an der Peripherie 5 % [KLIMM 1997b]. Das große Porenkaliber ermöglicht Speichelbestandteilen wie Wasser und Proteinen, durch diese Poren in das Zentrum der Läsion vorzudringen [HELLWIG *et al.* 2003b]. Hier werden auch Mikroorganismen nachgewiesen [KLIMM 1997b]. Im Läsionskörper können die Querstreifung der Prismen und die Retzius-Streifen unter dem Mikroskop deutlicher beobachtet werden. Im Zentrum der Läsion erfolgt eine positive Doppelbrechung [HELLWIG *et al.* 2003b].

Dunkle Zone:

Die dunkle Zone hat eine kegelförmige Gestalt und ist unterschiedlich dick [KLIMM 1997b]. Charakteristisch für diese Zone sind kleinere Poren als die der transluzenten Zone. Ursache hierfür sind Remineralisationsvorgänge an den Apatitkristallen [HELLWIG *et al.* 2003b]. Aufgrund des Mineralverlustes, der in dieser Zone bei 6 % [HALLSWORTH *et al.* 1972] liegt, beträgt das Porenvolumen etwa 2-4 % [SILVERSTONE *et al.* 1988]. Die dunkle Zone weist eine positive Doppelbrechung auf [KLIMM 1997b].

Lichtdurchlässige (transluzente) Zone:

In dieser etwa 100 µm dicken, dentinwärts liegenden Schicht findet die fortschreitende Demineralisation statt [KLIMM 1997b, HELLWIG *et al.* 2003b]. In der lichtdurchlässigen Zone befindet sich eine höhere Porosität als im gesunden Schmelz. Das Porenvolumen beträgt etwa 1 %. Im Gegensatz dazu besitzt gesunder Schmelz ein Porenvolumen von nur 0,1 % [SILVERSTONE *et al.* 1988]. Die transluzente Zone zeigt eine negative Doppelbrechung.

2.4 Mechanismen der Remineralisation

Die Progression der initialen Karies kann durch Remineralisation aufgehalten werden, jedoch nur bei Läsionen, die lediglich auf den Schmelz beschränkt sind und noch nicht zu einer Kavitation geführt haben [DRIESENS 1982]. Voraussetzung für diese

Mineraleinlagerung in den Läsionen ist die Veränderung des pH-Wertes. Eine Erhöhung des pH-Wertes, z. B. durch stimulierten Speichelfluss (pH-Wert 7,0-7,5) oder durch mechanische Entfernung der Plaque, hat zur Folge, dass es zur Remineralisation kommt. Dabei dient der Speichel, der mit Hydroxylapatit bzw. Fluorapatit gesättigt ist, als Quelle für Mineralien, welche in die Schmelzläsion eingelagert werden [HELLWIG *et al.* 2003c].

2.5 In-vitro-Kariesversuche

Die Simulation kariogener Prozesse im Reagenzglas erfolgt an kariesfreien Schmelzproben, die in Kunststoff eingebettet und plan poliert werden. Der Vorteil dieser Standardisierung der Schmelzoberflächen durch eine Planpolitur, die bei der künstlichen Karieserzeugung regelmäßig angewandt wird [FEATHERSTONE *et al.* 1983, BERGSTROM *et al.* 1984, KIELBASSA *et al.* 2005a], besteht unter anderem darin, dass die Bestimmung der Läsionstiefe leichter und eindeutiger durch die Kontaktradiographie erfolgen kann.

Die plan polierten Schmelzproben werden zunächst demineralisiert, wobei man chemische und bakterielle Verfahren unterscheidet. Angestrebt wird eine schmelzbegrenzte Läsionstiefe. Diese im Reagenzglas künstlich erzeugte Initialläsion weist unter dem Mikroskop ähnliche Charakteristika auf wie das klinische Bild einer im Munde entstandenen Karies [FEATHERSTONE *et al.* 1978].

Die erzeugten Läsionen werden in kariologischen Studien genutzt, um z. B. Kenntnisse über das Remineralisationspotential von unterschiedlichen Zahnpasten oder Spüllösungen zu gewinnen. In welcher Weise auch der Versuchsaufbau in einer Studie konzipiert ist, ist die Nachahmung der Remineralisation im Reagenzglas als kritisch zu betrachten; Faktoren und Prozesse wie Speichel, Konzentration, Diffusion und Ionenaktivität können nicht adäquat in In-vitro-Versuchen nachgeahmt werden. *In vivo* schwanken auf komplexe Weise ständig alle Faktoren, *in vitro* jedoch sind sie alle konstant oder unterliegen vorher festgelegten Algorithmen [FEATHERSTONE *et al.* 1988]; weshalb die Remineralisation *in vitro* leichter zu erreichen ist [KOULOURIDES *et al.* 1961]. Die natürliche Remineralisation im Mund dauert – sofern sie überhaupt zu beobachten ist – Wochen bis Monate [BACKER-DIRKS 1966, VON DER FEHR 1970]. Daher dürfen In-

vitro- und In-vivo-Versuche zur Remineralisation nur mit Vorsicht auf die klinische Situation übertragen werden [KÖNIG 1987].

2.6 Lagerungsmedien und deren Desinfektionswirkung

2.6.1 Allgemeines

Unter Desinfektion versteht man die gezielte Reduktion der Anzahl aktiver Mikroorganismen durch chemische oder physikalische Inaktivierung, so dass sie unter gegebenen Umständen keinen Schaden mehr verursachen können. Die Desinfektion soll bewirken, dass ein Gegenstand nicht mehr infizieren kann. Desinfektionsmittel werden in der Regel zur Keimreduktion auf Oberflächen in medizinischen Einrichtungen eingesetzt mit dem Ziel, Infektionskrankheiten zu verhindern [ROTTER und KOLLER 2001].

Viele antimikrobielle Substanzen sind schon seit Jahrhunderten im Einsatz und verfügen teilweise über ein großes Wirkungsspektrum, wobei die Angriffspunkte im Gegensatz zu Antibiotika vielfältig sind. Die meisten antimikrobiellen Substanzen wirken dabei im Innern der Zelle [MCDONNELL und RUSSELL 1999].

Zur Desinfektion der Zähne werden vorwiegend chemische Substanzen (z. B. Formalin, Alkohol, Thymol, Chloramin, Peroxide) eingesetzt. Diese Substanzen werden in unterschiedlichen Konzentrationen als Lagerungsmedium verwendet und sollten vielen Anforderungen genügen [PAGNIANO *et al.* 1985]. Um das Sammeln der Zähne bzw. die Präparation von Schmelz- und Dentinproben unter hygienischen Gesichtspunkten durchzuführen, spielen das Wirkungsspektrum, die Stabilität und die Wirkungsweise bei der Auswahl eines geeigneten Lagerungsmediums eine entscheidende Rolle. Erwünscht wäre eine Inaktivierung aller krankheitserregenden Keime, um die Infektionskette zu unterbrechen. Um dies zu erreichen, sollte das Lagerungsmedium wirksam sein gegen grampositive und gramnegative Bakterien, Hefen, Schimmelpilze und Viren [WALLHÄUßER 1988].

Eine weitere Anforderung an das Lagerungsmedium besteht darin, keinen Einfluss auf die De- und Remineralisation zu haben. Zähne, die in Versuchen zur Kariologie Verwendung finden, dürfen in ihrer Struktur nicht durch das Lagerungsmedium verändert werden. Amaechi *et al.* untersuchten den Einfluss der kurzzeitigen

Lagerung in Desinfektionslösungen und den Einfluss verschiedener Sterilisationsmethoden auf künstlich erzeugte Kariesläsionen [AMAECHE *et al.* 1998]. Rinderfrontzähne wurden in Schmelzsegmente geteilt und für 24 Stunden in 12 %igem Natriumhypochlorit (NaOCl) oder Povidone-Jod (7,5 %) gelagert. Gleichzeitig wurden weitere Schmelzsegmente mittels Gammastrahlen (25 kGy) oder Autoklavierung (121 °C für 15 Minuten) sterilisiert. Im Anschluss wurden die Proben optisch begutachtet, dabei stellten die Autoren auf der Oberfläche des Schmelzes optisch sichtbare Veränderungen fest. Gammabestrahlung bewirkte eine cremefarbene Entfärbung, die Lagerung in NaOCl führte zu einer Bleichung, Povidone-Jod verursachte klar erkennbare Veränderungen, welche im Erscheinungsbild einer initialen Kariesläsion (white spot lesion) ähnelten. Bei allen Schmelzproben wurde dann durch eine Säurepufferlösung (pH 4,5) eine künstliche Karies induziert, die mit Kontaktradiographie ausgewertet wurde. Dabei zeigten sich nach Sterilisation zwischen den unterschiedlichen Gruppen und der unbehandelten Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der untersuchten Parameter Läsionstiefe und Mineralverlust; bei den mit Gammastrahlen behandelten Schmelzproben dagegen lagen die Werte für Läsionstiefe und Mineralverlust geringfügig unter denen der Kontrollgruppe.

2.6.2 Physiologische Kochsalzlösung

Eine physiologische Kochsalzlösung (NaCl-Lösung) ist eine Lösung von 0,9 %igem Kochsalz (Natriumchlorid) in Wasser. Sie wird auch als plasmaitonische bzw. isotonische Lösung bezeichnet, da ihr osmotischer Druck dem des Blutplasmas (7,5 bar) entspricht [HILDEBRANDT 1998]. Die physiologische Kochsalzlösung hat kein antimikrobielles Wirkungsspektrum. Einen Anwendungsbereich findet die Lösung aufgrund ihrer plasmaitonischen Konzentration in der Herstellung von Injektions- und Dialysatlösungen. In der Notfallmedizin wird sie als kurzfristiger Volumenersatz in Form einer sterilen Infusionslösung intravenös verwendet. Darüber hinaus wurde in zahlreichen Studien im zahnmedizinischen Bereich physiologische Kochsalzlösung als Lagerungsmedium für extrahierte Zähne genannt [CAUSTON und JOHNSON 1979, PASHLEY *et al.* 1984, AQUILINO *et al.* 1987].

Allerdings finden sich in verschiedenen Publikationen Hinweise, dass physiologische Kochsalzlösung als Lagerungsmedium einen Einfluss auf die Zahnhartsubstanz haben könnte. In zwei Studien beobachtete man Veränderungen bezüglich

der Härte des Zahnschmelzes. Hierbei wurden Unterschiede hinsichtlich der Knoop-härte von Schmelzproben festgestellt, welche in physiologischer Kochsalzlösung oder in destilliertem Wasser bzw. Chloridlösungen gelagert wurden. Den größten Verlust an Oberflächenhärte ermittelten die Autoren bei Schmelz, der in physiologischer Kochsalzlösung gelagert worden war. Der Einfluss von destilliertem Wasser war hingegen geringer [MÜHLEMANN 1964, RUEGGERBERG 1991].

Neben der Härte des Schmelzes wurde in einer weiteren Studie der elektrische Widerstand als Kriterium für eine Veränderung der Schmelzoberfläche herangezogen. Es wurde ein Zusammenhang zwischen der Elektrolytkonzentration von NaCl-Lösung und dem elektrischen Widerstand von kariesfreien Schmelz-Dentin-Zylindern festgestellt. Je höher die Elektrolytkonzentration (destilliertes Wasser, 0,16 mM NaCl, 1,6 mM NaCl, 16 mM NaCl, 160 mM NaCl) der Lagerungslösung war, desto (signifikant) geringer war der elektrische Widerstand [SCHULTE *et al.* 1998].

2.6.3 Alkohol

Alkohol ist eine klare, farblose und schnell flüchtige Flüssigkeit [WALLHÄUSER 1988]. Vorwiegend Verwendung finden die Alkohole (Ethanol, Propanol und Isopropanol) in der Flächen- und in der Händedesinfizierung. Für diesen Zweck müssen sie mit Wasser verdünnt werden, um ihr Wirkungsspektrum entfalten zu können. Die Wirkungsweise des Alkohols ist stark von der jeweiligen Konzentration abhängig. Das Wirkoptimum liegt, je nach Alkoholverbindung, bei einer Konzentration von 60-90 %. Eine Reduzierung der Keimzahlen von mehr als sechs Zehnerpotenzen wird beispielsweise bei der Verwendung von 70 %igem Ethanol erreicht. Andere Einflussgrößen auf die bakterizide Wirkung des Alkohols sind die Temperatur, die Kettenlänge und die Einwirkungszeit [WALLHÄUSER 1988]. Die Strukturformel von Isopropanol (eines häufig zu Desinfektionszwecken eingesetzten Alkohols) ist in Abbildung 2 dargestellt.

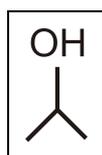


Abb. 2: Isopropanol [LUTZ-DETTINGER und STEUER 1976].

Der Wirkungsmechanismus des Alkohols auf Mikroorganismen ist nicht bis ins letzte Detail geklärt. In der Literatur wird beschrieben, dass in Verbindung mit Wasser Alkohol als erstes zu einer Zerstörung der Zellwand führt. Intrazellulär werden Proteine schnell denaturiert und der Metabolismus der Mikroorganismen beeinflusst, was schließlich mit der Zellyse endet [McDONNELL und RUSSELL 1999].

Das Wirkungsspektrum der Alkohole umfasst Bakterien und Pilze, dabei insbesondere gramnegative Mikroorganismen. Grampositive Mikroorganismen sind unempfindlicher, wobei Staphylokokken weniger empfindlich sind als Streptokokken. Das Wirkungspotential gegenüber Viren ist eingeschränkt, beispielsweise zeigt das Hepatitisvirus eine Resistenz gegen Alkohole. Außerdem besteht eine Wirkungslücke gegenüber Bakteriensporen, Alkohole können sogar diese enthalten [WALLHÄUßER 1988, ROTTER und KOLLER 2001]. Pagniano et al. (1985) untersuchten vor diesem Hintergrund die desinfizierende Wirkung von Alkohol als Lagerungsmedium für Zähne. Dazu wurde die mikrobielle Zusammensetzung des bei der wassergekühlten Verarbeitung von in Alkohol gelagerten Zähnen auftretenden Aerosols untersucht und festgestellt, dass, obwohl die Zähne in Alkohol gelagert worden waren, potentiell pathogene Mikroorganismen wie Klebsiella, Enterobacter, Pseudomonas, Shigella Salmonella und Proteus im Aerosol nachgewiesen werden konnten. Die Autoren zweifelten deshalb an der Effektivität des Desinfektionsmediums Alkohol, gaben aber keine Auskunft über die verwendete Konzentration und die Einwirkungszeit [PAGNIANO et al. 1985].

Zum Einfluss von Alkohol auf Schmelz wurden keine Untersuchungen gefunden, es liegen aber Studien über den Einfluss von 70 %igem Ethanol auf Dentin vor. Untersucht wurden die Dentinpermeabilität und die Bondinghaftkraft an das Dentin. Während es bei Dentin, das in Wasser oder phosphatgepufferter Kochsalzlösung gelagert wurde, mit der Zeit zu einer stetigen Permeabilitätszunahme kam, zeigten in Ethanol und Formalin gelagerte Zähne mit der Zeit geringere Veränderungen der Permeabilität und die geringste Streuung der erhobenen Werte. Die stabilen Werte dieser zwei Gruppen wurden auf die fixativen Eigenschaften der Lösungen auf die Proteine des Dentins zurückgeführt. Die Autoren vermuteten, dass Ethanol durch Wasserverdrängung eine gerinnende Wirkung auf Proteine hatte, indem es Hydrogenbindungen brach. Die Tatsache, dass das gesamte Dentin innerhalb einer

gewissen Zeit von Ethanol durchdrungen wurde, erklärte den Autoren zufolge den beobachteten initialen Anstieg der Permeabilitätswerte, die sich dann stabilisierten [GOODIS *et al.* 1991, GOODIS *et al.* 1993].

Ähnliches wurde in einer weiteren Studie beobachtet, in der die Lagerung von humanem demineralisiertem Dentin in Ethanol oder Glutaraldehyd, bzw. an der Luft zu einer Dehydratation führte, die in einer Zunahme der Festigkeit der Dentinmatrix resultierte [MACIEL *et al.* 1996]. Dieses Phänomen war aber durch eine Rehydratation mittels Wasser reversibel, wobei dies nicht auf Proben, die in Glutaraldehyd gelagert worden waren, zutraf.

2.6.4 Formalin

Formalin stellt eine Lösung von Formaldehyd in Wasser dar. NaCl-Lösung Formaldehyd ist der Trivialname von Methanal, dem einfachsten Aldehyd, eine bei Zimmertemperatur gasförmige Verbindung, die stechend riecht [ROTTER und KOLLER 2001]. Abbildung 3 zeigt die Strukturformel des Formaldehyds.

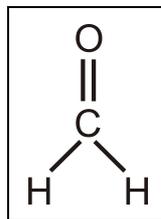


Abb. 3: Formaldehyd [WALLHÄUßER 1988].

Der Wirkungsmechanismus des Formaldehyds beruht auf der Denaturierung von Proteinen (Zellproteine und Nukleinsäuren). Über Alkylierungsreaktionen mit den terminalen Gruppen der Zellproteine entfaltet es seine abtötende Wirkung [ROTTER und KOLLER 2001]. Das Wirkungsspektrum umfasst Bakterien und Viren. Die Wirkungsweise gegen den Hepatitis-B-Virus wird nur unter günstigen Voraussetzungen (hohe Konzentration, lange Einwirkungszeit, erhöhte Temperatur) erreicht [ROTTER und KOLLER 2001]. Bei Viren spielt die Reaktion des Formaldehyds mit den Nukleinsäuren eine größere Rolle als die Reaktion auf die Carboxyl-, Amino- und Hydroxylgruppen der Proteine. Die sporizide Wirkung ist nur durch eine lange Einwirkzeit zu erreichen [WALLHÄUßER 1988].

Der bedeutendste Anwendungsbereich des Formalins ist die Desinfizierung und Konservierung. Durch Erhitzen wird Formalin wieder zu Formaldehyd, was bei der Raumdesinfizierung zur Anwendung kommt. Es konnte auch gezeigt werden, dass solch komplexe Strukturen wie ein extrahierter Zahn durch Formalin desinfiziert werden können. Laut einer Studie, die sich mit der Desinfektion von humanen Zähnen beschäftigte, stellte 10 %iges Formalin in seinem Desinfektionspotential eine Alternative zum Autoklavieren dar; besonders interessant scheint dies für Zähne mit Amalgamfüllungen, da diese bei der Sterilisation durch Autoklaven elementares Quecksilber freisetzen. Bei einer einwöchigen Lagerung in Formalin wurde experimentell eine 80 %ige Hemmung des Bakterienwachstums festgestellt und nach zwei Wochen Lagerung wurde kein Bakterienwachstum mehr nachgewiesen. Die Autoren konnten eine 100 %ige Wachstumshemmung sowohl in der Pulpa als auch auf der Wurzeloberfläche nachweisen [TATE und WHITE 1991].

Die fixierenden Eigenschaften des Formalins werden beispielsweise bei intraoperativ entnommenen Gewebeproben genutzt, welche in Formalin eingelegt bis zur histologischen Untersuchung fixiert werden. Diese Eigenschaft wird auch in der Konservierung von anatomischen Präparaten genutzt [SCHIEBLER und SCHMIDT 1999]. Der fixierende Effekt von Formalin beruht dabei auf der Vernetzung von Proteinen durch Bildung von Methylenbrücken [LEONARDT 1985]. Der fixierende Effekt hat auch einen Einfluss auf die Permeabilität des Dentins. In Formalin gelagerte Zähne zeigten mit der Zeit die geringsten Permeabilitätszunahmen im Gegensatz zu den Zähnen, die in den Lagerungsmedien destilliertes Wasser oder Thymol aufbewahrt worden waren [GOODIS *et al.* 1991].

Die limitierenden Faktoren für den Einsatz von Formalin als Lagerungsmedium sind die allergene und kanzerogene Wirkung, der unangenehme Geruch und der langsame Wirkungseintritt [ROTTER und KOLLER 2001]. Die Faktoren Licht und Zeit fördern die Bildung der Formaldehydpolymere Trioxan und Paraformaldehyd. Mit Hilfe dunkler Lagerungsflaschen und Stabilisatoren (Methanol) kann die Entstehung und Präzipitation dieser schwerlöslichen Stoffe jedoch vermieden werden [ROTTER und KOLLER 2001].

In der Literatur wurde zudem darauf hingewiesen, dass der pH-Wert des Lagerungsmediums Formalin mit der Zeit abnimmt. Der Autor führte es auf die leichte

Oxidation des Formaldehyds zur Ameisensäure zurück und konnte deshalb keine Empfehlung als Lagerungsmedium für Schmelz abgeben [SILVERSTONE 1967].

Weitere Studien, die sich mit Formalin als Aufbewahrungsmedium für Zahnmaterial beschäftigten, konzentrierten sich meist auf die Dentinhaftkraft. Wurden Zähne ein halbes Jahr in 10 %igem Formalin gelagert, wurde im Gegensatz zu Zähnen, die in physiologischer Kochsalzlösung gelagert wurden, eine Verdopplung der Haftkraft von Dentinhaftvermittlern an das Dentin festgestellt [KIMURA *et al.* 1985]. Diese Verdopplung der Haftkraft wurde mit einem anderen Dentinhaftvermittler in einer späteren Studie bestätigt [COOLEY und DODGE 1989]. Eine andere Studie konnte ebenfalls keine Empfehlung für Formalin als Lagerungsmedium geben. Bei Zähnen, die in Formalin gelagert worden waren, fanden sich im Vergleich zu der Kontrollgruppe von frisch extrahierten Zähnen signifikant geringere Randspalten an Klasse-5-Kavitäten. Die Autoren führten diese erhöhten Bondinghaftkraftwerte auf die fixierende Wirkung des Formalins auf die Proteine des Dentins zurück [HALLER *et al.* 1993].

2.6.5 Wasserstoffperoxid

Wasserstoffperoxid (H_2O_2) ist eine farblose, fast geruchlose, flüssige Verbindung aus Wasserstoff und Sauerstoff. Es reagiert schwach sauer und zerfällt durch eine exotherme Reaktion in Anwesenheit von Wärme oder Licht in Wasser und Sauerstoff [WEIGERT 1978]. Wasserstoffperoxid ist sehr instabil und wird in der Regel durch geeignete Zusätze wie zum Beispiel Schwefelsäure, Phosphorsäure oder Natriumdiphosphat stabilisiert. Handelsüblich werden Konzentrationen von 3 %igem und 30 %igem Wasserstoffperoxid angeboten. Die Strukturformel ist in Abbildung 4 dargestellt.

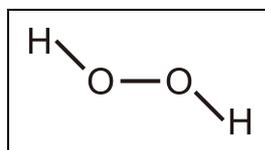


Abb. 4: Wasserstoffperoxid [WALLHÄUßER 1988].

Wasserstoffperoxid fungiert als Oxidationsmittel. Der Sauerstoff ist im Status nascendi bleichend und desinfizierend [NEUMÜLLER 1977]. Es wird durch die im Gewebe vorhandenen Enzyme, die Katalase und Gluthationperoxidase, rasch in Wasser und

Sauerstoff gespalten. Dabei kommt es zur Bildung von freien Hydroxylionen. Angriffspunkt dieser freien Radikale sind Sulfhydryl-Gruppen und Doppelbindungen. Durch diese Radikalbildung wirkt Wasserstoffperoxid als starkes Zellgift an Zellkomponenten wie Fetten, Proteinen und DNA [WALLHÄUßER 1988, McDONNELL und RUSSELL 1999].

In hoher Konzentration verfügt Wasserstoffperoxid bezüglich der Desinfektion über ein breites Wirkungsspektrum. Es zeigt Wirkung gegen Bakterien, Viren, Hefen und Sporen. Grampositive Bakterien werden stärker beeinflusst als gramnegative Bakterien. Der naszierende Sauerstoff zerstört strikt anaerobe Mikroorganismen. In höheren Konzentrationen (10-30 %) und bei einer längeren Einwirkzeit werden Sporen abgetötet [WALLHÄUßER 1988, McDONNELL und RUSSELL 1999, ROTTER und KOLLER 2001].

Anwendung findet Wasserstoffperoxid in der Zahnmedizin bei der Reinigung von Wundflächen und beim Bleichen von Zähnen. Letzteres spielt in der ästhetischen Zahnmedizin eine zunehmende Rolle, da Wasserstoffperoxid neben Karbamidperoxid bei der Bleichtherapie den wichtigsten Wirkstoff darstellt. In einer Studie, die den Einfluss der verschiedenen Bleichmaterialien auf die Mineralzusammensetzung eruierte, wurden Schmelzsegmente für sieben Tage in 30 %igem Wasserstoffperoxid bei einer Temperatur von 37 °C eingelegt. Bei allen Zahnhartsubstanzen, d.h. Schmelz, Dentin und Zement, wurde eine signifikante Abnahme der Kalzium-Phosphat-Relation festgestellt [ROTSTEIN *et al.* 1996]. Weitere Studien ergaben eine signifikante Härteabnahme bei Schmelz (5 min) und bei Dentin (15 min) nach Lagerung in 30 %igem Wasserstoffperoxid [LEWINSTEIN *et al.* 1994]. Auch eine morphologische Veränderung, beeinflusst durch Wasserstoffperoxid, wurde in der Literatur beschrieben. Boviner Schmelz wurde einen, zwei, drei und vier Tage in 30 %iger Wasserstoffperoxidlösung gelagert. Die Schmelzoberfläche, die vier Tage lang der Lösung ausgesetzt war, erschien viel rauer und die Poren waren leichter zu erkennen. Der Abstand zwischen den Schmelzkristallen hatte sich in der Lagerungszeit vergrößert. Zusätzlich konnte unter dem Elektronenmikroskop festgestellt werden, dass die Verteilung der Schmelzkristalle nicht mehr gleichmäßig war [KWON *et al.* 2002].

Neben diesen allgemeinen strukturellen Veränderungen zeigten sich in weiteren In-vitro-Studien auch Auswirkungen hinsichtlich der Bondinghaftkraft. In einer Studie

fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen Zähnen, die in 3 %igem Wasserstoffperoxid und Zähnen, die in Phosphat gepufferten Kochsalzlösungen lagerten, bezüglich der Bondinghaftkraft und des Randspaltes von schmelzbegrenzten Klasse-V-Füllungen. Zähne, die drei Monate lang in Wasserstoffperoxid gelagert worden waren, zeigten dabei eine schlechtere Haftkraft, und die Kunststoffüllungen wiesen häufiger einen zervikalen Randspalt auf [ZISKIND *et al.* 2003]. Eine frühere Studie [TITLEY *et al.* 1993] hatte bereits eine Reduktion der Haftkraft zwischen Kunststoff und bovinem Schmelz durch das Lagerungsmedium Wasserstoffperoxid im Vergleich zur Kontrollgruppe, die in Kochsalzlösung gelagert worden war, aufzeigen können.

2.6.6 Thymol

Thymol ist ein Phenolderivat (Abb. 5) und zeigt das typische Verhalten von Phenolen, es ist in Wasser nur schwer löslich. Thymol ist ein o-Isopropyl-m-cresol [ROTTER und KOLLER 2001]. Es zeichnet sich durch eine stark desinfizierende, fungizide und bakterizide Wirkung aus. Die Wirkungsweise der Phenole und deren Derivate sind je nach Konzentration bakterizid oder bakteriostatisch. Die bakteriostatische Wirkung setzt bei zahlreichen Bakterien bei einer Konzentration von 0,2 % ein. Die bakterizide Wirkung ist bei höheren Konzentrationen und im saueren Milieu stärker. Vorteilhaft ist die schnelle Wirkung auf Bakterien und Pilze, jedoch weist das Wirkungsspektrum einige Lücken auf. Bei vielen Viren besteht eine Wirklücke, Sporen werden nicht abgetötet und Mykobakterien werden erst in höheren Konzentrationen beeinflusst.

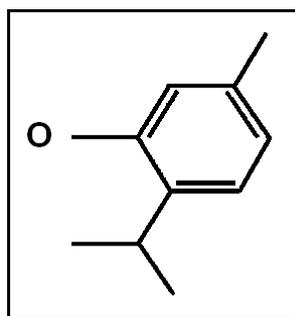


Abb. 5: Thymol [MUTSCHLER 1991].

Der Wirkungsmechanismus beruht auf der Denaturierung von Proteinen. Phenole adsorbieren an die Zelloberfläche, und nach Lösung von Lipoiden dringen sie in die Zelle ein. Im Zellinneren reagieren sie mit Oxidoreduktasen sowie den Enzymen des

Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsels. Darüber hinaus greifen sie an der Zellwand von gramnegativen Bakterien an [WALLHÄUßER 1988]. Thymol ist 30-mal so stark in seiner Wirksamkeit wie Phenol. Es besitzt auch eine stark fungizide Wirkung [MUTSCHLER 1991].

Ein Anwendungsgebiet der Phenole ist die Flächendesinfektion, außerdem finden sie Verwendung als Konservierungsmittel von Injektionspräparaten. Aufgrund seines angenehmen Geschmacks und Geruchs wird Thymol vielen Zahnpasten und Mundspüllösungen beigemischt. Die fungizide Wirkung wird zur Behandlung von lokalen Pilzinfektionen genutzt [MUTSCHLER 1991].

Thymol wurde als Lagerungsmedium für extrahierte Zähne aufgrund seiner desinfizierenden Wirkung mehrfach in der Forschung verwendet [WILLIAMS und SVARE 1985, AQUILINO *et al.* 1987, GOODIS *et al.* 1991, GOODIS *et al.* 1993, HALLER *et al.* 1993, TITLEY *et al.* 1998]. Es wurde dabei physiologischer Kochsalzlösung oder destilliertem Wasser in unterschiedlichen Konzentrationen von 0,001 % - 0,1 % beigemischt.

In einer Studie zum Einfluss der Lagerungszeit auf die Kompositschmelzhaftung wurden ebenfalls in Thymol gelagerte Zähne verwendet. Diese wurden vor den Versuchen jeweils für 5 Jahre, 3 Monate und 24h in einer Lösung von destilliertem Wasser mit Thymolzusatz gelagert, wobei in der Publikation die Thymolkonzentration nicht genannt wurde. Nach Auftragen des Komposits auf vier Flächen des Zahnes wurden die Zähne für eine Woche in derselben Thymollösung zwischengelagert und anschließend die Schmelz-Komposithaftkraft bestimmt. Die Autoren fanden zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Verbindung von Komposit an das Zahnmaterial [WILLIAMS und SVARE 1985].

In einer Publikation, die den Einfluss von Phenolderivaten auf die Polymerisation von Methylmethacrylaten untersuchte, fanden sich signifikante Unterschiede in Bezug auf die Polymerisation mit und ohne den Einfluss von Phenolderivaten. Es zeigte sich, dass Eugenol und Thymol die Polymerisation von Methylmethacrylaten hemmten. Die Phenolderivate fungierten dabei als Radikalfänger und entzogen der Polymerisationsreaktion ihre Radikale. Dabei hemmte Eugenol die Polymerisation stärker als Thymol [FUJISAWA und KADOMA 1992]. Aus diesen Erkenntnissen wurde geschlussfolgert, dass weder Thymol noch Eugenol als Lagerungsmedium für Bonding- bzw. Kompositstudien geeignet sind [DEWALD 1997].

In einer kariologischen Untersuchung [SILVERSTONE 1967] konnten dagegen keine durch Thymol induzierten Veränderungen in der transluzenten und in der dunklen Zone von kariösen Läsionen festgestellt werden. Die Versuchsgruppen waren hierbei Zähne, die in destilliertem Wasser oder einer 1 %igen Thymollösung gelagert wurden.

Insgesamt ist auf Grund der obigen Ausführungen festzuhalten, dass die verschiedenen Lagerungsmedien nicht nur unterschiedliche Potentiale hinsichtlich der Keimreduzierung besitzen, sondern auch teilweise Zahnstrukturen beeinflussen. Die Recherche in der Literatur führte nur zu wenigen relevanten Untersuchungen aus dem kariologischen Bereich, es fanden sich viel mehr Studien aus anderen Gebieten der Zahnmedizin, wie zum Beispiel Bondinghaftstudien, Bleichstudien und Randspaltstudien. Da sich jedoch hier Hinweise über gewisse Einflüsse von diversen Lagerungsmedien auf Zähne ergaben, sollten diese Einflüsse in Bezug auf die kariologischen Fragestellungen unbedingt abgeklärt werden. Der Einfluss der Lagerungsmedien auf artifiziell induzierte Initialkaries war demnach Ziel der vorliegenden Untersuchung.

3 Ziel der Untersuchung

Zur Untersuchung der Ätiologie der Initialkaries und zur Entwicklung neuer Therapieformen wird eine Vielzahl von Zähnen als Studienmaterial benötigt. Potentielle Einflussgrößen auf die Ergebnisse dieser Studien sind schon im Vorfeld der Versuche zahlreich, wie beispielsweise Lagerung der Zähne in unterschiedlichen Medien oder Unterschiede in der Verarbeitung des Zahnmaterials. Die vorliegende Studie stellte sich deshalb die Fragen:

1. Haben unterschiedliche Lagerungsmedien einen Einfluss auf die In-vitro-De- und -Remineralisation?
2. Hat die Planpolitur der Proben einen Einfluss auf die In-vitro-De- und -Remineralisation?

Das Ziel dieser Studie bestand darin, die Einflussgrößen „Lagerungsmedien“ und „Planpolitur“ auf die Läsionstiefe und den Mineralverlust bei der De- und Remineralisation von künstlich hergestellter Schmelzkaries zu untersuchen. Bezüglich der Einflussgröße „Lagerungsmedium“ wurde als Nullhypothese angenommen, dass die Lagerungsmedien keinen Einfluss auf die De- und Remineralisation haben. Als Arbeitshypothese wurde angenommen, dass Lagerungsmedien einen hemmenden Einfluss haben könnten. Hinsichtlich der Planpolitur diente als Nullhypothese, dass die Lagerung der Zähne in desinfizierenden Lösungen keinen Einfluss auf die De- und Remineralisation hat. In der Arbeitshypothese wurde angenommen, dass durch den Abtrag der stark mineralisierten Oberflächenschicht die De- und Remineralisation in den tieferen und weniger mineralisierten Schichten schneller voranschreiten könnte.

4 Material und Methode

4.1 Genereller Versuchsaufbau

Um den Einfluss der Lagerungsmedien und der Planpolitur auf die artifiziell hergestellte Karies zu untersuchen, wurden zwei Versuche durchgeführt. Dem ersten Versuch lagen Zähne boviner Herkunft, dem zweiten Zähne humaner Herkunft zugrunde. In beiden Versuchen wurden die Zähne auf unterschiedliche Lagerungsmedien verteilt und über mehrere Monate gelagert. Tabelle 1 fasst die verwendeten Lagerungsmedien aus den Versuchen 1 und 2 zusammen. Die gewonnenen Schmelzproben wurden demineralisiert und die humanen anschließend auch remineralisiert. Zur Auswertung wurde die Kontaktmikroradiographie herangezogen.

Tab. 1: Zusammenfassung der verwendeten Lösungen in Versuch 1 und 2

Gruppen	Konzentration	Versuch 1	Versuch 2
Kochsalzlösung	0,9 %	verwendet	Kontrolle
Formalin	10 % neutral gepuffert	verwendet	verwendet
Wasserstoffperoxid	3 %	verwendet	verwendet
Thymol	0,1 %	verwendet	verwendet
Isopropylalkohol	70 %	verwendet	nicht verwendet
Frisch extrahiert	---	Kontrolle	nicht verwendet

4.2 Lagerungsbedingungen

4.2.1 Versuch 1

Neunzig frisch extrahierte und vorsichtig gesäuberte Rinderschneidezähne (vom Tierarzt freigegeben) wurden in fünf Gruppen nach dem Zufallsprinzip aufgeteilt und gleich nach der Extraktion in fünf verschiedenen Lösungen gelagert (1. Kochsalzlösung 0,9 %; Delta-Pharma, Pfullingen, Deutschland; 2. Formalin Lösung 10 % neutral

gepuffert Accustain; Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland; 3. Isopropylalkohol 70 %; Apotheke des Universitätsklinikums Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland; 4. Wasserstoffperoxid Lösung 3 %; Herbeta Arzneimittel, Berlin, Deutschland; 5. Thymol 0,1 %; Apotheke des Universitätsklinikums Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland). Die Reinigung der Zähne erfolgte mit Raspatorium (Williger; Stoma, Emmingen-Liptingen, Deutschland) und Kürette (Gracey GR7-8; Stoma, Emmingen-Liptingen, Deutschland). Die Zähne wurden bei Raumtemperatur für zehn Monate in den unterschiedlichen Medien gelagert. Die Erneuerung der Lagerungsmedien erfolgte in monatlichen Abständen. Nach Ablauf der zehnmonatigen Lagerungszeit wurde zusätzlich noch eine Kontrollgruppe aus 18 frisch extrahierten Rinderschneidezähnen (post mortem) gewonnen. Diese Schmelzproben wurden unmittelbar nach der Extraktion verarbeitet. In Abbildung 6 ist der Versuchsablauf von Versuch 1 dargestellt.

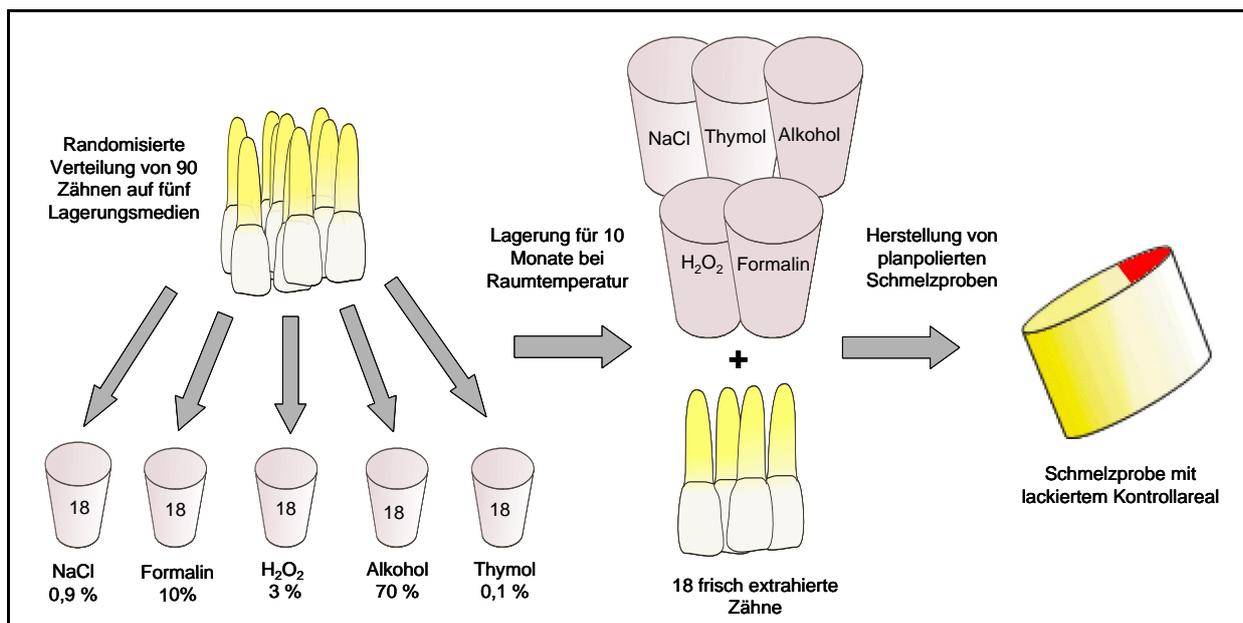


Abb. 6: Grafische Darstellung der Lagerung der Versuchsrinderzähne.

4.2.2 Versuch 2

Für die zweite Studie wurden 320 humane Zähne verwendet. Die Sammelperiode erstreckte sich über einen Zeitraum von fünf Monaten, wobei dreißig verschiedene Zahnarztpraxen eingeschlossen waren. Kariesfreie Front- und

Seitenzähne (nicht impaktiert) wurden nach Extraktion randomisiert auf fünf Lagerungsmedien aufgeteilt (1. Kochsalzlösung 0,9 %; Delta-Pharma; 2. Formalin-Lösung 10 % neutral gepuffert Accustain; Sigma-Aldrich; 3. Wasserstoffperoxid-Lösung 3 %; Herbeta Arzneimittel; 4. Thymol 0,1 %; Apotheke des Universitätsklinikums Charité - Universitätsmedizin Berlin). Die Zahnärzte und deren Personal waren gebeten worden, ein Austrocknen der Zähne zu vermeiden, indem die Zähne unmittelbar nach der Extraktion in das Lagerungsmedium gelegt wurden. Um Verwechslungen zu unterbinden, wurde den Zahnärzten jeweils nur eine Aufbewahrungsflasche mit einem Lagerungsmedium zur Verfügung gestellt. Monatlich wurden die gesammelten Zähne von den Praxen abgeholt und neue Flaschen mit frischen Lagerungsmedien verteilt.

Nach der Sammelperiode wurden die Zähne vorsichtig mit einem Raspatorium (Raspatorium Williger; Stoma, Emmingen-Liptingen, Deutschland) und einer Kürette (Gracey-Kürette; Stoma, Emmingen-Liptingen, Deutschland) vom parodontalen Gewebe befreit. Zähne mit nicht intakter bukkaler Fläche oder Zahnmaterial mit Hypomineralisation wurden im Vorfeld verworfen. Zähne mit Tetrazyklinverfärbungen wurden ebenso von der Studie ausgeschlossen. Nach der Sammelperiode folgte eine weitere Phase der Lagerung, wobei die Zähne eines Lagerungsmediums in jeweils einem Gefäß bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden. Die Lagerungsmedien wurden monatlich gewechselt. Diese zusätzliche Lagerungsperiode dauerte drei Monate. Zähne, die zu Beginn der Sammelperiode extrahiert wurden, lagen somit acht Monate im Lagerungsmedium; Zähne, die am Ende der Sammelperiode gezogen wurden, lagerten drei Monate in der jeweiligen Lösung.

4.3 Vorbereitung der Schmelzproben

Die Gewinnung und Verarbeitung der Schmelzproben erfolgten für Versuch 1 und 2 nach derselben Methodik. Nach der Lagerungszeit wurde von jedem Zahn aus der bukkalen Schmelzfläche eine Schmelzprobe entnommen. Dazu wurde mit einem Trepanbohrer (Trepanbohrer Innendurchmesser 2,9 mm, Sonderanfertigung; Brasseler, Lemgo, Deutschland) eine ca. 2 bis 3 mm tiefe Rundung in die bukkale Schmelzschicht präpariert. Der Abstand der Entnahmestelle zur Schmelzzementgrenze betrug 2 mm. Mit einer diamantierten Trennscheibe (Trennscheibe Nr.: 9503.900.370; Brasseler,

Lemgo, Deutschland) wurde dann die Schmelzprobe aus dem Zahn getrennt. Die Präparation der zylindrischen Schmelzprobe erfolgte unter ständiger Wasserkühlung.

Die Proben wurden mit der Schmelzoberfläche auf ein doppelseitiges Klebeband (Doppelseitiges Tesafilm; Tesa, Hamburg, Deutschland) geklebt und mit Hilfe einer Silikonform (Sonderanfertigung: Dubliermasse Heraform; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) in Kunstharz (Technovit 4071; Heraeus Kulzer; Hanau, Deutschland) eingebettet. Jeweils fünf Schmelzproben wurden in einem Technovitbarren zusammengefasst. Während der Wartezeiten wurden die Proben in 0,9 %iger physiologischer Kochsalzlösung gelagert. Für die Untersuchung wurden die Oberflächen der Schmelzproben mit Hilfe einer Poliermaschine (Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland) mit Schleifpapier (Schleifpapier Körnung 600, 1200, 2400, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland) aufsteigender Körnung plan zur Kunstharzoberfläche poliert. Die Umdrehungszahl der Poliermaschine betrug 300 U/min.

Der Substanzabtrag jeder Schmelzprobe wurde bei der Politur erfasst, indem vor der Bearbeitung der Schmelzstücke die Rückseite der Schmelzbarren zur Vorderseite parallelisiert und plan geschliffen wurde. Vor der Politur der Schmelzproben wurde dann die Dicke des Technovitbarrens an jeder Schmelzprobe mittels eines digitalen Mikrometers (Mikrometer Digimatic Bügelmessschraube; Mitutoyo, Kawasaki, Japan) bestimmt und dokumentiert. Die Messgenauigkeit des Mikrometers betrug 0,001 mm. Nach der Politur der Schmelzoberfläche erfolgte eine zweite Messung der Dicke des Technovitbarrens an jeder Schmelzprobe. Die Differenz der beiden Messwerte ergab den Substanzabtrag jeder Schmelzprobe. Um einen Kontrollbereich zu erhalten, wurde ein Teil der Zahnoberfläche mit Nagellack (NEW Jet-Set; L'Oréal, Paris, Frankreich) abgedeckt.

4.4 Demineralisation der Schmelzproben

Die kariösen Läsionen wurden *in vitro* durch die Demineralisationslösung nach Buskes (1985) (Tab. 2) induziert, wobei die Demineralisationslösung auf den pH-Wert 5,0 eingestellt wurde. Aufgrund der großen Anzahl der Proben wurden 15 l Lösung angemischt (constant composition). Alle Proben wurden während der Demineralisation in einem Gefäß bei 37 °C in einem Wärmeschrank (Wärmeschrank BR 6000, Heraeus,

Hanau, Deutschland) aufbewahrt. Der auf 5,0 eingestellte pH-Wert wurde täglich mit einem pH-Meter (pH-Meter CG 819; Schott Geräte, Hofheim, Deutschland) kontrolliert. Dabei wurden zusätzliche Schmelzproben zur Kontrolle in die Demineralisation eingelegt. Diese dienen dazu, die Zunahme der Läsionstiefe zu kontrollieren; nach dem fünften, siebten, neunten, zwölften und 14. Tag wurden jeweils drei dieser zusätzlichen Schmelzproben entnommen. Die Proben wurden quer zur Oberfläche durchgesägt und die Schnittflächen poliert. Die zum jeweiligen Zeitpunkt erreichte Läsionstiefe wurde mit dem Rasterelektronenmikroskop (Rasterelektronenmikroskop Cam Scan Maxim 2040, Electron Optics LTD, Waterbeach, England) überprüft. Die Demineralisationslösung wurde nach einer Woche erneuert. Nach Erreichen einer Läsionstiefe von ca. 100 µm wurde diese zusätzlich mittels der Transversalen Mikroradiographie (TMR) verifiziert.

Nach Erreichen der angestrebten Demineralisationstiefe (7 Tage bei Versuch 1 und 14 Tage bei Versuch 2) wurde die Demineralisationszone teilweise mit Nagellack (NEW Jet-Set; L'Oréal) abgedeckt.

Tab. 2: Zusammensetzung der Demineralisationslösung nach Buskes (1985) für Schmelz

Stoff	Ansatz	Konzentration in nmol/l	Molare Masse in g/mol	Menge	
CaCl ₂ x 2H ₂ O	15 l	3	147,02	6,615 g	
KH ₂ PO ₄		3	136,09	6,123 g	
MHDP		0,006	176,00	15,84 mg	
CH ₃ COOH 100 %		50	60,05	45,036 g	
KOH 10 M (28,055 g/ 50 ml a.d.)				56,11	ad ph 5
Aqua dest.				18	ad 15 l

4.5 Remineralisation der Schmelzproben

Für die Remineralisation wurden die humanen Schmelzproben in einer Remineralisationslösung nach Buskes (1985) (Tab. 3) im Wärmeschrank bei 37 °C gelagert. Die Remineralisation dauerte hierbei 35 Tage. Die Remineralisationslösung wurde wöchentlich erneuert.

Tab. 3: Zusammensetzung der Remineralisationslösung nach Buskes (1985) für Schmelz

Stoff	Ansatz	Konzentration in nmol/l	Molare Masse in g/mol	Menge	
CaCl ₂ x 2H ₂ O	15 l	0,5	147,02	3,309 g	
KH ₂ PO ₄		0,9	136,09	1,836 g	
Hepes 1 M				300 ml	
KOH 1 M (2,8055 g/ 50 ml a.d.)				56,11	ad ph 7
Aqua dest.				18	ad 15 l

4.6 Vorbereitung der Proben für die Mikroradiografie

Nach der De- bzw. Remineralisationsperiode wurden die Proben gründlich mit destilliertem Wasser (destilliertes Wasser, Ampuwa; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) gespült und auffällige Oberflächenablagerungen an den Schmelzproben mit einem feuchten Papiertuch sorgfältig entfernt. Jede einzelne Schmelzprobe wurde mit einem senkrecht zur Schmelzoberfläche verlaufenden Sägeblatt (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) mittig unter ständiger Wasserkühlung in eine a- und eine b-Probe getrennt. Die Einteilung erfolgte randomisiert. Anschließend wurden die Probenhälften mit einem wasserfesten Stift markiert. Die b-Proben wurden als Probenreserven in physiologischer Kochsalzlösung gelagert. Die a-Proben wurden für die Auswertung herangezogen. Die Schnittfläche der geteilten Schmelzproben wurde mit Hilfe einer Poliermaschine mit Schleifpapier aufsteigender Körnung (600, 1200, 2500, 4000) poliert.

Anschließend erfolgte die Herstellung von Dünnschliffpräparaten. Dazu wurden vier Schmelzproben auf einen Objektträger aus Plexiglas (Objektträger; Diaplas, Oststeinbeck, Deutschland) mit Sekundenkleber (Sekundenkleber; Dental Liga, Köln, Deutschland) nebeneinander aufgeklebt. Mit einer Vakuumklebepresse wurden die Objektträger in der Säge fixiert und die Proben auf eine Dicke von 500 µm am Objektträger geschnitten. Die Dünnschliffe wurden durch anschließendes Schleifen und Polieren mit Schleifpapier aufsteigender Körnung (600, 1200, 2500, 4000) fertig gestellt. Alle Dünnschliffpräparate wiesen nach Durchlaufen aller Arbeitsschritte eine Dicke von 110 µm auf. Während der gesamten Verarbeitung wurde darauf geachtet, die Schmelzproben mit einer physiologischen Kochsalzlösung feucht zu halten. Das

Herauslösen der Proben aus der Kunststoffummantelung erfolgte mittels eines Skalpells (Einmalskalpell Aesculap, Nummer 15; Braun, Melsungen, Deutschland). Mit Klebeband (Tesafilm; Tesa, Hamburg, Deutschland) wurden die Proben auf den TMR-Halter (TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland) geklebt und nummeriert.

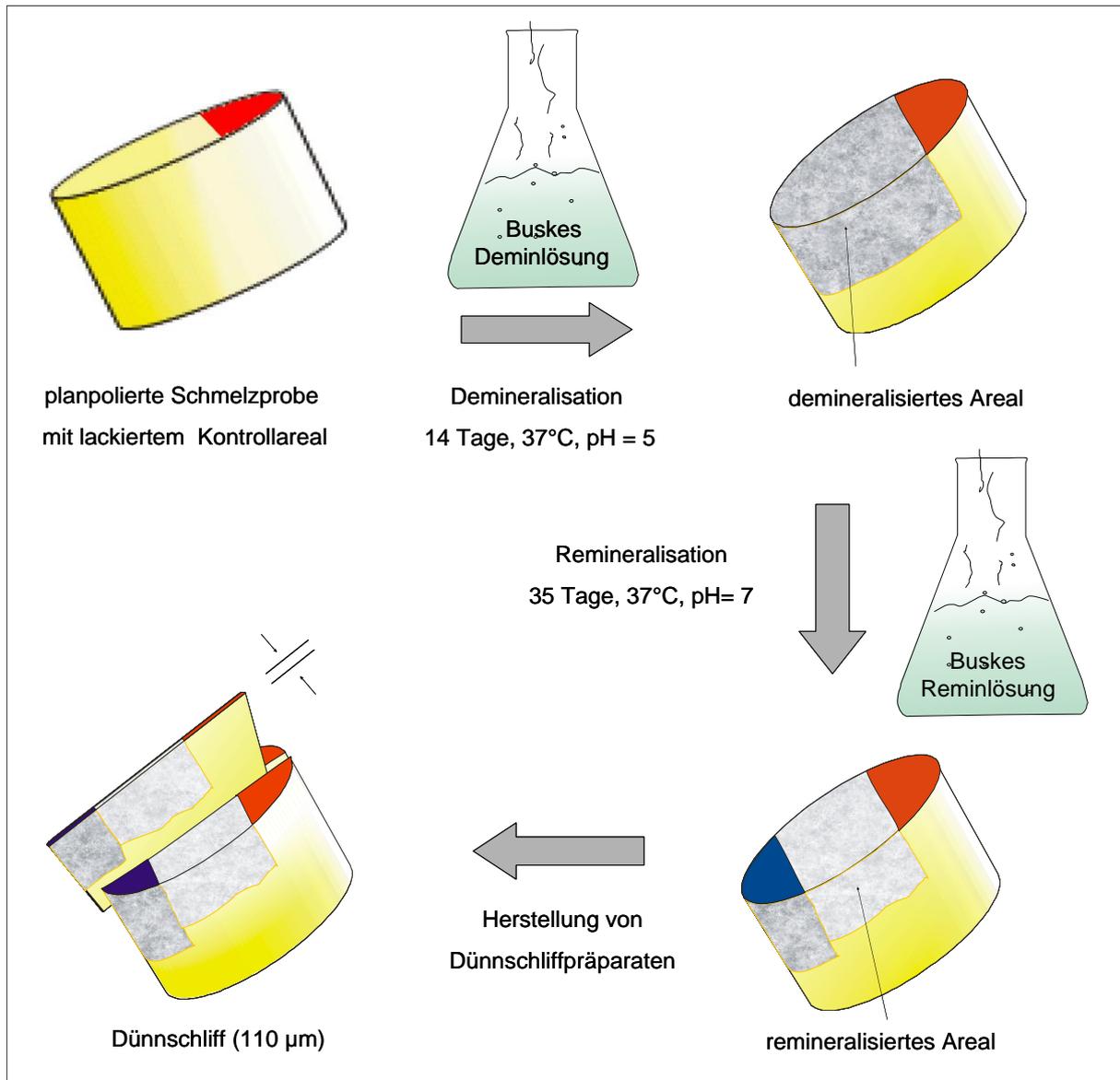


Abb. 7: Grafische Darstellung des Versuchsablaufs anhand einer humanen Schmelzprobe.

4.7 Herstellen der Mikroradiogramme

Die transversale Mikroradiografie ermöglichte die Analyse der initialen Kariesläsionen, indem von den Dünnschliffpräparaten Röntgenbilder mit sehr weicher, monochromatischer Röntgenstrahlung aufgenommen wurden. Auf den Mikroradio-

grammen konnte die Schwärzung im Bereich des Präparates durch den Vergleich mit einer mitbelichteten Aluminiumeichtreppe quantitativ ausgewertet werden. Dadurch wurden die Tiefe (lesion depth) [μm] und der Mineralverlust (mineral loss) [$\text{Vol.-%} \times \mu\text{m}$] der Läsionen bestimmt.

Die im TMR-Halter fixierten Dünnschliffpräparate wurden entsprechend ihrer charakteristischen Umrisse abgezeichnet und nummeriert. Die Dokumentation der Umrisse der einzelnen Proben diente dazu, Verwechslungen bei der Auswertung zu verhindern. Nach Trocknung der Dünnschliffpräparate mittels eines Papiertuches (Zewa Softis; Zewa, Mannheim, Deutschland) wurden die TMR-Halter über einen Aluminiumschlitten in ein spezielles Photogehäuse eingeführt. Das Dünnschliffpräparat lag dadurch parallel im Kontakt zu einem hochempfindlichen, hochauflösenden holographischen Spezialfilm (high speed holographic film SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland). Rechts zu der im TMR-Halter fixierten Probe befand sich im Photogehäuse die Aluminiumtreppe, die zur Kalibrierung des Computers für die Auswertung der Mikroradiogramme diente. Das Photogehäuse war mit einem Röntgenstrahlengenerator (PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande) gekoppelt. Die senkrecht auf die Schmelzprobe und auf die Filmebene gerichtete Röntgenröhre belichtet auch die Aluminiumtreppe.

Tab. 4: Aufnahmeparameter der vorliegenden mikroradiographischen Untersuchung

Röhrenspannung	Röhrenstrom	Belichtungszeit
20 kV	40 mA	15 s

Die Aufnahmeparameter sind in Tabelle 4 wiedergegeben. Nach Belichtung wurde der TMR-Halter mit der Schmelzprobe über den Aluminiumschlitten dem Photogehäuse entnommen und wieder in physiologischer Kochsalzlösung zwischengelagert und später archiviert.

4.8 Mikroradiografische Auswertung

Die belichteten Filme wurden entwickelt und durchnummeriert. Mit Hilfe einer Drehspule konnten die Filme an einem Durchlichtmikroskop (Durchlichtmikroskop

60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an dem eine Videokamera (CCD Videokamera Modul XC77CE; Sony, Tokio, Japan) angeschlossen war, fixiert werden. Das Mikroskop wurde vor jeder Auswertung neu kalibriert. Die Läsionstiefe [μm] und der Mineralverlust [$\text{Vol.}\% \times \mu\text{m}$] konnten mit dem Computerprogramm Transversal Micro Radiography (TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System, Amsterdam, Niederlande) bestimmt werden.

4.9 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte mit dem Allgemeinen Linearen Modell (ALM). Da die unterschiedlichen Gruppen auf signifikante Unterschiede nur mit der jeweiligen Kontrollgruppe verglichen wurden, wurde das Kontraste-Procedere gewählt. Kontraste bedeutet ein Paarvergleich nur zur einer bestimmten Gruppe. Die Kontrollgruppen (Versuch 1: frisch extrahierte Zähne, Versuch 2: Kochsalzlösung) wurden mit den jeweiligen übrigen Gruppen auf signifikante Unterschiede geprüft. Das multiple Signifikanzniveau lag bei 0,05. Um statistische Fehler zu vermeiden, wurde bei den Kontrasten das Signifikanzniveau mittels der Bonferronikorrektur angehoben. Die p-Werte der Kontraste wurden mit der Bonferronikorrektur mit dem Faktor 5 bzw. 3 von 0,05 auf 0,01 bei Versuch 1 und auf 0,0166 bei Versuch 2 adjustiert. Die Daten von Versuch 1 wurden zudem für eine Fallzahlschätzung für Versuch 2 verwendet, wobei die Power auf 0,9 gesetzt wurde.

In Versuch 2 wurden die Messergebnisse bezüglich der Remineralisation prozentual dargestellt. Der Mineralverlust und die Demineralisationstiefe in den unterschiedlichen Gruppen wurden auf 100 % gesetzt. Die prozentuale Berechnung erfolgte über die Formeln: Prozentualer Mineralgewinn = Mineralgewinn / Mineralverlust \times 100 und Prozentuale Läsionstiefendifferenz = Läsionstiefendifferenz / Läsionstiefe im demineralisierten Bereich \times 100. Die Remineralisationstiefe und der Mineralgewinn wurden prozentual dargestellt.

Um den Einfluss der Politur zu registrieren, wurde der Gruppenvergleich bezüglich dieser Variablen adjustiert. Diese Einflussvariable (Kovariate) wurde in das Allgemeine Lineare Modell mit aufgenommen.

Die statistische Auswertung dieser Studie wurde unter fachlicher Anleitung von Dr. K. Neumann im Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie der Charité -

Universitätsmedizin Berlin durchgeführt. Bis auf die Fallzahlschätzung wurde die Statistik mit dem Programm SPSS (SPSS 11.5 für Windows; SPSS GmbH, München, Deutschland) berechnet. Die Fallzahlschätzung wurde mit einer frei zugänglichen Software auf der Homepage des Instituts für Biometrie und Klinische Epidemiologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin [EPIDEMIOLOGIE <http://www.charite.de/biometrie/de/frame-fallzahl.html>] durchgeführt. Diese ist neben Erkenntnissen aus Versuch 1 Grundlage für die hohe Fallzahl in Versuch 2 (humane Zähne).

5 Ergebnisse

5.1 Quantitative Auswertung

5.1.1 Auswertung Versuch 1 (bovine Zähne)

5.1.1.1 Läsionstiefen im demineralisierten Bereich

Von den angegebenen Läsionstiefen im demineralisierten Bereich (DTK_B) sind bereits die Läsionstiefen des Kontrollbereiches (K_TIEF_B) subtrahiert worden, welche sich in den einzelnen Gruppen nicht signifikant unterschieden (Tab. 5; Anhang).

In Abbildung 8 werden die Ergebnisse der DTK_B der einzelnen Gruppen graphisch in Boxplots dargestellt. Die Schmelzproben aus den Zähnen, die in Kochsalz gelagert waren, wiesen mit $111,2 \mu\text{m}$ den höchsten Mittelwert (MW) für die Läsionstiefen mit einer Standardabweichung (SD) von $56,1 \mu\text{m}$ auf, gefolgt von den Mittelwerten der Alkohol-Gruppe $101,7 (33,8) \mu\text{m}$, der Formalin-Gruppe $101,2 (36,2) \mu\text{m}$, der Kontrollgruppe (frisch extrahierte Zähne) $88,4 (40,4) \mu\text{m}$, Thymol-Gruppe $87,8 (37,8) \mu\text{m}$, und der Wasserstoffperoxid-Gruppe $76,7 (32,5) \mu\text{m}$. Tabelle 6 (Anhang) fasst die Messergebnisse unter Angabe der Minimalwerte (Min), Maximalwerte (Max), Mittelwerte und Medianwerte (Med) der Läsionstiefen und die dazugehörigen Standardabweichungen der jeweiligen Gruppen der demineralisierten Schmelzzone zusammen.

In Bezug auf die DTK_B konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Läsionstiefe der Kontrollgruppe und den anderen Gruppen festgestellt werden (Kontraste) (siehe Tabelle 6 im Anhang). Die Anzahl der zusammengefassten Einzelmessungen lag bei jeder Gruppe bei 18.

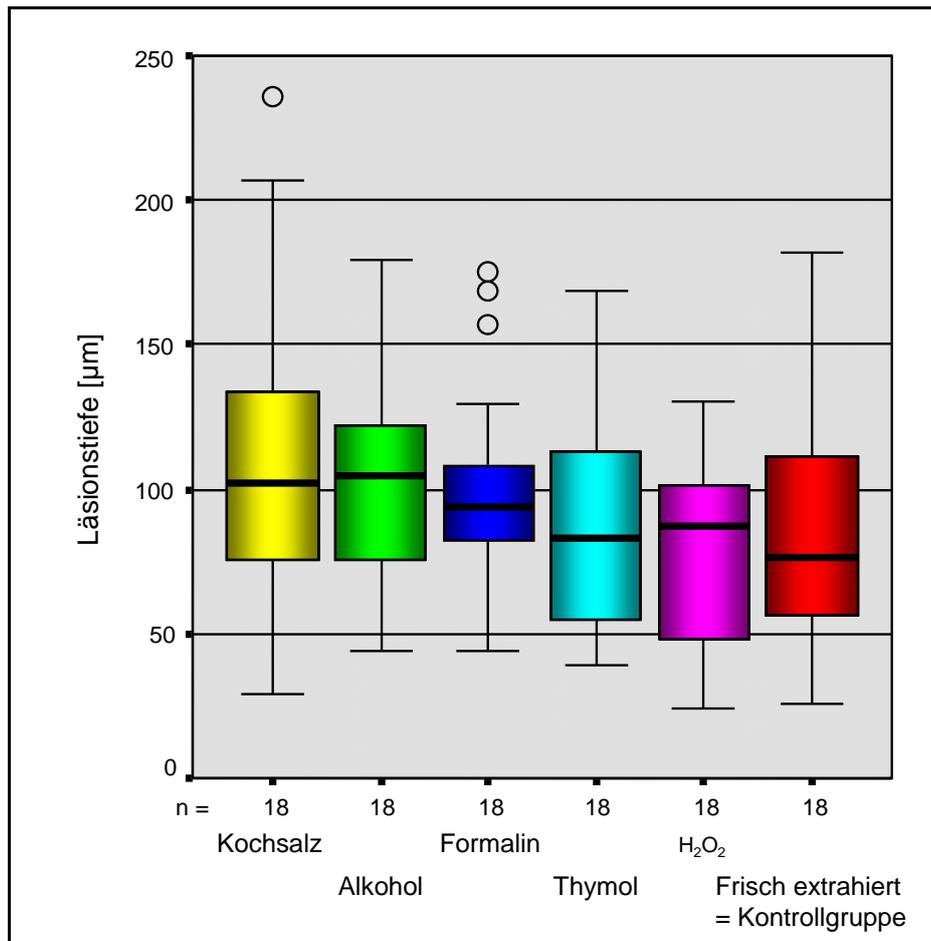


Abb. 8: Box-Whisker-Plots der DTK_B [μm] der einzelnen Gruppen. Jede Box umfasst 50 % der mittleren Werte. Der dicke schwarze Strich innerhalb der Box kennzeichnet den Medianwert (50 % Perzentil). Die untere Begrenzung der Box repräsentiert den 25 % Perzentil und die obere Begrenzung den 75 % Perzentil. Der horizontale Strich oberhalb und unterhalb der Box stellt den größten und den kleinsten nicht extremen Wert (Whisker) dar. Der kleine Kreis ist ein Ausreißer (Werte, deren Abstand sich vom 75 % Perzentil nach oben und vom 25 % Perzentil nach unten zwischen 1,5fachen und dem 3fachen der Boxhöhe befinden).

5.1.1.2 Mineralverlust

Auch der Mineralverlust der Kontrollzone (K_{MIN_B}) wurde von dem Mineralverlust in der Zone der Demineralisation (DMK_B) subtrahiert. Der Mittelwert des (K_{MIN_B}) in der Kontrollzone aller Gruppen betrug 470,5 (136,9) Vol.-% \times μm . Die Mineralverluste der Kontrollzonen in den jeweiligen Gruppen werden in Tabelle 7 (Anhang) aufgelistet.

Die Schmelzproben der Zähne aus der Gruppe „frisch extrahiert“ wiesen mit 2502,2 Vol.-% × μm den höchsten Mittelwert (MW) für den Mineralverlust mit einer Standardabweichung (SD) von 1337,2 Vol.-% × μm auf, gefolgt von den Mittelwerten der Kochsalz-Gruppe 2336,2 (1292,6) Vol.-% × μm, der Alkohol-Gruppe 2195,6 (957,6) Vol.-% × μm, der Formalin-Gruppe 2119,6 (849,5) Vol.-% × μm, der Thymol-Gruppe 1960,8 (965,9) und der Wasserstoffperoxid-Gruppe 1456,5 (782,5) Vol.-% × μm. Tabelle 8 (Anhang) fasst die Messergebnisse (Minimalwerte, Maximalwerte, Mittelwerte und Medianwerte des Mineralverlustes und die dazugehörigen Standardabweichungen) der jeweiligen Gruppen der demineralisierten Schmelzzone zusammen. In Abbildung 9 wird der Mineralverlust graphisch dargestellt.

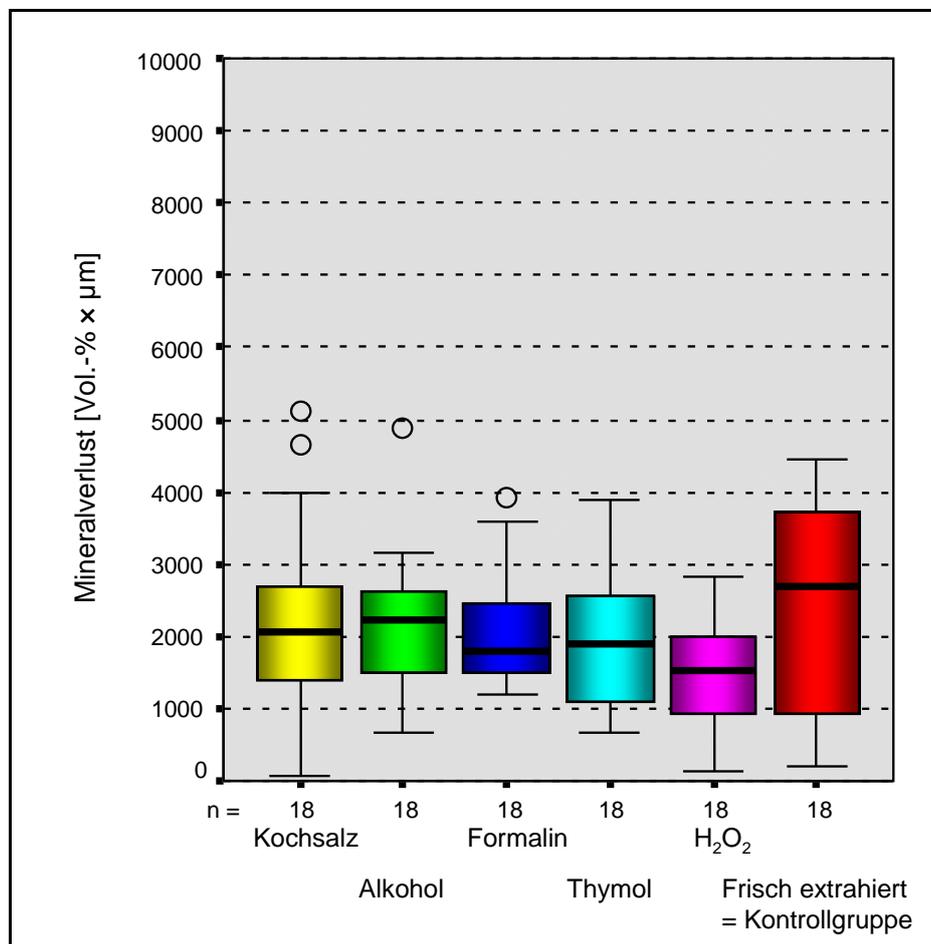


Abb. 9: Box-Whisker-Plots des Mineralverlusts [Vol.-% × μm]. Die Graphik repräsentiert den Mineralverlust im demineralisierten Bereich. (Erklärung Box-Whisker-Plots vergleiche Abb. 8)

Die Mineralverluste in den einzelnen Gruppen nach der Demineralisation waren zur Kontrollgruppe nicht signifikant ($p = 0,62$; ALM). Beim Paarvergleich der Gruppe 5 (Wasserstoffperoxid) zur Kontrollgruppe war ein Unterschied festzustellen, wobei der Mineralverlust bei dem Lagerungsmedium Wasserstoffperoxid geringer war ($p = 0,003$; Kontraste). Dieser Unterschied kann aber aufgrund des nicht signifikanten Ergebnisses des ALMs nur als tendenziell und nicht als statistisch signifikant beschrieben werden. Die Gruppenstärke betrug jeweils 18.

5.1.1.3 Einfluss der Politur auf die Läsionstiefe und den Mineralverlust

Der Abtrag wurde als Kovariate im allgemeinen linearen Modell berücksichtigt. Der Substanzabtrag betrug im Mittel $123,6 \mu\text{m}$ mit einer Standardabweichung von $49,1 \mu\text{m}$ bei 108 polierten Schmelzproben. Der politurbedingte Abtrag beeinflusste die Läsionstiefe nicht signifikant ($p = 0,772$, ALM). Die Einfluss des Abtrags in Bezug auf den Mineralverlust war ebenfalls nicht signifikant ($p = 0,442$, ALM).

5.1.2 Auswertung Versuch 2 (humane Zähne)

5.1.2.1 Läsionstiefen im demineralisierten Bereich

Die Läsionstiefe im demineralisierten Bereich (DTK_H) errechnete sich wie in Versuch 1 aus der Läsionstiefe der demineralisierten Zone, korrigiert um die Läsionstiefe der Kontrollzone (K_TIEF_H). Der Mittelwert aller Läsionstiefen in der „gesunden“ Zahnoberfläche der Kontrollzone betrug $11,0 (3,2) \mu\text{m}$ (Tab. 9; Anhang).

Die Wasserstoffperoxid-Gruppe wies mit $66,0 \mu\text{m}$ den kleinsten Mittelwert für die Demineralisationstiefe mit einer Standardabweichung von $21,1 \mu\text{m}$ auf, gefolgt von der Formalin-Gruppe $87,0 (22,9) \mu\text{m}$, der Kochsalz-Gruppe $93,7 (24,1) \mu\text{m}$ und der Thymol-Gruppe $94,5 (30,5) \mu\text{m}$ (Tab. 10; Anhang). In Bezug auf die Demineralisationstiefe konnte ein höchst signifikanter Unterschied der Kontrollgruppe zu der Gruppe 4 festgestellt werden ($p < 0,0005$; Kontraste). Die artifiziell erzeugte Karies schritt bei Schmelzproben, die in Wasserstoffperoxid gelagert waren, langsamer voran. Dieser Unterschied ist aus Abbildung 10 ersichtlich. Die Anzahl der zusammengefassten Einzelmessungen lag bei jeder Gruppe bei 80.

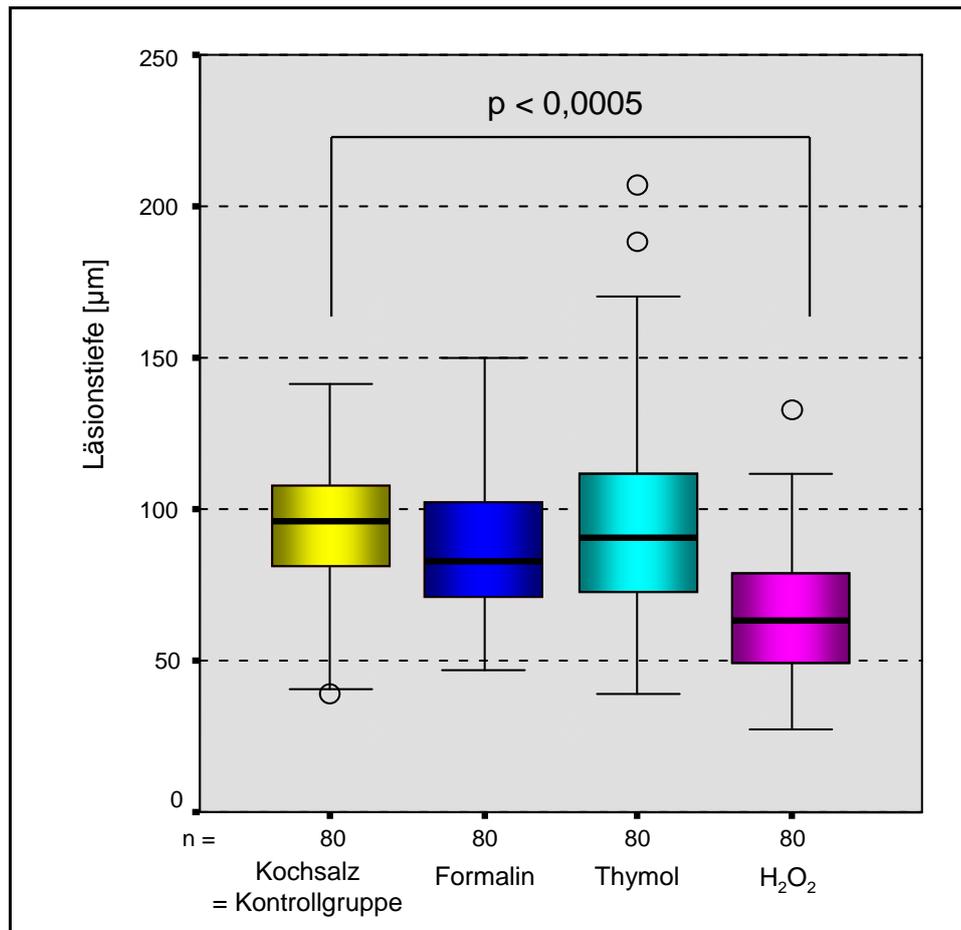


Abb. 10: Box-Whisker-Plots der DTK_H [μm]. Die Grafik repräsentiert die Läsionstiefen der demineralisierten humanen Schmelzproben ($n = 80$) nach Lagerung in den verschiedenen Lagerungsmedien. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe sind eingezeichnet. (Erklärung Box-Whisker-Plots vergleiche Abb. 8)

5.1.2.2 Mineralverlust

Der durchschnittliche Mineralverlust der Kontrollzone (K_{MIN_H}) betrug $370,2$ ($166,9$) Vol.-% $\times \mu\text{m}$ (Tab. 11; Anhang). Vom Mineralverlust in der Demineralisationszone (DMK_H) wurde der Mineralverlust der Kontrollgruppe subtrahiert. In Tabelle 12 (Anhang) sind die Minimalwerte, Maximalwerte, die Mittelwerte, Medianwerte und die Standardabweichungen des Mineralverlustes aufgelistet. Ähnlich wie bei der Demineralisationstiefe wies die Wasserstoffperoxidgruppe mit $2460,3$ Vol.-% $\times \mu\text{m}$ auch für den gemessenen Parameter Mineralverlust den niedrigsten Mittelwert mit einer Standardabweichung von $1164,4$ Vol.-% $\times \mu\text{m}$ mit dem kleinsten Minimal- $667,1$ Vol.-% $\times \mu\text{m}$ und Maximalwert $6742,1$ Vol.-% $\times \mu\text{m}$ auf. Der Mineralverlust im Schmelz war bei

Zähnen, die in Wasserstoffperoxid gelagert waren, höchst signifikant geringer als bei Zähnen der Kontrollgruppe (Abb. 11) ($p < 0,0005$; Kontraste).

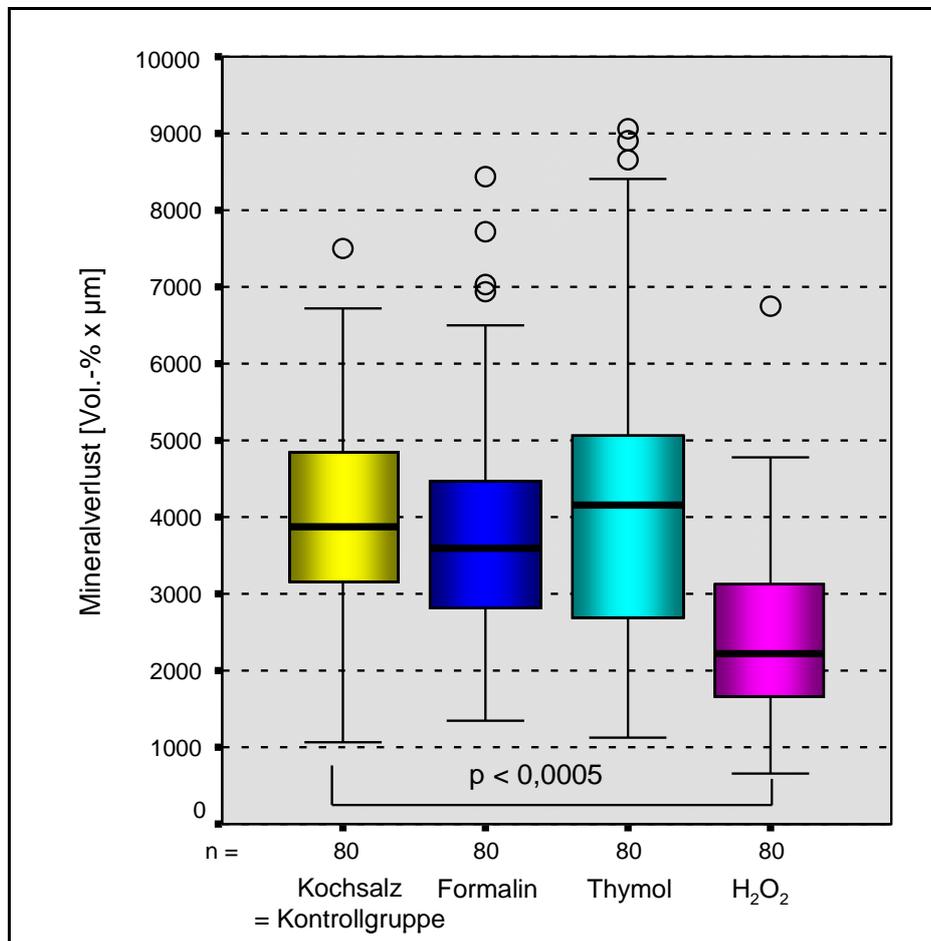


Abb. 11: Das Diagramm (Box-Whisker-Plots) zeigt den Mineralverlust [Vol.-% x µm] der einzelnen Gruppen (n = 80) nach Lagerung der Proben in der Demineralisationslösung nach Buskes. (Erklärung Box-Whisker-Plots vergleiche Abb. 8)

5.1.2.3 Einfluss der Politur auf die Läsionstiefe und den Mineralverlust

Der Substanzabtrag betrug im Mittel 171,6 (97,2) µm bei einer Anzahl von 320 polierten Proben. Das Streudiagramm in Abbildung 12 gibt die Abhängigkeit der Läsionstiefe vom politurbedingten Abtrag grafisch wieder. Die Politur beeinflusste die Läsionstiefe höchst signifikant ($p < 0,005$). Durchschnittlich wurde die Läsion pro abgetragenen Mikrometer um 0,067 µm tiefer.

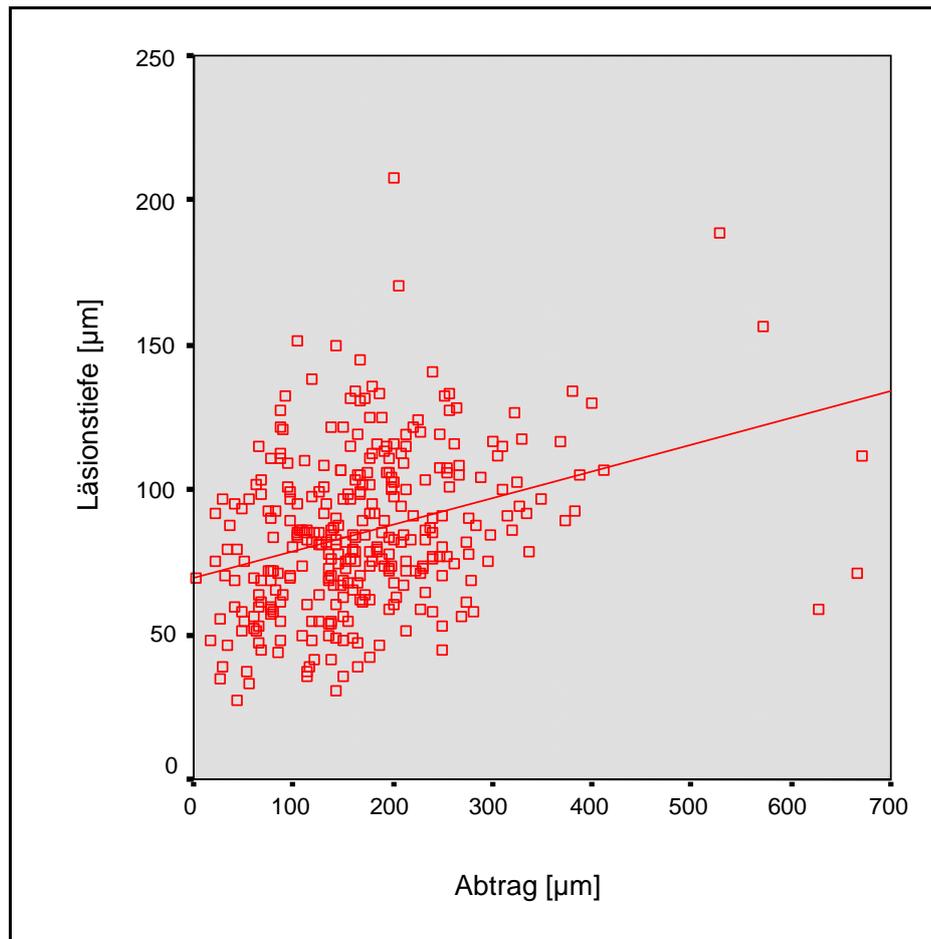


Abb. 12: Streudiagramm mit linearer Anpassungslinie (rot). Grafisch wird der Zusammenhang zwischen dem politurbedingten Abtrag und der Demineralisationstiefe dargestellt. Die Steigung der Anpassungslinie beträgt 0,067. Die Korrelation nach Pearson (r) beträgt 0,327. Die Anzahl (n) der polierten Proben beträgt 320.

Die statistische Auswertung zeigte auch eine höchst signifikante Beeinflussung des Mineralverlustes durch den politurbedingten Abtrag ($p < 0,0005$). Pro abgetragenen Mikrometer veränderte sich durchschnittlich der Mineralverlust um den Steigungsfaktor der linearen Anpassungslinie. Dieser betrug 3,5. Abbildung 13 verdeutlicht diesen Zusammenhang zwischen dem Mineralverlust und dem Abtrag.

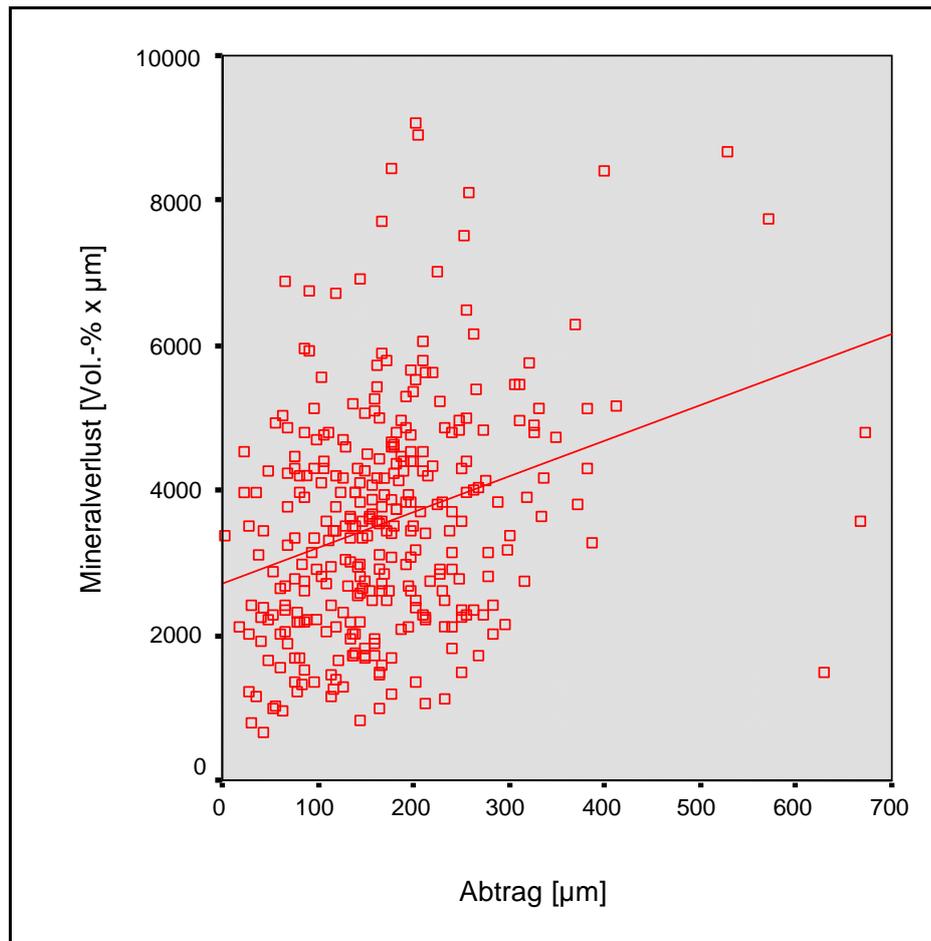


Abb. 13: Streudiagramm für den Einfluss des politurbedingten Abtrages [µm] auf den Mineralverlust [Vol.-% x µm] mit linearer Anpassungslinie (rot). Die Steigung der Anpassungslinie beträgt 3,5. Die Korrelation nach Pearson (r) beträgt 0,306. Die Anzahl der polierten Proben (n) beträgt 320.

5.1.2.4 Läsionstiefendifferenz

Von den Läsionstiefen im remineralisierten Bereich (RTK_H) sind bereits die Läsionstiefen des Kontrollbereiches subtrahiert worden. Die Läsionstiefendifferenz ($Diff_TIE_H$) spiegelt die Läsionstiefenverringerung im remineralisierten Areal wider. Dabei handelte es sich um die Differenz zwischen der Läsionstiefe im demineralisierten Bereich (DTK_H) und der Läsionstiefe im remineralisierten Bereich (RTK_H). Die DTK_H in den unterschiedlichen Gruppen wurden auf 100 % gesetzt und die $Diff_TIE_H$ wurden dazu im prozentualen Verhältnis dargestellt.

Die Schmelzproben aus den Zähnen, die in Formalin gelagert waren, wiesen mit 19,26 % den höchsten Mittelwert (MW) für die prozentuale Läsionstiefendifferenz mit einer Standardabweichung (SD) von 20,43 % auf, gefolgt von den Mittelwerten der Thymol-Gruppe 17,57 (15,64) %, der Kochsalz-Gruppe 16,84 (16,76) %, und der Wasserstoffperoxid-Gruppe 16,07 (25,10) %. Tabelle 13 (Anhang) zeigt die prozentualen Minimalwerte, Maximalwerte, Mittelwerte, Medianwerte und die Standardabweichungen der Diff_TIE_H. Abbildung 14 stellt den prozentualen Gewinn in der Diff_TIE_H dar. Es gab keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe. Die Gruppengröße lag bei 80.

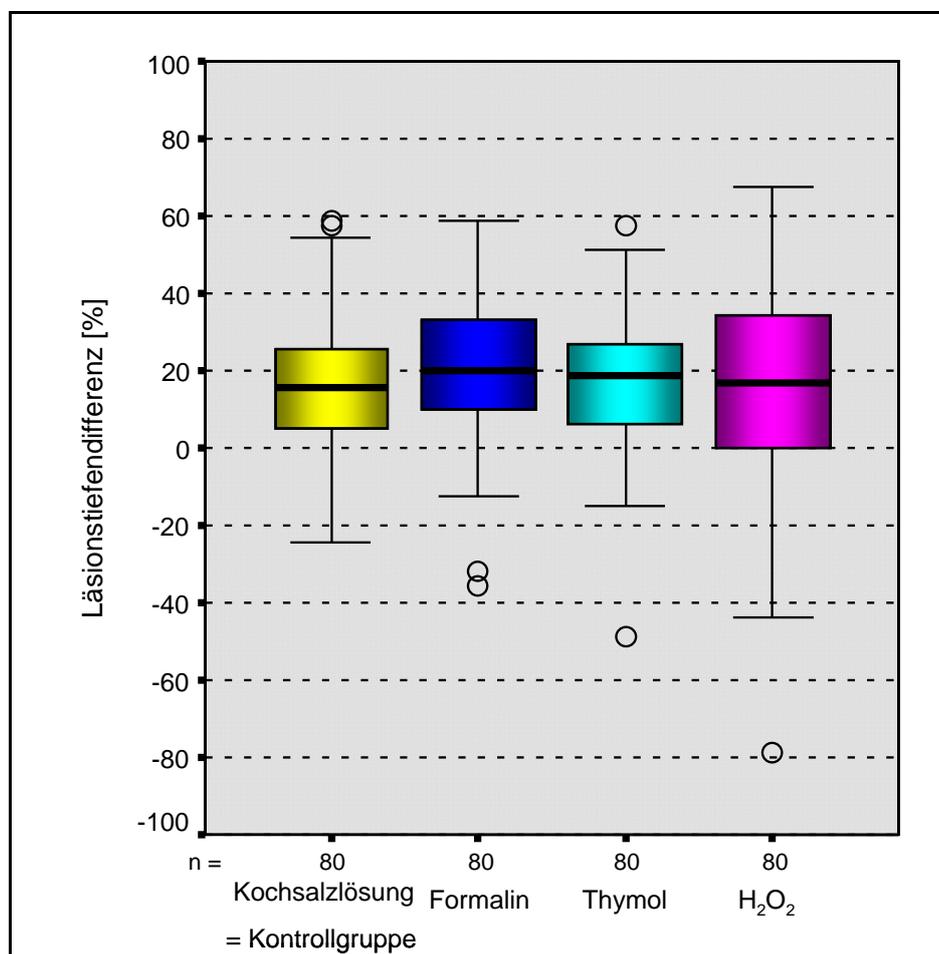


Abb. 14: Box-Whisker-Plots der prozentual dargestellten Diff_TIE_H der einzelnen Gruppen. Die schwarzen Kreise signalisieren Ausreißerwerte. (Erklärung Box-Whisker-Plots vergleiche Abb. 8)

Wie aus Abbildung 14 zu ersehen ist, führte die Remineralisation bei wenigen Proben nicht zu einer Verringerung der Läsionstiefe, sondern ließ diese sogar

ansteigen. Dies ist aus den negativen Werten der Läsionstiefendifferenz ersichtlich. Bei der optischen Betrachtung der de- und remineralisierten Proben ist bei all diesen Proben ein deutliches Auffüllen des Läsionskörpers erkennbar, was sich durch einen deutlich opakeren Läsionskörper im remineralisierten Bereich widerspiegelt (Abb. 22; Anhang).

5.1.2.5 Mineralgewinn

Der Mineralgewinn (Diff_DEM_H) errechnete sich aus der Differenz des Mineralgehaltes in der Zone der Remineralisation (RMK_H) und des Mineralgehaltes in der Zone der Demineralisation (DMK_H). RMK_H beinhaltet die Differenz zwischen dem Mineralgehalt in der Zone der Remineralisation und dem Mineralgehalt in der Kontrollzone. Der Mineralverlust (DMK_H) in den unterschiedlichen Gruppen wurde auf 100 % gesetzt und der Mineralgewinn wurde an diesem prozentual dargestellt.

Abbildung 15 zeigt den prozentualen Gewinn des Mineralgehaltes. Die Schmelzproben aus den Zähnen, die in Formalin gelagert waren, wiesen mit 76,48 % den höchsten Mittelwert (MW) für den prozentualen Mineralgewinn mit einer Standardabweichung (SD) von 10,47 % auf, gefolgt von den Mittelwerten der Thymol-Gruppe 74,06 (13,40) %, der Kochsalz-Gruppe 73,89 (11,01) %, und der Wasserstoffperoxid-Gruppe 71,58 (13,66) %.

Es gab keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe. Tabelle 14 (Anhang) zeigt die prozentualen Minimalwerte, Maximalwerte, Mittelwerte, Medianwerte und die Standardabweichungen des Mineralgewinnes. Die Anzahl der zusammengefassten Einzelmessungen lag bei jeder Gruppe bei 80.

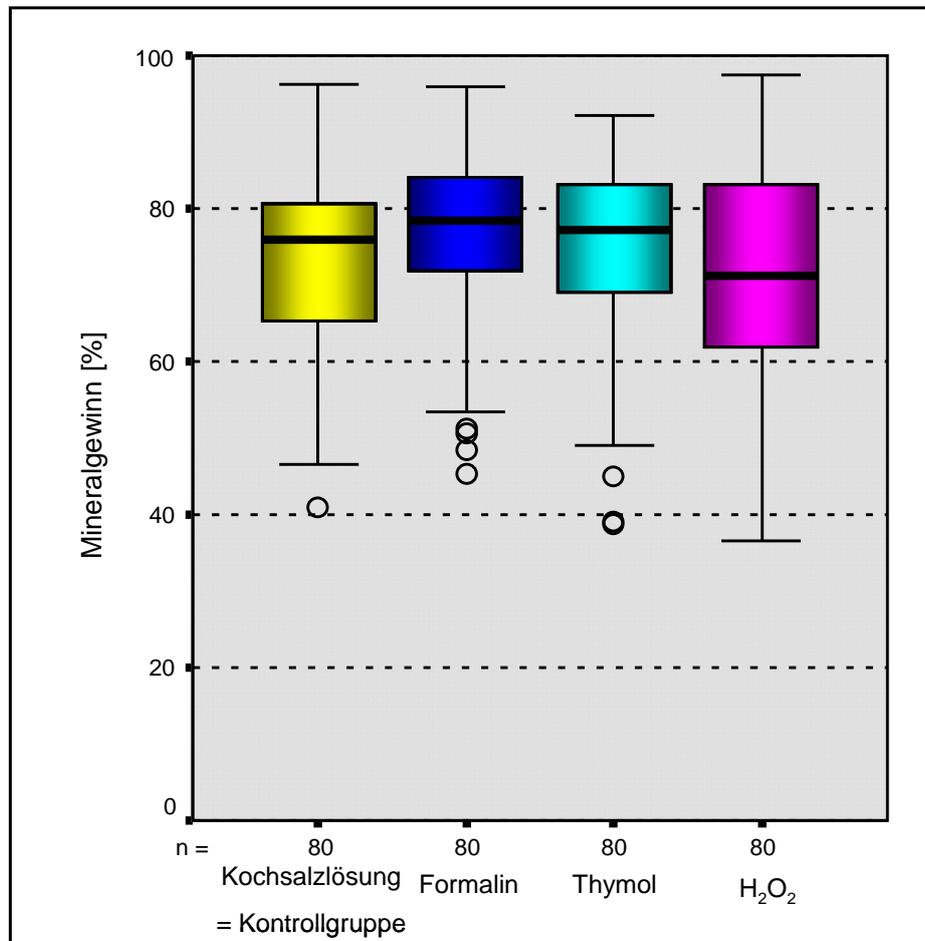


Abb. 15: Box-Whisker-Plots des prozentual dargestellten Mineralgewinns der einzelnen Gruppen nach Lagerung der Proben in der Remineralisationslösung. Die schwarzen Kreise stellen Ausreißer dar. (Erklärung Box-Whisker-Plots vergleiche Abb. 8)

5.1.2.6 Einfluss der Politur auf den Mineralgewinn und der Läsionstiefendifferenz

Der Mineralgewinn wurde signifikant durch die Politur beeinflusst. Die Abbildung 16 zeigt das Streudiagramm mit dem Einfluss des politurbedingten Abtrages auf den Mineralgewinn [Vol.-% × µm]. Eingezeichnet ist die lineare Anpassungslinie des Streudiagramms mit einer positiven Steigung von 2,2. Diese positive Steigung bedeutet, dass durchschnittlich pro abpolierten Mikrometer der Mineralgewinn um den Faktor 2,2 zunahm. Der Abtrag beeinflusste den Mineralgewinn höchst signifikant (p < 0,0005).

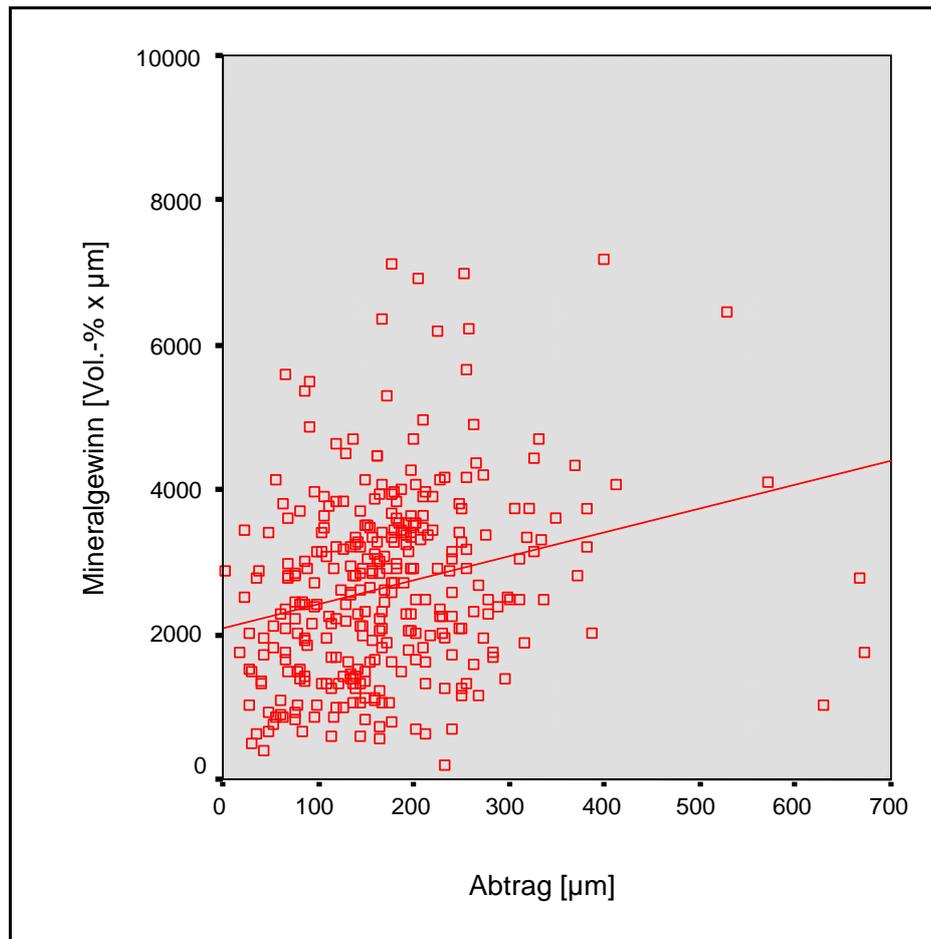


Abb. 16: Streudiagramm für den Einfluss des politurbedingten Abtrages [µm] auf den Mineralgewinn [Vol.-% x µm] mit linearer Anpassungslinie (rot). Der Abtrag beeinflusst den Mineralgewinn signifikant ($p < 0,0005$). Die Steigung der Anpassungslinie beträgt 2,2. Die Korrelation nach Pearson (r) beträgt 0,25. Die Anzahl der polierten Proben (n) beträgt 320.

Die Politur zeigte jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Läsionstiefendifferenz. Abbildung 17 gibt das Streudiagramm mit linearer Anpassungslinie wieder. Die Steigung beträgt 0,006.

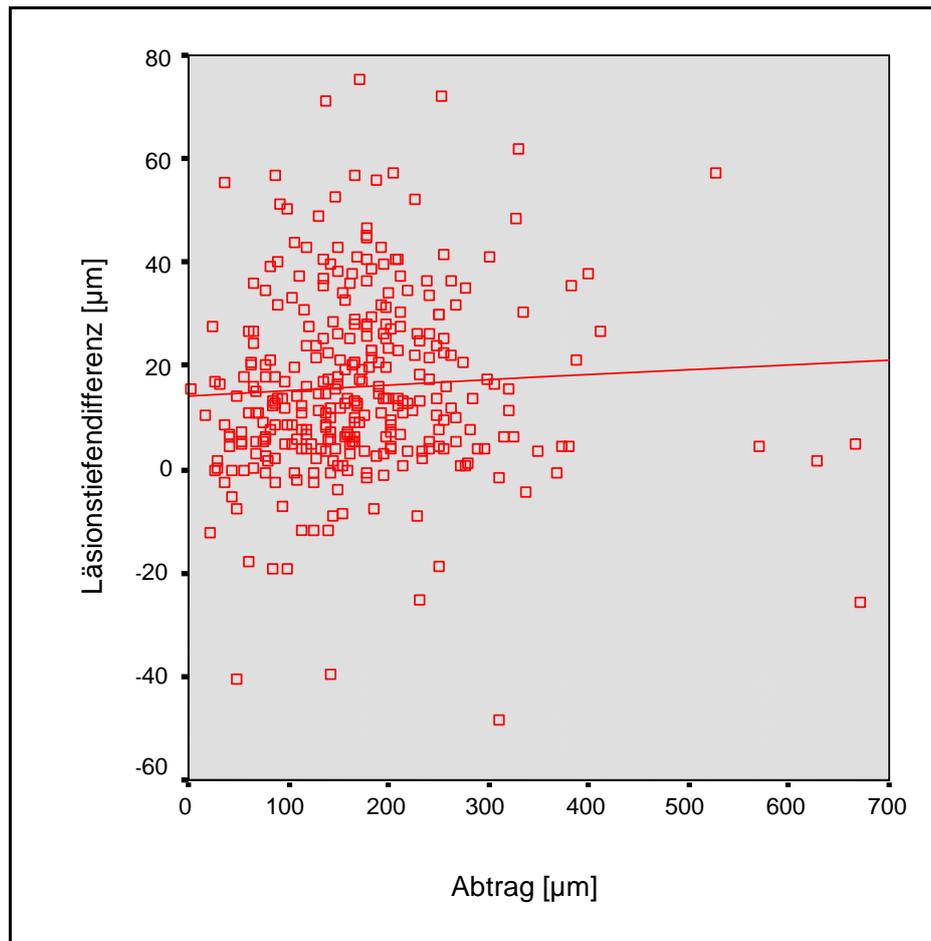


Abb. 17: Streudiagramm für den Einfluss des politurbedingten Abtrages [µm] auf die Läsionstiefendifferenz [µm] mit linearer Anpassungslinie (rot). Der Abtrag beeinflusst die Läsionstiefendifferenz nicht signifikant. Die Steigung der Anpassungslinie beträgt 0,006. Die Korrelation nach Pearson (r) beträgt 0,55. Die Anzahl (n) der polierten Proben beträgt 320.

5.2 Qualitative Auswertung

5.2.1 Mikroradiografische Auswertung einer Schmelzprobe

Die Abbildung 18 zeigt eine repräsentative humane Schmelzprobe, welche aus einem in Formalin gelagerten Zahn gewonnen wurde. Die Abbildung besteht aus zusammengefügt Einzelbildern der mikroskopischen Darstellungen der Kontrollzone, der Demineralisations- und der Remineralisationszone.

Die Abbildung ist gekennzeichnet durch eine ebene Oberfläche, die durch die erfolgte Politur erzielt wurde. Diese plane Oberfläche vereinfachte die Auswertung der Proben mit dem TMR-Programm.

Im Kontrollbereich wurden eine Läsionstiefe von 10,5 μm und ein Mineralverlust von 292,6 Vol.-% $\times \mu\text{m}$ mit der TMR-Software (TMR für Windows Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV) gemessen. Deutlich ist die Homogenität des gesunden Schmelzes in der Kontrollzone zu erkennen; sie grenzt sich deutlich von der artifiziellen Karies im mittleren Drittel des Bildes ab.

Diese kariöse Initialläsion war durch eine starke Demineralisation im Läsionskörper und eine dünne pseudointakte Oberflächenschicht charakterisiert. Letztere spiegelte sich auch in der Messkurve in Form eines deutlichen Peaks wider. Die Läsionstiefe betrug 151,0 μm , der Mineralverlust 5595,0 Vol.-% $\times \mu\text{m}$.

Nach Remineralisation der Schmelzläsion kam es zu einem deutlich sichtbaren Auffüllen des Läsionskörpers. Dieses optische Auffüllen war charakteristisch für alle Proben. Die grafische Darstellung zeigt den Mineralgewinn im Läsionskörper und die Verringerung der Läsionstiefe. Die Läsionstiefe hatte sich um 41,0 μm auf 110,0 μm reduziert. Der Mineralverlust in der Zone der Remineralisation betrug 1896,7 Vol.-% $\times \mu\text{m}$, demzufolge kam es zu einem Mineralgewinn von 3698,3 Vol.-% $\times \mu\text{m}$.

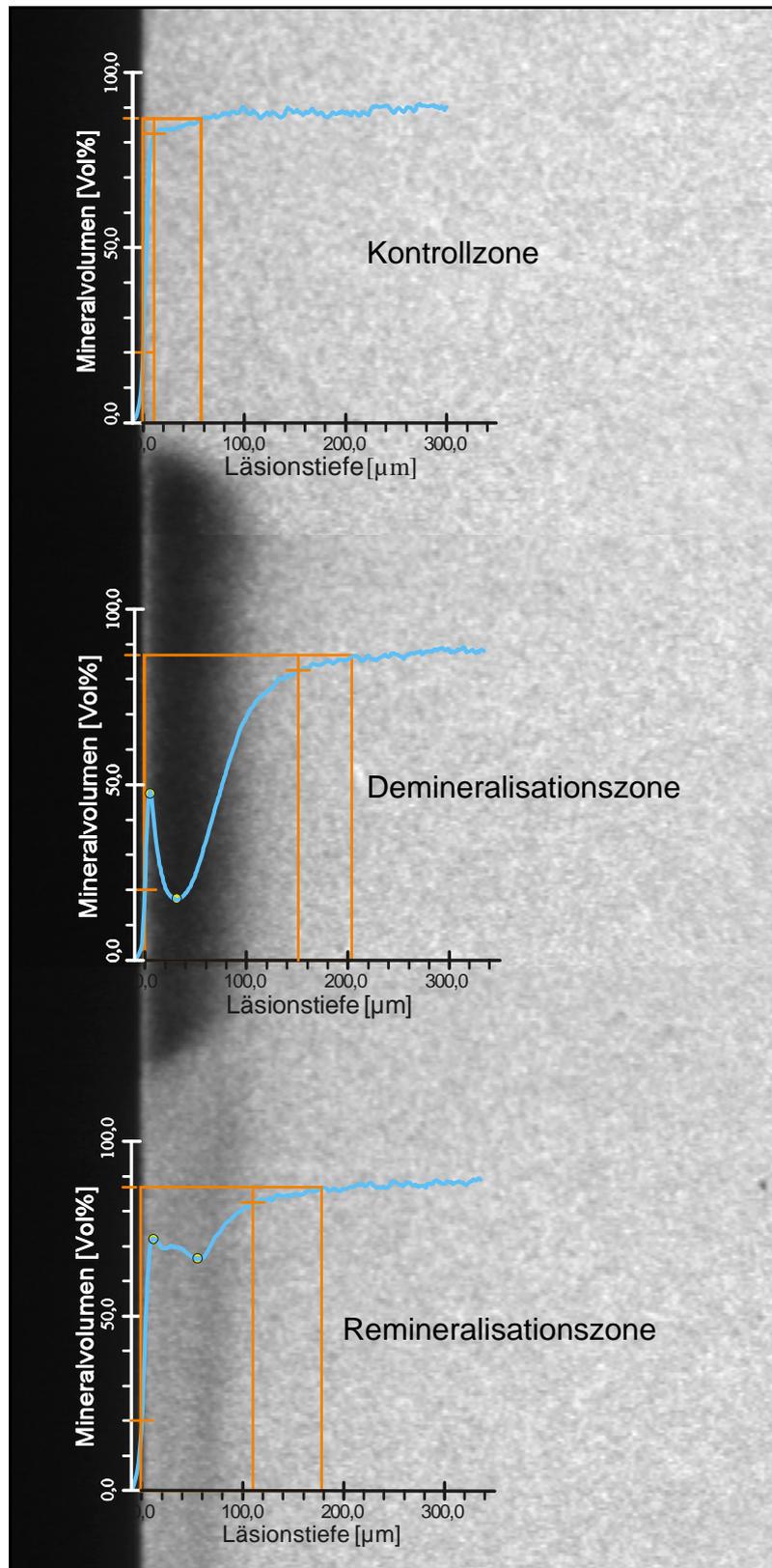


Abb. 18: Mikroskopische Darstellung einer repräsentativen, humanen Schmelzprobe (Lagerungsmedium: Formalin) mit grafischer Auswertung der Läsionstiefe [µm] und des Mineralisationsverlustes [Vol.-% x µm] mit dem TMR-Programm.

5.2.2 Mittelwertgraf für die verschiedenen Lagerungsmedien

5.2.2.1 Versuch 1 (bovine Zähne)

Jeder Mittelwertgraf stellt die Zusammenfassung aller Demineralisationsgraf eines Lagerungsmediums dar. Abbildung 19 beinhaltet alle Mittelwertgraf der Demineralisation aller untersuchten Lagerungsmedien aus Versuch 1. Es ist zu erkennen, dass der Mittelwertgraf der Gruppe Wasserstoffperoxid im Bereich der pseudointakten Oberflächenschicht und des Läsionskörpers weniger stark demineralisiert ist als alle anderen Lagerungsmedien, die sich als fast deckungsgleiche Mittelwertgraf präsentieren. Die Gruppe „frisch extrahiert“ dagegen weist am deutlichsten die für eine Initiailläsion charakteristischen Merkmale in Form einer ausgeprägten Spitze (peak) im Bereich der pseudo-intakten Oberflächenschicht und einer klaren Absenkung des Mineralgehalts im Läsionskörper auf.

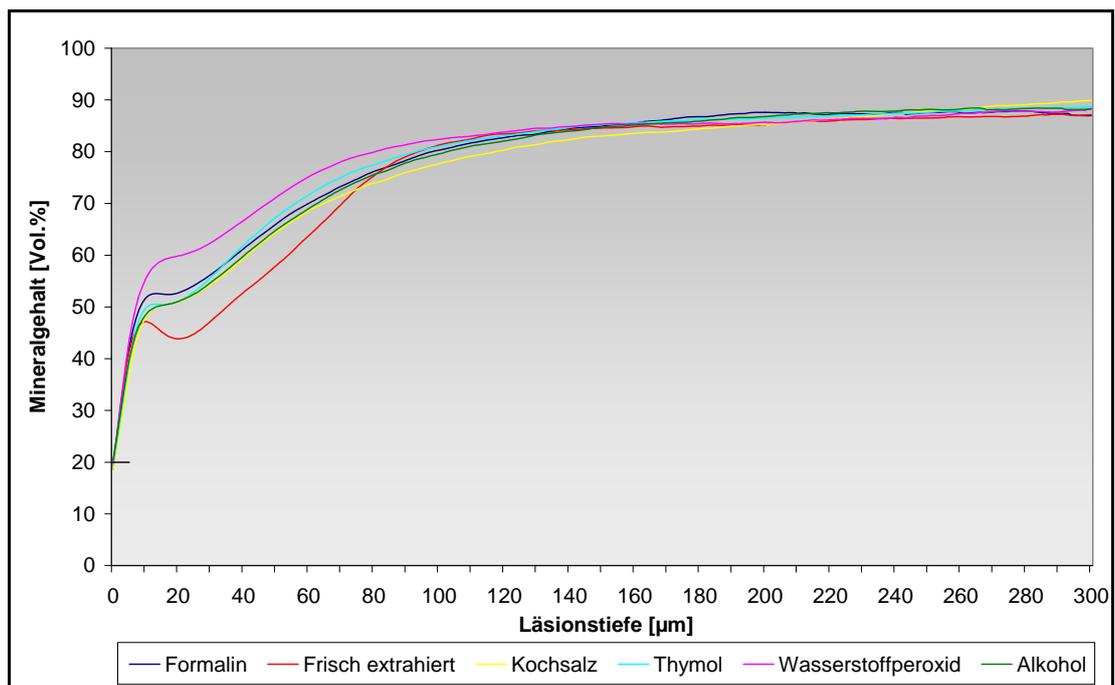


Abb. 19: Mittelwertgraf der Demineralisationsgraf aller Gruppen aus Versuch 1 (bovine Zähne).

5.2.2.2 Versuch 2 (humane Zähne)

Die Mittelwertgraf der Demineralisations- und Remineralisationskurven aus Versuch 2 wurden in den Abbildungen 20 und 21 dargestellt.

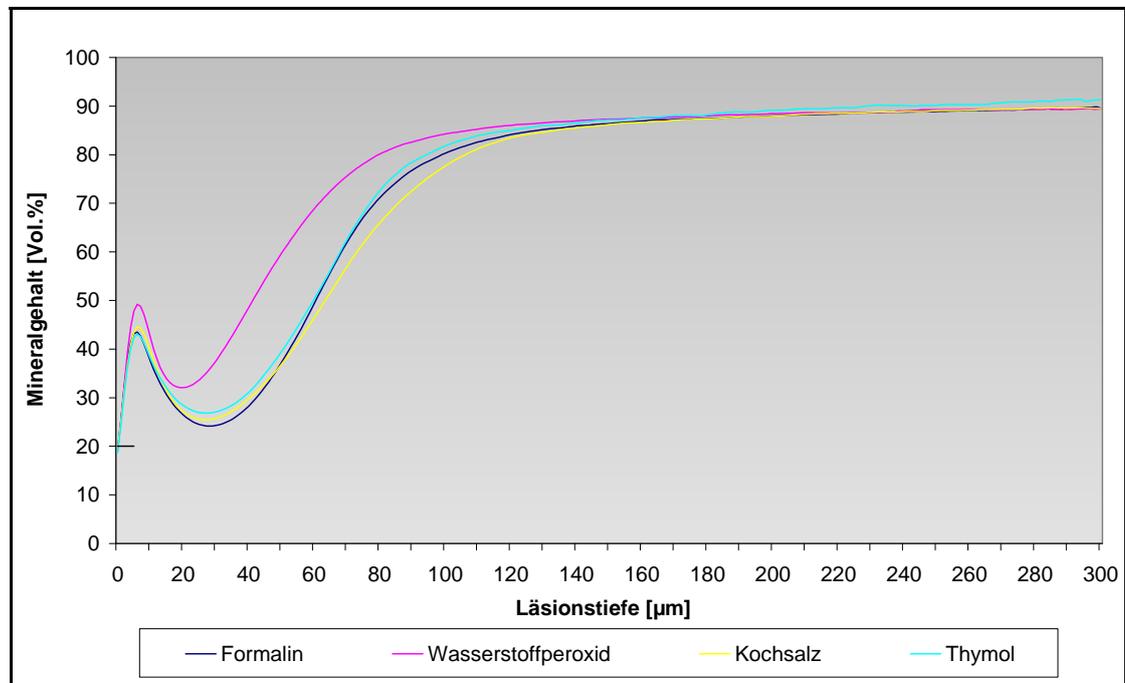


Abb. 20: Mittelwertgraf der Demineralisationskurven aller Gruppen aus Versuch 2 (humane Zähne).

Der Graf des Lagerungsmediums Wasserstoffperoxid weicht in seinem Verlauf von den restlichen Grafen ab. Der Mittelwertgraf der Gruppe Wasserstoffperoxid (rosa) in Abbildung 20 zeigt, dass die Demineralisationstiefe für diese Gruppe geringer war. Der geringere Mineralverlust war ebenfalls aus der Grafik ersichtlich. Der Peak der pseudointakten Oberflächenschicht war in der Wasserstoffperoxid-Gruppe am höchsten. Der Kontrollgraf und die Grafen der Gruppe „Thymol“ und „Formalin“ waren dagegen fast identisch.

Durch die Remineralisation der Proben näherte sich der Mittelwertgraf der Gruppe „Wasserstoffperoxid“ den anderen Grafen an. Der Mineralgehalt in der Oberflächenschicht war in allen Gruppen gleich, dies lässt sich aus dem identischen Verlauf des ersten Peaks der Grafen ableiten. Die Remineralisation führte in keiner Gruppe zu einer Hyperremineralisation (Abb. 21).

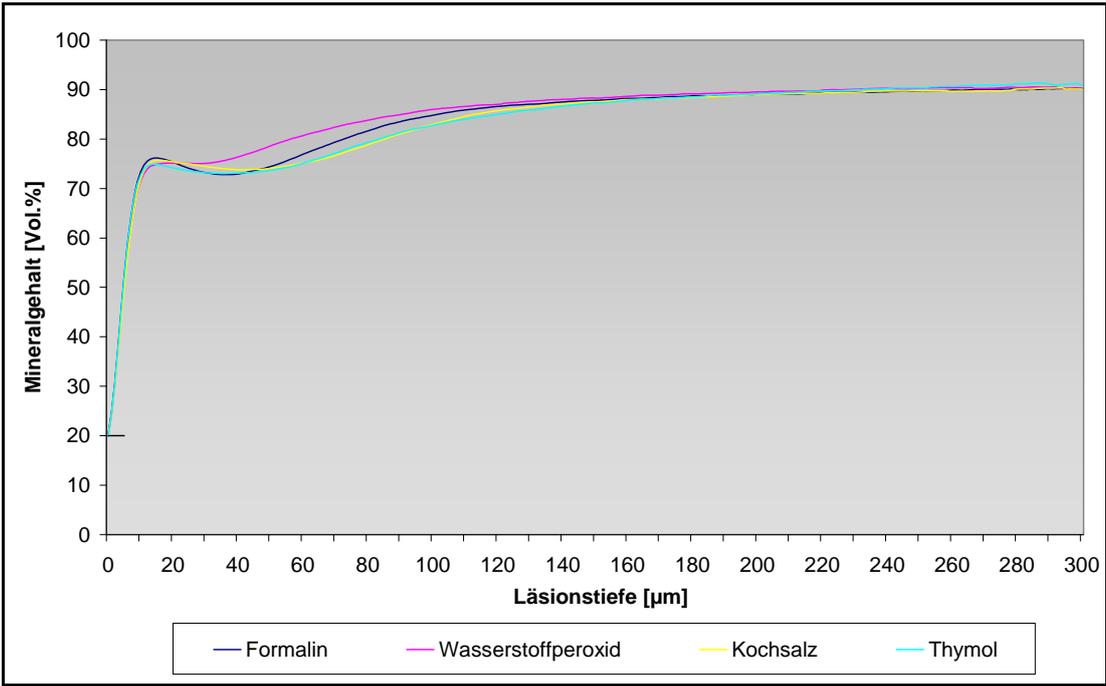


Abb. 21: Mittelwertgrafiken der Remineralisationskurven aller Gruppen aus Versuch 2 (humane Zähne).

6 Diskussion

6.1 Rinderzähne im Vergleich zu humanen Zähnen

Die Verwendung von humanen Zähnen in In-vitro- und In-situ-Versuchen ist durch die begrenzte Verfügbarkeit, lange Sammelperioden und durch das geringe Zahnhartsubstanangebot eingeschränkt. Zusätzlich variieren das Alter der Zähne und die Herkunft [MELLBERG 1992]. Bovine Zähne hingegen haben den Vorteil, dass sie in großem Ausmaß zur Verfügung stehen [ESSER *et al.* 1998]. Aus Rinderfrontzähnen lassen sich aufgrund ihrer anatomischen Größe problemlos mehrere Zahnproben gewinnen. Bovine Zähne weisen zudem eine sehr konstante und starke Schmelzdicke auf, wodurch die Verarbeitung der Zähne vereinfacht wurde [KIELBASSA *et al.* 2001]. In einer Übersichtarbeit zu den Materialkennwerten der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz wurde aufgezeigt, dass hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung der beiden Materialien eine sehr große Übereinstimmung besteht. Diskrepanzen gibt es jedoch hinsichtlich der Biegefestigkeit und der Bruchzähigkeit von humanem und bovinem Schmelz; die Werte von humanem Schmelz sind dabei kleiner als die von bovinem Zahnschmelz. Zudem konnte eine höhere Vickershärte bei bovinem als bei humanem Schmelz festgestellt werden. Die Dichte des Rinderschmelzes ist um 35 % größer als bei den humanen Zähnen [ESSER *et al.* 1998]. Auf Grund der Tatsache, dass in Studien [LEWINSTEIN *et al.* 1994, KWON *et al.* 2002, AL-QUNAIAN 2005, KIELBASSA *et al.* 2005b] neben humanen sehr oft bovine Zähne zum Einsatz kommen, wurden im Rahmen der vorliegenden Untersuchung beide Zahnmaterialien in ähnlichen Versuchen berücksichtigt.

Der Vergleich der mittleren Läsionstiefen im demineralisierten Areal von bovinen und humanen Schmelzproben (human: $85,3 \mu\text{m} \pm 27,3$; bovin: $77,7 \mu\text{m} \pm 20,97$) zeigte vergleichbare Werte, wobei diese bei den bovinen Proben in der Hälfte der Zeit erreicht wurden. In der Literatur wird die schnellere Demineralisation des bovinen Schmelzes ebenfalls beschrieben [FEATHERSTONE und MELLBERG 1981, MELLBERG 1992, ESSER *et al.* 1998]. Boviner Schmelz ist nicht so kariesresistent wie humaner Schmelz [KIELBASSA *et al.* 2002]. Erklärt werden kann dieses Phänomen durch die Korrelation der Dichte mit der Löslichkeit des Schmelzes. Demnach zeigten Schmelzproben höherer Dichte eine größere Löslichkeit und Schmelzproben niedriger Dichte eine geringere Löslichkeit

[HOPPE *et al.* 1981]. Die höhere Dichte des bovinen Schmelzes führte in der vorliegenden Studie folglich zu einer schnelleren Demineralisation.

Die pseudointakte Oberflächenschicht war bei den humanen Zähnen deutlicher zu erkennen als bei den bovinen Zähnen, dies spiegelte sich in den Einheitsgrafien der Demineralisation beider Versuche wider. Zudem zeigte der Läsionskörper bei humanem Schmelz einen geringeren Mineralgehalt. Vermutlich führte die unterschiedlich lange Demineralisation in beiden Versuchen zu diesem Effekt. Da wie bereits oben erwähnt boviner Schmelz schneller demineralisiert [KIELBASSA *et al.* 2002, KIELBASSA *et al.* 2006] und die potenzielle Gefahr besteht, bei zu langer Demineralisation die pseudointakte Oberflächenschicht zu verlieren, wurden die bovinen Proben sieben Tage demineralisiert.

6.2 Entnahmestelle

Löslichkeit und Dichte von okklusalem bzw. zervikalem Schmelz variieren. Die okklusal entnommenen Schmelzsegmente weisen eine höhere Dichte im Vergleich zu zervikalem Schmelz auf [HOPPE *et al.* 1981, SCHROEDER 2000]. Da, wie oben bereits beschrieben, eine Korrelation zwischen den Dichte- und Löslichkeitswerten besteht [HOPPE *et al.* 1981], welche einen Einfluss auf den Versuch hätte haben können, wurde, um einen zufälligen Einfluss durch unterschiedliche Entnahmestellen zu vermeiden, immer die gleiche Entnahmestelle gewählt. Der Abstand der Entnahmestelle zur Schmelzzementgrenze betrug im vorliegenden Versuch 2 mm.

6.3 Methoden zur Erzeugung artifizieller Karies

Für die Erzeugung der kariösen Initialläsion und für die Remineralisation derselben wurden in dieser Studie die De- und Remineralisationslösungen nach Buskes verwendet [BUSKES *et al.* 1985]. Wie in der Literatur beschrieben, können mit dieser Methode innerhalb von 15 Tagen artifiziell initiale Kariesläsionen erzeugt werden. Vorteil dieser Methode ist die konstante Ionenkonzentration während der De- bzw. Remineralisation (constant composition). Die Läsionsmorphologie zeigt bei dieser Methodik eine ausgeprägte Oberflächenschicht, einen demineralisierten Läsionskörper und einen hohen Mineralverlust [BUSKES *et al.* 1985]. Diese drei morphologischen Merkmale zeigten sich auch bei den Läsionen dieser Studie.

In der Literatur werden auch andere Methoden zur Erzeugung einer künstlichen Karies beschrieben. Meistens dient dabei als Grundlage Milchsäure [SILVERSTONE 1967, FRANCIS und BRINER 1973, LARSEN 1974, FEATHERSTONE *et al.* 1978].

Oft wird in der Literatur auch die Verwendung eines Demineralisationsgels zur Erzeugung einer kariösen Läsion mit einer intakten Oberflächenschicht beschrieben. Als Grundlage dient Gelatine [SILVERSTONE 1967] oder Methylcellulose [INGRAM und SILVERSTONE 1981] kombiniert mit Milchsäure. Eine Schicht Methylcellulosegel an der Schmelzoberfläche limitiert die Demineralisation durch die Milchsäure und verhindert die Bildung von Erosionen. Die entstandenen Läsionen sind mit einer initialen natürlichen Karies vergleichbar. Neben milchsäurehaltigen Gelen finden sich in der Literatur auch milchsäurehaltige Lösungen zur Induzierung kariöser Läsionen [KIELBASSA *et al.* 2001, KIELBASSA *et al.* 2005a]. Außerdem wurde eine bakterielle In-vitro-Demineralisation des Schmelzes mittels *Streptokokkus mutans* in der Literatur erwähnt [SEEMANN *et al.* 2005].

Die Wahl zur Erzeugung der künstlichen Karies fiel in dieser Studie auf die Demineralisationslösung nach Buskes, weil sie eine zuverlässige und häufig verwendete Methode darstellt [ARENDS und TEN BOSCH 1992, BUCHALLA *et al.* 2008, RIEBEN *et al.* 2008, TSCHOPPE *et al.* 2009].

6.4 Analytisches Verfahren

Als analytisches Verfahren zur Untersuchung der Läsionen wurde in dieser Studie die Kontaktmikroradiografie (TMR) gewählt. Eine Studie, welche verschiedene Analyseverfahren verglich, kam zu dem Ergebnis, dass die TMR die praktikabelste und neben der chemischen Analyse die beste Methode zur direkten und quantitativen Bestimmung des Mineralgehaltes ist [ARENDS und TEN BOSCH 1992]. Die Kontaktmikroradiografie lässt quantitative und qualitative Aussagen über die Läsion zu. Als analytisches Verfahren zur Ermittlung von Demineralisationstiefen und des Mineralverlustes in Initialkaries gilt die Kontaktradiografie als Goldstandard [ANDO *et al.* 2001]; deshalb wurde sie zur Auswertung in der vorliegenden Studie herangezogen.

Alternativ zu diesem Verfahren könnte die Mikrohärtigkeit der demineralisierten Proben mittels eines Stempeldruckes gemessen werden. Mit der CSMH (cross-sectional microhardness) Technik wird die kariöse Läsion senkrecht zu ihrem

Querschnitt erfasst und kann damit tiefenprofilmetrisch untersucht werden. Dieser Technik liegt die Theorie zu Grunde, dass Veränderungen im Mineralgehalt mit der Härte korrelieren [FEAGIN *et al.* 1969]. Diese lineare Korrelation zwischen der Knoophärte und des Mineralvolumens bei demineralisiertem Schmelz wurde in der Literatur beschrieben [FEATHERSTONE *et al.* 1983, KIELBASSA *et al.* 1999]. Diese Studien schlussfolgerten, dass die CSMH-Methode zu ähnlichen Ergebnissen wie die TMR-Methode führt [FEATHERSTONE *et al.* 1983]. Eine andere Quelle gab keine Empfehlung, die Mikrohärtigkeit in Mineralgehalt umzurechnen, da die Zuverlässigkeit dieser linearen Korrelation nicht im vollen Maße gewährleistet ist, insbesondere bei Schmelzproben mit einem geringeren Mineralgehalt [BUCHALLA *et al.* 2008].

Eine weitere Methode ist die Fluoreszenz-Technik. Grundlage dieser Technik ist eine Anregung zur Fluoreszenz des zu untersuchenden Materials durch kurzwelliges Licht. Das nach der Absorption emittierte Licht ist immer langwelliger und energieärmer und lässt Rückschlüsse auf Veränderungen im Material zu. In kariösem Schmelz ist eine geringere Fluoreszenz zu messen. Ursache für diese Abnahme ist der sinkende Brechungsindex von trockenem kariösem Schmelz. Gesunder Schmelz erscheint aufgrund der geringeren Poren transluzenter als kariöse Areale.

Haupteinsatzgebiet der Quantitative light-induced Fluorescence-Methode (QLF) ist aufgrund des nicht destruirenden Verfahrens die In-vivo-Verlaufskontrolle von Initialläsionen an Glattflächen [AL-KHATEEB *et al.* 1998, AL-KHATEEB *et al.* 2000, TRANAEUS *et al.* 2001, ZANTNER *et al.* 2006]. Bei einem Vergleich zur TMR-Methode konnte bezüglich des Mineralverlustes eine Korrelation zur QLF-Methode mit $r = 0,70$ angegeben werden [HALL *et al.* 1997].

6.5 Kontrollgruppen

Für Versuch 1 wurden als Kontrollgruppe frisch extrahierte bovine Schneidezähne gewählt. Frisch extrahierte Zähne, die ohne längere Lagerung sofort in den Versuch mit einbezogen werden, unterliegen keinem Einfluss der Lagerung und können somit als Goldstandard angesehen werden. Rinderzähne zeichnen sich im Allgemeinen dadurch aus, dass sie geringeren Umwelteinflüssen unterliegen und dass Störfaktoren wie bei humanen Zähnen, z. B. unterschiedliche post eruptive Fluoraufnahme aus der Nahrung, Zahnpasten und Prophylaxemaßnahmen, unterschiedliches Zahnalter und

unterschiedlicher Abrasionsgrad entfallen [SCHROEDER 2000]; somit kann eine homogenere artifizielle Karies erzeugt werden [MELLBERG 1992, ESSER *et al.* 1998]. Zudem sind schlachtfrische Rinderzähne in größeren Mengen verfügbar.

Bei humanen Zähnen ist eine sofortige Weiterverarbeitung von frisch extrahierten Zähnen auf Grund der erforderlichen hohen Stückzahl problematisch. Ein Ziel des ersten Versuches war es, für den zweiten Versuch eine Alternative zu frisch extrahierten Zähnen als Kontrollgruppe zu finden. Nach den Ergebnissen von Versuch 1 gab es zwischen den Gruppen „frisch extrahiert“, „Thymol“ und „Physiologische Kochsalzlösung“ keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Läsionstiefen und den Mineralverlust. Allerdings hat Thymol einen denaturierenden Einfluss auf Proteine [WALLHÄUßER 1988] und könnte somit möglicherweise die organische Komponente des Schmelzes beeinflussen. Im Gegensatz dazu enthält die physiologische Kochsalzlösung keine Zusätze, die einen Einfluss haben könnten. Aus diesen Gründen wurde die Gruppe „Physiologische Kochsalzlösung“ als Kontrollgruppe im Versuch 2 gewählt.

Wie aus Abbildung 14 im Kapitel „Ergebnisse“ zu ersehen ist, führte die Remineralisation in Versuch 2 bei wenigen Proben nicht zu einer Verringerung der Läsionstiefe, sondern ließ diese sogar ansteigen. Dies ist aus den negativen Werten der Läsionstiefendifferenz ersichtlich. Bei der optischen Betrachtung der de- und remineralisierten Proben ist bei all diesen Proben ein deutliches Auffüllen des Läsionskörpers im remineralisierten Bereich erkennbar, was sich durch einen deutlich opakeren Läsionskörper zeigt (Abb. 22; Anhang). Dementsprechend konnte durch die Remineralisation bei allen Proben, auch bei denen, die eine negative Läsionstiefendifferenz zeigten, ein Anstieg des Mineralvolumens beobachtet werden. Es ist deshalb auszuschließen, dass keine Remineralisation stattfand. Allerdings fällt bei näherer Betrachtung des remineralisierten Bereiches auf, dass es qualitativ zu einer „Auflockerung“ des Schmelzgefüges im Bereich des Überganges zwischen Läsionskörper und gesundem Schmelz gekommen ist. Diese Auflockerung des Schmelzgefüges führt somit zur Vermutung, dass es nicht nur zu einer Remineralisation von außen über die Remineralisationslösung in den Lösungskörper gekommen ist, sondern dass sich Ionen (Calcium- und Phosphationen) auf Grund eines Ionengradienten aus gesundem Schmelz gelöst haben und in den stark

demineralisierten Läsionskörper diffundiert sind. Dieser Vorgang des „Auffüllens“ des Läsionskörpers von innen ist jedoch spekulativ und sollte Gegenstand weiterer Grundlagenforschung im Bereich der Remineralisation sein.

6.6 Physiologische Kochsalzlösung

In der Literatur sind nach Lagerung in physiologischer Kochsalzlösung vereinzelt Veränderungen im Schmelz beschrieben worden, wie beispielsweise Verlust an Oberflächenhärte [MÜHLEMANN 1964, RUEGGERBERG 1991]. In der vorliegenden Studie konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der gemessenen Parameter Läsionstiefe und Mineralverlust zwischen Zähnen, die in physiologischer Kochsalzlösung gelagert worden waren, zu Zähnen die keiner Lagerung ausgesetzt waren, gefunden werden (Versuch 1).

In Versuch 2 wurde physiologische Kochsalzlösung als Kontrollgruppe verwendet, da es in den Praxen nicht realisierbar ist, eine große Anzahl von frisch extrahierten, möglichst kariesfreien, humanen Zähnen ohne Zwischenlagerung zu sammeln.

Allerdings spielt das Vermeiden einer starken Geruchsbildung bei der Aufbewahrung von Zähnen eine wichtige Rolle. Der unangenehme Geruch, der bei der Lagerung von Zähnen in physiologischer Kochsalzlösung entsteht, erwies sich als großes Problem bei der Kooperation mit den sammelnden Zahnärzten.

6.7 Formalin und Alkohol

Sowohl im ersten als auch im zweiten Versuch konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Alkohol und Formalin und der Kontrollgruppe in Bezug auf die Läsionstiefe und den Mineralverlust festgestellt werden. Aufgrund der fast identischen Ergebnisse bei beiden Gruppen (Formalin und Alkohol) im ersten Versuch wurde im zweiten Versuch auf das Lagerungsmedium Alkohol verzichtet. Ein weiterer Grund für den Verzicht auf die Alkoholgruppe war auch die Tatsache, dass Alkohol im Gegensatz zu Formalin eine Wirkungslücke im Bereich der Sporen hat [MCDONNELL und RUSSELL 1999] und somit unter diesen beiden Medien das Formalin als zu präferierendes Lagerungsmedium erschien. Um die Problematik des abnehmenden pH-

Wertes [SILVERSTONE 1967] zu umgehen, wurde in dieser Studie nur gepufferte Formalinlösung verwendet.

Obwohl sich in der vorliegenden Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen in Formalin und - bei bovinen Zähnen auch in Alkohol - gelagerten Zähnen zu den Kontrollgruppen zeigte, finden sich in der Literatur durchaus Hinweise für einen Einfluss dieser Medien auf die Eigenschaften des Dentins. Dentin wird aufgrund des größeren organischen Anteils von Alkohol und Formalin beeinflusst, da Alkohol und Formalin im organischen Anteil als Fixativum wirken [LEONARDT 1985, GOODIS *et al.* 1991, GOODIS *et al.* 1993]. Deshalb können Zähne, die in Formalin und Alkohol gelagert wurden, nicht in Studien über Dentinadhäsive verwendet werden, weil durch die Lagerung Messungen bezüglich Bondinghaftkraft an das Dentin verfälscht würden [KIMURA *et al.* 1985, COOLEY und DODGE 1989, RETIEF *et al.* 1989, HALLER *et al.* 1993]. Ob die fixative Wirkung ebenfalls einen Einfluss auf die Demineralisation des Dentins hat, sollte untersucht werden. Für die Zahnhartsubstanz Schmelz ließen sich in der Literatur keine Quellen finden, die einen Einfluss des Alkohols bzw. Formalins auf den Schmelz beschreiben. Es kann vermutet werden, dass Schmelz in der vorliegenden Studie von der fixativen Wirkung des Alkohols und des Formalins deshalb unbeeinflusst blieb, weil es einen geringeren organischen Anteil hat.

Obwohl Formalin als Lagerungsmedium für Schmelz geeignet erscheint, kann eine generelle Empfehlung zur Verwendung dieses Lagerungsmediums nur bedingt gegeben werden, da eine mögliche anderweitige Verwendung der Dentinanteile der oft mühsam ersammelten Zähne unmöglich wird.

6.8 Wasserstoffperoxid

In der Zone der Demineralisation konnte in der vorliegenden Studie ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe der humanen Zähne, welche in Wasserstoffperoxid lagerten, und der Kontrollgruppe festgestellt werden. Sowohl die Läsionstiefe als auch der Mineralverlust waren in dieser Gruppe signifikant kleiner als bei den Zähnen der Kontrollgruppe ($p < 0,0005$; Kontraste). Bei bovinem Schmelz wurden zwar keine signifikanten Unterschiede gefunden, jedoch zeigte sich beim Paarvergleich ein tendenzieller Unterschied hinsichtlich des Parameters Mineralverlust. Zudem war qualitativ sowohl bei humanem als auch bei bovinem Material zu

beobachten, dass die Läsionen im Vergleich zu allen anderen Gruppen weniger stark demineralisiert erschienen.

Bevor man jedoch den Effekt in der Demineralisationszone betrachtet, sollte der Kontrollbereich der Wasserstoffperoxidgruppe mit dem Kontrollbereich der Kontrollgruppe verglichen werden. Der gesunde Kontrollbereich jeder Probe war dem jeweiligen Lagerungsmedium ausgesetzt, wurde aber durch den Nagellack der De- und Remineralisation entzogen. Vergleicht man den Mineralverlust und die Läsionstiefen des Kontrollbereiches von der Gruppe „Wasserstoffperoxid“ mit den Kontrollgruppen (Kochsalz und „frisch extrahiert“), so war kein signifikanter Unterschied erkennbar. Die alleinige Lagerung in 3 %igem Wasserstoffperoxid hatte also nicht bereits während der Lagerung zu einer Veränderung des Mineralgehaltes geführt. Die Zähne zeigten jedoch eine optische Bleichung, deshalb erscheint ein Vergleich der Ergebnisse mit den Ergebnissen von Bleichstudien sinnvoll.

Viele in der Literatur zugängliche Bleichstudien [MURCHISON *et al.* 1992, ROTSTEIN *et al.* 1996, SMIDT *et al.* 1998, POTOČNIK *et al.* 2000, LOPES *et al.* 2002, LEWINSTEIN *et al.* 2004, UNLU *et al.* 2004, ATTIN *et al.* 2005, DA COSTA und MAZUR 2007, DE MENEZES *et al.* 2007, MAIA *et al.* 2008] untersuchten die Wirkung von Carbamidperoxid auf den Schmelz. Da 10 %iges Carbamidperoxid während des Bleichens in 3 %iges Wasserstoffperoxid und Harnsäure dissoziiert [BASTING *et al.* 2001, JOINER 2007], ist der Vergleich der vorliegenden Studie auch mit Studien, die Carbamidperoxid verwendet haben, interessant. Ob das Bleichmittel einen Einfluss auf die Eigenschaften des Schmelzes, wie beispielsweise die Mikrohärtigkeit und den Mineralgehalt hat, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Einige Studien beschrieben, dass nach dem Bleichen keine Veränderungen hinsichtlich des gesunden Schmelzes beobachtet werden konnten, wobei diese Studien Carbamidperoxid und Mikrohärtigkeitsmessungen bei gebleichtem und ungebleichtem gesundem Schmelz verwendeten [MURCHISON *et al.* 1992, POTOČNIK *et al.* 2000, UNLU *et al.* 2004, DE MENEZES *et al.* 2007, MAIA *et al.* 2008]. Andere Untersuchungen konnten sogar eine gestiegene Härtezunahme feststellen [FRUCHT S. 2000, DE OLIVEIRA *et al.* 2003]. Die Autoren erklärten sich die Mikrohärtigkeitszunahme des Schmelzes mit einer durch das Bleichen verursachten Dehydratation. Im Gegensatz dazu gibt es aber auch Studien, die eine Abnahme der Mikrohärtigkeit und einen Verlust an Kalzium nach dem Bleichen mit

Carbamidperoxid aufzeigten [ROTSTEIN *et al.* 1996, SMIDT *et al.* 1998, LOPES *et al.* 2002, LEWINSTEIN *et al.* 2004, ATTIN *et al.* 2005, DA COSTA und MAZUR 2007].

Der Versuchsaufbau der vorliegenden Untersuchung ist jedoch nur bedingt mit dem einer Bleichstudie vergleichbar. Die Parameter Einwirkungsdauer, Konzentration und pH-Wert des Lagerungsmediums unterscheiden sich von den Parametern eines Bleichmittels. In der vorliegenden Untersuchung umfasste die Lagerungsdauer mehrere Monate, im Gegensatz dazu beträgt beim Bleichen die Applikationsdauer nur wenige Minuten bis maximal eine Stunde. Auch hinsichtlich der Konzentration bestehen Unterschiede: In Experimenten mit Bleichmitteln [POTOCNIK *et al.* 2000, LEWINSTEIN *et al.* 2004, UNLU *et al.* 2004, PRETTY *et al.* 2005] werden meist höhere Konzentrationen angewandt. Des Weiteren verliert Wasserstoffperoxid aufgrund der chemischen Instabilität schnell seine Wirkung [WALLHÄUßER 1988] und dadurch war seine Konzentration während der Lagerung wahrscheinlich nicht konstant. Bei der Bleichtherapie dagegen hat der Schmelz einen Kontakt zu Wasserstoffperoxid von maximal ein bis zwei Stunden, in einem sog. In-Office-Bleaching nur wenige Minuten bei konstanter Konzentration und vorgegebenem pH-Wert. Publikationen konnten zeigen, dass die Parameter Zeit, Konzentration und der pH-Wert einen Einfluss auf die Mikrohärtigkeit des Schmelzes haben [DE MENEZES *et al.* 2007, ZANTNER *et al.* 2007].

Im Gegensatz zum gesunden Bereich des Schmelzes wurden in der vorliegenden Studie jedoch die Ergebnisse im demineralisierten Bereich durch das Lagerungsmedium Wasserstoffperoxid beeinflusst. In der verfügbaren Literatur wird diskutiert, ob die Kariesanfälligkeit durch Bleichen erhöht wird, da die in manchen Studien beobachtete Reduzierung der Oberflächenhärtigkeit [LOPES *et al.* 2002] mit einer erhöhten Kariesanfälligkeit in Verbindung gebracht wird. Es finden sich in der verfügbaren Literatur jedoch nur wenige Studien, in welchen die Zahnoberfläche zusätzlich nach dem Bleichen demineralisiert und anschließend analysiert wurde [AL-QUNAIAN 2005, PRETTY *et al.* 2005, DE MENEZES *et al.* 2007]. Mit 35 %igem Wasserstoffperoxid gebleichter Schmelz zeigte nach einer viertägigen mikrobiell induzierten In-vitro-Demineralisation keine erhöhte Kariesanfälligkeit. Die Auswertung erfolgte durch ein Konfokales Laser Raster Mikroskop [AL-QUNAIAN 2005]. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam man in einer anderen In-vitro-Studie, in der Carbamidperoxid (10-22 %) zum Bleichen der Zähne Verwendung fand. Nach Auswertung mit der TMR-Methode konnte

kein höheres Risiko für eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber kariösen Attacken erkannt werden [PRETTY *et al.* 2005]. In einer anderen Studie wurde ebenfalls die Anfälligkeit für Karies bei gebleichtem und ungebleichtem Schmelz verglichen. Als Bleichmittel diente 10 %iges Carbamidperoxid. Nach dem Bleichen wurde sowohl in den gebleichten als auch in den ungebleichten Zähnen eine künstliche Karies angelegt und anschließend im Hinblick auf Läsionstiefe und Mineralverlust mit der TMR-Methode untersucht. Es wurden weder bei der Tiefe der Läsion noch beim Mineralverlust Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt. Die Autoren folgerten daraus, dass gebleichter Schmelz keinem höheren Kariesrisiko ausgesetzt ist [GANß 1997]. Es findet sich in der Literatur auch eine Studie [DE MENEZES *et al.* 2007], die eine verringerte Kariesanfälligkeit nach Bleichen aufzeigte. Schmelzproben wurden erst durch unterschiedliche Konzentrationen von Carbamidperoxid über 21 Tage gebleicht. Eine Kontrollgruppe blieb ungebleicht. Anschließend wurden die Proben demineralisiert. Bei Schmelzproben, die in 16 %igem Carbamidperoxid gebleicht und anschließend demineralisiert wurden, konnte eine höhere Knoophärte festgestellt werden im Vergleich zur ungebleichten demineralisierten Kontrollgruppe [DE MENEZES *et al.* 2007]. Die Autoren vermuteten, dass die höhere Viskosität des 16 %igem Carbamidperoxidgels die Penetration verminderte und dadurch die Demineralisation reduziert wurde. Die Tatsache, dass dieses Ergebnis sich mit der in der vorliegenden Studie gemachten Beobachtung deckt, lässt diese Theorie jedoch fraglich erscheinen, da in der vorliegenden Untersuchung keine viskösen Gele verwendet wurden.

Obwohl sich in der Literatur ähnliche Phänomene finden ließen, ist die Ursache für diese Beobachtung unklar. Möglicherweise bewirkte die stark verlängerte Einwirkungszeit und die geringe Konzentration des Lagerungsmediums eine Veränderung der Zahnoberfläche. Bei Betrachtung der einzelnen Demineralisationsgrafiken und des Einheitsgrafiken von Wasserstoffperoxid (Abb. 20) fällt im Gegensatz zu den übrigen Gruppen ein charakteristischer höherer Oberflächenpeak und ein steilerer Anstieg vom Läsionskörper in den gesunden Schmelz auf. Die während der Demineralisation beobachtete, stärker mineralisierte pseudointakte Oberflächenschicht könnte eine Barriere für den Ionenaustausch und somit eine Ursache für die Hemmung der Demineralisation sein. Obwohl Oberflächenveränderungen in der Kontrollzone mit der TMR-Methode nicht festgestellt werden konnten, waren nach der Demineralisation die intakte Oberflächenschicht und die dunkle Zone stärker mineralisiert. Dies gibt

Anlass zur Vermutung, dass Wasserstoffperoxid möglicherweise einen Einfluss auf die Schmelzstruktur gehabt haben könnte. Ob dieser eher auf die anorganische Komponente durch den saueren Charakter von Wasserstoffperoxid oder auf die organische Komponente durch oxidative Wirkung des Wasserstoffperoxids erfolgt, ist unklar. Eine Studie, in der spektroskopische Analysen im Dentin nach der Behandlung mit 30 %igem Wasserstoffperoxid durchgeführt wurden, zeigte, dass es zu einer Denaturierung von Proteinen durch die oxidativen Prozesse kam [JIANG *et al.* 2007]. Eine andere Studie zeigte nach In-office-Bleichen des Schmelzes eine Abnahme der Protein- und Polysaccharidkonzentration, eine Veränderung der Sekundärstruktur von Proteinen, sowie eine Abnahme des Verhältnisses Mineral zu Protein und eine Abnahme der Wasserstoffbindungen im Bereich der NH-Gruppen [SEVERCAN *et al.* 2008]. In welcher Form diese Beeinflussung des Schmelzes in der vorliegenden Studie erfolgte, bleibt jedoch unbekannt. Ob oxidative Prozesse, Denaturierung organischer Bestandteile oder die Veränderungen des pH-Wertes während der Lagerung eine Ursache für dieses Ergebnis sind, ist spekulativ. Das Ergebnis des geringeren Mineralverlustes ist in Bezug auf Bleichstudien interessant und sollte in weiteren Studien Berücksichtigung finden.

Die gemessenen Parameter der Remineralisation (Mineralgewinn und Remineralisationstiefe) wurden nicht mit absoluten Werten zur Kontrollgruppe verglichen, da bei einer geringeren Demineralisation (Läsionstiefe bzw. Mineralverlust) eine geringere Remineralisation (Remineralisationstiefe, Mineralgewinn) zu erwarten ist. Um dennoch eine Aussage über den Einfluss des Lagerungsmediums auf die Remineralisation treffen zu können, wurden der Mineralverlust (Vol.-% \times μm) und die Demineralisationstiefe (μm) in den unterschiedlichen Gruppen auf 100 % gesetzt. Das Lagerungsmedium Wasserstoffperoxid führte zu keiner signifikanten Beeinflussung des Mineralgewinns und der Remineralisationstiefe.

6.9 Thymol

Thymol wird häufig als antibakterieller Zusatz in Lagerungslösungen für Zähne verwendet [CAUSTON und JOHNSON 1979, AQUILINO *et al.* 1987, GOODIS *et al.* 1991, GOODIS *et al.* 1993, HALLER *et al.* 1993]. Die Lagerung der Zähne in 0,1 %iger Thymollösung führte in der vorliegenden Studie zu keiner signifikanten Beeinflussung

der untersuchten Parameter. In der verfügbaren Literatur ließen sich keine Quellen zum Einfluss von Thymol auf die De- und Remineralisation von Schmelz finden. Allerdings erwies sich Thymol ungeeignet als Lagerungsmedium hinsichtlich kariologischer Versuche mit humanem Dentin, wobei es zu einer signifikant geringeren Läsionstiefe und zu einem signifikant geringeren Mineralverlust kam [RIEBEN *et al.* 2006].

Wie bereits erwähnt, beeinflusst Thymol Proteine [WALLHÄUßER 1988]. Jedoch zeigt der Schmelz im Gegensatz zu Dentin einen wesentlich geringeren organischen Anteil (Schmelz: 1 Gew.% und Dentin: 20 Gew.% organischer Anteil) [SCHROEDER 2000]. Dieser Unterschied in der chemischen Zusammensetzung könnte das unterschiedliche Demineralisations- und Remineralisationsverhalten von Schmelz und Dentin nach Lagerung in Thymol erklären. Der geringere Proteinanteil im Schmelz führte wahrscheinlich dazu, dass dieser unbeeinflusst durch die In-Vitro-De- und Remineralisation blieb.

Zudem ist Thymol als Phenolderivat ein bekannter Inhibitor der Polymerisation von Methacrylaten und scheint für Komposite-Studien als Lagerungsmedium ungeeignet [FUJISAWA und KADOMA 1992].

Betrachtet man die Erzeugung von Initialkaries isoliert, scheint Thymol diese nicht zu beeinflussen. Da aber in vielen in der Literatur befindlichen Studien die Versuchsaufbauten komplexer gestaltet sind, sollte das Lagerungsmedium sorgfältig auf den Versuchsaufbau abgestimmt werden. Bei Studien, in denen Kunststoff eine Rolle spielt (Bondinghaftkraftstudien, Randspaltstudien bei Kunststofffüllungen oder Kariesinfiltrationsstudien), sollte auf Thymol als Lagerungsmedium verzichtet werden.

6.10 Politur

Die Schmelzproben wurden in Kunstharz eingebettet und unter ständiger Wasserkühlung mittels Schleifpapier mit aufsteigender Körnung planpoliert. Diese in der vorliegenden Studie angewandte Planpolitur ist bei standardisierten mikroradiografischen Auswertungen üblich [FEATHERSTONE *et al.* 1983, BERGSTROM *et al.* 1984, KIELBASSA *et al.* 2005a, KIELBASSA *et al.* 2006], da eine plane Oberfläche des Schmelzes eine exakte Auswertung der Proben mittels der Mikroradiografie ermöglicht [MELLBERG 1992]. Der mittlere Substanzabtrag bei der Handpolitur lag im Bereich von 150 bis 200 µm.

Um Fehler oder Unterschiede in der Handpolitur zu vermeiden, d.h. keinen unterschiedlichen Substanzabtrag in den verschiedenen Gruppen zu erhalten, wurde der Substanzabtrag der Politur erfasst. Der möglicherweise störende Einfluss der Politur konnte somit statistisch mitberücksichtigt werden (Kovariate). Der Einfluss der Politur trat in Versuch 1 nicht signifikant in Erscheinung. In Versuch 2 beeinflusste die Politur den Mineralgewinn signifikant, die Läsionstiefe und den Mineralverlust sogar höchst signifikant. Die Läsionstiefendifferenz wurde durch die Politur nicht beeinflusst.

Es bestand eine positive Korrelation, d.h. ein erhöhter Substanzabtrag bedingte eine geringfügig tiefere Läsion und einen höheren Mineralverlust im demineralisierten Bereich und einen höheren Mineralgewinn im remineralisierten Bereich. Dieser geringe, aber signifikante Einfluss der Politur in dieser Studie muss jedoch kritisch gesehen werden. Bei Betrachtung der Werte und Standardabweichungen, speziell bei den Mineralverlusten, lag eine große Streuung vor. Diese lässt sich auch bei näherer Betrachtung der Streudiagramme deutlich erkennen, wobei die Messpunkte sehr weit um die errechnete lineare Anpassungslinie divergieren und es sich einige Ausreißerwerte zeigen (Abb. 13). Zudem sind die Korrelationskoeffizienten der linearen Beziehung zwischen den gemessenen Parametern niedrig. Zusätzlich muss bedacht werden, dass in der vorliegenden Studie im zweiten Versuch eine ungewöhnlich große Probenanzahl verwendet wurde. Dies führte dazu, dass auch sehr kleine Effekte signifikant wurden.

Der Effekt, dass ein Substanzabtrag zu einer geringfügig tieferen Läsion und zu einem größeren Mineralverlust führte, wurde auch in der zugänglichen Literatur erwähnt. Die Politur bewirkte bei bovinen Zähnen einen Anstieg der Demineralisation gegenüber nicht polierten Zähnen [KIELBASSA *et al.* 2002]. Erklärt werden könnte dieser Effekt durch die unterschiedlichen Fluoridkonzentrationen in den Schmelzschichten [WEATHERELL *et al.* 1973]. Ein Abtragen der fluoridreichen Oberflächenschicht bei gesunden humanen Zähnen hat zur Folge, dass die Demineralisation an einer Schmelzschicht mit einer geringeren Fluoridkonzentration stattfindet. Ein Substanzabtrag von 150 µm durch die Politur führt nicht nur zu einem Anstieg der Demineralisationstiefe, sondern beeinflusst auch die Abrasion des Schmelzes. Der Verlust der obersten Schmelzschicht und der Schmierschicht hatte in einer Studie zur Folge, dass es zu einer höheren Abrasion auf der polierten Oberfläche des Schmelzes

durch zahlreiche Bürstenstriche kam. Dies wurde damit erklärt, dass die kristallreiche Oberflächen- und Schmierschicht durch die Politur entfernt wurde [KIELBASSA *et al.* 2005a].

In einer Studie, die sowohl die gleiche Demineralisationsmethode als auch das gleiche Auswertungsverfahren wie in der vorliegenden Studie anwendete, konnte bei einem Substanzabtrag von 200-400 μm keine Beeinflussung der In-Vitro-Demineralisation durch die Politur bei menschlichen und bovinen Zähnen festgestellt werden. Hingegen konnte eine Hemmung der Demineralisation bei poliertem und zusätzlich bestrahltem bovinen Schmelz verzeichnet werden [KIELBASSA *et al.* 2006]. Die Autoren fanden jedoch eine, durch die Politur bedingte gleichmäßigere Demineralisation bei nicht bestrahlten Rinderzähnen. Die Beobachtung, dass Läsionen von polierten Zähnen (Abtrag 500 μm) tiefer und gleichmäßiger im Vergleich zu der unpolierten Kontrollgruppe sind, ist aus einer früheren Studie bekannt [DE GROOT *et al.* 1986]. Ein Substanzabtrag von 100 μm hatte auch tiefere Läsionen zur Folge, wobei der Mineralgehalt der Demineralisation nicht konstant war [MACPHERSON *et al.* 1991]. Bei einem Substanzabtrag von nur 50-100 μm an bovinem Schmelz konnte kein wesentlicher Unterschied in Bezug auf die Tiefe der erzeugten Karies festgestellt werden [FEATHERSTONE und MELLBERG 1981].

Für Forschungszwecke ist es von Bedeutung, konstante Läsionen mit geringfügigen Variationen in der Läsionstiefe und Mineralverlust mit einer intakten Oberflächenschicht vorhersagbar erzeugen zu können. Auf Grund der konstanteren Läsionen und besseren Auswertung der planen Oberfläche ist es sinnvoll, die Schmelzoberfläche zu polieren. Festzuhalten ist, dass sowohl die Größe des Substanzabtrages [DE GROOT *et al.* 1986, MACPHERSON *et al.* 1991], der Ursprung des Zahnmaterials [KIELBASSA *et al.* 2002, KIELBASSA *et al.* 2006] als auch die Demineralisationsmethode [SILVERSTONE 1967, BUSKES *et al.* 1985] einen Einfluss auf die entstehende Läsion haben. Deshalb ist die Größe des Substanzabtrages auf den Ursprung des Zahnmaterials und auf die Demineralisationsmethode mit dem jeweiligen pH-Wert abzustimmen.

Um den Störfaktor des politurbedingten Abtrags in zukünftigen Studien völlig auszuschließen, müsste der Abtrag bei allen Proben gleich sein. Es besteht theoretisch die Möglichkeit, den Substanzabtrag bei der Politur zu standardisieren. Dieser

einheitliche Substanzabtrag ist mit der Politur per Hand nicht zu erreichen. Hierzu wäre eine maschinelle Politur der Proben, ähnlich wie bei der exakten Herstellung der Dünnschliffpräparate, mit einer Schleifmaschine und mit Schleifpapier aufsteigender Körnung notwendig. Der gezielte, einheitliche Substanzabtrag könnte erfasst und bei der statistischen Auswertung mit einbezogen werden. Theoretisch wäre dies eine sichere Lösung, den Einfluss der Politur zu eliminieren. Die zusätzlichen Arbeitsschritte und der daraus resultierende zeitliche Mehraufwand stehen aber in keinem Verhältnis zu dem doch relativ kleinen Einfluss durch den Abtrag.

7 Schlussfolgerung

Lediglich bei den in 3 %igem Wasserstoffperoxid gelagerten humanen Schmelzproben waren nach der Demineralisationsphase eine signifikant geringere Läsionstiefe und ein geringerer Mineralverlust in den artifiziell erzeugten kariösen Läsionen zu beobachten. Der Vergleich der in den übrigen Lösungen gelagerten bovinen und humanen Schmelzproben mit der jeweiligen Kontrollgruppe erbrachte diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede nach De- bzw. Remineralisation. Das Ergebnis des geringeren Mineralverlustes bei Proben, die zuerst mit Wasserstoffperoxid behandelt wurden und anschließend demineralisiert wurden, sollte in weiteren Studien Berücksichtigung finden. Der Prozess der Remineralisation blieb unbeeinflusst. Die Nullhypothese, dass die Lagerungsmedien keinen Einfluss auf die De- und Remineralisation haben, muss also für das Lagerungsmedium Wasserstoffperoxid abgelehnt werden.

Im Allgemeinen sollte sich bei Zähnen die Wahl des richtigen Lagerungsmediums nach dem Verwendungszweck der Zähne in den speziellen Versuchen richten. Schon vor dem Sammeln der Zähne muss der Verwendungszweck definiert sein. Wenn von extrahierten Zähnen nur der Schmelz zu kariologischen Forschungszwecken benötigt wird, scheinen alle untersuchten Lagerungsmedien bis auf Wasserstoffperoxid verwendbar. Formalin und Alkohol sind dabei auf Grund ihrer antibakteriellen Wirkung zu bevorzugen. Eine zukünftige Studie wäre notwendig, sowohl die quantitative als auch die qualitative Keimbestimmung in den verschiedenen Lagerungsmedien während der Sammelperiode zu dokumentieren.

Die Einflussgröße „Politur“ hatte in Bezug auf die untersuchten Parameter bei humanen Zähnen einen signifikanten Einfluss. Die Arbeitshypothese, dass die Planpolitur einen Einfluss auf die De- und Remineralisation hat, kann bei humanen Zähnen bejaht werden. Bei kritischer Analyse der Ergebnisse ist dieser Einfluss aber äußerst geringfügig. Um diesen Einfluss des Substanzabtrags zu erfassen, müsste bei jeder polierten Probe der Abtrag erfasst und dokumentiert werden, allerdings scheint diese Prozedur im Vergleich zum Nutzen unverhältnismäßig zu sein.

8 Zusammenfassung

8.1 Deutsche Zusammenfassung

Die vorliegende In-vitro-Studie untersuchte in zwei Versuchsreihen den Einfluss von Lagerungsmedien auf die Demineralisation von bovinem Schmelz bzw. auf die De- und -Remineralisation von humanem Schmelz; zusätzlich wurde der Substanzabtrag durch die Planpolitur der Zahnproben gemessen und als Kovariate in die statistischen Berechnungen aufgenommen.

Im ersten Versuch wurden 80 Rinderzähne randomisiert auf fünf Lösungen (Kochsalzlösung 0,9 %, Formalin 10 % neutral gepuffert, Isopropylalkohol 70 %, Wasserstoffperoxid 3 %, Thymol 0,1 %) verteilt und gelagert. Frisch extrahierte Zähne dienten als Kontrollgruppe. Im zweiten Versuch wurden 320 humane Zähne auf vier Lagerungsmedien (Kochsalzlösung 0,9 %, Formalin 10 % neutral gepuffert, Wasserstoffperoxid 3 %, Thymol 0,1 %) verteilt. Kontrollgruppe waren hier die in Kochsalzlösung gelagerten Zähne. Nach einer Lagerungsphase (Versuch 1: 10 Monate und Versuch 2: von 3-8 Monaten) wurde aus jedem Zahn eine Schmelzprobe gewonnen, in Kunststoff eingebettet und plan poliert. Nach der Demineralisation (Versuch 1: 7 Tage, pH = 5,0; Versuch 2: 14 Tage pH = 5,0) in Buskes' Lösung wurde bei den humanen Proben ein Teil des demineralisierten Areals lackiert und die Proben zusätzlich 35 Tage einer Remineralisationslösung ausgesetzt.

Die mittels Kontaktmikroradiographie gemessenen Parameter Läsionstiefe und Veränderung des Mineralgehalts wurden statistisch mit dem Allgemeinen Linearen Modell hinsichtlich des Effekts der Lagerungsmedien ausgewertet. Lediglich bei den in Wasserstoffperoxid gelagerten humanen Schmelzproben konnten signifikant geringere Läsionstiefen und signifikant geringere Mineralverluste nach Demineralisation festgestellt werden. Die übrigen Gruppen wiesen im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Läsionstiefe und Mineralgehalt im de- und remineralisierten Bereich auf.

Die Politur führte zu signifikant größerer Demineralisationstiefe und größerem Mineralverlust bei den humanen, nicht aber bei den bovinen Schmelzproben. Dieser Effekt ist sehr gering und ist vor allem wegen der ungewöhnlich hohen Probenanzahl in Versuch 2 statistisch signifikant. Die Planpolitur scheint für die De- und Remineralisation nur von untergeordneter Relevanz zu sein.

8.2 Summary

This study aimed to evaluate the influence of various storage solutions on the de- and remineralisation of bovine and human enamel in vitro. Furthermore, the effect of grinding of specimens, which is considered standard for microradiographs was statistically controlled.

In experiment 1, 80 cleaned bovine incisors were divided randomly into five groups and stored in five various solutions (NaCl 0.9 %; formalin 10 %; isopropyl-alcohol 70 %; H₂O₂ 3 %; thymol 0.1 %). Freshly extracted bovine teeth were additionally prepared (control). In experiment 2, 320 human teeth were divided randomly into four groups and stored in four various solutions (NaCl 0.9 %; formalin 10 %; H₂O₂ 3 %; thymol 0.1 %). Human teeth stored in NaCl 0.9 % served as control. After storage (experiment 1: 10 months, experiment 2: 3-8 months) a cylindrical enamel block was obtained from each tooth, embedded in epoxy resin and ground flat. After demineralisation (experiment 1: pH 5,0; 7 d, experiment 2: pH 5,0; 14 d) in Buskes` solution the bovine specimens were evaluated. Concerning the human specimens, parts of the demineralised area were covered with nail varnish and the specimens exposed to a remineralising solution (experiment 2: 35 d). The parameters were evaluated from microradiographs of thin sections (110 µm) by a dedicated software package (TMR 1.24). The received information (lesion depths, mineral loss) was statistically analysed by General Linear Model regarding the effect of storage solutions. Possible interference concerning grinding was statistically controlled.

Nearly all groups showed not any significant differences with regard to lesion depths and mineral loss in the de- and remineralised areas when compared with the controls. Only H₂O₂ caused significantly lower lesion depths and a significantly less mineral loss in the demineralised areas (experiment 2).

Additionally, a significant influence on lesion depth in the demineralised areas due to grinding was observed. Grinding to flatten the specimens enhanced mineral loss (experiment 2) as well. However, this effect was very small, and might have become statistically significant because of the high sample size. Furthermore, flattening of specimens has a minor relevance on de- and remineralisation.

9 Literaturverzeichnis

1. AL-KHATEEB S, FORSBERG CM, DE JOSSELIN DE JONG E, ANGMAR-MANSSON B. A longitudinal laser fluorescence study of white spot lesions in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;113:595-602.
2. AL-KHATEEB S, EXTERKATE R, ANGMAR-MANSSON B, TEN CATE JM. Effect of acid-etching on remineralization of enamel white spot lesions. *Acta Odontol Scand* 2000;58:31-36.
3. AL-QUNAIAN TA. The effect of whitening agents on caries susceptibility of human enamel. *Oper Dent* 2005;30:265-270.
4. AMAECHI BT, HIGHAM SM, EDGAR WM. Efficacy of sterilisation methods and their effect on enamel demineralisation. *Caries Res* 1998;32:441-446.
5. ANDO M, VAN DER VEEN MH, SCHEMEHORN BR, STOOKEY GK. Comparative study to quantify demineralized enamel in deciduous and permanent teeth using laser- and light-induced fluorescence techniques. *Caries Res* 2001;35:464-470.
6. AQUILINO SA, WILLIAMS VD, SVARE CW. The effect of storage solutions and mounting media on the bond strengths of a dentinal adhesive to dentin. *Dent Mater* 1987;3:131-135.
7. 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.
8. ARENDS J, CHRISTOFFERSEN J. The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res* 1986;65:2-11.
9. ARENDS J, TEN BOSCH JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 1992;71:924-928.
10. ATTIN T, VOLLMER D, WIEGAND A, ATTIN R, BETKE H. Subsurface microhardness of enamel and dentin after different external bleaching procedures. *Am J Dent* 2005;18:8-12.
11. BACKER-DIRKS O. Post-eruptive changes in dental enamel. *J Dent Res* 1966;45:503-511.
12. BASTING RT, RODRIGUES JUN. AL, SERRA MC. The effect of 10 % carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin in situ. *Oper Dent* 2001;26:531-539.
13. BERGSTROM DH, FOX JL, HIGUCHI WI. Quantitative microradiography for studying dental enamel demineralization and remineralization. *J Pharm Sci* 1984;73:650-653.

14. BUCHALLA W, IMFELD T, ATTIN T, SWAIN MV, SCHMIDLIN PR. Relationship between nanohardness and mineral content of artificial carious enamel lesions. *Caries Res* 2008;42:157-163.
15. 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.
16. CAUSTON BE, JOHNSON NW. Changes in the dentine of human teeth following extraction and their implication for in-vitro studies of adhesion to tooth substance. *Arch Oral Biol* 1979;24:229-232.
17. COOLEY RL, DODGE WW. Bond strength of three dentinal adhesives on recently extracted versus aged teeth. *Quintessence Int* 1989;20:513-516.
18. DA COSTA JB, MAZUR RF. Effects of new formulas of bleaching gel and fluoride application on enamel microhardness: an in vitro study. *Oper Dent* 2007;32:589-594.
19. DE GROOT JF, BORGGREVEN JM, DRIESSENS FC. Some aspects of artificial caries lesion formation of human dental enamel in vitro. *J Biol Buccale* 1986;14:125-131.
20. DE MENEZES M, TURSSI CP, FARAONI-ROMANO JJ, SERRA MC. Susceptibility of bleached enamel and root dentin to artificially formed caries-like lesions. *Am J Dent* 2007;20:173-176.
21. DE OLIVEIRA R, BASTING RT, RODRIGUES JA, RODRIGUES AL, JR., SERRA MC. Effects of a carbamide peroxide agent and desensitizing dentifrices on enamel microhardness. *Am J Dent* 2003;16:42-46.
22. DEWALD JP. The use of extracted teeth for in vitro bonding studies: a review of infection control considerations. *Dent Mater* 1997;13:74-81.
23. DRIESSENS FCM (ed.). *Mineral Aspects of Dentistry*. 1st ed., Karger, Basel 1982: 23-43.
24. EPIDEMIOLOGIE IFBUK. C.-U.B. *Fallzahlschätzungsprogramm* Aufgesucht am 24.06.2004. <http://www.charite.de/biometrie/de/frame-fallzahl.html>
25. ESSER M, TINSCHERT J, MARX R. Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1998;53:713-717.
26. 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.
27. FEATHERSTONE JD, DUNCAN JF, CUTRESS TW. Crystallographic changes in human tooth enamel during in-vitro caries simulation. *Arch Oral Biol* 1978;23:405-413.

28. FEATHERSTONE JD, MELLBERG JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981;15:109-114.
29. FEATHERSTONE JD, TEN CATE JM, SHARIATI M, ARENDS J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 1983;17:385-391.
30. FEATHERSTONE JD, SHARIATI M, BRUGLER S, FU J, WHITE DJ. Effect of an anticalculus dentifrice on lesion progression under pH cycling conditions in vitro. *Caries Res* 1988;22:337-341.
31. FRANCIS MD, BRINER WW. The effect of phosphonates on dental enamel in vitro and calculus formation in vivo. *Calcif Tissue Res* 1973;11:1-9.
32. FRUCHT S, SVRA, JONAS I.E. Einfluß des Bleichens auf Mikrohärtigkeit und Oberflächenstruktur gesunder und demineralisierten Zahnschmelzes Freiburg 2000: Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.
33. FUJISAWA S, KADOMA Y. Effect of phenolic compounds on the polymerization of methyl methacrylate. *Dent Mater* 1992;8:324-326.
34. GANß C, REINHARDT, K., KLIMEK, J. Der Einfluß einer Vitalbleichung mit Carbamidperoxid auf die Entstehung künstlicher initialer Kariesläsionen und Schmelzerosionen. *Dtsch Zahnärztl Z* 1997;52:597-599.
35. GOODIS HE, MARSHALL GW, JR., WHITE JM. The effects of storage after extraction of the teeth on human dentine permeability in vitro. *Arch Oral Biol* 1991;36:561-566.
36. GOODIS HE, MARSHALL GW, JR., WHITE JM, GEE L, HORNBERGER B, MARSHALL SJ. Storage effects on dentin permeability and shear bond strengths. *Dent Mater* 1993;9:79-84.
37. HALL AF, DESCHEPPER E, ANDO M, STOOKEY GK. In vitro studies of laser fluorescence for detection and quantification of mineral loss from dental caries. *Adv Dent Res* 1997;11:507-514.
38. 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.
39. HALLSWORTH AS, ROBINSON C, WEATHERBELL JA. Mineral and magnesium distribution within the approximal carious lesion of dental enamel. *Caries Res* 1972;6:156-168.
40. HELLWIG E, KLIMEK J, ATTIN T (eds.). Einführung in die Zahnerhaltung. 3th ed., Urban & Fischer, München 2003a: 3-12.
41. HELLWIG E, KLIMEK J, ATTIN T (eds.). Einführung in die Zahnerhaltung. 3th ed., Urban & Fischer, München 2003b: 13-59.

42. HELLWIG E, KLIMEK J, ATTIN T (eds.). Einführung in die Zahnerhaltung. 3th ed., Urban & Fischer, München 2003c: 89-121.
43. HILDEBRANDT H (ed.). Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. 258th ed., Walter de Gruyter, Berlin 1998: 835.
44. HOPPE W, RÖBEN J, BÖßMANN K. Experimentelle Untersuchung über Dichte und Löslichkeit von okklusalem und zervikalem Schmelz. *Kariesprophylaxe* 1981;3:131-133.
45. INGRAM GS, SILVERSTONE LM. A chemical and histological study of artificial caries in human dental enamel in vitro. *Caries Res* 1981;15:393-398.
46. JIANG T, MA X, WANG Y, ZHU Z, TONG H, HU J. Effects of hydrogen peroxide on human dentin structure. *J Dent Res* 2007;86:1040-1045.
47. JOINER A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. *J Dent* 2007;35:889-896.
48. KEYES PH. Recent advances in caries research. Bacteriology. Bacteriological findings and biological implications. *Int Dent J* 1962;12:443-464.
49. KIELBASSA AM, WRBAS KT, SCHULTE-MONTING J, HELLWIG E. Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1999;44:243-251.
50. 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.
51. KIELBASSA AM, WRBAS KT, MEYER-LUECKEL H. Microradiographic studies on demineralization of bovine and human enamel. *Caries Res* 2002;36:178.
52. 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* 2005a;39:380-386.
53. 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* 2005b;32:90-96.
54. 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.
55. KIMURA S, SHIMIZU T, FUJII B. Influence of dentin on bonding of composite resin. Part 1. Effect of fresh dentin and storing conditions. *Dent Mater J* 1985;4:68-80.
56. KLIMM W (ed.). Kariologie. 1st ed., Carl Hanser, München 1997a: 48-125.

57. KLIMM W (ed.). Kariologie. 1st ed., Carl Hanser, München 1997b: 126-145.
58. KÖNIG KG (ed.). Karies und Kariesprophylaxe. 1st ed., Goldmann, München 1971: 27-38.
59. KÖNIG KG Ursachen der Karies In: W Ketterl (ed). Zahnerhaltung I Urban&Schwarzenberg, München 1987: S. 3-23.
60. KOULOURIDES T, CUETO H, PIGMAN W. Rehardening of softened enamel surfaces of human teeth by solutions of calcium phosphates. *Nature* 1961;189:226-227.
61. KWON YH, HUO MS, KIM KH, KIM SK, KIM YJ. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel. *J Oral Rehabil* 2002;29:473-477.
62. LARSEN MJ. Chemically induced in vitro lesions in dental enamel. *Scand J Dent Res* 1974;82:496-509.
63. LEE SA, GRINSHPUN SA, REPONEN T. Respiratory Performance Offered by N95 Respirators and Surgical Masks: Human Subject Evaluation with NaCl Aerosol Representing Bacterial and Viral Particle Size Range. *Ann Occup Hyg* 2008;52:177-185.
64. LEONARDT H (ed.). Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. 7th ed., Thieme, Stuttgart 1985: 4-12.
65. LEWINSTEIN I, HIRSCHFELD Z, STABHOLZ A, ROTSTEIN I. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the microhardness of human enamel and dentin. *J Endod* 1994;20:61-63.
66. LEWINSTEIN I, FUHRER N, CHURARU N, CARDASH H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent* 2004;92:337-342.
67. LOPES GC, BONISSONI L, BARATIERI LN, VIEIRA LC, MONTEIRO S, JR. Effect of bleaching agents on the hardness and morphology of enamel. *J Esthet Restor Dent* 2002;14:24-30.
68. LUTZ-DETTINGER U, STEUER W (eds.). Leitfaden der Desinfektion, Sterilisation und Entwesung. 2nd ed., Gustav Fischer, Stuttgart 1976: 28-62.
69. MACIEL KT, CARVALHO RM, RINGLE RD, PRESTON CD, RUSSELL CM, PASHLEY DH. The effects of acetone, ethanol, HEMA, and air on the stiffness of human decalcified dentin matrix. *J Dent Res* 1996;75:1851-1858.
70. MACPHERSON LM, DAMATO FA, MACFARLANE TW, STRANG R, STEPHEN KW. Variation in the susceptibility of enamel to an in vitro demineralization system (short communication). *Caries Res* 1991;25:143-145.

71. MAIA E, BARATIERI LN, CALDEIRA DE ANDRADA MA, MONTEIRO S, JR., VIEIRA LC. The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness: an in situ study. *J Dent* 2008;36:2-7.
72. McDONNELL G, RUSSELL AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:147-179.
73. MELLBERG JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 1992;71:913-919.
74. MILLER CH, PALENIK CJ. Infection control and sterilization of dental instruments. *J Indiana Dent Assoc* 1980;59:15-20.
75. MILLER WD (ed.). *Die Mikroorganismen der Mundhöhle*. 1st ed., Thieme, Leipzig 1889: 91-109.
76. MÜHLEMANN HR. Storage medium and enamel hardness. *Helvetica odontologica acta* 1964;8:112-117.
77. MURCHISON DF, CHARLTON DG, MOORE BK. Carbamide peroxide bleaching: effects on enamel surface hardness and bonding. *Oper Dent* 1992;17:181-185.
78. MUTSCHLER E (ed.). *Arzneimittelwirkungen Lehrbuch für Pharmakologie und Toxikologie*. 7th ed., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1991: 635-650.
79. NEUMÜLLER OA (ed.). *Römpp Chemie-Lexikon*. 7th ed., Thieme, Stuttgart 1977: 36-56.
80. PAGNIANO RP, SCHEID RC, ROSEN S, BECK FM. Airborne microorganisms collected in a preclinical dental laboratory. *J Dent Educ* 1985;49:653-655.
81. PASHLEY DH, STEWART FP, GALLOWAY SE. Effects of air-drying in vitro on human dentine permeability. *Arch Oral Biol* 1984;29:379-383.
82. PILZ MEW (ed.). *Praxis der Zahnerhaltung und oralen Prävention*. 1st ed., Carl Hanser, München 1985: 19-83.
83. POTOČNIK I, KOSEC L, GASPERSIC D. Effect of 10 % carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. *J Endod* 2000;26:203-206.
84. PRETTY IA, EDGAR WM, HIGHAM SM. The effect of bleaching on enamel susceptibility to acid erosion and demineralisation. *Br Dent J* 2005;198:285-290; discussion 280.
85. RETIEF DH, WENDT SL, BRADLEY EL, DENYS FR. The effect of storage media and duration of storage of extracted teeth on the shear bond strength of Scotchbond 2/Silux to dentin. *Am J Dent* 1989;2:269-273.

86. RIEBEN AS, BAUMEISTER C, NEUMANN K, KIELBASSA AM. Einfluss von Lagerungsmedien und Politur auf die De- und Remineralisation von Dentin in vitro. Mainz Autoreferate-Band der Deutschen Gesellschaft für Zahnerhaltung 2006;ISBN 3-86611-173-8, S. 57:
87. RIEBEN AS, ZIMNY B, NOETZEL J, NEUMANN K, KIELBASSA AM. Influence of chlorhexidine on fluoride uptake by bovine dentin in vitro. *Am J Dent* 2008;21:351-355.
88. ROBINSON C, WEATHERELL JA, HALLSWORTH AS. Distribution of magnesium in mature human enamel. *Caries Res.* 1981;15(1):70-77.
89. ROTSTEIN I, DANKNER E, GOLDMAN A, HELING I, STABHOLZ A, ZALKIND M. Histochemical Analysis of Dental Hard Tissues following Bleaching. *J Endod* 1996;22:23-26.
90. ROTTER M, KOLLER W Desinfektion In: A Kramer, O Heeg (eds). *Krankenhaus und Praxishygiene Urban&Fischer, München* 2001: S. 219-231.
91. RUEGGERBERG FA. Substrate for adhesion testing to tooth structure - review of the literature. *Dent Mater* 1991;7:2-10.
92. SCHIEBLER TH, SCHMIDT W *Histologische Gewebslehre* In: Z K. (ed). *Anatomie Springer, Berlin* 1999: S. 35-98.
93. SCHROEDER HE (ed.). *Orale Strukturbiologie. 5th ed., Thieme, Stuttgart* 2000: 37-85.
94. SCHULEIN TM. Infection control for extracted teeth in the teaching laboratory. *J Dent Educ* 1994;58:411-413.
95. SCHULTE A, GENTE M, PIEPER K, ARENDS J. The electrical resistance of enamel-dentine cylinders. Influence of NaCl content in storage solutions. *J Dent* 1998;26:113-118.
96. SEEMANN R, BIZHANG M, KLUCK I, LOTH J, ROULET JF. A novel in vitro microbial-based model for studying caries formation-development and initial testing. *Caries Res* 2005;39:185-190.
97. SEVERCAN F, GOKDUMAN K, DOGAN A, BOLAY S, GOKALP S. Effects of in-office and at-home bleaching on human enamel and dentin: an in vitro application of Fourier transform infrared study. *Appl Spectrosc* 2008;62:1274-1279.
98. SILVERSTONE LM. Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries-like lesions. *Caries Res* 1967;1:260-274.
99. SILVERSTONE LM, HICKS MJ, FEATHERSTONE MJ. Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel. Part I. The dynamic nature of enamel caries. *Quintessence Int* 1988;19:683-711.

100. SMIDT A, WELLER D, ROMAN I, GEDALIA I. Effect of bleaching agent on microhardness and surface morphology of tooth enamel. *Am J Dent* 1998;11:83-85.
101. TATE WH, WHITE JM. Disinfection of human teeth for educational proposes. *J Dent Educ* 1991;55:583-585.
102. TITLEY KC, TORNECK CD, RUSE ND, KRMEC D. Adhesion of a resin composite to bleached and unbleached human enamel. *J Endod* 1993;19:112-115.
103. TITLEY KC, CHERNECKY R, ROSSOUW PE, KULKARNI GV. The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. *Arch Oral Biol* 1998;43:305-311.
104. TRANAEUS S, AL-KHATEEB S, BJORKMAN S, TWETMAN S, ANGMAR-MANSSON B. Application of quantitative light-induced fluorescence to monitor incipient lesions in caries-active children. A comparative study of remineralisation by fluoride varnish and professional cleaning. *Eur J Oral Sci* 2001;109:71-75.
105. TSCHOPPE P, KIELBASSA AM, TOLL R, MEYER-LUCKEL H. Modification of the Mineralizing Capacity of a Saliva Substitute (Saliva Natura) on Enamel In Vitro. *Laryngorhinootologie* 2009;88(11):717-722.
106. UNLU N, COBANKARA FK, ALTINOZ C, OZER F. Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. *J Oral Rehabil* 2004;31:57-61.
107. VON DER FEHR FR. The caries inhibiting effect of topically applied hexafluorostannate on dentine and enamel. *Caries Res* 1970;4:269-282.
108. WALLHÄUßER KH (ed.). *Praxis der Sterilisation Desinfektion-Konservierung*. 4th ed., Thieme, Stuttgart 1988: 424-612.
109. WEATHERELL JA, HALLSWORTH AS, ROBINSON C. The effect of tooth wear on the distribution of fluoride in the enamel surface of human teeth. *Arch Oral Biol* 1973;18:1175-1189.
110. WEIGERT WM (ed.). *Wasserstoffperoxid und seine Derivate - Chemie und Anwendung*. 1st ed., Hüthig, Heidelberg 1978: 19-25.
111. WILLIAMS VD, SVARE CW. The effect of five-year storage prior to bonding on enamel/composite bond strength. *J Dent Res* 1985;64:151-154.
112. 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.
113. ZANTNER C, BEHEIM-SCHWARZBACH N, NEUMANN K, KIELBASSA AM. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. *Dent Mater* 2007;23:243-250.
114. ZISKIND D, GLEITMAN J, ROTSTEIN I, FRIEDMAN M. Evaluation of cetylpyridinium chloride for infection control in storage solution. *J Oral Rehabil* 2003;30:477-481.

10 Anhang

10.1 Tabellen

Tab. 5: Mittelwerte und Standardabweichung der Läsionstiefe in der Kontrollzone (K_TIEF_B) in µm in den jeweiligen Gruppen (bovine Zähne)

Nr.	Lösung	Mittelwert	Standardabweichung
1	Kochsalz	17,1	2,3
2	Alkohol	17,4	4,9
3	Formalin	16,5	5,8
4	Thymol	17,9	5,5
5	H ₂ O ₂	17,0	4,6
6	Kontrolle = Frisch extrahiert	15,0	4,5
	Insgesamt	16,8	4,7

Tab. 6: Minimalwerte, Maximalwerte, Mittelwerte, Medianwerte und Standardabweichung der DTK_B in µm in der Zone der Demineralisation in den jeweiligen Gruppen. Es treten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Läsionstiefe zur Kontrollgruppe auf.

Nr.	Lösung	Läsionstiefe					Signifikanz	
		Min	Max	MW	Med	SD		
1	Kochsalz	28,9	235,9	111,2	101,9	56,1	0,098	n.s.
2	Alkohol	43,8	179,8	101,7	105,1	33,8	0,325	n.s.
3	Formalin	44,3	175,5	101,2	93,9	36,2	0,348	n.s.
4	Thymol	39,4	168,2	87,8	83,1	37,8	0,988	n.s.
5	H ₂ O ₂	24,5	130,2	76,7	87,2	32,5	0,471	n.s.
6	Kontrolle = Frisch extrahiert	25,4	181,5	88,4	76,3	40,4	---	---

Tab. 7: Mittelwerte und Standardabweichung des Mineralverlustes in der Kontrollzone (K_MIN_B) in Vol.-% x µm in den jeweiligen Gruppen

Nr.	Lösung	Mittelwert	Standardabweichung
1	Kochsalz	480,6	74,3
2	Alkohol	484,8	143,5
3	Formalin	442,1	165,2
4	Thymol	515,6	137,8
5	H ₂ O ₂	484,6	150,0
6	Kontrolle = Frisch extrahiert	415,0	127,4
	Insgesamt	470,5	136,9

Tab. 8: Minimalwerte, Maximalwerte, Mittelwerte, Medianwerte und Standardabweichung des Mineralverlustes (DMK_B) in Vol.-% x µm in der Zone der Demineralisation in den jeweiligen Gruppen. Nicht signifikante Unterschiede in Bezug auf den Mineralverlust zur Kontrollgruppe sind mit n.s. gekennzeichnet (p < 0,0005; Kontraste)

Nr.	Lösung	Mineralverlust					Signifikanz	
		Min	Max	MW	Med	SD		
1	Kochsalz	58,7	5129,0	2336,2	2061,1	1292,6	0,668	n.s.
2	Alkohol	662,8	4868,0	2195,6	2220,3	957,6	0,377	n.s.
3	Formalin	1196,0	3914,2	2119,6	1808,2	849,5	0,287	n.s.
4	Thymol	667,2	3874,0	1960,8	1892,3	965,9	0,109	n.s.
5	H ₂ O ₂	128,9	2810,8	1456,5	1543,3	782,5	0,003	n.s.
6	Kontrolle = Frisch extrahiert	215,7	4447,5	2502,2	2696,7	1337,2	---	---

Tab. 9: Mittelwerte und Standardabweichung der Läsionstiefe in der Kontrollzone (K_TIEF_H) in µm in den jeweiligen Gruppen

Nr.	Lösung	Mittelwert	Standardabweichung
1	Kochsalz = Kontrolle	11,7	3,3
2	Formalin	10,8	3,0
3	Thymol	10,8	3,2
4	H ₂ O ₂	10,7	3,1
	Insgesamt	11,0	3,2

Tab. 10: Minimalwerte, Maximalwerte, Mittelwerte, Medianwerte und Standardabweichung der Läsionstiefe in µm in der Zone der Demineralisation (DTK_H) in den jeweiligen Gruppen. Nicht signifikante Unterschiede in Bezug auf die Läsionstiefe in der Demineralisationszone sind mit n.s. gekennzeichnet (p < 0,0005; Kontraste)

Nr.	Lösung	Läsionstiefe					Signifikanz
		Min	Max	MW	Med	SD	
1	Kochsalz = Kontrolle	38,9	141,1	93,7	95,95	24,1	---
2	Formalin	46,8	149,8	87,0	83,10	22,9	n.s.
3	Thymol	38,7	207,4	94,5	90,75	30,5	n.s.
4	H ₂ O ₂	27,6	132,7	66,0	63,60	21,1	0,000

Tab. 11: Mittelwerte und Standardabweichung des Mineralverlustes in der Kontrollzone (K_{MIN_H}) in Vol.-% $\times \mu\text{m}$ in den jeweiligen Gruppen

Nr.	Lösung	Mittelwert	Standardabweichung
1	Kochsalz = Kontrolle	382,8	171,8
2	Formalin	363,2	159,4
3	Thymol	367,9	163,9
4	H ₂ O ₂	366,7	174,4
	Insgesamt	370,2	166,9

Tab. 12: Minimalwerte, Maximalwerte, Mittelwerte, Medianwerte und Standardabweichung des Mineralverlustes (DMK_H) in Vol.-% $\times \mu\text{m}$ in der Zone der Demineralisation in den jeweiligen Gruppen. Nicht signifikante Unterschiede in Bezug auf den Mineralverlust in der Demineralisationszone zur Kontrollgruppe sind mit n.s. gekennzeichnet ($p < 0,0005$; Kontraste)

Nr.	Lösung	Mineralverlust					Signifikanz
		Min	Max	MW	Med	SD	
1	Kochsalz = Kontrolle	1061,2	7508,7	3902,3	3888,9	1301,2	---
2	Formalin	1350,5	8445,3	3736,0	3586,1	1347,2	n.s.
3	Thymol	1134,1	9077,8	4099,5	4154,1	1851,6	n.s.
4	H ₂ O ₂	667,1	6742,1	2460,3	2205,7	1164,4	0,000

Tab. 13: Minimalwerte, Maximalwerte, Mittelwerte, Medianwerte und Standardabweichung der Läsionstiefendifferenz (Diff_TIE_H) in % nach der Remineralisation in den jeweiligen Gruppen. Nicht signifikante Unterschiede in Bezug auf die Läsionstiefendifferenz sind in der Remineralisationszone zur Kontrollgruppe mit n.s. gekennzeichnet

Nr.	Lösung	Prozentuale Läsionstiefendifferenz					Signifikanz
		Min	Max	MW	Med	SD	
1	Kochsalz = Kontrolle	-24,09	58,79	16,84	15,66	16,76	---
2	Formalin	-80,08	58,62	19,26	20,13	20,43	n.s.
3	Thymol	-48,45	57,67	17,57	18,56	15,64	n.s.
4	H ₂ O ₂	-78,75	67,35	16,07	16,85	25,10	n.s.

Tab. 14: Minimalwerte, Maximalwerte, Mittelwerte, Medianwerte und Standardabweichung des Mineralgewinns (Diff_DEM_H) in % in der Zone der Remineralisation in den jeweiligen Gruppen. Nicht signifikante Unterschiede in Bezug auf den Mineralgewinn in der Remineralisationszone zur Kontrollgruppe sind mit n.s. gekennzeichnet

Nr.	Lösung	Prozentualer Mineralgewinn					Signifikanz
		Min	Max	MW	Med	SD	
1	Kochsalz = Kontrolle	40,90	96,34	73,89	75,82	11,01	---
2	Formalin	45,36	95,99	76,48	78,29	10,47	n.s.
3	Thymol	18,21	92,04	74,06	77,28	13,40	n.s.
4	H ₂ O ₂	36,46	97,62	71,58	71,18	13,66	n.s.

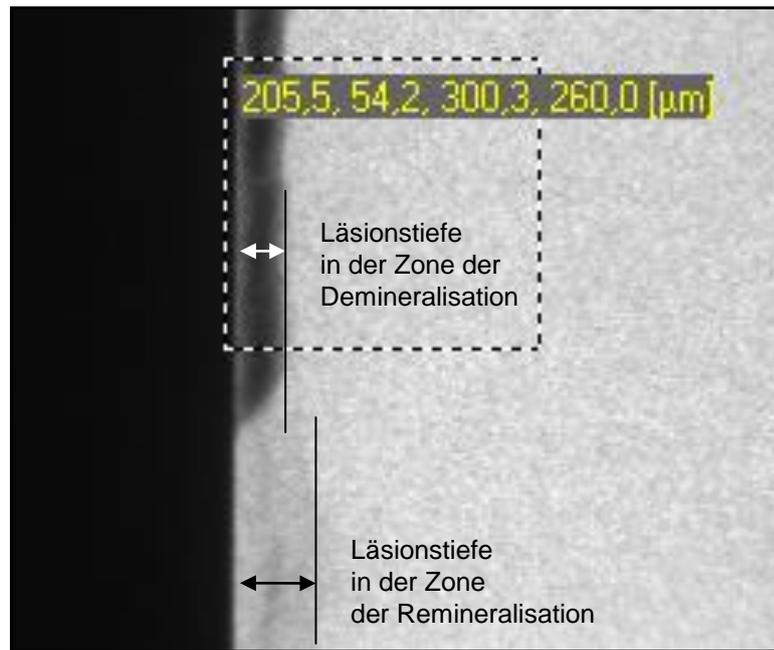


Abb. 22: Mikroskopische Darstellung einer humanen Schmelzprobe (Lagerungsmedium: Formalin) mit einer negativen Läsionstiefendifferenz

10.2 Materialliste

- Mat. 1 Analysenwaage Typ AG204; Mettler, Gießen, Deutschland
- Mat. 2 Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 3 CCD Videokamera Modul XC77CE; Sony, Tokio, Japan
- Mat. 4 CRT Brutschrank Incuba; Melag, Berlin, Deutschland
- Mat. 5 Destilliertes Wasser, Ampuwa^R; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
- Mat. 6 Dubliermasse Heraform; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland
- Mat. 7 Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat. 8 Einmalskalpell Aesculap, Nummer 15; Braun, Melsungen, Deutschland
- Mat. 9 Essigsäure 100 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 10 Formalin Lösung 10 % neutral gepuffert, Accustain^R; Sigma-Aldrich-Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
- Mat. 11 Hepes Buffer 1M; Biochrom AG, Berlin, Deutschland
- Mat. 12 High speed holographic film So-253; Kodak, Stuttgart, Deutschland
- Mat. 13 Isopropylalkohol 70 %; Apotheke des Universitätsklinikums Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland
- Mat. 14 Kochsalz Spüllösung 0,9 %; Delta-Pharma, Pfullingen, Deutschland
- Mat. 15 Kaliumdihydrogenphosphat min 98 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 16 Kaliumhydroxid-Plätzchen min. 85,0 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 17 Kalziumchlorid-Dihydrat; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 18 Kürette (Gracey) GR7-8; Stoma, Emmingen-Liptingen, Deutschland
- Mat. 19 Methylendiphosphonsäure >98 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 20 Mikrometer Digimatic Bügelmessschraube; Mitutoyo GmbH, Kawasaki, Japan

-
- Mat. 21 Mikropipette Acura 821; Socorex, Lausanne, Schweiz
- Mat. 22 Nagellack NEW Jet-Set; L'Oréal, Paris, Frankreich
- Mat. 23 Objektträger; Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland
- Mat. 24 pH-Meter CG 819; Schott Geräte GmbH, Hofheim, Deutschland
- Mat. 25 Raspatorium Williger; Stoma, Emmingen-Liptingen, Deutschland
- Mat. 26 Rasterelektronenmikroskop Cam Scan Maxim 2040; Electron Optics LTD, Waterbeach, England
- Mat. 27 Röntgenstrahlengenerator PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande
- Mat. 28 Rührgerät IKA- Combimag RCT; Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland
- Mat. 29 Sekundenkleber; Dental Liga GmbH&Co. KG, Köln, Deutschland
- Mat. 30 Schleifpapier Körnung 600, 1200, 2500, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 31 Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 32 Schleifsystem Exakt 400cs; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 33 SPSS 11.5 für Windows; SPSS GmbH, München, Deutschland
- Mat. 34 Technovit 4071; Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland
- Mat. 35 Tesafilm; Tesa AG, Hamburg, Deutschland
- Mat. 36 Thymol 0,1 % alkoholisch wässrige Lösung; Apotheke des Universitätsklinikums Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland
- Mat. 37 TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande
- Mat. 38 TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland
- Mat. 39 Trennscheibe diamantiert Nr.: 9503.900.370.; Gebr. Brasseler, Lemgo, Deutschland

-
- Mat. 40 Trepanbohrer, Innendurchmesser 2,9 mm, Sonderanfertigung; Brasseler, Lemgo, Deutschland
- Mat. 41 Wärmeschrank BR 6000; Heraeus, Hanau, Deutschland
- Mat. 42 Wasserstoffperoxid Lösung 3 %; Herbeta Arzneimittel, Berlin, Deutschland
- Mat. 43 Zewa Softis; Zewa, Mannheim, Deutschland

10.3 Lebenslauf

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

10.4 Danksagung

Diese Dissertation wurde in der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie des CharitéCentrums 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde an der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin durchgeführt.

Hiermit möchte ich allen danken, die am Zustandekommen dieser Arbeit beteiligt waren.

Mein allerherzlichster Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. dent. Andrej M. Kielbassa für die Überlassung des Themas und für das jeweilige schnelle und konstruktive Korrekturlesen der vorgelegten Manuskripte.

Mein ganz besonderer Dank geht an Frau Dr. med. dent. Alexandra S. Rieben für Ihre Betreuung und Hilfe sowohl während der Versuchsdurchführung als auch bei der späteren Verfassung der Arbeit.

Ich bedanke mich bei Herrn Dr. rer. nat. Konrad Neumann (Institut für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie) für die Beratung bei der statistischen Auswertung der erhobenen Daten.

Herrn Rainer Toll aus der Abteilung für Zahnerhaltung und Parodontologie möchte ich für seine Kooperation im Rahmen dieser Studie danken.

Herrn OA Dr. med. dent. Peter Tschoppe danke ich für die Hilfe bei allen Fragen.

Meiner Frau Carmina danke ich für die Begleitung und Unterstützung während unseres Studiums und Promotionsarbeit.

10.5 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Jochen Peter Baumeister, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Mikroradiografische Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Lagerungsmedien und der Politur auf die In-vitro-De- und -Remineralisation von bovinem und humanem Schmelz selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum:

Unterschrift