

Medizinische Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin  
Klinik und Polikliniken für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Abteilung Restaurative Zahnheilkunde  
Bereich Zahnerhaltungskunde und Parodontologie  
Leiter: Prof. Dr. A. M. Kielbassa

**Der Einfluss von Chlorhexidin auf die Fluoridaufnahme von  
gesundem und demineralisiertem bovinem Dentin.  
Eine In-situ- und In-vitro-Untersuchung**

Inaugural-Dissertation  
Zur Erlangung der  
zahnmedizinischen Doktorwürde  
Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von Burghardt Zimny  
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. A. M. Kielbassa

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. med. dent. A. Olze

Gedruckt mit Genehmigung der Charité – Universitätsmedizin Berlin

Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 22.02.2008

Meinen Eltern gewidmet



# Inhaltsangabe

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht .....</b>	<b>9</b>
2.1	Ätiologie der Dentinkaries.....	9
2.2	Anwendung von Fluoriden und ihre Applikationsformen.....	10
2.2.1	Systemische Applikation.....	11
2.2.2	Lokale Applikation.....	13
2.3	Reaktionsmechanismen von Fluorionen bei lokaler Applikation in der Mundhöhle.....	14
2.3.1	Wirkung auf das Dentin .....	14
2.3.2	Wirkung auf die Plaque.....	18
2.4	Chlorhexidin .....	18
2.4.1	Wirkungsweise von Chlorhexidin .....	18
2.4.2	Die Bedeutung der kariesprophylaktischen Wirkung von Chlorhexidin.....	19
2.4.3	Chlorhexidin-Fluorid-Kombinationen.....	20
2.4.4	Sicherheit und Nebenwirkungen.....	22
<b>3</b>	<b>Fragestellung.....</b>	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>Material und Methode .....</b>	<b>25</b>
4.1	Verwendetes Zahnmaterial.....	25
4.2	Herstellung und Sterilisation der Dentinproben .....	25
4.3	Demineralisation der Dentinproben .....	27
4.4	Herstellung der intraoralen Befestigungsapparatur .....	27
4.5	Die Auswahl der Probanden, Mundhygiene und Tragezeit im In-situ-Versuch, Lagerung im In-vitro-Versuch .....	28
4.5.1	Auswahl der Probanden .....	28
4.5.2	Mundhygiene und Tragezeit im In-situ-Versuch.....	28
4.5.3	Lagerungszeiten im In-vitro-Versuch .....	29
4.6	Die verwendeten Mundspüllösungen und ihre Applikation .....	30
4.7	Gruppenverteilung .....	31
4.8	Bestimmung des Fluoridgehalts im Dentin .....	32
4.8.1	Praktische Durchführung der Analyse des KOH-löslichen Fluorids .....	32

4.8.2	Praktische Durchführung der Analyse des strukturell gebundenen Fluorids .....	33
4.9	Berechnung der Fluoridkonzentration in der Probe .....	34
4.10	Statistik .....	34
4.11	Ethikkommission .....	34
<b>5</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>35</b>
5.1	Probanden .....	35
5.2	Gruppengröße .....	35
5.3	KOH-lösliches Fluorid .....	36
5.3.1	KOH-lösliches Fluorid <i>in situ</i> .....	36
5.3.2	KOH-lösliches Fluorid <i>in vitro</i> .....	38
5.4	Strukturell gebundenes Fluorid .....	40
5.4.1	Strukturell gebundenes Fluorid <i>in situ</i> .....	40
5.4.2	Strukturell gebundenes Fluorid <i>in vitro</i> .....	43
<b>6</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>47</b>
6.1	Diskussion der Methode .....	47
6.1.1	Design der Studie .....	47
6.1.2	Das Zahnmaterial .....	48
6.1.3	Die Anwendungshäufigkeit .....	50
6.1.4	Fluoridbestimmung .....	50
6.2	Diskussion der Ergebnisse .....	52
6.3	Schlussfolgerungen und klinische Relevanz .....	55
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>57</b>
7.1	Summary .....	58
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>59</b>
<b>9</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>73</b>
9.1	Erläuterungen zu den Diagrammen .....	73
9.2	Danksagung .....	74
9.3	Lebenslauf .....	75

## 1 Einleitung

Der demographische Wandel von der Alterspyramide hin zu einem Alterspizel fordert auch die moderne, prophylaxeorientierte Zahnheilkunde heraus. Dabei werden neue Behandlungsmethoden für ältere Patienten benötigt. Heutzutage sind die meisten Patienten nicht zahnlos [MACK et al., 2004], leiden aber an parodontalen Erkrankungen und Karies [ALBANDAR und KINGMAN, 1999; MACK et al., 2004]. Diese Krankheiten betreffen zwar auch junge Menschen, doch gibt es große Unterschiede, wie zum Beispiel die hohe Prävalenz der Wurzelkaries bei älteren Patienten [FEJERSKOV et al., 1993; SAUNDERS und MEYEROWITZ, 2005].

Gingivale Rezessionen mit der daraus folgenden, allmählichen Freilegung der Wurzeloberfläche sind Voraussetzung für die Bildung einer Wurzelkaries, die stark mit gingivalen Entzündungen assoziiert ist [DÉRAND et al., 1989; SCHAEKEN et al., 1991; VEHKALAHTI und PAUNIO, 1994; ATTIN et al., 1997; WYATT und MACENTEE, 2004]. Deshalb ist es bei älteren Patienten notwendig, eine verstärkte Parodontitis- sowie Kariesprophylaxe, speziell der Wurzeloberfläche, zu etablieren.

Fluorid zeigt sowohl an der Wurzeloberfläche als auch an Schmelz vergleichbare Effekte bei der De- und Remineralisation [AL-JOBURI und KOULOURIDES, 1984; HOPPENBROUWERS et al., 1987; ARENDS et al., 1990; NYVAD et al., 1997]. Daher sind Fluorionen bei der Kariesprophylaxe älterer Patienten von großer Bedeutung. Gleichzeitig vermindert Chlorhexidin die Bildung von Plaque, welche eine Voraussetzung zur Entstehung von Karies und Gingivitis/Parodontitis ist [GJERMO, 1989; VAN RIJKOM et al., 1996]. Es gibt nur wenige und zudem unterschiedliche Daten über die Wirkung von Fluorid bei simultaner Anwendung einer Kombination aus Fluorid und Chlorhexidin. Die bisherigen Studien untersuchten dabei die Wirkung auf Schmelz.

Aus diesem Grund war das Ziel der vorliegenden Studie die Untersuchung des Einflusses von Chlorhexidin auf die Fluoridaufnahme sowohl von gesundem als auch von demineralisiertem Dentin. Dies wurde *in situ* und *in vitro* untersucht und analysiert. Bezugnehmend auf die unterschiedlichen Ergebnisse bei Schmelz (hinsichtlich einer verminderten [NOVIKOV et al., 1980] bis nicht veränderten [KIRKEGAARD et al., 1974] Fluoridaufnahme in Anwesenheit von Chlorhexidin) wurde die Hypothese aufgestellt, dass Chlorhexidin die Aufnahme von Fluorid an Dentin beeinflusst.





## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Ätiologie der Dentinkaries

Die Behandlung einer tiefen Wurzelkaries ist schwierig, zeitaufwändig und teuer [BRAILSFORD et al., 2002]. Diese Therapie ist jedoch aufgrund des demographischen Wandels, zu einem wichtigen Aspekt der Alterszahnheilkunde in der täglichen Praxis geworden [MUKAI und TEN CATE, 2002; PETERSEN und LENNON, 2004].

Klinische Studien haben gezeigt, dass Karies am häufigsten an Plaqueretentionsstellen, wie beispielsweise freiliegenden Wurzeloberflächen und Zahnhalsdefekten entsteht, die für den Patienten schwieriger zu reinigen sind [MEURMAN, 1988; SCHAEKEN et al., 1991; LAGERWEIJ et al., 1996]. Deshalb ist es bei älteren Patienten notwendig, parodontale Prophylaxe sowie Kariesprophylaxe (speziell der Wurzeloberfläche) zu betreiben. Die Vorbeugung der Wurzelkaries hängt primär von einer guten Mundhygiene und der prophylaktischen Applikation von Fluoriden ab [FIGURES et al., 1990].

Die natürliche Wurzeloberfläche ist von Zement unterschiedlicher Dicke bedeckt [DIETZ et al., 2002] und hat den höchsten Fluoridgehalt aller Körpergewebe [ALMQVIST und LAGERLÖF, 1993a]. Dennoch ist die initiale Wurzelkaries prinzipiell mit der der Schmelzkaries vergleichbar [FEATHERSTONE, 1994]. Das Spektrum der Mikroorganismen, das in Schmelzläsionen gefunden wurde, stimmt mit den Mikroorganismen aus der Wurzelkaries überein [FITZGERALD et al., 1994]. Bis in die achtziger Jahre wurden Actinomyceten als Verursacher der Wurzelkaries angesehen [FEATHERSTONE, 1994]; jedoch geht man zur Zeit davon aus, dass zu den Hauptverursachern der Schmelz- sowie der Wurzelkaries Streptokokken (*S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. sorbinus*), Laktobazillen (*L. cellobiosus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. leichmani*, *L. helveticus*, *L. salivarius*) und Actinomyceten (*A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. israeli*, *A. odontolyticus*) zählen [FITZGERALD et al., 1994]. Durch saure Stoffwechselprodukte dieser Mikroorganismen, die sich zu einem Biofilm (Plaque) organisieren, beginnt die Auflösung des Minerals von Zement und Dentin [FEATHERSTONE, 1994]. Dieser pH-Abfall in der Plaque, zum Beispiel nach Zuckerkonsum, kann nicht vom Speichel alleine abgepuffert werden [FDI-COMMISSION, 2002]. Der kritische pH-Wert für Dentin beginnt bei pH 5,7 [FITZGERALD et al., 1994].

Verglichen mit Schmelz ist die fortschreitende Demineralisation von Dentin ein komplexeres Phänomen, da nicht nur anorganische Minerale aufgelöst werden, sondern auch, durch enzymatische Proteolyse der Bakterien, die organische Kollagenmatrix zerstört wird [HEILMAN et al., 1997; KAWASAKI et al., 2000]. Dadurch gestaltet sich auch die Remineralisation von Dentin komplexer als die von Schmelz [ARENDS et al., 1989].

Im Dentin wurden charakteristische Muster der Karies beobachtet, obwohl die Verteilung des Mineralgehalts in kariösen Läsionen von Mensch zu Mensch und von Zahn zu Zahn stark variiert [KAWASAKI et al., 2000]. Eine typische Dentinläsion, die bei arretierten, nicht fortschreitenden Dentinläsionen beobachtet wurde, ist eine Läsion mit hypermineralisierter Oberfläche, der sog. „subsurface type“ [KAWASAKI et al., 2000]. Bei aktiven, fortgeschrittenen Läsionen, dem sog. „softened type“, variiert die Mineralverteilung jedoch stark [KAWASAKI et al., 2000].

## **2.2 Anwendung von Fluoriden und ihre Applikationsformen**

Zahllose klinische Studien der letzten Jahrzehnte zeigten, dass Fluorid einen kariesprophylaktischen Effekt hat [TVEIT und HALSE, 1982; JENKINS et al., 1993; ULLSFOSS et al., 1994; HEILMAN et al., 1997; TEN CATE, 1999; ZAURA-ARITE et al., 1999; ZAURA-ARITE und TEN CATE, 2000; MUKAI und TEN CATE, 2002; WYATT und MACENTEE, 2004].

Die Fluoridforschung begann Ende der zwanziger Jahre des vergangenen Jahrhunderts [LODDING et al., 1985]. Es wurde nach Alternativen für fluoridiertes Wasser (zum Beispiel fluoridiertes Salz oder Milch) sowie nach Gründen für das Auftreten von Karies und Ursachen von Fluorosen gesucht [HELLWIG et al., 2003; PETERSEN und LENNON, 2004]. Die Erkenntnisse mündeten in der Entwicklung von fluoridhaltigen Zahnpasten und Mundspüllösungen.

In den sechziger Jahren eingeführte Mundspüllösungen zur Prophylaxe der Zahnkaries bei Kindern und Erwachsenen bewirkte eine deutliche Reduktion der Karies [PETERSSON, 1993; PETERSEN und LENNON, 2004].

Während die ersten Mundspüllösungen mit saurem Phosphatfluorid (acidulated phosphate fluoride = APF) in den 1940er Jahren noch negative Ergebnisse hinsichtlich der Kariesreduktion erzielten [ROBERTS et al., 1948], zeigten in den fünfziger und den

darauf folgenden Jahrzehnten bereits erste Laborstudien und die anschließende systematische Prüfung der Fluoridwirkung in Schweden erste, viel versprechende klinische Resultate bezüglich der Kariesreduktion. Zusätzliche Studien aus den USA und aus England [RUGG-GUNN et al., 1973] konnten den nützlichen Effekt von Fluorid in Mundspüllösungen auf die Kariesprävention bestätigen. In den neunziger Jahren fiel die Kariesprävalenz im Vergleich zu den vorangegangenen Jahrzehnten stark, da zusätzlich individualprophylaktische Maßnahmen eingeführt wurden [PETERSSON, 1993].

Es ist heute allgemein akzeptiert, dass der in den vergangenen Jahrzehnten zu beobachtende Rückgang der Karies in den industrialisierten Ländern bei Kindern und Erwachsenen mit dem Fluoridgehalt von Leitungswasser, Speisesalz und der therapeutischen Anwendung von Mundspüllösungen, Zahnpasten, Gels und Lacken korreliert [BEN-YAAKOV et al., 1984; SJÖGREN et al., 1995; BRATTHALL et al., 1996; LAGERWEIJ et al., 1996; ATTIN et al., 1998; CLASEN und ØGAARD, 1999; MEYER-LUECKEL et al., 2002a].

### **2.2.1 Systemische Applikation**

Ziel der systemischen Fluoridzufuhr ist in erster Linie der präeruptive, strukturelle Einbau von Fluorionen in Schmelz und Dentin und die damit verbundene Resistenz gegenüber kariogenen Noxen. Sowohl Fluorapatit als auch fluoridiertes Hydroxylapatit sind gegenüber Säuren stabiler als Hydroxylapatit [IJIMA et al., 1993; FEATHERSTONE, 1994; TEN CATE, 1999; VAN STRIJP et al., 1999; FDI-COMMISSION, 2002].

Die systemische Applikation von Fluorid in Form von Tabletten, Kaugummis, Salz und Trinkwasser führte zu einer signifikanten Reduktion der Schmelz- sowie der Wurzelkaries [HONG et al., 2003]. In einer Studie von 2002 wurde der Einfluss der Speisesalzfluoridierung in Jamaika untersucht. Zwölf Jahre nach Einführung des fluoridierten Speisesalzes zeigte sich eine deutlich reduzierte Kariesprävalenz in allen untersuchten Altersgruppen [MEYER-LUECKEL et al., 2002a] im Vergleich zu einer früheren Untersuchung von 1984 vor Einführung der Fluoridierung. In Kanada wurde im Vergleich zu nicht fluoridierten Gebieten ebenfalls eine geringere Kariesprävalenz in fluoridierten Gebieten festgestellt. So wurde ein direkter Zusammenhang zwischen Wurzelkaries und der angewendeten Fluoridkonzentration gefunden [HONG et al., 2003].

Die systemische Applikation von Fluorid wurde bis in die späten achtziger Jahre des zwanzigsten Jahrhunderts als die effektivste Präventionsform der Karies betrachtet. Die Hypothese, dass die Bildung von Fluorapatit den größten kariesprophylaktischen Effekt zeigt, wurde allerdings erst 1988 [ÖGAARD et al., 1988] widerlegt. An Hand einer In-situ-Studie mit menschlichen und Haifischzähnen, wobei letztere mit einem Fluoridgehalt von 32.000 ppm (parts per million) aus fast reinem Fluorapatit bestehen, konnte gezeigt werden, dass Haifischzähne bei Vorliegen eines kariogenen Milieus fast genauso schnell und fast ebenso tiefe Läsionen entwickelten wie menschlicher Zahnschmelz mit einem oberflächlichen Fluoridgehalt von 1.270 ppm, der zudem in der Tiefe rasch abnimmt.

Jede systemische Zufuhr von Fluorid bewirkt aber auch eine lokale Wirkung. Diese kommt bei Einnahme des Präparates und der damit einhergehenden oralen Verweildauer sowie bei der nachfolgenden Speichelsekretion mit angereicherten Fluorionen zum Tragen. In der ersten Phase werden bis zu tausendmal höhere Fluoridwerte im Speichel erreicht als bei der späteren Sekretion des Speichels [ALMQVIST und LAGERLÖF, 1993a]. Diese Konzentrationen variieren im Speichel von einem Bereich im Mund zu einem anderen und scheinen hauptsächlich mit der Lokalisation der Speicheldrüsenausführungsgänge und der Speichelsekretionsrate zu korrelieren [WEATHERELL et al., 1988].

Auch wenn die systemische Fluoridierung in der Langzeitkariesprävention wirksam ist, kann man zur Zeit davon ausgehen, dass häufige geringe Dosen, lokal im Munde appliziert, eine effizientere Wirkung bei geringeren Nebenwirkungen erzielen [FEATHERSTONE, 1994; NAVARRO et al., 2001; HOLLER et al., 2002].

Als Nebenwirkungen einer zu hoch dosierten systemischen Fluoridanwendung werden gastrointestinale Störungen, Zahnverfärbungen, gingivale Irritationen und weiße, wenig ästhetische Fluorosen in der Literatur beschrieben [PETERSEN und LENNON, 2004], wobei die Fluorose die größte psychoemotionale Auswirkung mit sich bringt [RIPA, 1987; LUOMA, 1991].

## 2.2.2 Lokale Applikation

Eine der erfolgreichsten Methoden in der Kariesprophylaxe ist die Verwendung von lokal applizierten Fluoriden. In den meisten westlichen Ländern hat eine Reduktion der Karies bei Kindern und Erwachsenen stattgefunden. Hauptverantwortlich hierfür ist das Fluorid, im Speziellen die fluoridierte Zahnpasta [SJÖGREN et al., 1995; CLASEN und ØGAARD, 1999].

Es konnte in vielen Studien gezeigt werden, dass eine lokale Applikation von Fluorid in Form von Zahnpasta, Mundspüllösungen und Lacken ein Fortschreiten der Läsion verzögert und eine mineralisierte Oberfläche ausbilden kann [TVEIT und HALSE, 1982; MELLBERG et al., 1988; HELFENSTEIN und STEINER, 1994; DIETZ et al., 2002; HONG et al., 2003].

Ebenso konnte nachgewiesen werden, dass lokales Fluorid die Häufigkeit der Wurzelkaries reduziert [TVEIT und HALSE, 1982; SCHAEKEN et al., 1991; DUNIPACE et al., 1994; FEATHERSTONE, 1994; HEILMAN et al., 1997; MUKAI et al., 2001] und als Bestandteil von Füllungswerkstoffen die Sekundärkaries am Entstehen hindert [ERICKSON und GLASSPOOLE, 1995; ETTINGER et al., 1997; KAWAI et al., 1997; WEERHEIJM und GROEN, 1999].

Die lokale Applikation von Fluoriden hat aus heutiger Sicht das Potential, eine bestehende Wurzelkaries zu stoppen und so die restaurative Behandlung oder sogar die nachfolgende Extraktion überflüssig zu machen [BRAILSFORD et al., 2002].

Bei der lokalen Fluoridanwendung führt die gebildete Kalziumfluoridschicht zu einem Reservoir für Fluorionen [ØGAARD et al., 1990; SILVA et al., 2001; ROŠIN-GRGET et al., 2002]; dadurch kann es einen längeren kariostatischen Effekt erzielen [ØGAARD et al., 1990; VAN STRIJP et al., 1999]. Der zugrunde liegende Reaktionsmechanismus wird in Kap. 2.3.1.1 aufgezeigt.

## **2.3 Reaktionsmechanismen von Fluorionen bei lokaler Applikation in der Mundhöhle**

Es gibt mehrere Wege wie Fluorid an Zahnhartsubstanzen, wie zum Beispiel Dentin, wirkt:

- Förderung der Remineralisation und Hemmung der Demineralisation,
- Verringerung der Säurelöslichkeit,
- Verringerung der Dentin-Hypersensibilität,
- Verringerung der Säureproduktion in der Plaque.

### **2.3.1 Wirkung auf das Dentin**

Die meisten Untersuchungen zu den Reaktionsmechanismen von Fluorid an Zahnhartsubstanzen wurden mit Schmelz durchgeführt. Auf Grund der ähnlichen anorganischen Matrix können die Ergebnisse jedoch auch auf Dentin übertragen werden [DUNIPACE et al., 1994].

#### **2.3.1.1 Förderung der Remineralisation und Hemmung der Demineralisation**

Fluoridverbindungen beeinflussen das Wechselspiel von De- und Remineralisation, das beispielsweise auf Grund von kariogenen Bedingungen aus dem Gleichgewicht geraten sein kann, zugunsten der Remineralisation [RIPA et al., 1987; MELLBERG et al., 1988; ALMQVIST und LAGERLÖF, 1993a; IJIMA et al., 1993; FEATHERSTONE, 1994; SJÖGREN et al., 1995; TEN CATE, 1999; ZAURA-ARITE et al., 1999; DIETZ et al., 2002; HOLLER et al., 2002; MUKAI und TEN CATE, 2002; HARA et al., 2003; HONG et al., 2003; WYATT und MACENTEE, 2004]. Als Remineralisation wird die Repositionierung, also das Wiedereinlagern von Mineral während oder nach dem Säureangriff bezeichnet [SJÖGREN et al., 1995].

Die Zahnhartsubstanz, die hauptsächlich aus Hydroxylapatit besteht, kann aus chemischer Sicht wie ein schwerlösliches Salz (sowohl bei Schmelz als auch bei Dentin) in einer wässrigen Lösung, dem Speichel, betrachtet werden.

Hydroxylapatitkristalle bestehen im Idealfall aus der folgenden Summenformel (1), welche die Elementarzelle, das heißt den kleinsten Raumteil, der bereits alle Symmetrieelemente enthält, bildet.



Im Idealfall besteht ein Gleichgewicht aus De- und Remineralisation an der Zahnoberfläche. Dieses Gleichgewicht kann durch die Anwesenheit von Plaque oder sauren Nahrungsmitteln verschoben werden, wobei die Demineralisation überwiegt. Beim Fortschreiten der Demineralisation kommt es zunächst, wie oben beschrieben, zur Bildung einer kariösen Läsion mit charakteristischem Aussehen, der so genannten „subsurface lesion“ [KAWASAKI et al., 2000], die später in eine Kavität übergeht.

Aus Zuckern, die bakteriell verstoffwechselt werden, entstehen Säuren, die sich in der Plaque ansammeln. Dadurch sinkt der pH-Wert in der Plaque. Protonen und Säuren aus diesem bakteriellen Angriff diffundieren in den Schmelz und leiten daraufhin die Demineralisation durch Protonierung des Phosphates (2) im Apatit von Schmelz und Dentin ein [KÖNIG, 1987].



Dadurch kann Kalzium nicht mehr im benötigten Umfang gebunden werden und geht verloren [KÖNIG, 1987]. Bei andauernder Säureeinwirkung löst sich dadurch das Hydroxylapatit allmählich auf.

Fluorid kann diese Reaktion in Richtung der Remineralisation verschieben und damit einen beginnenden Substanzverlust rückgängig machen. Nach Ende der Säureproduktion nimmt die Protonierung im Schmelz wieder ab. Auf molekularer Ebene besteht die wichtigste kariesprophylaktische Funktion des stark elektronegativen Fluorids in der Fähigkeit, die eingelagerten Protonen ( $H^+$ -Ionen) wieder aus der demineralisierten Zahnhartsubstanz zu entfernen. Dadurch wird die Wiedereinlagerung von Kalzium ermöglicht [KÖNIG, 1987].

Ein weiterer wichtiger Punkt in der kariesprophylaktischen Wirkung der Fluorionen ist die Hemmung der Demineralisation [TVEIT und HALSE, 1982; RIPA et al., 1987; ALMQVIST und LAGERLÖF, 1993a; ALMQVIST und LAGERLÖF, 1993b; FEATHERSTONE, 1994; LAGERWEIJ et al., 1996; ETTINGER et al., 1997; ATTIN et al., 1998; TEN CATE, 1999;

ZAURA-ARITE et al., 1999; DIETZ et al., 2002; HOLLER et al., 2002; MUKAI und TEN CATE, 2002; HARA et al., 2003; HONG et al., 2003; WYATT und MACENTEE, 2004]. Durch geringe Fluoriddosen oder das allmähliche Auflösen einer Kalziumfluoridschicht können Fluorionen in den oberflächlichen Schmelz diffundieren. Sie lagern sich dort in der Flüssigkeit der interkristallinen Räume, zwischen den Hydroxylapatitkristallen, ein [ARENDS und CHRISTOFFERSEN, 1990]. Von hier werden sie an die Kristalloberfläche adsorbiert und verleihen dem Hydroxylapatit fluorapatitähnliche Eigenschaften [KÖNIG, 1987]. Wenn die gesamte Kristalloberfläche von Fluorionen bedeckt ist, wird die Demineralisation maximal gehemmt. Nicht geschützte Bereiche werden durch den Säureangriff aufgelöst [FISCHER et al., 1995].

Die Kalziumfluoridschicht ( $\text{CaF}_2$ ), die sich bei Anwendung von lokalen Fluoridpräparaten an der Zahnoberfläche bildet, dient als Fluoridreservoir [VAN STRIJP et al., 1999] und kann so die benötigten geringen Fluoriddosen für die Remineralisation freisetzen. Gleichzeitig dient der Fluoridspeicher als Schutzschicht für den Zahn bei Säureangriffen [ØGAARD et al., 1990].

Demineralisiertes Dentin kann auf Grund der größeren Porosität höher remineralisiert werden als gesundes Dentin [ARENDS et al., 1990]. Um eine Wurzelkaries im Vergleich zu einer Schmelzkaries *in vitro* stoppen zu können, sind jedoch deutlich höhere Fluoridkonzentrationen nötig [ALMQVIST und LAGERLÖF, 1993b; FEATHERSTONE, 1994], wobei das Fluorid sowohl intra- als auch intertubulär im Dentin eingelagert wird [ARENDS et al., 1990]. Dennoch wurde ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Anwendung niedriger Fluoriddosen und einer Hemmung der Demineralisation *in vivo* gefunden [ARENDS et al., 1990]. *In vivo* hängt die De- und Remineralisation stark vom Individuum, der Mundhygiene, der Fluoridzufuhr und den Essgewohnheiten ab [BUSKES et al., 1985].

#### 2.3.1.2 Verringerung der Säurelöslichkeit

Eine weitere kariesprophylaktische Funktion von Fluorid besteht in der Verringerung der Säurelöslichkeit [HERTING, 1970; GEDALIA et al., 1978; DÉRAND et al., 1989; ARENDS und CHRISTOFFERSEN, 1990; ØGAARD et al., 1990; ERICKSON und GLASSPOOLE, 1995; ATTIN et al., 1998; TEN CATE, 1999; VAN STRIJP et al., 1999; ZAURA-ARITE et al., 1999; HOLLER et al., 2002; GANSS et al., 2004]. Dieser Mechanismus erklärt sich einerseits aus der Kalziumfluoridschicht, andererseits aus der Tatsache, dass in Anwesenheit von Fluorid



entweder Fluorapatit (3) oder fluoridiertes Hydroxylapatit (4) aus Hydroxylapatit (1) gebildet werden kann [FDI-COMMISSION, 2002]. Fluorapatit entsteht, wenn beide Hydroxidgruppen des Hydroxylapatits gegen Fluorionen ausgetauscht werden.



Dies geschieht bei gesundem Schmelz aber nur selten [KÖNIG, 1987; FDI-COMMISSION, 2002]. Häufiger erfolgt der Austausch nur eines Hydroxylions durch Fluorid zu fluoridiertem Hydroxylapatit.



Die Verringerung der Säurelöslichkeit beruht also darauf, dass Hydroxylapatit bereits bei einem pH-Wert von etwa 5,5 im Speichel demineralisiert wird, wohingegen die Demineralisation von Fluorapatit erst bei einem niedrigeren pH-Wert beginnt [IIJIMA et al., 1993]. Dies bedeutet für die Remineralisation, dass bei Anwesenheit von ausreichend hohen Fluoridkonzentrationen bereits bei einem pH-Wert von kleiner 5,5 eine Remineralisation einsetzen kann, während das ohne Fluorid erst bei einem pH-Wert ab 5,5 der Fall ist [TEN CATE, 1999].

### 2.3.1.3 Verringerung der Dentin-Hypersensibilität

Dentin-Hypersensibilität ist eine lokale Antwort auf chemische, thermische, mechanische oder osmotische Stimuli, die einen sofortigen, ziehenden Schmerz auslösen [ADDY und DOWELL, 1986; LAWSON et al., 1991]. Es wird vermutet, dass diese Stimuli zu einer einwärts oder auswärts gerichteten Flüssigkeitsbewegung in den freiliegenden Dentintubuli führen, welche direkt freie Nervenendigungen in der Pulpa reizen („hydrodynamische Theorie“) [BRÄNNSTRÖM, 1963; BRÄNNSTRÖM, 1966].

Für die Verringerung der Dentin-Hypersensibilität erscheint die Bildung einer Kalziumfluoridschicht sehr wichtig. Diese kann die Hypersensibilität verringern, indem sie die Durchmesser der freien Dentintubuli verkleinert [GEDALIA et al., 1978; MEURMAN und TEN CATE, 1996; ATTIN et al., 1998] oder vollständig verschließt [ADDY und DOWELL, 1986; ARENDS et al., 1997; KIELBASSA et al., 1997; YATES et al., 2004].

### 2.3.2 Wirkung auf die Plaque

In Anwesenheit von Fluorid wird eine Abnahme der Gingivitis und der Karies beobachtet. Dieses Phänomen beruht darauf, dass Fluorid in den Metabolismus der Bakterien eingreifen kann [HAMILTON, 1977; KAWAI et al., 1997; TEN CATE, 1999; VAN STRIJP et al., 1999; ZAURA-ARITE et al., 1999; HOLLER et al., 2002; HARA et al., 2003]. Der pH-Wertabfall, der durch den Säureangriff der Bakterien am Zahn entsteht, bewirkt die Bildung von Fluorwasserstoff (HF). Diese Verbindung kann durch die Zellmembran in das Bakterieninnere diffundieren. Dort zerfällt sie in  $H^+$  und  $F^-$ . Das Fluorion  $F^-$  kann die Aktivität von Enzymen, die an der Glycolyse beteiligt sind, verlangsamen bzw. hemmen und damit die Aktivität und die Säureproduktion der Bakterien beeinflussen. Diese Eigenschaft hat klinisch jedoch kaum Bedeutung [FEATHERSTONE, 1994].

## 2.4 Chlorhexidin

Chlorhexidin ist eine antimikrobiell wirksame Substanz mit starker Affinität zu intraoralen Oberflächen. Sie wird seit vielen Jahrzehnten als Mundspüllösung oder Gel in der Zahnheilkunde verwendet und gilt als Goldstandard der antibakteriellen, intraoralen Lösungen [VAN RIJKOM et al., 1996].

### 2.4.1 Wirkungsweise von Chlorhexidin

Chlorhexidin ist ein reaktives, doppelwertiges, kationisches Antiseptikum [ADDY und DOWELL, 1986; JENKINS et al., 1993; PERDIGAO et al., 1994]. Es gehört zu der Gruppe der Bisbiguanide. Der pKa-Wert (negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstante) von Chlorhexidin liegt bei 2,2 und 10,3 [BONESVOLL et al., 1974a]. Er ist ein Maß für die Protolyse in Wasser, bei der sich eine Gleichgewichtsreaktion zwischen Protonenabgabe und -aufnahme bildet. Chlorhexidin besitzt sowohl hydrophobe als auch hydrophile Eigenschaften und bindet sowohl an extrazelluläre Komplexe als auch an negativ geladene Zellwände [LØE und SCHIØTT, 1970; KOMOROWSKI et al., 2000]. Diese Bindung stört das osmotische Zellgleichgewicht sowie die gesamte Organisation der Zellmembran, wodurch niedermolekulare Stoffe die Zelle verlassen können

[KOMOROWSKI et al., 2000]. Das entstehende Mikroleck führt dazu, dass intrazelluläre Makromoleküle denaturieren [FORSTEN und KARJALAINEN, 1977], woraus bei hohen Chlorhexidinkonzentrationen der Zelltod folgt [GREENSTEIN et al., 1986; JOHNSON, 1995]. Chlorhexidin wirkt bakterizid bei Konzentrationen von 0,06-35 % wobei die in der Zahnheilkunde meist verwendeten Konzentrationen bei 0,06-2 % liegen [KOMOROWSKI et al., 2000]. Die Bindung von Chlorhexidin an Bakterien und Speichel-Glykoproteine interferiert mit der Pellikelformation an der Zahnoberfläche und erschwert daher die Anlagerung von Bakterien [HJELJORD et al., 1973; AL-TANNIR und GOODMAN, 1994]. Zusätzlich vermindert Chlorhexidin durch seine bakterizide Wirkung die Anzahl der Bakterien im Speichel, die für die Adsorption an die Zähne zur Verfügung stehen. Chlorhexidin ist sowohl wirksam gegen viele grampositive und gramnegative als auch gegen fakultativ anaerobe und aerobe Bakterien [LIN et al., 2003]. Auch gegen Viren und Pilze wirkt Chlorhexidin, wobei nicht alle gleich sensitiv reagieren [GREENSTEIN et al., 1986; JOHNSON, 1995]. Die Dauer der Wirkung von Chlorhexidin kann *in vivo* mit der Substantivität des Medikamentes erklärt werden. Unter Substantivität eines Medikamentes versteht man die nach einer therapeutischen Dosis zu beobachtende Verweil- und Wirkungsdauer [SCHIØTT et al., 1970]. Die hohe Substantivität beruht bei Chlorhexidin darauf, dass es sich an negativ geladene orale Gewebe, wie die Mukosa und die Zähne [GJERMO et al., 1974; ADDY und DOWELL, 1986], und dort besonders stark an das Hydroxylapatit [RØLLA et al., 1970; EMILSON et al., 1973; BEN-YAAKOV et al., 1984; MEURMAN, 1988] anlagert, von wo es noch nach 24 Stunden freigesetzt wird [GJERMO et al., 1974]. Dadurch entsteht nach der Mundspülung für mehrere Stunden ein bakteriostatisches, plaquehemmendes Milieu [GJERMO et al., 1974; ADDY und DOWELL, 1986; JOHNSON, 1995; KOMOROWSKI et al., 2000].

#### **2.4.2 Die Bedeutung der kariesprophylaktischen Wirkung von Chlorhexidin**

In den letzten 30 Jahren konnte in vielen Studien der karies- und gingivitis-hemmende Effekt von Chlorhexidin gezeigt werden [LUOMA, 1972; SCHIØTT, 1973; GJERMO, 1989; JENKINS et al., 1993; JOYSTON-BECHAL und HERNAMAN, 1993; VAN LOVEREN et al., 1996; VAN RIJKOM et al., 1996; ARENDS et al., 1997; ZAURA-ARITE und TEN CATE, 2000; WYATT

und MACENTEE, 2004]. Eine Metaanalyse von VAN RIJKOM ergab 1996 einen karieshemmenden Effekt von 46 %.

Chlorhexidin hat ein breites Wirkspektrum [KOMOROWSKI et al., 2000; LIN et al., 2003] sowohl gegen grampositive als auch gramnegative Bakterien [SCHAEKEN et al., 1991; VAN LOVEREN et al., 1996], wodurch die bakterielle Säureproduktion inhibiert wird [VAN LOVEREN et al., 1996; ØGAARD et al., 2001]. Von allen getesteten chemischen Wirkstoffen zeigt Chlorhexidin die besten Ergebnisse bei der Plaqueinhibierung [VAN RIJKOM et al., 1996]. Dabei ist die Retention an oralen Oberflächen und das langsame Freisetzen von entscheidender Bedeutung, wie wissenschaftliche Studien zeigen konnten [BONESVOLL et al., 1974a; BONESVOLL et al., 1974b]. Dentin wird von Chlorhexidin besser geschützt als Schmelz, da es durch die porösere Oberfläche und die Dentintubuli eine größere Oberfläche aufweist, an der das Chlorhexidindigluconat-Molekül anhaften kann [VAN LOVEREN et al., 1996].

### 2.4.3 Chlorhexidin-Fluorid-Kombinationen

In den letzten Dekaden wurden viele Versuche unternommen, Fluorid und Chlorhexidin in verschiedensten Präparaten zu kombinieren. Mehrere Studien zeigten, verglichen mit einem Placebo, gute Ergebnisse hinsichtlich der Verringerung von Plaquebildung und Gingivitis bei dieser Kombination [JENKINS et al., 1993; JOYSTON-BECHAL und HERNAMAN, 1993; HOFFMANN et al., 2001; LEYES BORRAJO et al., 2002]. Es wurde dargestellt, dass Fluorid den Effekt von Chlorhexidin auf *S. mutans* nicht beeinflusst, sondern vielmehr einen synergistischen Effekt bezüglich der Säureproduktion hervorruft [LUOMA, 1972]. Verglichen mit einer reinen Chlorhexidinlösung zeigte sich eine gleiche [HOFFMANN et al., 2001] oder niedrigere [MENDIETA et al., 1994; QUIRYNEN et al., 2001] Plaquehemmung gegenüber der Kombination von Fluorid und Chlorhexidin.

Lange Anwendungen dieser niedrigdosierten Lösungskombinationen bei guter Mundhygiene verringerten nur geringfügig oder nicht signifikant die Plaquebildung und Gingivitis [HOFFMANN et al., 2001]. In einer klinischen Kurzzeitstudie mit anschließender Analyse mittels Transversaler Mikroradiographie führte die Spülung mit Fluorid und Chlorhexidin, zu kleineren Läsionstiefen und weniger Mineralverlust als die Spülung mit Fluorid ohne Chlorhexidinzusatz [ULLSFOSS et al., 1994].

Im Rahmen klinischer Langzeitstudien zeigten Chlorhexidin-Fluorid-Kombinationen unterschiedliche Ergebnisse im Vergleich zu einem Placebo. Eine Chlorhexidin-Fluorid-Mundspüllösung führte zu einer signifikanten Gingivitis- und Kariesreduktion bei stark kariesanfälligen Individuen [LUOMA et al., 1978]. In einer anderen klinischen Studie, in der die Testpersonen nicht an Karies oder Gingivitis litten, wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden [SPETS-HAPPONEN et al., 1991]. Betrachtet man die Chlorhexidin-Fluorid-Kombination bezüglich der Inhibition von Karies, wurden keine signifikanten Unterschiede gegenüber einer Fluorid- [LUOMA et al., 1978] oder Chlorhexidinlösung [SPETS-HAPPONEN et al., 1991] beschrieben.

Über die Wirkung von Chlorhexidin-Fluorid-Lösungen auf die Wurzelkaries oder das Dentin alleine ist hingegen nur wenig bekannt. Ein Versuchsaufbau versuchte, die Wirkung der Kombination von Fluorid- und Chlorhexidinlack mit der Wirkung eines Lackes mit nur einem Inhaltsstoff zu vergleichen. Die Kombination war ebenso effektiv wie der wirksame Inhaltsstoff; dies galt sowohl für ein bakterielles Demineralisationsmodell unter In-vitro-Bedingungen [VAN LOVEREN et al., 1996] als auch für ein In-situ-Demineralisationsmodell [ZAURA-ARITE und TEN CATE, 2000].

Mischt man Chlorhexidin mit Monofluorophosphat, bildet sich ein schwerlösliches Salz [BARKVOLL et al., 1988]. Ein solches Präzipitat wurde bei Mischungen von Natriumfluorid (NaF) und Chlorhexidin nicht beobachtet; jedoch verringerte sich dabei die Substantivität von Chlorhexidin [DE FREITAS et al., 2003]. Vorbehandlungen von Dentinpulver mit Chlorhexidin beeinflussten die Fluoridaufnahme nicht [ADDY und DOWELL, 1986]. Fluorid scheint konzentrationsabhängig die Aufnahme von Chlorhexidin an pulverisiertem Hydroxylapatit und Schmelz zu verstärken [BEN-YAAKOV et al., 1984].

Die meisten Untersuchungen der simultanen Applikation von Chlorhexidin und Fluorid konzentrierten sich auf Schmelz. Bezüglich der Löslichkeit von Schmelz wurden keine Unterschiede gefunden, wenn mit einer reinen Fluoridlösung oder einer Kombination aus Fluorid- und Chlorhexidinlösung vorbehandelt wurde [LUOMA et al., 1973]. Die Ergebnisse der Fluoridaufnahme waren in der Gegenwart von Chlorhexidin unterschiedlich und reichten von nicht störend [KIRKEGAARD et al., 1974] bis zu verringerter Fluoridaufnahme [NOVIKOV et al., 1980].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Einfluss von Chlorhexidin auf die Aufnahme von Fluorid an Dentin bisher unklar ist.

#### **2.4.4 Sicherheit und Nebenwirkungen**

Die Sicherheit von Chlorhexidin und die auftretenden Nebenwirkungen sind gut dokumentiert [LØE und SCHIØTT, 1970; SCHIØTT et al., 1970; LØE et al., 1976; GREENSTEIN et al., 1986]. Die häufigste Nebenwirkung ist das Auftreten von gelbbraunen Verfärbungen [LUOMA, 1972; FLOTRA, 1973; GREENSTEIN et al., 1986; SCHAEKEN et al., 1991; ØGAARD et al., 2001]. Diese Verfärbungen treten bei einem Drittel bis der Hälfte der Patienten nach einigen Tagen der Anwendung auf, sind aber durch eine Zahnpolitur zu beseitigen [AL-TANNIR und GOODMAN, 1994]. Bei längerer Anwendung kann es zu Geschmacksstörungen kommen [LUOMA, 1972; BEN-YAAKOV et al., 1984; SCHAEKEN et al., 1991; VAN RIJKOM et al., 1996; ØGAARD et al., 2001], die hauptsächlich die Empfindung süß betreffen [FLOTRA, 1973]. Andere berichtete Nebenwirkungen sind Mundtrockenheit und Verbrennungsempfindungen der Schleimhaut [FLOTRA, 1973; SCHAEKEN et al., 1991]. Nach Absetzen des Präparates sind die beschriebenen Missempfindungen reversibel.

### 3 Fragestellung

Fluorid und Chlorhexidin sind zwei der potentesten Mittel in der Kariesprävention. Ein synergistischer Effekt einer Kombination dieser beiden Mittel würde für die Kariesprophylaxe einen großen Vorteil bedeuten.

Da es in der Literatur nur sehr wenige Daten über die Wirkung einer Kombination von Chlorhexidin und Fluorid bezüglich der Fluoridaufnahme an Dentin gibt und vergleichbare Studien an Schmelz widersprüchliche Ergebnisse lieferten, wurde die vorliegende Studie durchgeführt.

Die Fluoridaufnahme ist die beste primäre Bioaktivitätsmessung von Dentalprodukten, um eine Reaktivität von Fluoridsystemen zu untersuchen [WHITE, 1995].

Das Ziel dieser Studie war die Untersuchung des Einflusses von Chlorhexidin auf die Fluoridaufnahme von gesundem und demineralisiertem Dentin sowohl *in situ* als auch *in vitro*.

Bezugnehmend auf die vorgestellte Literatur wurde die Arbeitshypothese aufgestellt, dass Chlorhexidin die Aufnahme von Fluorid an Dentin beeinflusst.





## 4 Material und Methode

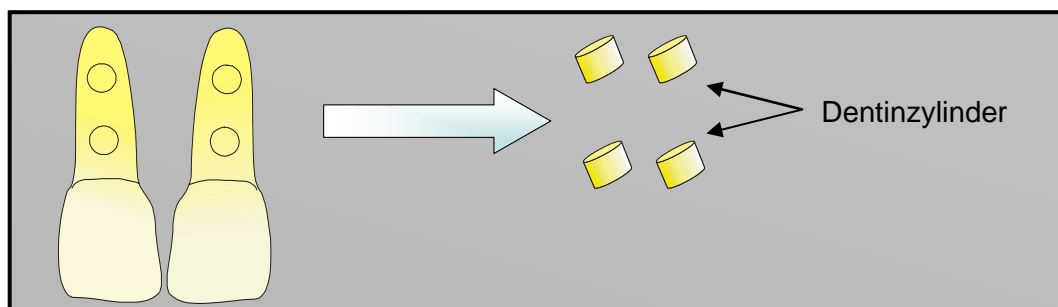
### 4.1 Verwendetes Zahnmaterial

Zur Durchführung der Versuche wurden 120 kariesfreie, frisch extrahierte, bovine Schneidezähne verwendet. Alle Zähne stammten aus derselben Herde. Das Schlachtalter der Tiere betrug 30 Monate. Die frisch extrahierten Zähne wurden gründlich von anhaftenden Weichgeweberesten gesäubert und bis zur weiteren Verwendung in isotonischer Kochsalzlösung (Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) bei Raumtemperatur gelagert.

### 4.2 Herstellung und Sterilisation der Dentinproben

Die Wurzeln der Zähne wurden unter Wasserkühlung mit einer diamantierten Trennscheibe (Komet, Lemgo, Deutschland) vom Apex bis zur Krone eingeschnitten. Um genügend Stabilität für die weiteren Arbeitsschritte zu gewährleisten, wurde dieser Sägeschnitt mit rosa Plattenwachs (Dentaurum, Ispringen, Deutschland) ausgefüllt. Die Zähne wurden daraufhin in den kaltpolymerisierenden Kunststoff Technovit (Technovit 4071; Haereus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) so eingebettet, dass sie anschließend auf einem Parallelometerteller (Modelltisch; DeguDent, Hanau-Wolfgang, Deutschland) fixiert werden konnten.

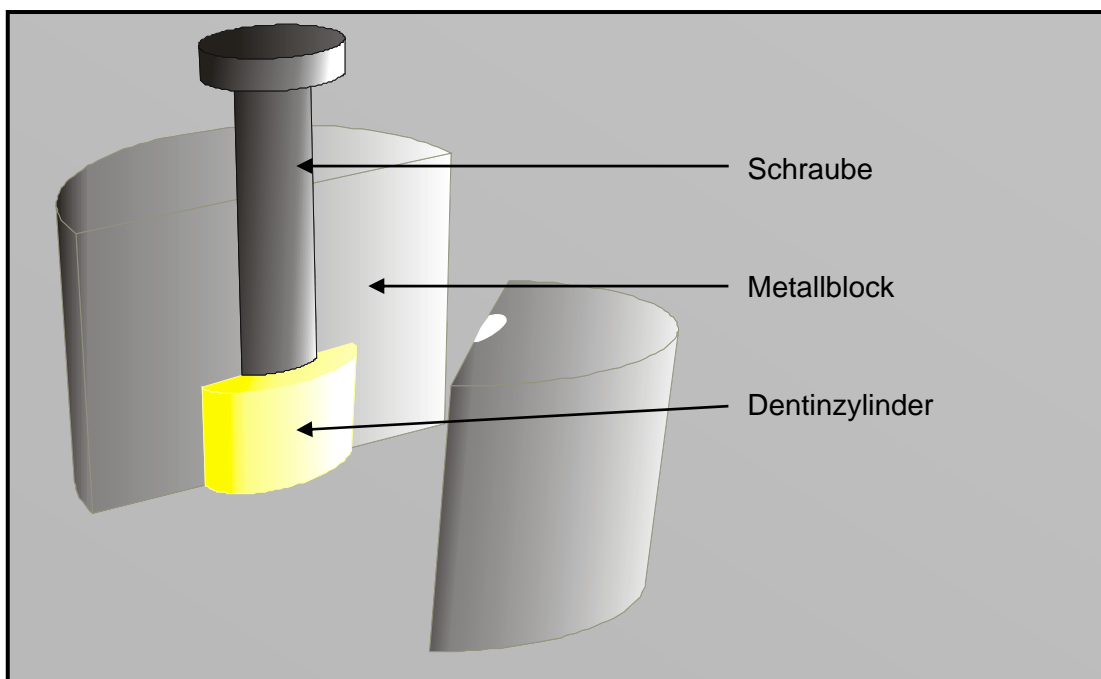
Aus jedem der so fixierten Zähne wurden unter Wasserkühlung mit einem diamantierten Trepanbohrer (Sonderanfertigung Durchmesser 2,9 mm; Brasseler, Lemgo, Deutschland) vier zylinderförmige Proben gewonnen (Abb. 1)



**Abb. 1:** Probengewinnung aus bovinen Schneidezähnen

Anschließend wurden alle Proben mit Ethylenoxid 6 % (DMB-Sterivit, Wiesbaden, Deutschland) bei 55 °C gassterilisiert. Danach wurden die Proben für vier Wochen in isotonischer Kochsalzlösung gelagert, die täglich ausgewechselt wurde, um eventuell verbleibende Reste des Ethylenoxids auszuwaschen.

Die Oberfläche wurde mit Hilfe eines speziell konstruierten Stempels (Eigenanfertigung, aus Metall) und Siliziumcarbidpapier (Struers, Kopenhagen, Dänemark) der Körnung 4000 planparallel poliert. Der Stempel wurde so konstruiert, dass die gewonnenen Proben ohne Spiel in der Horizontalen befestigt werden konnten, jedoch ein Einstellen der Höhe mit Hilfe einer Schraube noch möglich war (Abb. 2).

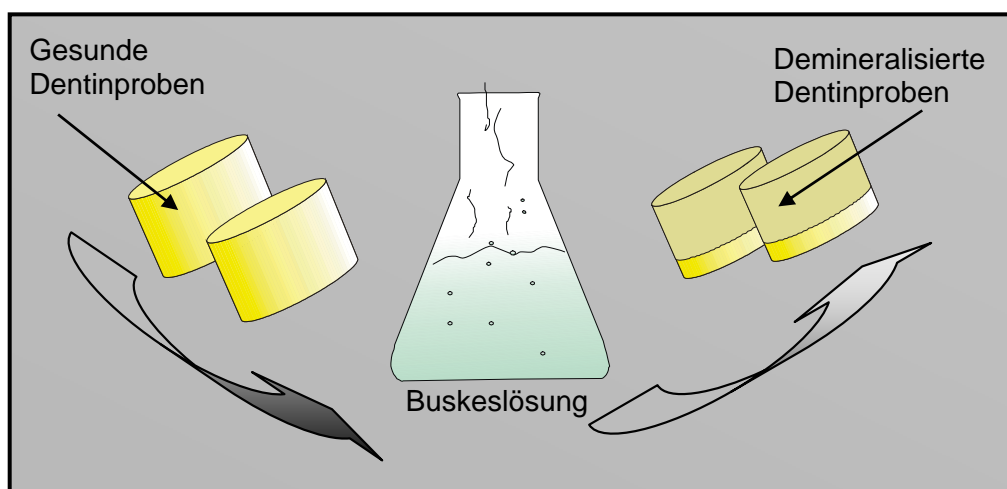


**Abb. 2:** Konstruierter Abschleifstempel zum Polieren der Proben im Längsschnitt

Die planparallelen Dentinproben wurden in Modellierwachs (Fino, Bad Bocklet, Deutschland und Schuler, Ulm, Deutschland) zweier unterschiedlicher Farben eingebettet. Die zwei Wachsfarben dienten dazu, die demineralisierten Dentinproben von den gesunden Dentinproben unterscheiden zu können. Der genaue Randschluss sowie die saubere Oberfläche wurden mit einer Lupe (Labo-clib binocular 2,5 fach; Eschenbach Optik, Nürnberg, Deutschland) kontrolliert. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Dentinproben in Polystyrolöschen mit Schnappdeckel aus Polypropylen (Cellcounter-Gefäß 25 ml; Böttger, Bodenmais, Deutschland) in isotonischer Kochsalzlösung zahnbezogen aufbewahrt.

### 4.3 Demineralisation der Dentinproben

Jeweils zwei Proben der vier vorhandenen Proben wurden demineralisiert. Dazu wurden die Proben für sechs Tage in einer Demineralisationslösung [BUSKES et al., 1985] mit einem pH-Wert von 5,0 bei 37 °C eingelegt [ARENDS et al., 1992] (Abb. 3). Die Kontrolle der Demineralisationstiefe erfolgte mit einem Rasterelektronenmikroskop (CamScan MaXim; Camscan USA, Cranberry Twp., PA, USA) und dem Polarisationsmikroskop (Axioskop 2; Carl Zeiss Jena, Jena, Deutschland) an zusätzlichen Proben. Bis zur weiteren Verwendung wurden die beiden demineralisierten Dentinproben mit dem dazugehörigen gesunden Dentinprobenpaar zusammen in isotonischer Kochsalzlösung gelagert.



**Abb. 3:** Demineralisation der Dentinproben

### 4.4 Herstellung der intraoralen Befestigungsapparatur

Für den In-situ-Versuch wurde von den zwölf Probanden eine Oberkieferalginat-abformung (Palgat Plus; 3M Espe, Neuss, Deutschland) genommen. Auf den daraus hergestellten Modellen (Gips Röconit Natur blau; Dr. Böhme und Schöps Dental, Goslar, Deutschland) wurden Gaumenplatten mit der Streutechnik aus kaltpolymerisierendem Kunststoff (Dentaurum, Ispringen, Deutschland) hergestellt, die durch zwei Halteelemente aus 0,7 mm V2A Stahl (Dentaurum, Ispringen, Deutschland) zwischen den Prämolaren und den Molaren fixiert wurden (Abb. 4). In die Platten wurden je vier Löcher zur Aufnahme der Dentinzyylinder gebohrt. Die Dentinzyylinder wurden mit Inlaywachs (Schuler, Ulm, Deutschland) in der Platte befestigt.

## **4.5 Die Auswahl der Probanden, Mundhygiene und Tragezeit im In-situ-Versuch, Lagerung im In-vitro-Versuch**

### **4.5.1 Auswahl der Probanden**

Für den In-situ-Teil der Studie wurden zwölf Probanden nach folgenden Einschlusskriterien ausgesucht:

- Guter körperlicher und geistiger Zustand
- Kariesfreies Gebiss
- Sulkusblutungsindex (SBI) < 10 %
- Plaqueindex (PI) < 30 % (Plaquesfärbelösung, Apotheke im Universitätskrankenhaus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland)
- Mind. 26 Zähne
- Die restaurierten Zähne waren suffizient versorgt
- Kariesrisiko gering (CRT bacteria, Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein)
- Speichelfließrate > 1 ml/min (CRT bacteria)
- Hohe Pufferkapazität des Speichels, pH > 5 (CRT bacteria)
- Keine Intensivfluoridierung in den letzten 30 Tagen

Die zwölf Probanden, sieben Frauen und fünf Männer (zwischen 18 und 62 Jahren alt), waren Bewohner der Stadt Berlin (Deutschland). Die Trinkwasserfluoridkonzentration in Berlin ist sehr niedrig (0,14-0,3 ppm Fluorid [BERLINER-WASSER-BETRIEBE, 2005]). Alle Probanden gaben ihre schriftliche Einverständniserklärung zum Studienprotokoll. Die Studie wurde von der unabhängigen Ethikkommission der Charité genehmigt (Kap 4.11).

### **4.5.2 Mundhygiene und Tragezeit im In-situ-Versuch**

Sechs Tage vor Versuchsbeginn und über den gesamten Versuchszeitraum putzten die Probanden dreimal täglich die Zähne mit einer fluoridfreien Zahnpasta (Sensodyne C;

GlaxoSmithKline, Bühl, Deutschland) und einer weichen Zahnbürste (Sensodyne Sensitiv; GlaxoSmithKline, Bühl, Deutschland). Die Probanden wurden angeleitet, die Apparatur mit den darin befestigten Dentinproben nur zum Zähneputzen und zu den Mahlzeiten zu entfernen und nicht die Dentinproben zu putzen. Während der Mahlzeiten wurden die Apparaturen in ein mit isotonischer Kochsalzlösung getränktes Taschentuch (Tempo Klassik; Procter & Gamble, Schwalbach am Taunus, Deutschland) locker eingewickelt und in eine Spangenbox (Rübeling & Klar Dental-Labor, Berlin, Deutschland) zur Aufbewahrung gelegt. Des Weiteren wurden die Probanden instruiert, während der Versuchsphase kein fluoridiertes Speisesalz, keinen Rotwein, keinen schwarzen Tee und keinen Fisch zu sich zu nehmen, sowie Tragezeit und Mahlzeiten in ein Probandentagebuch einzutragen. Das fluoridfreie Speisesalz wurde den Probanden vor Studienbeginn ausgeteilt. Die Apparaturen wurden insgesamt fünfmal für einen Tag getragen. Jeder Tragezeit folgte eine sechstägige so genannte Wash-out-Phase. Diese sollte sicherstellen, dass sich keine Fluoridreste der vorangegangenen Spülung im Mund der Probanden befanden.

#### **4.5.3 Lagerungszeiten im In-vitro-Versuch**

Die In-vitro-Proben wurden wie die In-situ-Proben behandelt, aber vor Applikation der Mundspüllösung in künstlichem Speichel (Glandosane; Cell pharm, Hannover, Deutschland) gespült und bei 100 % Feuchtigkeit gelagert.

#### 4.6 Die verwendeten Mundspüllösungen und ihre Applikation

Es wurden fünf verschiedene Mundspüllösungen mit Verblindung (Doppel-blind) getestet (Tab. 1).

**Tabelle 1:** Verwendete Mundspüllösungen, Inhaltsstoffe und deren Hersteller (Apotheke im Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland und GlaxoSmithKline, Bühl, Deutschland), der Fluoridgehalt wurde mit der ionenselektiven Fluoridelektrode bestimmt.

Mundspül- lösung	Aktive Inhaltsstoffe	Weitere Inhaltsstoffe	pH	Fluoridge- halt [ppm]	Hersteller
Chlorhexidin (CHX)	0,06 % Chlorhexidin	Deionisiertes Wasser	9,46	0	Apotheke
Chlorhexamed Lösung 0,06%+F (CF1)	0,06 % Chlorhexidin, 0,025 % F <sup>-</sup>	Wasser, Sorbitol, Alkohol, PEG-40 gehärtetes Rizinusöl, Aroma, Natrium Süß- stoff, Methylparaben, Propylparaben	5,61	257	GlaxoSmith- Kline
Natriumfluorid (NaF)	0,025 % F <sup>-</sup>	Deionisiertes Wasser	7,23	250	Apotheke
Chlorhexidin und Fluorid (CF2)	0,06 % Chlorhexidin, 0,025 % F <sup>-</sup>	Deionisiertes Wasser	7,11	249	Apotheke
Kontrolle (P)	keine	Deionisiertes Wasser	7,01	0	-

Die Applikation im In-situ-Versuch wurde wie folgt durchgeführt.

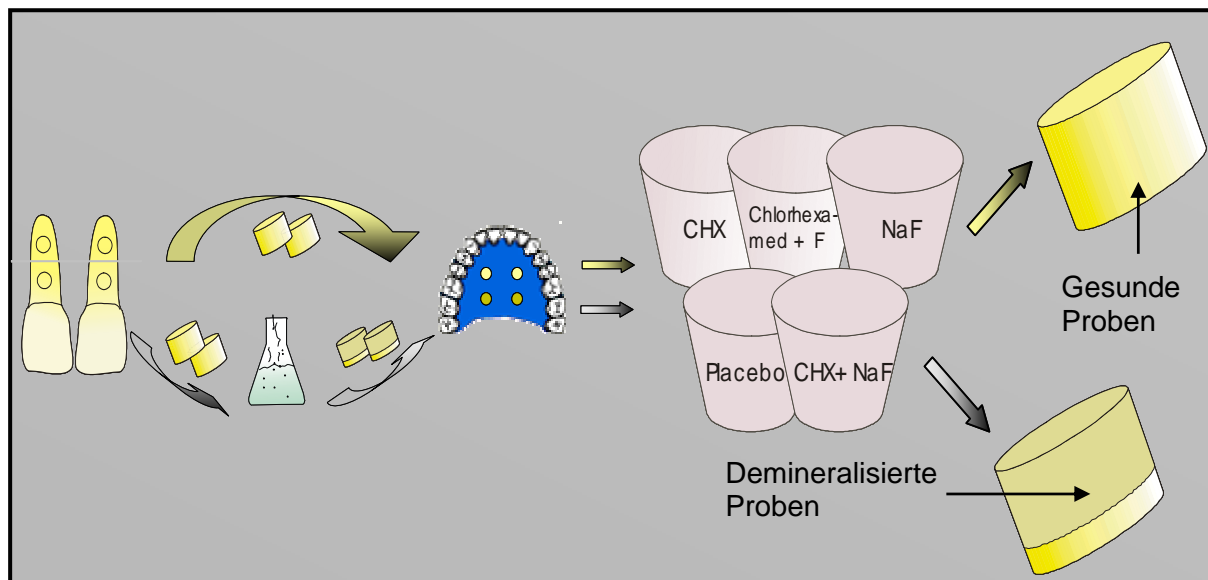
Jeder der Probanden spülte 30 Sekunden mit 10 ml der zu untersuchenden Lösung den Mund. Die Apparatur mit den vier Dentinproben wurde dabei getragen. Nach dem Spülen wurde die Apparatur kurz mit destilliertem Wasser gesäubert, die Proben vorsichtig herausgelöst und gründlich für 30 Sekunden mit destilliertem Wasser in einem Milchsieb (Haushaltsieb Edelstahl 7 cm; Fackelmann, Hersbruck, Deutschland) gesäubert und der Analyse zugeführt.

Die Applikation im In-vitro-Versuch wurde wie folgt durchgeführt.

Jeweils vier Proben wurden für 30 Sekunden mit 10 ml der zu untersuchenden Lösung in einem Polystyroidöschen gespült, dann gründlich für 30 Sekunden mit destilliertem Wasser in einem Milchsieb gesäubert und der Analyse zugeführt.

## 4.7 Gruppenverteilung

Es wurden fünf Spüllösungen untersucht (jede Spüllösung wird im Folgenden als eine Versuchsgruppe bezeichnet). Jede Versuchsgruppe bestand aus zwölf Probanden, welchem je zwei Zähne randomisiert zugeordnet wurden. Die Probanden trugen in dem In-situ-Versuch zwei Dentinproben von jedem Zahn, eine demineralisierte Dentinprobe und eine gesunde Dentinprobe (Abb. 4). Die beiden nicht verwendeten Dentinproben von jedem Zahn, wieder eine demineralisierte Dentinprobe und eine gesunde Dentinprobe, wurden in dem In-vitro-Versuch verwendet. Jeder Proband trug somit zwei demineralisierte Proben und zwei gesunde Proben von zwei verschiedenen bovinen Zähnen im Mund, palatinal befestigt an der Gaumenplatte (Abb. 4).



**Abb. 4:** Probenverteilung für den In-situ-Teil der Studie

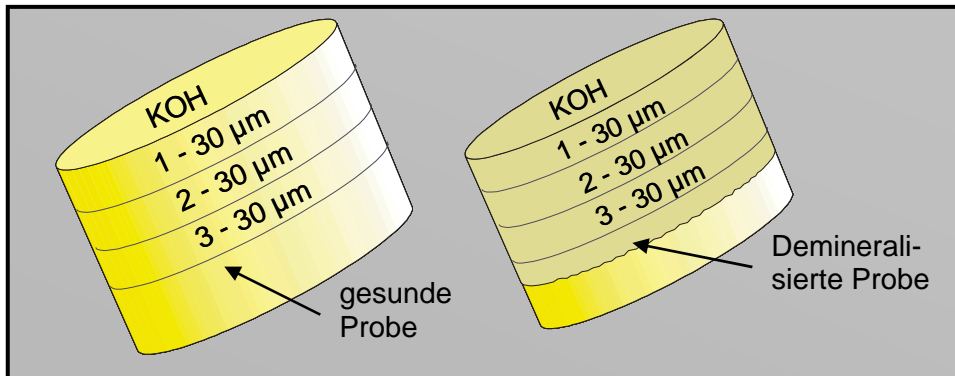
Die 96 Proben (gewonnen aus 24 Zähnen) aus einer der fünf Versuchsgruppen teilten sich folgendermaßen auf:

*In situ:* 24 demineralisierte Proben und 24 gesunde Proben

*In vitro:* 24 demineralisierte Proben und 24 gesunde Proben.

## 4.8 Bestimmung des Fluoridgehalts im Dentin

Bei jeder Dentinprobe wurde einmal das kalziumhydroxidlösliche Fluorid (KOH) und danach in drei Schichten von je 30  $\mu\text{m}$  das strukturell gebundene Fluorid bestimmt (Abb. 5).



**Abb. 5:** Die verschiedenen Analyseschritte

Die Fluoridbestimmungen wurden unter Verwendung einer Fluoridelektrode (Thermo Orion 96-09 ionplus Sure-Flow; Thermo Orion, Cambridge, MA, USA), in Kombination mit dem Autochemistry-System Orion Analyzer 960 und EA 940 (Thermo Orion, Cambridge, MA, USA) durchgeführt [THERMO-ELECTRON-CORPORATION, 1991a; THERMO-ELECTRON-CORPORATION, 1991b; THERMO-ELECTRON-CORPORATION, 1991c; THERMO-ELECTRON-CORPORATION, 2003].

### 4.8.1 Praktische Durchführung der Analyse des KOH-löslichen Fluorids

Der saubere Randschluss des Inlaywachsmantels um jede einzelne Probe wurde vor Einlegen in das KOH mittels Lupe (Labo-clib binocular 2,5 fach; Eschenbach Optik, Nürnberg, Deutschland) erneut überprüft. Die sauberen Dentinproben wurden einzeln in kleine Polystyroidöschen mit 1 ml 1 M KOH eingelegt. Die Döschen wurden für 24 h bei 22 °C im klimatisierten Raum gelagert. Anschließend wurde die Lösung mit 1 ml 1 M Salpetersäure neutralisiert, die Dentinprobe entnommen und mit 2,5 ml TISAB II (Gesamtionenstärke-Einstellungspuffer, Total Ionic Strength Adjustment Buffer) abgepuffert [CASLAVSKA et al., 1975]. Die Fluoridkonzentration der Lösung konnte direkt mit der ionenselektiven Fluoridelektrode bei 22 °C im klimatisierten Raum bestimmt werden [MCCANN, 1968].



#### **4.8.2 Praktische Durchführung der Analyse des strukturell gebundenen Fluorids**

Zur Bestimmung des strukturell gebundenen Fluorids wurde eine spezielle Abschleifapparatur mit Schwenkarm gebaut (Eigenherstellung). Die Dentinproben wurden mit einem Skalpell von ihrem Inlaywachsmantel befreit und mit der nicht behandelten Seite so in einem Probenhalter fixiert, dass die Oberfläche parallel zum Schleiftisch ausgerichtet war. Der Probenhalter wurde daraufhin in einen Kolben eingeschraubt, der seinerseits spielfrei in einen geölten Hohlzylinder eingeführt werden konnte. Der Kolben drückte durch sein Eigengewicht die Probe auf den mit Schleifpapier der Körnung 320 (Schleifpapier K320; OBI Bau- und Heimwerkermärkte, Wermelskirchen, Deutschland) bespannten Schlitten. Daraufhin konnte der Schwenkarm, an dem sich eine digitale Feintastermikrometeruhr (Mitutoyo, Neuss, Deutschland) befand, über dem Kolben in Position gebracht sowie der Fühler der Uhr auf dem Kolben abgelegt werden. So konnte unter ständiger Kontrolle der Anzeige die abgeriebene Menge kontrolliert werden.

Die Schleifpapierstreifen wurden vor Verwendung acht Stunden in dreiprozentiger Perchlorsäure (Apotheke im Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland) bei 22 °C von eventuell anhaftendem Fluorid gesäubert. Anschließend wurden die Streifen gründlich mit destilliertem Wasser abgespült, getrocknet und in 0,8 x 10 cm große Streifen geschnitten. Diese gewonnenen Streifen wurden an dem Schleifschlitten befestigt. Durch das Hin- und Herbewegen des Schlittens wurden unter Kontrolle der Mikrometeruhr jeweils 30 µm der Dentinprobe abradiert. Bei jeder Probe wurden dreimal 30 µm abgetragen.

Die Sandpapierstreifen wurden in kleine Stücke geschnitten und mit 0,5 ml 0,5 M Perchlorsäure in Polystyroidöschen gefüllt. Die Behälter wurden für 24 h bei 22 °C im klimatisierten Raum gelagert, um den Dentinabrieb zu lösen. Danach wurde jede Probe mit 2,5 ml TISAB II abgepuffert. Die Fluoridkonzentration der Lösung konnte direkt mit der ionenselektiven Fluoridelektrode bei 22 °C im klimatisierten Raum bestimmt werden [McCANN, 1968].

#### 4.9 Berechnung der Fluoridkonzentration in der Probe

Die Ausgabeeinheit der Fluoridelektrode (*Conc F<sub>0</sub>*) wurde auf mmol/l eingestellt.

Die Menge des KOH-löslichen Fluorids (*Conc F<sub>1</sub>*) berechnete sich nach folgender Formel:

$$\text{Conc } F_1 (\mu\text{g} / \text{cm}^2) = \frac{\text{Conc } F_0 (\text{mmol} / \text{l}) * 19(\text{mg} / \text{mmol}) * \text{Probenmenge} (\text{ml})}{\text{Exponierte Fläche} (\text{cm}^2)}$$

Die exponierte Fläche berechnete sich nach:

$$A = r^2 * \pi \quad r = 1,45 \text{ mm}$$

Die Menge strukturell gebundenen Fluorids (*Conc F<sub>2</sub>*) berechnete sich nach folgender Formel:

$$\text{Conc } F_2 (\mu\text{g} / \text{cm}^3) = \frac{\text{Conc } F_0 (\text{mmol} / \text{l}) * 19(\text{mg} / \text{mmol}) * \text{Probenmenge}(\text{ml})}{\text{Abradiertes Dentinvolumen} (\text{cm}^3)}$$

Das abradierte Dentinvolumen berechnete sich nach:

$$V = r^2 * \pi * h \quad r = 1,45 \text{ mm} \quad h = 30 \mu\text{m}$$

#### 4.10 Statistik

Die Vergleiche der Spüllösungen hinsichtlich der Fluoridaufnahme wurden durch eine ANOVA durchgeführt. Das multiple Alpha-Niveau von 5 % wurde wegen der zehn durchgeführten Paarvergleiche für den post-hoc-Test auf das Einzelniveau von 0,5 % abgesenkt (Bonferroni-Korrektur). Statistische Abhängigkeiten, die davon herrühren, dass mehrere Proben vom gleichen Zahn gewonnen wurden und jeder Proband vier Proben gleichzeitig trug, wurden durch Verwendung der Generalized Estimating Equations (GEE) berücksichtigt. Die statistischen Auswertungen wurden mit SAS 9.1 (SAS Institutes Inc., Cary, USA) mit Prozedur GENMOD durchgeführt.

#### 4.11 Ethikkommission

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Charité-Universitätsmedizin Berlin mit der Antragsnummer # 227-19 am 28.06.2004 genehmigt.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Probanden

Alle zwölf Probanden, fünf Männer und sieben Frauen, beendeten die Studie. Die Apparaturen wurden laut Probandentagebuch durchschnittlich 21 Stunden und 53 Minuten *in situ* getragen. Der DMFT der Probanden reichte von 0 bis 20 und betrug im Mittel 5,25. Die Mundhygiene war bei allen Patienten gut (PI:  $\bar{x}$  = 16 %; SBI:  $\bar{x}$  = 0 %). Das Alter der Probanden reichte von 18 bis 62 Jahren ( $\bar{x}$  = 28,58 Jahre). Die Probanden hatten 26 bis 32 Zähne ( $\bar{x}$  = 28,9). In der Voruntersuchung wurde auf suffiziente Versorgung und Kariesfreiheit der Zähne geachtet, gegebenenfalls wurden kariöse Läsionen vor Studienbeginn behandelt oder die insuffizienten Versorgungen getauscht.

### 5.2 Gruppengröße

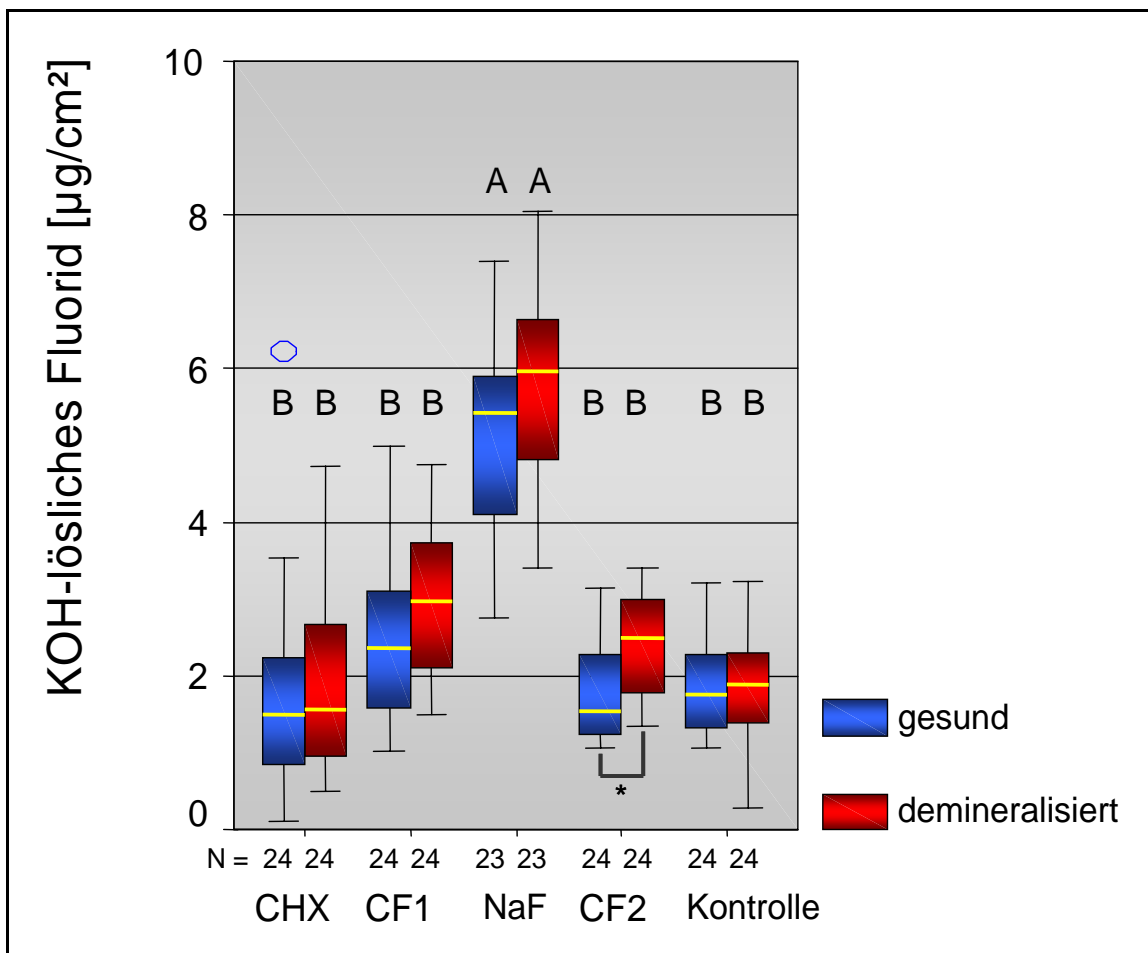
Die normale Gruppengröße in einer der 80 Versuchsuntergruppen betrug  $n = 24$ .

Durch Verlust von 17 der insgesamt 1920 Messproben sank die Gruppengröße in 17 Versuchsgruppen auf  $n = 23$ . In keiner Versuchsgruppe ging mehr als eine Probe verloren.

### 5.3 KOH-lösliches Fluorid

#### 5.3.1 KOH-lösliches Fluorid *in situ*

Die Daten des KOH-löslichen Fluorids von den *in situ* fluoridierten Dentinproben ergaben eine signifikant höhere Fluoridaufnahme von NaF gegenüber allen anderen Mundspüllösungen (Abb. 6). (Zur allgemeinen Erläuterung über Box-Plot-Diagramme siehe Kap. 9.1)



**Abb. 6:** Messwerte des KOH-löslichen Fluorids *in situ* bei Anwendung unterschiedlicher Mundspüllösungen (box-and-whisker-plots; Ausreißer zwischen dem 1,5 und 3-fachen des Interquartilabstands sind als Kreis in der dazugehörigen Farbe dargestellt) mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen (gelb). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,005$ ; Bonferroni). Signifikante Unterschiede zwischen gesunden und demineralisierten Proben sind mit einem schwarzen Sternchen markiert.

Es war eine Tendenz zu erkennen, dass demineralisiertes Dentin mehr Fluorid aufnimmt als gesundes Dentin (Abb. 6). Ein signifikanter Unterschied ergab sich jedoch nur zwischen demineralisierten und gesunden Proben der Mundspüllösung CF2 ( $p = 0,0032$ ). Weitere signifikante Unterschiede wurden nicht beobachtet.

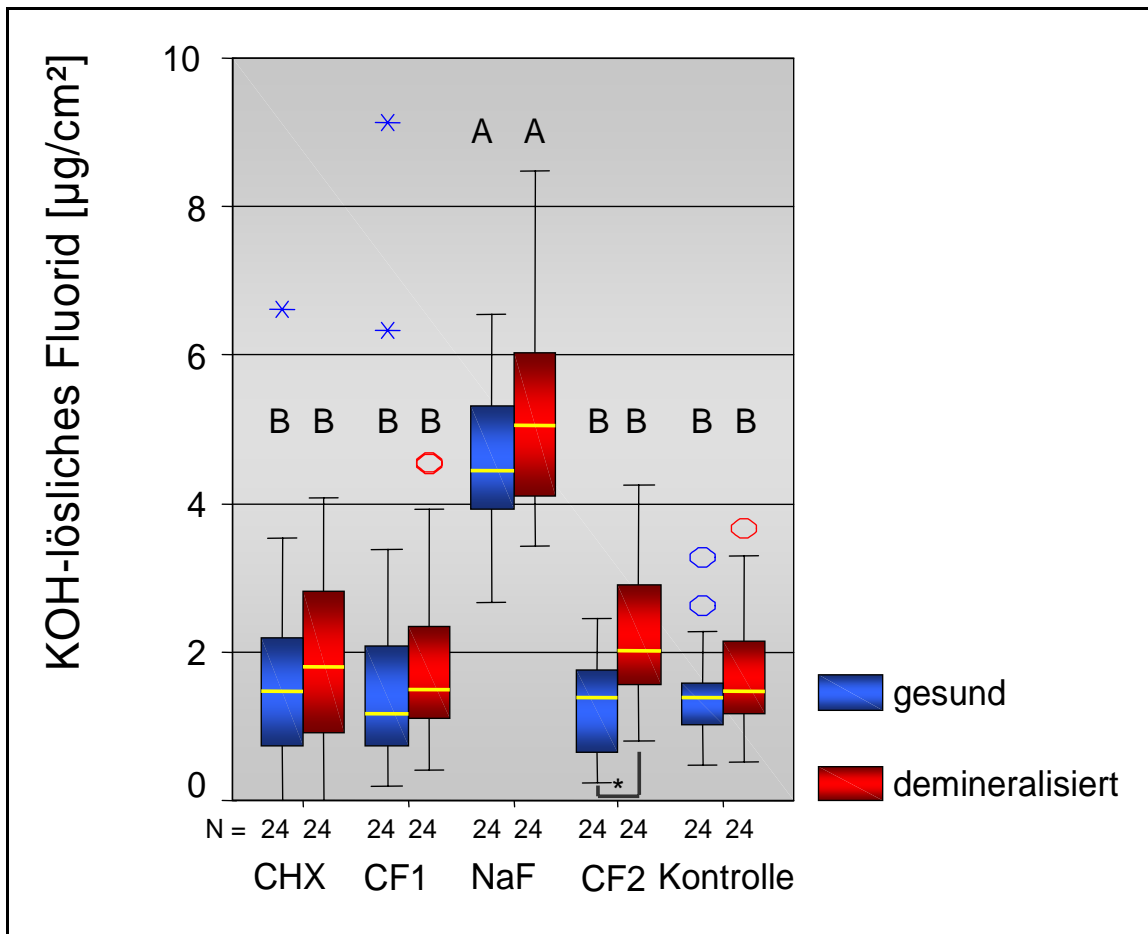
Die Mittelwerte für KOH-lösliches Fluorid für die *in situ* fluoridierten gesunden Proben lagen zwischen 1,78  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  für die Mundspüllösungen CHX und CF2 und 5,03  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  für NaF (Tab. 2). Die Mittelwerte für KOH-lösliches Fluorid für die *in situ* fluoridierten demineralisierten Proben lagen zwischen 1,82  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  bei CHX und 5,75  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  bei NaF (Tab.2).

**Tabelle 2:** Mittelwerte und Standardabweichung (in Klammern) des KOH-löslichen Fluorids [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ] *in situ* bei gesunden und demineralisierten Proben

Spüllösung	KOH-löslich / gesund	KOH-löslich / demineralisiert
CHX	1,78 (1,30)	1,82 (1,10)
CF1	2,44 (1,02)	2,94 (0,91)
NaF	5,03 (1,32)	5,75 (1,25)
CF2	1,78 (0,67)	2,41 (0,67)
Kontrolle	1,90 (0,70)	1,88 (0,69)

### 5.3.2 KOH-lösliches Fluorid *in vitro*

Ähnlich wie bei dem *in situ* gemessenen KOH-löslichen Fluorid, ergab sich gegenüber allen anderen Gruppen auch eine signifikant höhere Fluoridaufnahme von NaF bei den *in vitro* gelagerten Proben (Abb. 7).



**Abb. 7:** Messwerte des KOH-löslichen Fluorids *in vitro* bei Anwendung unterschiedlicher Mundspüllösungen (box-and-whisker-plots; Ausreißer zwischen dem 1,5 und 3-fachen des Interquartilabstands sind als Kreis, Extremwerte als Sternchen in der dazugehörigen Farbe dargestellt) mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen (gelb). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,005$ ; Bonferroni). Signifikante Unterschiede zwischen gesunden und demineralisierten Proben sind mit einem schwarzen Sternchen markiert.

Bei den *in vitro* gelagerten Proben wurde ebenfalls nur ein signifikanter Unterschied zwischen den demineralisierten und gesunden, der in der Mundspüllösung CF2 gelagerten Dentinproben gefunden ( $p = 0,0040$ ), obwohl auch hier bei den

demineralisierten Proben eine Tendenz zu einer höheren Fluoridaufnahme bestand (Abb. 7). Weitere signifikante Unterschiede wurden auch hier nicht beobachtet.

Die Mittelwerte für KOH-lösliches Fluorid bei den *in vitro* gelagerten gesunden Proben lagen zwischen 1,45 µg/cm<sup>2</sup> für die Kontrolle und bei 4,55 µg/cm<sup>2</sup> für NaF (Tab 3). Die Mittelwerte für KOH-lösliches Fluorid bei den *in vitro* gelagerten demineralisierten Proben lagen zwischen 1,69 µg/cm<sup>2</sup> bei der Kontrolle und bei 5,23 µg/cm<sup>2</sup> für NaF (Tab 3).

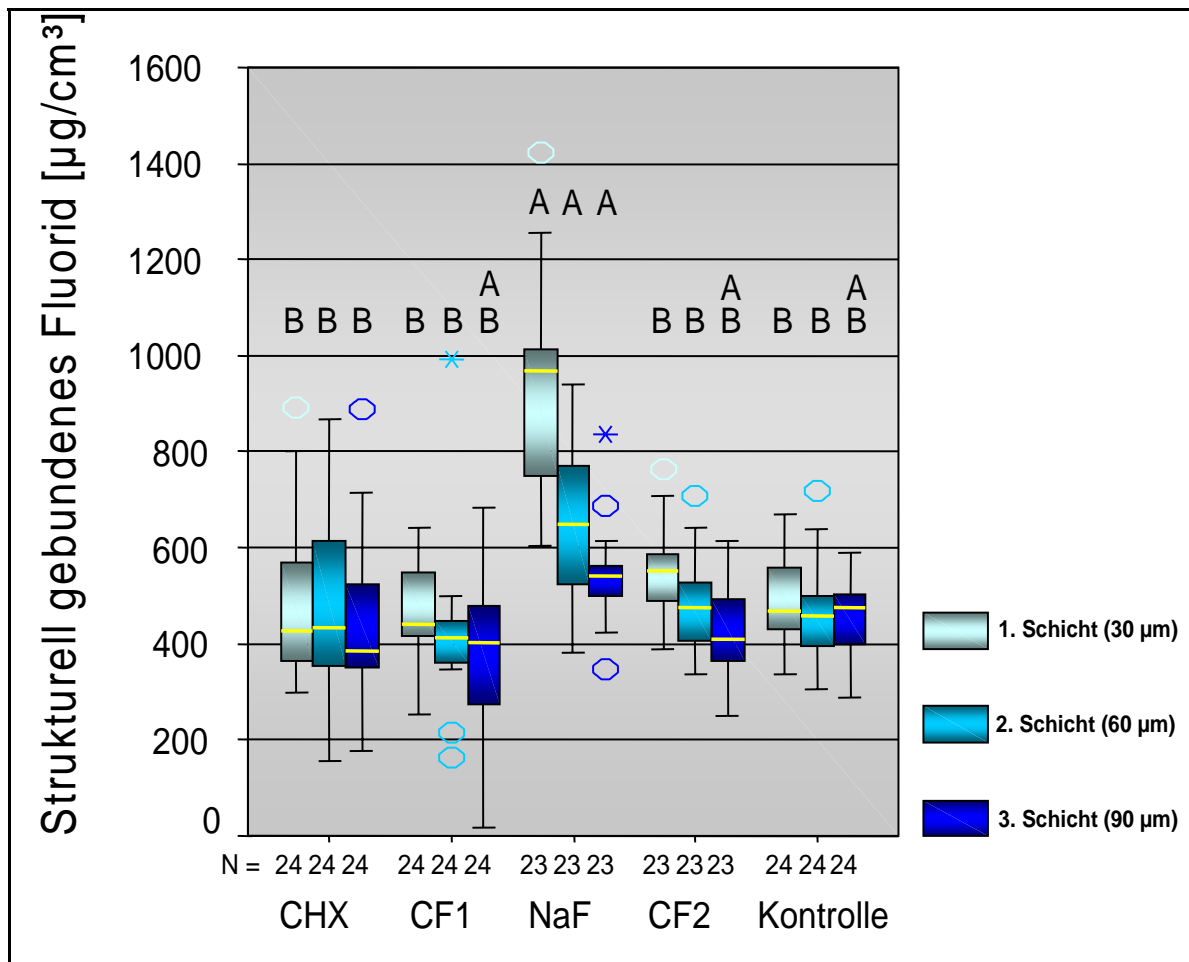
**Tabelle 3:** Mittelwerte und Standardabweichung (in Klammern) des KOH-löslichen Fluorids [µg/cm<sup>2</sup>] *in vitro* bei gesunden und demineralisierten Proben

Spüllösung	KOH-löslich / gesund	KOH-löslich / demineralisiert
CHX	1,62 (1,59)	1,94 (1,26)
CF1	1,86 (2,02)	1,93 (1,19)
NaF	4,55 (1,02)	5,23 (1,23)
CF2	1,30 (0,61)	2,20 (0,96)
Kontrolle	1,45 (0,64)	1,69 (0,81)

## 5.4 Strukturell gebundenes Fluorid

### 5.4.1 Strukturell gebundenes Fluorid *in situ*

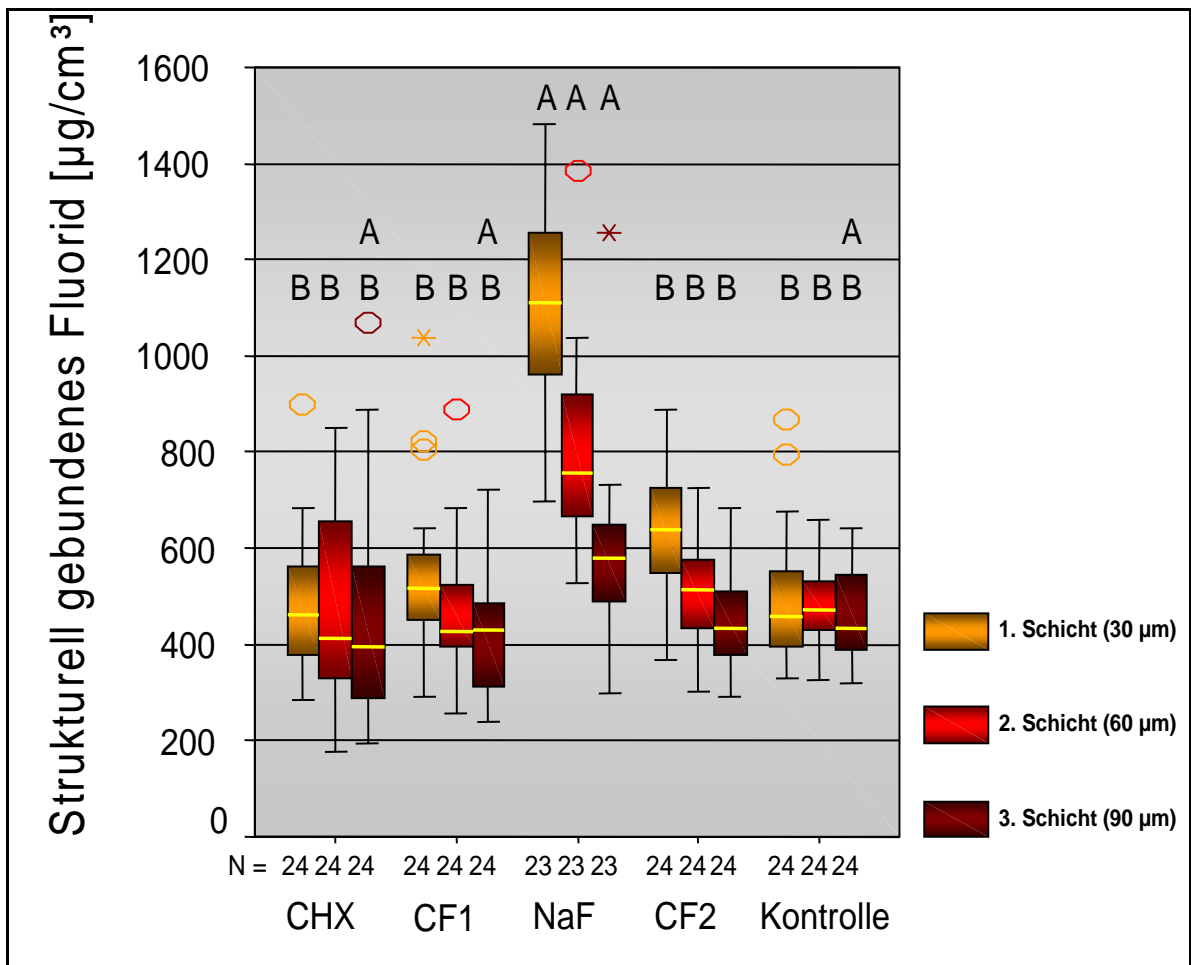
Ähnliche Ergebnisse wie bei dem KOH-löslichen Fluorid ergaben sich bei den oberen beiden Schichten für strukturell gebundenes Fluorid bei den *in situ* fluoridierten Dentinproben aus der Analyse der Daten. Die reine NaF-Lösung führte zu einer signifikanten Erhöhung der Fluoridaufnahme in den beiden oberen Schichten gegenüber allen anderen Lösungen ( $p < 0,05$ ). Diese Ergebnisse zeigten sich bei gesunden Proben (Abb. 8).



**Abb. 8:** Messwerte des strukturell gebundenen Fluorids *in situ* an gesunden Proben bei Anwendung unterschiedlicher Mundspüllösungen (box-and-whisker-plots; Ausreißer zwischen dem 1,5 bis 3-fachen des Interquartilabstands sind als Kreis, Extremwerte als Sternchen in der dazugehörigen Farbe dargestellt) mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen (gelb). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,005$ ; Bonferroni).



Ähnliche Ergebnisse zeigten sich ebenfalls bei demineralisierten Proben (Abb. 9).



**Abb. 9:** Messwerte des strukturell gebundenen Fluorids *in situ* an demineralisierten Proben bei Anwendung unterschiedlicher Mundspüllösungen (100 % box-and-whisker-plots; Ausreißer zwischen dem 1,5 bis 3-fachen des Interquartilabstands sind als Kreis, Extremwerte als Sternchen in der dazugehörigen Farbe dargestellt) mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen (gelb). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,005$ ; Bonferroni).

In der dritten Schicht führte NaF nur noch zu einer signifikant erhöhten Fluoridaufnahme gegenüber CHX ( $p = 0,0009$ ) bei gesunden Proben (Abb. 8) und gegenüber CF2 ( $p = 0,0033$ ) bei demineralisierten Proben (Abb. 9), jedoch nicht in Bezug auf die anderen Lösungen.

Der Vergleich zwischen gesunden und demineralisierten Proben zeigte in der äußersten Schicht keine signifikanten Unterschiede; jedoch waren hier Tendenzen zu einer

erhöhten Fluoridaufnahme von demineralisiertem Dentin gegenüber gesundem Dentin zu beobachten.

In der mittleren Schicht führte die Applikation von NaF ( $p = 0,0030$ ) und CF2 ( $p = 0,0024$ ) im Vergleich zu den gesunden Proben zu signifikant erhöhten Werten bei demineralisierten Proben.

In der untersten Schicht konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen gesunden und demineralisierten Proben beobachtet werden.

Bei gesundem Dentin reichten die Mittelwerte der äußersten Schicht von  $468,62 \mu\text{g}/\text{cm}^3$  bei CF1 bis zu  $943,44 \mu\text{g}/\text{cm}^3$  bei NaF (Tab. 4).

**Tabelle 4:** Mittelwerte und Standardabweichung (in Klammern) des strukturell gebundenen Fluorids [ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ] *in situ* bei gesunden Proben

Spüllösung	1. Schicht (30 $\mu\text{m}$ )	2. Schicht (60 $\mu\text{m}$ )	3. Schicht (90 $\mu\text{m}$ )
CHX	484,14 (166,92)	467,52 (174,38)	441,96 (164,82)
CF1	468,62 (93,18)	420,20 (145,06)	383,56 (147,85)
NaF	943,44 (222,11)	647,98 (159,82)	542,53 (99,07)
CF2	544,43 (89,89)	466,87 (95,73)	430,32 (86,86)
Kontrolle	492,87 (98,05)	461,58 (97,23)	452,44 (78,21)

Bei demineralisiertem Dentin reichten die Mittelwerte der äußersten Schichte von  $483,74 \mu\text{g}/\text{cm}^3$  bei CHX bis zu  $1087,84 \mu\text{g}/\text{cm}^3$  bei NaF (Tab. 5).

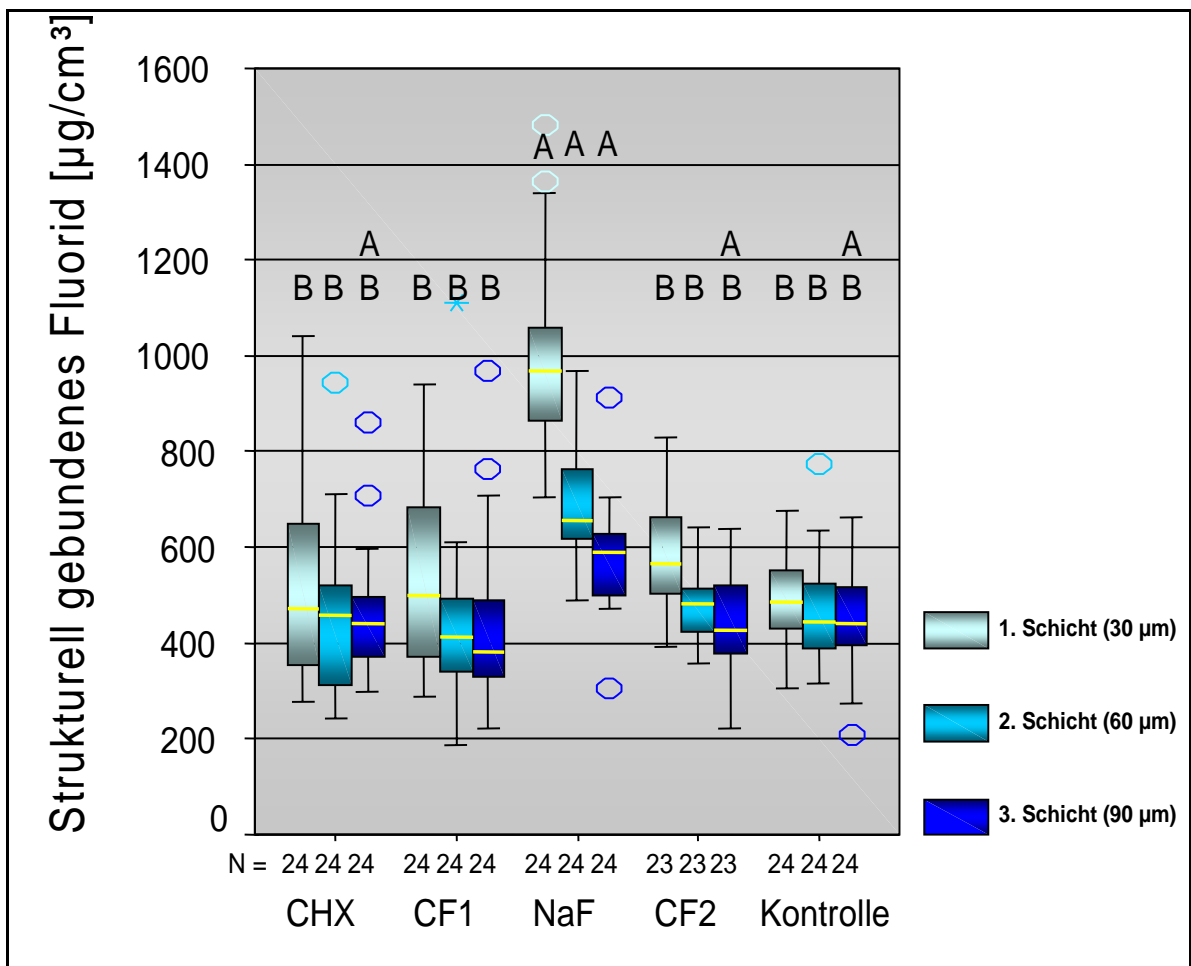
**Tabelle 5:** Mittelwerte und Standardabweichung (in Klammern) des strukturell gebundenen Fluorids [ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ] *in situ* bei demineralisierten Proben

Spüllösung	1. Schicht (30 $\mu\text{m}$ )	2. Schicht (60 $\mu\text{m}$ )	3. Schicht (90 $\mu\text{m}$ )
CHX	483,74 (145,77)	467,22 (182,53)	455,24 (211,15)
CF1	537,60 (168,70)	467,62 (139,07)	421,90 (123,43)
NaF	1087,84 (203,29)	799,89 (193,11)	590,90 (181,68)
CF2	623,50 (136,95)	512,24 (107,09)	445,96 (89,82)
Kontrolle	493,67 (140,48)	482,99 (88,38)	463,62 (100,79)

Die Mittelwerte der folgenden Schichten nahmen kontinuierlich ab (Tab. 4 + 5), sodass sich das so genannte Tiefenspektrum zeigte (Abb. 8 + 9).

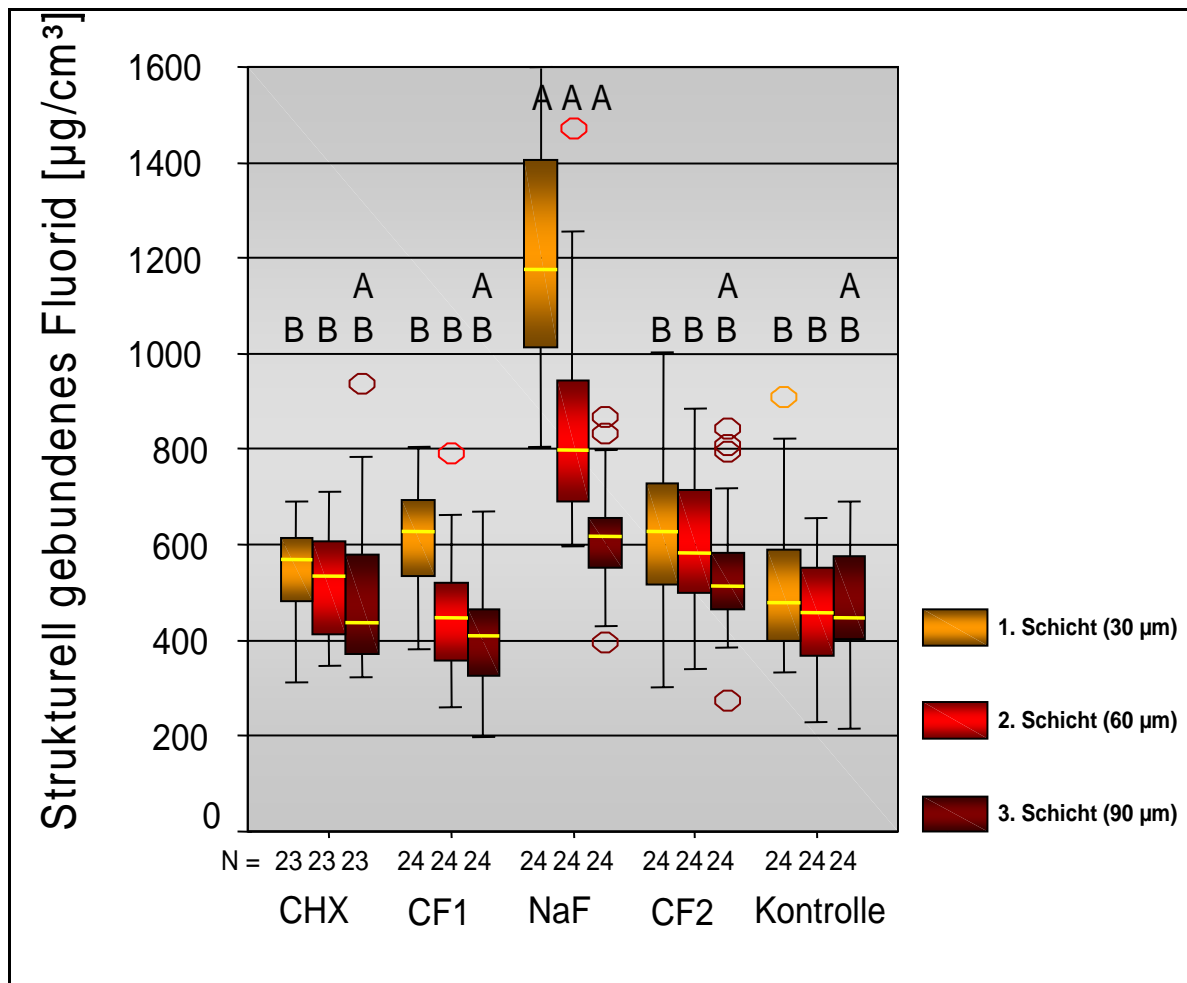
### 5.4.2 Strukturell gebundenes Fluorid *in vitro*

Die Ergebnisse des In-vitro-Versuches glichen stark denen des In-situ-Versuches. Die reine NaF-Lösung führte auch hier zu einer signifikanten Erhöhung der Fluoridaufnahme in den beiden oberen Schichten gegenüber allen anderen Lösungen ( $p < 0,05$ ). Dies zeigte sich bei gesunden Proben (Abb. 10).



**Abb. 10:** Messwerte des strukturell gebundenen Fluorids *in vitro* an gesunden Proben bei Anwendung unterschiedlicher Mundspüllösungen (box-and-whisker-plots; Ausreißer zwischen dem 1,5 bis 3-fachen des Interquartilabstands sind als Kreis, Extremwerte als Sternchen in der dazugehörigen Farbe dargestellt) mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen (gelb). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,005$ ; Bonferroni).

Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei demineralisierten Proben beobachtet (Abb. 11).



**Abb. 11:** Messwerte des strukturell gebundenen Fluorids *in vitro* an demineralisierten Proben bei Anwendung unterschiedlicher Mundspüllösungen (box-and-whisker-plots; Ausreißer zwischen dem 1,5 bis 3-fachen des Interquartilabstands sind als Kreis, Extremwerte als Sternchen in der dazugehörigen Farbe dargestellt) mit den jeweiligen Quartilen sowie Medianen (gelb). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,005$ ; Bonferroni).

In der untersten Schicht führte die Applikation der NaF Lösung zu keiner signifikant erhöhten Fluoridaufnahme gegenüber den anderen Lösungen, eine Ausnahme zeigte sich nur bei der CF1 Lösung bei gesunden Proben ( $p = 0,0031$ ), (Abb. 10 + 11).

Demineralisierte Proben zeigten eine Tendenz zu erhöhter Fluoridaufnahme gegenüber gesunden Proben, die jedoch nur in der mittleren Schicht der NaF-Gruppe signifikant war ( $p = 0,0049$ ).

Bei gesundem Dentin reichten die Mittelwerte der äußersten Schicht von 492,52  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  bei der Kontrolle bis zu 993,41  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  bei NaF (Tab.6).

**Tabelle 6:** Mittelwerte und Standardabweichung (in Klammern) des strukturell gebundenen Fluorids [ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ] *in vitro* bei gesunden Proben

Spüllösung	1. Schicht (30 $\mu\text{m}$ )	2. Schicht (60 $\mu\text{m}$ )	3. Schicht (90 $\mu\text{m}$ )
CHX	545,88 (218,32)	457,84 (172,41)	457,39 (130,56)
CF1	529,51 (183,51)	438,47 (182,49)	437,57 (175,03)
NaF	993,41 (216,08)	680,10 (117,95)	577,98 (112,98)
CF2	587,46 (126,61)	480,80 (75,95)	441,01 (98,01)
Kontrolle	492,52 (98,61)	466,92 (109,54)	445,36 (101,34)

Bei den demineralisierten Proben reichten die Mittelwerte der äußersten Schicht von 514,14  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  bei der Kontrolle bis zu 1202,69  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  bei NaF (Tab. 7).

**Tabelle 7:** Mittelwerte und Standardabweichung (in Klammern) des strukturell gebundenen Fluorids [ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ] *in vitro* bei demineralisierten Proben

Spüllösung	1. Schicht (30 $\mu\text{m}$ )	2. Schicht (60 $\mu\text{m}$ )	3. Schicht (90 $\mu\text{m}$ )
CHX	523,77 (130,15)	510,64 (115,34)	506,21 (162,79)
CF1	618,36 (112,03)	459,13 (130,50)	406,47 (99,28)
NaF	1202,69 (254,02)	849,06 (224,92)	610,47 (118,63)
CF2	634,83 (171,68)	597,24 (137,93)	542,99 (135,56)
Kontrolle	514,14 (157,20)	457,98 (109,28)	470,76 (126,70)

Die Mittelwerte der folgenden Schichten nahmen kontinuierlich ab (Tab. 6 + 7); auch hier zeigte sich das so genannte Tiefenspektrum (Abb. 10 + 11).

.

## **6 Diskussion**

### **6.1 Diskussion der Methode**

#### **6.1.1 Design der Studie**

In der vorliegenden Untersuchung sollten möglichst alle Störgrößen, die die Probenherstellung sowie die In-situ- und In-vitro-Versuchsdurchführung betreffen, ausgeschlossen werden. Daher wurde die Studie im Doppelblindversuch durchgeführt, wobei die Probanden und Dentinproben randomisiert den einzelnen Gruppen zugeteilt wurden. Alle Probanden im In-situ-Teil der Studie sowie die vergleichbaren Proben im In-vitro-Teil waren sowohl Mitglieder der jeweiligen Kontrollgruppen als auch Mitglieder der Versuchsgruppen. So war es möglich, probandenabhängige Unterschiede auszuschließen.

Bei einem Doppelblindversuch ist den Probanden und den Untersuchern nicht bekannt, welche Lösung untersucht wird. Dadurch wurde die Untersuchung unvoreingenommen und ohne eine bestimmte Erwartungshaltung durchgeführt, um auch von dieser Seite größtmögliche Objektivität zu garantieren.

Auf Grund der Schwierigkeit des Anmischens und der Stabilität der Fluoridlösungen wurde auf ein Cross-over-Design der Studie verzichtet. Die Lösungen wurden direkt vor der Verwendung angemischt und vor dem Gebrauch auf ihren Fluoridgehalt (von einer dritten Person, nicht vom Untersucher) überprüft. Zweimal hatten die Lösungen im Vorfeld einen zu hohen Fluoridgehalt und mussten neu angemischt werden. Die Schwierigkeit beim Anmischen ergibt sich daraus, dass das Natriumfluoridpulver stark hygroskopisch ist und dadurch Fehler beim Abwiegen entstehen können. Dadurch hätte bei einem Cross-over-Design nicht gewährleistet werden können, dass die Lösungen immer den gleichen Fluoridgehalt haben. Durch die Tatsache, dass in der vorliegenden Studie alle Proben zur gleichen Zeit mit der gleichen Lösung gespült wurden, konnte diese Schwankung ausgeschlossen werden. Des Weiteren sind bei einer einmaligen Spülung und der folgenden sechstägigen Wash-out-Phase keine zusätzlichen Effekte zu erwarten. Diese würden erst bei einer längeren Anwendung auftreten.

In der vorliegenden Untersuchung wurden aus 120 bovinen Zähnen 480 Proben gewonnen und 1.920 Messungen durchgeführt. Daraus ergibt sich für jede Untergruppe in den fünf Versuchsgruppe eine Probenanzahl von  $n = 24$ . Bei anderen Studien, die ebenfalls die Wirkung von Fluorid und Chlorhexidin untersuchten, waren die Versuchsgruppen deutlich kleiner [KIRKEGAARD et al., 1974; BEN-YAAKOV et al., 1984]. Durch die großen Versuchsgruppen konnten bei der vorliegenden Arbeit Ausreißer der Messwerte nur sehr geringe Auswirkungen auf die statistischen Ergebnisse zeigen; dies unterscheidet die vorliegende Studie von früheren Arbeiten mit kleineren Versuchsgruppen.

### 6.1.2 Das Zahnmaterial

Für die Studie wurden bovine Schneidezähne verwendet, da letztere sich aus vielen Gründen für die Probengewinnung eignen. Rinderzähne sind leicht und in großen Mengen zu beschaffen, haben das gleiche Alter und die gleiche Herkunft und haben eine ausreichend große, flache Oberfläche auch im Wurzelbereich [KOMORI und ISHIKAWA, 1999].

Bovine Zähne sind aus chemischer Sicht mit humanen Zähnen vergleichbar und werden deshalb als Ersatz für humane Zähne angesehen [ESSER et al., 1998]. Die Knoop-Mikrohärte zwischen bovinen und humanen Zähnen stimmt überein; auch für De- und Remineralisationsmodelle in der Kariesforschung sind sie geeignet [HARA et al., 2003].

Verglichen mit humanen Zähnen sind die interindividuellen Unterschiede zwischen bovinen Zähnen sehr viel geringer ausgeprägt. Im Gegensatz zu bovinen Zähnen weisen humane Zähne einen großen interindividuellen Unterschied auf, da sie eine unterschiedliche Fluoridvergangenheit haben können. Die in dieser Studie verwendeten bovinen Zähne stammten alle von der gleichen Herde, so dass die möglichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Individuen als sehr gering eingestuft werden können.

Durch den relativ großen Durchmesser der Wurzeln konnte leicht eine planparallele Oberfläche hergestellt werden. Dies ist an menschlichen Zähnen kaum zu realisieren. Es wurde darauf geachtet, die Zementschicht mit sehr hohem Fluoridgehalt [DIETZ et al., 2002] bei allen Proben vollständig und bis in eine Tiefe von ca. 100  $\mu\text{m}$  zu



entfernen. Die eventuelle Beeinflussung der Ergebnisse durch diese notwendige Maßnahme (bezogen auf die Vergleichbarkeit von In-vivo-Ergebnissen, bei denen die Zementschicht die Wurzeloberfläche umgibt) kann als sehr gering angesehen werden, da kein signifikanter Unterschied zwischen dem Zementfluoridgehalt und der Wurzelkariesentstehung bekannt ist [ALMQVIST und LAGERLÖF, 1993a]. In der Regel ist bei freiliegenden Zahnhälsen keine Zementschicht mehr vorhanden.

Jedoch muss der Nutzen von bovinen Zähnen in einem In-situ-Versuch gegen das Restrisiko einer möglichen Probanden- oder Anwenderinfektion mit der bovinen spongiformen Enzephalopathie abgewogen werden. Die infektiösen Prione (proteinaceous infectious particle) sind durch Bestrahlung, Hitze oder chemische Sterilisation nicht zerstörbar [HARA et al., 2003]. Da alle Rinder vor der Schlachtung auf eine Infektion mit der bovinen spongiformen Enzephalopathie getestet werden, kann eine Infektionsübertragung ausgeschlossen werden, zumal das bovine Desmodont, sowie die bovine Zahnpulpa entfernt und nicht *in situ* getragen wurden. Eine Prionenübertragung durch das Arbeiten mit bovinen Zahnhartsubstanzen wurde bisher nicht beschrieben.

Die verwendeten Zähne wurden randomisiert auf die Lösungen und Probanden verteilt. Von jedem Zahn wurden vier Proben gewonnen. Zwei dieser Proben trugen die Probanden in dem In-situ-Versuch (jeweils eine demineralisierte Dentinprobe und eine gesunde Dentinprobe). Die beiden nicht verwendeten Dentinproben eines jeden Zahnes, erneut eine demineralisierte Dentinprobe und eine gesunde Dentinprobe, wurden im In-vitro-Versuch verwendet. Dadurch konnte gewährleistet werden, dass absolut gleiches Zahnmaterial, sowohl im In-situ-Versuch als auch im In-vitro-Versuch angewandt wurde. Das gleiche gilt für die demineralisierten und gesunden Proben. Somit können gemessene Unterschiede nicht aus Unterschieden der verwendeten Zähne stammen, sondern spiegeln direkt die Auswirkungen des In-situ-/In-vitro-Versuchs beziehungsweise der Bedingungen „demineralisiert“ und „gesund“ wieder.

### 6.1.3 Die Anwendungshäufigkeit

Die Studiendauer umfasste insgesamt sechs Wochen. Vor jeder Spülung durchliefen die Probanden eine einwöchige Wash-out-Phase. Die Wash-out-Phase wurde gewählt, um mögliche Interferenzen zwischen den verschiedenen Lösungen auszuschließen. In der vorliegenden Studie wurden die Proben einmal mit 10 ml Lösung für 30 Sekunden gespült. Dieses Vorgehen wurde den Herstellerangaben von GlaxoSmithKline entnommen. Dadurch konnte die klinische Anwendung simuliert und standardisierte Abläufe gesichert werden.

Da jede Lösung nur einmal für 30 Sekunden angewendet wurde, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Ergebnisse bei einer häufigeren Anwendung der Lösungen über mehrere Wochen von den hier erzielten Ergebnissen abweichen. In früheren Studien an Schmelzpulver wurden die Proben länger, zum Beispiel fünf Minuten [KIRKEGAARD et al., 1974] und eine Stunde [BEN-YAAKOV et al., 1984], der Lösung ausgesetzt. Eine derartige Zeitspanne entspricht jedoch nicht der klinischen Situation und wurde daher bewusst auf die In-situ-Einwirkzeit von Mundspüllösungen (wie auch im Beipackzettel von GlaxoSmithKline angegeben) verkürzt.

### 6.1.4 Fluoridbestimmung

Es gibt verschiedene Methoden, die Wirkung von Fluorid an Zahnhartsubstanzen zu untersuchen. Sie können eingeteilt werden in direkt quantitative (z.B. Fluoridelektrode) und quantitativ-qualitative (z.B. transversale Mikroradiographie/TMR) Verfahren.

Die quantitative Fluoridaufnahme ist die beste primäre Bioaktivitätsmessung von Dentalprodukten, um die Reaktivität von Fluoridsystemen zu untersuchen [WHITE, 1995]. Sie wurde in zahlreichen Studien angewendet [ADDY und DOWELL, 1986; HELLWIG et al., 1987; MELLBERG et al., 1988; HELLWIG, 1992; IJIMA et al., 1993; WHITE, 1995; ATTIN et al., 1997; KAWAI et al., 1997; ATTIN et al., 2000; HOLLER et al., 2002].

Die beste Methode, um De- und Remineralisation quantitativ und qualitativ zu erfassen ist die TMR [CLASEN und ØGAARD, 1999; KAWASAKI et al., 2000]. Auch diese Methode wurde in zahlreichen wissenschaftlichen Arbeiten angewendet [TVEIT und HALSE, 1982; ARENDS et al., 1989; ARENDS et al., 1990; ÖGAARD et al., 1990; DUNIPACE et al., 1994;

LAGERWEIJ et al., 1996; ETTINGER et al., 1997; ZAURA-ARITE et al., 1999; KAWASAKI et al., 2000; KIELBASSA, 2000; KIELBASSA et al., 2000; ZAURA-ARITE und TEN CATE, 2000; MEYER-LUECKEL et al., 2002b; KIELBASSA et al., 2003; MEYER-LUECKEL et al., 2004]. An Dentinproben stellte sie sich aber auf Grund der Schrumpfung und Brüchigkeit von Dentin als schwierig heraus [CLASEN und ØGAARD, 1999].

In der vorliegenden Studie wurde die direkte quantitative Methode mittels der Fluoridelektrode zur Untersuchung der Fluoridwirkung an Dentin gewählt, um unter anderem die primäre Bioaktivitätsmessung des neuen Dentalproduktes „Chlorhexamed LÖSUNG 0,06%+F“ von GlaxoSmithKline zu erfassen. Bei einer Analyse mittels TMR würden sich nach einer einmaligen Anwendung noch keine Unterschiede zeigen.

Das Untersuchungsmaterial für die Analyse mit der Fluoridelektrode kann durch Abrasion [HELLWIG et al., 1989; HELLWIG, 1992; HOLLER et al., 2002] oder durch Ätzen [HELLWIG et al., 1985; HELLWIG et al., 1987; MELLBERG et al., 1988] der Dentinzylinder gewonnen werden. Bei der Säureätzung werden Zahnhartsubstanzschichten durch definierte Ätzzeiten entfernt. Über die Dichte, den Phosphat- oder Kalziumgehalt kann dann die Fluoridkonzentration errechnet werden. Dieses Verfahren ist an Dentin auf Grund des organischen Anteils schwierig durchzuführen [HOLLER et al., 2002]. Bei demineralisierten Proben verändert sich durch den Mineralverlust die Konzentration an Fluorid, Phosphat und Kalzium; dadurch ist eine genaue Berechnung der Fluoridkonzentration aus der Phosphat- oder Kalziumkonzentration sowie der Dichte nicht mehr möglich. Bei demineralisierten Proben kann die Säureätzung deshalb gegenüber den errechneten zu abweichenden realen Ätztiefen führen [HELLWIG et al., 1987]. Aus diesen Gründen wurde in der vorliegenden Arbeit die Abrasionstechnik zur Gewinnung des Untersuchungsmaterials gewählt. Ein Nachteil dieser Methode besteht darin, dass planparallele Proben verwendet werden müssen, um über die abradierte Fläche und Höhe das Volumen errechnen zu können. Dadurch können Dentin oder Schmelz, nicht aber Zementproben gemessen werden [KAWAI et al., 1997]. Im Fall der hier diskutierten Studie spielte das aber eine untergeordnete Rolle.

## 6.2 Diskussion der Ergebnisse

Aus den Daten der vorliegenden Studie konnte die Hypothese nicht zurückgewiesen werden, dass Chlorhexidin die Aufnahme von Fluorid beeinflusst. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass nach einer einmaligen Anwendung der Kombination von Natriumfluorid und Chlorhexidin keine signifikante Aufnahme von Fluorid stattfindet.

Diese Ergebnisse widersprechen teilweise früheren Untersuchungen, die nur eine geringe [NOVIKOV et al., 1980; BEN-YAAKOV et al., 1984] oder keine Hemmung [KIRKEGAARD et al., 1974; BEN-YAAKOV et al., 1984] der Aufnahme von Fluorid in Anwesenheit von Chlorhexidin fanden. Die Ergebnisse können jedoch auf Grund des komplexen und unterschiedlichen Studiendesigns kaum verglichen werden [HOLLER et al., 2002]. So wurden andere Einwirkzeiten, verschiedene Fluorid- und/oder Chlorhexidinkonzentrationen, anderes Zahnmaterial (Dentin, Schmelz, gesund/demineralisiert, zylindrische Proben, pulverisierte Proben etc.) sowie andere Abspülarten etc. gewählt.

Die mögliche Salzbildung zwischen dem negativ geladenen Fluorion der NaF-Gruppe und dem positiv geladenen Chlorhexidinmolekül, was eine Fluoridaufnahmebehinderung erklären könnte, ist unwahrscheinlich, da in früheren [KIRKEGAARD et al., 1974; DE FREITAS et al., 2003] und der vorliegenden Studie kein makroskopisch sichtbares Präzipitat beobachtet wurde. Eine Präzipitatbildung wurde zudem nur bei Verwendung von Monofluorophosphat und Chlorhexidin gezeigt [BARKVOLL et al., 1988]. In anderen Studien wurde deshalb auch eine konkurrierende Adsorption von Fluorid und Chlorhexidin an das Hydroxylapatitgitter als mögliche Erklärung vermutet. Diese Adsorption von Chlorhexidin könnte einen Wandel der physikalischen und chemischen Eigenschaften im Schmelz hervorrufen und damit die Aufnahme von Fluorid verändern [KIRKEGAARD et al., 1974; BEN-YAAKOV et al., 1984]. Zu hinterfragen bleibt, ob dies eine mögliche Erklärung für die vorliegenden Ergebnisse an Dentin sein kann, da sich die vorgenannten Studien auf Schmelz bezogen. Des Weiteren wurde in der vorliegenden Studie nicht die Chlorhexidinaufnahme bestimmt, die für eine Schlussfolgerung hinsichtlich der konkurrierenden Aufnahme von Fluorid und Chlorhexidin notwendig wäre. In einer früheren Studie konnte gezeigt werden, dass die simultane Applikation von Fluorid und Chlorhexidin die Chlorhexidinaufnahme positiv veränderte, was sich in höheren Chlorhexidinaufnahmen zeigte [BEN-YAAKOV et al., 1984]. In der gleichen

Studie wurde, abhängig von der Fluoridkonzentration in der Mischung, die Aufnahme von Fluorid ungünstig beeinflusst [BEN-YAAKOV et al., 1984].

Auch der Einfluss von Chlorhexidin auf das Pellikel an Zahnoberflächen muss in die Überlegung mit einbezogen werden. Ein Pellikel ist eine Auflagerung von Proteinen aus Speichel und der Mundhöhle an Zahnhartsubstanzen, die eine Dicke von 30-100 µm erreicht [LENDEMANN et al., 2000; LAMKIN et al., 2001]. Das Pellikel bildet eine Schnittstelle zwischen Zahn und Mundhöhle und ist daher wichtig für den Austausch von Ionen [VAN DER MEI et al., 2002]. Es ist bekannt, dass Chlorhexidin das Speichelpellikel verändert. Es wird in Anwesenheit von Chlorhexidin härter und fester [BUSSCHER et al., 2003]. Dies könnte zu einem erschwerten Durchfluss durch das Pellikel führen und eine Erklärung für die geringere Fluoridaufnahme bei Spülung mit Chlorhexidin-Fluorid-Kombinationen sein. Die Voraussetzung dafür wäre, dass sich ein Pellikel auf den Proben gebildet hat. *In situ* beginnt die Bildung des Pellikels bereits nach einer Minute und hat nach zwei Stunden die Enddicke erreicht [LENDEMANN et al., 2000]. Nach 18 Stunden wird ein Pellikel bereits als „alt“ bezeichnet [LENDEMANN et al., 2000]. Da die In-situ-Proben in der vorliegenden Studie vor der Spülung durchschnittlich ca. 22 Stunden im Mund getragen wurden, ist davon auszugehen, dass sich ein solches Pellikel gebildet hat. Vergleicht man die Daten des In-situ-Versuchs mit denen des In-vitro-Versuchs, fallen keine deutlichen Unterschiede auf. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass sich trotz Sterilisation auf den In-vitro-Proben ein bakterieller Biofilm gebildet haben könnte, der die Fluoridaufnahme hätte beeinflussen können. Die Proben wurden nach der Sterilisation für mehrere Tage bis Wochen in physiologischer Kochsalzlösung gelagert, so dass eine Rekontamination nicht ausgeschlossen werden kann. Makroskopisch war dies nicht zu erkennen, sodass dieser Effekt unwahrscheinlich erscheint.

Die In-vitro-Proben zeigten nur leichte Tendenzen, etwas mehr Fluorid aufzunehmen als die In-situ-Proben. Diese Ergebnisse entsprechen früheren Studien, die ebenfalls nur eine Tendenz zur geringeren (aber nicht signifikanten) Fluoridaufnahme an Schmelz, welcher von einem ein Tage alten Pellikel bedeckt war, zeigten [TINANOFF et al., 1975]. Eine weitere Arbeit untersuchte abhängig von der Zeit die Fluoridaufnahme von pellikelbedecktem und freiem Schmelz. Hier wurde ebenfalls eine initiale Veränderung der Fluoridaufnahme an pellikelbedecktem Schmelz für bestimmte

Fluorverbindungen gefunden. Die Beobachtung war jedoch nicht signifikant, zeigte sich nur nach sehr kurzen Spülungen mit sauren Fluorid-Phosphat-Verbindungen und verschwand nach wenigen Minuten [JOYSTON-BECHAL et al., 1976]. In diesem Zusammenhang könnte eine längere/häufigere Spülung der Proben zu anderen Ergebnissen führen.

Gesundes und demineralisiertes Dentin zeigten bei Spülungen mit Lösungen ohne Fluorid keine Unterschiede. Bei Spülungen mit Fluorid enthaltenden Lösungen (CF1, NaF, CF2) nahmen die demineralisierten Proben in einigen Gruppen signifikant mehr Fluorid auf als die gesunden Proben. In den anderen Gruppen waren nur Tendenzen zu einer erhöhten Aufnahme bei demineralisierten Proben zu erkennen. Ähnliche Ergebnisse wurden bereits bei Schmelz beobachtet [ÖGAARD et al., 1984; HELLWIG et al., 1987; CHAN et al., 1991; ATTIN et al., 2000].

Die Ergebnisse des strukturell gebundenen Fluorids zeigten ein Tiefenspektrum. Unter Tiefenspektrum versteht man, dass die oberste Schicht mehr Fluorid aufnimmt als die folgende und diese wiederum mehr als die tiefer liegende Schicht. Ein solches Tiefenspektrum wurde bereits bei vielen weiteren Studien an Dentin [ARENDS et al., 1989; MUKAI et al., 2001; HOLLER et al., 2002; MUKAI und TEN CATE, 2002] sowie an Schmelz [HELLWIG et al., 1987; HOLLER et al., 2002] gezeigt.

### **6.3 Schlussfolgerungen und klinische Relevanz**

Aus den Ergebnissen dieser In-situ-/In-vitro-Studie kann geschlossen werden, dass eine Kombination von Natriumfluorid und Chlorhexidin für die Kariesprävention hinsichtlich der Fluoridaufnahme nicht den erhofften Nutzen bringt.

Es kommt zu keiner synergistischen Verstärkung der beiden Komponenten, da sowohl von gesundem als auch von demineralisiertem Dentin weniger Fluorid aufgenommen wird. Die Gründe für die Hemmung der Fluoridaufnahme in Anwesenheit von Chlorhexidin bleiben offen, so dass weiterführende Studien auf diesem Gebiet erforderlich sind. Diese Studien sollten eine häufigere Anwendung über einen längeren Zeitraum untersuchen, um zu klären, ob dann ebenfalls keine synergistischen Effekte erzielt werden.

In der Kariesprävention sollten deshalb zunächst die gut erprobten reinen Fluorid- oder Chlorhexidinlösungen verordnet und angewendet werden.





## 7 Zusammenfassung

Fünf verschiedene Mundspüllösungen wurden bezüglich der Fluoridaufnahme an gesundem und demineralisiertem Dentin sowohl *in situ* als auch *in vitro* untersucht. Die Lösungen enthielten (1) 0,06 % Chlorhexidin, (2) die käuflich erhältliche Lösung „Chlorhexamed LÖSUNG 0,06%+F“ (GlaxoSmithKline) mit 250 ppm NaF und 0,06 % Chlorhexidin, (3) 250 ppm Fluorid (NaF), (4) 0,06% Chlorhexidin und 250 ppm NaF oder (5) Wasser (als Kontrolle). Außer Lösung (2) wurden die Lösungen in einer Apotheke hergestellt. Die Studie wurde doppel-blind durchgeführt.

480 zylindrische, planparallele Dentinproben wurden aus 120 bovinen Schneidezähnen gewonnen. Für den In-situ-Versuch wurden 240 Proben verwendet. Die Hälfte dieser Dentinproben wurde in fünf Gruppen zu je 24 Proben aufgeteilt und mit einer der Lösungen (je 2,5 ml für 30 s) *in situ* gespült. Die andere Gruppe wurde ebenfalls in fünf Untergruppen zu je 24 Proben aufgeteilt, aber vor dem Spülen mit der Buskes-Lösung für 6 Tage auf eine Tiefe von 90-100 µm demineralisiert. Der gleiche Versuch wurde parallel zu den In-situ-Proben auch *in vitro* durchgeführt, wobei die Proben in Polystyroidöschen gespült wurden. Bei allen Proben wurde sowohl das KOH-lösliche als auch das strukturell gebundene Fluorid bestimmt. Das strukturell gebundene Fluorid wurde in drei Schichten von je 30 µm gemessen.

Verglichen mit allen anderen Lösungen führte nur die reine NaF-Lösung zu signifikant höheren Aufnahmen von Fluorid. Dies gilt für alle Kombinationen der Versuchsdurchführungen (gesund, demineralisiert, *in situ*, *in vitro*) und sowohl für das KOH-lösliche Fluorid als auch für die erste Schicht des strukturell gebundenen Fluorids. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in den tieferen Schichten des strukturell gebundenen Fluorids, wo auch die NaF-Lösung höhere Fluoridwerte als alle anderen Lösungen zeigte. Es bestand eine Tendenz zu höherer Fluoridaufnahme bei demineralisierten Proben gegenüber gesunden Proben.

Aus den Ergebnissen kann geschlussfolgert werden, dass die Natriumfluoridaufnahme an Dentin durch Chlorhexidin bei einmaliger Applikation inhibiert wird.

## 7.1 Summary

Five different mouth rinses were evaluated with respect to fluoride uptake by sound and demineralised dentine. The mouth rinses were pharmacy-made and contained either (1) 0.06 % chlorhexidine, (2) 250ppm fluoride (NaF), (3) 0.06 % chlorhexidine and 250ppm fluoride or (4) water (control). Additionally, the commercially available solution (5) Chlorhexamed LÖSUNG 0,06%+F (GlaxoSmithKline) (0.06 % chlorhexidine and 250 ppm fluoride) was used.

480 cylindrical dentine blocks were obtained from 120 bovine incisors. 240 specimens were used for the *in situ* part of the experiment. Half of these specimens were divided into five groups of 24 samples each and immersed *in situ* with one of the mouth rinses (2,5ml/sample, 30s). Accordingly, the remaining specimens were again divided into five groups of 24 specimens each. Prior to the treatments with one of the mouth rinses, the samples subjected to a demineralisation procedure (lesion depth: 90-100  $\mu\text{m}$ ) using Buskes' solution for 6 days. The same experiments were repeated with 240 specimens *in vitro*. All specimens were assessed for KOH-soluble fluoride and structurally bound fluoride immediately after treatment. Structurally bound fluoride was determined in three successive layers of 30  $\mu\text{m}$  each.

Compared with all other mouth rinses, only the application of NaF resulted in higher amounts of fluoride. This is true for all combinations (sound, demineralised, *in situ*, *in vitro*) of KOH-soluble fluoride, and, in the outer layer, of structurally bound fluoride. Similarly, in the deeper layers, only the NaF groups showed elevated fluoride-levels. Demineralised specimens tend to higher amounts of fluoride with regard to sound specimens.

It is concluded that CHX, it combined with NaF in a mouth rinse and applied once, seems to inhibit fluoride uptake by dentine.

## 8 Literaturverzeichnis

- ADDY M, DOWELL P: Dentine hypersensitivity: effect of interactions between metal salts, fluoride and chlorhexidine on the uptake by dentine. *J Oral Rehabil* 13: 599-605 (1986)
- AL-JOBURI W, KOULOURIDES T: Effect of fluoride on in vitro root surface lesions. *Caries Res* 18: 33-40 (1984)
- AL-TANNIR M A, GOODMAN H S: A review of chlorhexidine and its use in special populations. *Spec Care Dentist* 14: 116-22 (1994)
- ALBANDAR J M, KINGMAN A: Gingival recession, gingival bleeding, and dental calculus in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol* 70: 30-43 (1999)
- ALMQVIST H, LAGERLÖF F: Effect of intermittent delivery of fluoride to solution on root hard-tissue de- and remineralization measured by 125I absorptiometry. *J Dent Res* 72: 1593-8 (1993a)
- ALMQVIST H, LAGERLÖF F: Influence of constant fluoride levels in solution on root hard tissue de- and remineralization measured by 125I absorptiometry. *Caries Res* 27: 100-5 (1993b)
- ARENDS J, CHRISTOFFERSEN J: Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. *J Dent Res* 69 Spec No: 601-5; discussion 634-6 (1990)
- ARENDS J, CHRISTOFFERSEN J, BUSKES J A, RUBEN J: Effects of fluoride and methanhydroxydiphosphate on enamel and on dentine demineralization. *Caries Res* 26: 409-17 (1992)
- ARENDS J, CHRISTOFFERSEN J, RUBEN J, JONGEBLOED W L: Remineralization of bovine dentine in vitro. The influence of the F content in solution on mineral distribution. *Caries Res* 23: 309-14 (1989)
- ARENDS J, DUSCHNER H, RUBEN J L: Penetration of varnishes into demineralized root dentine in vitro. *Caries Res* 31: 201-5 (1997)

- ARENDS J, RUBEN J L, CHRISTOFFERSEN J, JONGEBLOED W L, ZUIDGEEST T G: Remineralization of human dentine in vitro. *Caries Res* 24: 432-5 (1990)
- ATTIN T, DUMONT B, BUCHALLA W: Fluoridaufnahme in erodiertem, kariösem und gesundem Schmelz nach Applikation einer 2000-ppm-Fluoridlösung *Dtsch Zahnärztl Z* 55: 455-460 (2000)
- ATTIN T, SCHALLER H G, HELLWIG E: Fluoride uptake in dentin with and without simulating dentinal fluid flow. *Clin Oral Investig* 1: 125-30 (1997)
- ATTIN T, ZIRKEL C, HELLWIG E: Brushing abrasion of eroded dentin after application of sodium fluoride solutions. *Caries Res* 32: 344-50 (1998)
- BARKVOLL P, RÖLLA G, BELLAGAMBA S: Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium monofluorophosphate in vitro. *Scand J Dent Res* 96: 30-3 (1988)
- BEN-YAAKOV D, FRIEDMAN M, HIRSCHFELD Z, GEDALIA I: Fluoride enhancement of chlorhexidine uptake by hydroxyapatite and enamel powders. *J Oral Rehabil* 11: 65-70 (1984)
- BERLINER-WASSER-BETRIEBE: Trinkwasserfluoridgehalt in Berlin. <http://www.bwb.de> online am 23.02.2005 (2005)
- BONESVOLL P, LÖKKEN P, RÖLLA G: Influence of concentration, time, temperature and pH on the retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch Oral Biol* 19: 1025-9 (1974a)
- BONESVOLL P, LÖKKEN P, RÖLLA G, PAUS P N: Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch Oral Biol* 19: 209-12 (1974b)
- BRAILSFORD S R, FISKE J, GILBERT S, CLARK D, BEIGHTON D: The effects of the combination of chlorhexidine/thymol- and fluoride-containing varnishes on the severity of root caries lesions in frail institutionalised elderly people. *J Dent* 30: 319-24 (2002)
- BRÄNNSTRÖM M: Dentin sensitivity and aspiration of odontoblasts. *J Am Dent Assoc* 66: 366-70 (1963)

- BRÄNNSTRÖM M: Sensitivity of dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 21: 517-26 (1966)
- BRATTHALL D, HÄNSEL-PETERSSON G, SUNDBERG H: Reasons for the caries decline: what do the experts believe? *Eur J Oral Sci* 104: 416-22; discussion 423-5, 430-2 (1996)
- BUSKES J A, CHRISTOFFERSEN J, ARENDS J: Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Res* 19: 490-6 (1985)
- BUSSCHER H J, WHITE D J, KAMMINGA-RASKER H J, POORTINGA A T, VAN DER MEI H C: Influence of oral detergents and chlorhexidine on soft-layer electrokinetic parameters of the acquired enamel pellicle. *Caries Res* 37: 431-6 (2003)
- CASLAVSKA V, MORENO E C, BRUDEVOLD F: Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch Oral Biol* 20: 333-9 (1975)
- CHAN J C, HILL F J, NEWMAN H N: Uptake of fluoride by sound and artificially carious enamel in vitro following application of topical sodium and amine fluorides. *J Dent* 19: 110-5 (1991)
- CLASEN A B, ØGAARD B: Experimental intra-oral caries models in fluoride research. *Acta Odontol Scand* 57: 334-41 (1999)
- DE FREITAS C S, DINIZ H F, GOMES J B, SINISTERRA R D, CORTÉS M E: Evaluation of the substantivity of chlorhexidine in association with sodium fluoride in vitro. *Pesqui Odontol Bras* 17: 78-81 (2003)
- DÉRAND T, LODDING A, PETERSSON L G: Effect of topical F- solutions on caries-like lesions in root surfaces. *Caries Res* 23: 135-40 (1989)
- DIETZ W, KRAFT U, HOYER I, KLINGBERG G: Influence of cementum on the demineralization and remineralization processes of root surface caries in vitro. *Acta Odontol Scand* 60: 241-7 (2002)

- DUNIPACE A J, ZHANG W, BEISWANGER A J, STOOKEY G K: An in vitro model for studying the efficacy of fluoride dentifrices in preventing root caries. *Caries Res* 28: 315-21 (1994)
- EMILSON C G, ERICSON T, HEYDEN G, MAGNUSSON B C: Uptake of chlorhexidine to hydroxyapatite. *J Periodontal Res Suppl* 12: 17-21 (1973)
- ERICKSON R L, GLASSPOOLE E A: Model investigations of caries inhibition by fluoride-releasing dental materials. *Adv Dent Res* 9: 315-23; discussion 324-31 (1995)
- ESSER M, TINSCHERT J, MARX R: Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 53: 713-17 (1998)
- ETTINGER R L, OLSON R J, WEFEL J S, ASMUSSEN C: In vitro evaluation of topical fluorides for overdenture abutments. *J Prosthet Dent* 78: 309-14 (1997)
- FDI-COMMISSION: Mouthrinses and dental caries. *Int Dent J* 52: 337-45 (2002)
- FEATHERSTONE J D: Fluoride, remineralization and root caries. *Am J Dent* 7: 271-4 (1994)
- FEJERSKOV O, BAELUM V, ØSTERGAARD E S: Root caries in Scandinavia in the 1980's and future trends to be expected in dental caries experience in adults. *Adv Dent Res* 7: 4-14 (1993)
- FIGURES K H, ELLIS B, LAMB D J: Fluoride penetration into dentine abutments in vitro. *Caries Res* 24: 301-5 (1990)
- FISCHER C, LUSSI A, HOTZ P: Kariostatische Wirkungsmechanismen der Fluoride. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 105: 311-7 (1995)
- FITZGERALD R J, ADAMS B O, DAVIS M E: A microbiological study of recurrent dentinal caries. *Caries Res* 28: 409-15 (1994)
- FLOTRA L: Different modes of chlorhexidine application and related local side effects. *J Periodontal Res Suppl* 12: 41-4 (1973)

- FORSTEN L, KARJALAINEN S: Effect of a Ca(OH)<sub>2</sub> solution and a chlorhexidine based detergent on the microbial activity of human carious teeth. *Acta Odontol Scand* 35: 275-80 (1977)
- GANSS C, KLIMEK J, BRUNE V, SCHURMANN A: Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res* 38: 561-6 (2004)
- GEDALIA I, BRAYER L, KALTER N, RICHTER M, STABHOLZ A: The effect of fluoride and strontium application on dentin: in vivo and in vitro studies. *J Periodontol* 49: 269-72 (1978)
- GJERMO P: Chlorhexidin and related compounds. *Journal of Dental Research* 68: 1602-1608 (1989)
- GJERMO P, BONESVOLL P, ROLLA G: Relationship between plaque-inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch Oral Biol* 19: 1031-4 (1974)
- GREENSTEIN G, BERMAN C, JAFFIN R: Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 57: 370-7 (1986)
- HAMILTON I R: Effects of fluoride on enzymatic regulation of bacterial carbohydrate metabolism. *Caries Res* 11 Suppl 1: 262-91 (1977)
- HARA A T, QUEIROZ C S, PAES LEME A F, SERRA M C, CURY J A: Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 37: 339-44 (2003)
- HEILMAN J R, JORDAN T H, WARWICK R, WEFEL J S: Remineralization of root surfaces demineralized in solutions of differing fluoride levels. *Caries Res* 31: 423-8 (1997)
- HELFENSTEIN U, STEINER M: Fluoride varnishes (Duraphat): a meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol* 22: 1-5 (1994)
- HELLWIG E: Fluoride retention in dentin after topical application of aminefluoride. *J Dent Res* 71: 1558-60 (1992)

- HELLWIG E, KLIMEK J, ALBERT G: In-vivo-Retention angelagerten und festgebundenen Fluorids in demineralisiertem Zahnschmelz. Dtsch Zahnärztl Z 44: 173-6 (1989)
- HELLWIG E, KLIMEK J, ATTIN T: Einführung in die Zahnerhaltung. Urban und Fischer, München Jena, pp 508 (2003)
- HELLWIG E, KLIMEK J, SCHMIDT H F, EGERER R: Fluoride uptake in plaque-covered enamel after treatment with the fluoride lacquer Duraphat. J Dent Res 64: 1080-3 (1985)
- HELLWIG E, KLIMEK J, WAGNER H: The influence of plaque on reaction mechanism of MFP and NaF in vivo. J Dent Res 66: 46-9 (1987)
- HERTING H C: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an kariösem Dentin nach in-vitro-Einwirkung von Natriumfluoridlösung. Dtsch Zahnärztl Z 25: 1200-5 (1970)
- HJELJORD L G, ROLLA G, BONESVOLL P: Chlorhexidine-protein interactions. J Periodontal Res Suppl 12: 11-6 (1973)
- HOFFMANN T, BRUHN G, RICHTER S, NETUSCHIL L, BRECX M: Clinical controlled study on plaque and gingivitis reduction under long-term use of low-dose chlorhexidine solutions in a population exhibiting good oral hygiene. Clin Oral Investig 5: 89-95 (2001)
- HOLLER B E, FRIEDL K H, JUNG H, HILLER K A, SCHMALZ G: Fluoride uptake and distribution in enamel and dentin after application of different fluoride solutions. Clin Oral Investig 6: 137-44 (2002)
- HONG L, ETTINGER R L, WATKINS C A, WEFEL J S: In vitro evaluation of fluoride varnish on overdenture abutments. J Prosthet Dent 89: 28-36 (2003)
- HOPPENBROUWERS P M, DRIESENS F C, BORGGREVEN J M: The demineralization of human dental roots in the presence of fluoride. J Dent Res 66: 1370-4 (1987)
- IJIMA Y, RUBEN J L, ZUIDGEEST T G, ARENDS J: Fluoride and mineral content in hyper-remineralized coronal bovine dentine in vitro after an acid challenge. Caries Res 27: 106-10 (1993)



- JENKINS S, ADDY M, NEWCOMBE R: Evaluation of a mouthrinse containing chlorhexidine and fluoride as an adjunct to oral hygiene. *J Clin Periodontol* 20: 20-5 (1993)
- JOHNSON B T: Uses of chlorhexidine in dentistry. *Gen Dent* 43: 126-32, 134-40 (1995)
- JOYSTON-BECHAL S, DUCKWORTH R, BRADEN M: The effect of artificially produced pellicle and plaque on the uptake of  $^{18}\text{F}$  by human enamel in vitro. *Arch Oral Biol* 21: 73-8 (1976)
- JOYSTON-BECHAL S, HERNAMAN N: The effect of a mouthrinse containing chlorhexidine and fluoride on plaque and gingival bleeding. *J Clin Periodontol* 20: 49-53 (1993)
- KAWAI K, HEAVEN T J, RETIEF D H: In vitro dentine fluoride uptake from three fluoride-containing composites and their acid resistance. *J Dent* 25: 291-6 (1997)
- KAWASAKI K, RUBEN J, TSUDA H, HUYSMANS M C, TAKAGI O: Relationship between mineral distributions in dentine lesions and subsequent remineralization in vitro. *Caries Res* 34: 395-403 (2000)
- KIELBASSA A M: In situ induced demineralization in irradiated and non-irradiated human dentin. *Eur J Oral Sci* 108: 214-21 (2000)
- KIELBASSA A M, ATTIN T, HELLWIG E, SCHADE-BRITTINGER C: In vivo study on the effectiveness of a lacquer containing  $\text{CaF}_2/\text{NaF}$  in treating dentine hypersensitivity. *Clin Oral Investig* 1: 95-9 (1997)
- KIELBASSA A M, SCHENDERA A, SCHULTE-MÖNTING J: Microradiographic and microscopic studies on in situ induced initial caries in irradiated and nonirradiated dental enamel. *Caries Res* 34: 41-7 (2000)
- KIELBASSA A M, SCHULTE-MONTING J, GARCIA-GODOY F, MEYER-LUECKEL H: Initial in situ secondary caries formation: effect of various fluoride-containing restorative materials. *Oper Dent* 28: 765-72 (2003)
- KIRKEGAARD E, VON DER FEHR F, RÖLLA G: Influence of chlorhexidine on in vitro uptake of fluoride in dental enamel. *Scand J Dent Res* 82: 566-9 (1974)

- KOMORI A, ISHIKAWA H: The effect of delayed light exposure on bond strength: light-cured resin-reinforced glass ionomer cement vs light-cured resin. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 116: 139-45 (1999)
- KOMOROWSKI R, GRAD H, WU X Y, FRIEDMAN S: Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod* 26: 315-7 (2000)
- KÖNIG K G: Karies und Parodontopathien: Ätiologie und Prophylaxe. Thieme, Stuttgart, pp 337 (1987)
- LAGERWEIJ M D, DAMEN J J, TEN CATE J M: The effect of a fluoridated toothpaste on dentinal lesions in plaque-filled grooves: an intra-oral crossover study. *J Dent Res* 75: 1687-91 (1996)
- LAMKIN M S, MIGLIARI D, YAO Y, TROXLER R F, OPPENHEIM F G: New in vitro model for the acquired enamel pellicle: pellicles formed from whole saliva show inter-subject consistency in protein composition and proteolytic fragmentation patterns. *J Dent Res* 80: 385-8 (2001)
- LAWSON K, GROSS K B, OVERMAN P R, ANDERSON D: Effectiveness of chlorhexidine and sodium fluoride in reducing dentin hypersensitivity. *J Dent Hyg* 65: 340-4 (1991)
- LENDENMANN U, GROGAN J, OPPENHEIM F G: Saliva and dental pellicle--a review. *Adv Dent Res* 14: 22-8 (2000)
- LEYES BORRAJO J L, GARCIA V L, LOPEZ C G, RODRIGUEZ-NUÑEZ I, GARCIA F M, GALLAS T M: Efficacy of chlorhexidine mouthrinses with and without alcohol: a clinical study. *J Periodontol* 73: 317-21 (2002)
- LIN S, ZUCKERMAN O, WEISS E I, MAZOR Y, FUSS Z: Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. *J Endod* 29: 416-8 (2003)
- LODDING A, ODELIUS H, PETERSSON L, SCHUTHOF J, ARENDS J: Fluorine levels in in vitro remineralized enamel after treatment with 1000 ppm F as NaF, MFP or mixed solutions. *Scand J Dent Res* 93: 315-9 (1985)

- LØE H, SCHIØTT C R: The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontal Res* 5: 79-83 (1970)
- LØE H, SCHIØTT C R, KARRING G, KARRING T: Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. *J Periodontal Res* 11: 135-44 (1976)
- LUOMA H: The effects of chlorhexidine and fluoride combinations on the potassium, sodium and phosphorus content and acid production of cariogenic streptococci. *Arch Oral Biol* 17: 1431-7 (1972)
- LUOMA H: Experience and views of caries research and oral health. *Proc Finn Dent Soc* 87: 659-70 (1991)
- LUOMA H, AINAMO J, SÖDERHOLM S, MEURMAN J, HELMINEN S: Reduction of enamel solubility and plaque development with chlorhexidine-fluoride solutions. *Scand J Dent Res* 81: 523-7 (1973)
- LUOMA H, MURTOMAA H, NUUJA T, NYMAN A, NUMMIKOSKI P, AINAMO J, et al.: A simultaneous reduction of caries and gingivitis in a group of schoolchildren receiving chlorhexidine-fluoride applications. Results after 2 years. *Caries Res* 12: 290-8 (1978)
- MACK F, MOJON P, BUDTZ-JØRGENSEN E, KOCHER T, SPLIETH C, SCHWAHN C, et al.: Caries and periodontal disease of the elderly in Pomerania, Germany: results of the Study of Health in Pomerania. *Gerodontology* 21: 27-36 (2004)
- MCCANN H G: Determination of fluoride in mineralized tissues using the fluoride ion electrode. *Arch Oral Biol* 13: 475-7 (1968)
- MELLBERG J R, PETROU I D, DEUTCHMAN M, GROTE N: The effects of 1% pyrophosphate and 0.02% sodium fluoride on artificial caries lesions in vivo. *J Dent Res* 67: 1461-5 (1988)

- MENDIETA C, VALLCORBA N, BINNEY A, ADDY M: Comparison of 2 chlorhexidine mouthwashes on plaque regrowth in vivo and dietary staining in vitro. *J Clin Periodontol* 21: 296-300 (1994)
- MEURMAN J H: Ultrastructure, growth, and adherence of *Streptococcus mutans* after treatment with chlorhexidine and fluoride. *Caries Res* 22: 283-7 (1988)
- MEURMAN J H, TEN CATE J M: Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci* 104: 199-206 (1996)
- MEYER-LUECKEL H, SATZINGER T, KIELBASSA A M: Caries prevalence among 6- to 16-year-old students in Jamaica 12 years after the Introduction of salt fluoridation. *Caries Res* 36: 170-3 (2002a)
- MEYER-LUECKEL H, SCHULTE-MÖNTING J, KIELBASSA A M: The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 8: 192-8 (2002b)
- MEYER-LUECKEL H, UMLAND N, HOPFENMULLER W, KIELBASSA A M: Effect of mucin alone and in combination with various dentifrices on in vitro Remineralization. *Caries Res* 38: 478-83 (2004)
- MUKAI Y, LAGERWEIJ M D, TEN CATE J M: Effect of a solution with high fluoride concentration on remineralization of shallow and deep root surface caries in vitro. *Caries Res* 35: 317-24 (2001)
- MUKAI Y, TEN CATE J M: Remineralization of advanced root dentin lesions in vitro. *Caries Res* 36: 275-80 (2002)
- NAVARRO M, MONTE ALTO L A, CRUZ R A, PRAZERES J: Calcium fluoride uptake by human enamel after use of fluoridated mouthrinses. *Braz Dent J* 12: 178-82 (2001)
- NOVIKOV L L, TREIDE A, KOLESNIK A G, STOSSER L, SCHAPER R: Der Einfluß anorganischer und organischer Fluoride in Kombination mit Molybdän und Chlorhexidin auf Stoffwechselprodukte, Fluoridgehalt und Kariesbefall der Zähne von Wistarratten. *Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl* 68: 3-8 (1980)

- NYVAD B, TEN CATE J M, FEJERSKOV O: Arrest of root surface caries in situ. *J Dent Res* 76: 1845-53 (1997)
- ÖGAARD B, ARENDS J, RÖLLA G: Action of fluoride on initiation of early root surface caries in vivo. *Caries Res* 24: 142-4 (1990)
- ØGAARD B, LARSSON E, HENRIKSSON T, BIRKHED D, BISHARA S E: Effects of combined application of antimicrobial and fluoride varnishes in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 120: 28-35 (2001)
- ÖGAARD B, RÖLLA G, HELGELAND K: Fluoride retention in sound and demineralized enamel in vivo after treatment with a fluoride varnish (Duraphat). *Scand J Dent Res* 92: 190-7 (1984)
- ØGAARD B, RÖLLA G, RUBEN J, ARENDS J: Relative cariostatic effects of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in situ. *J Dent Res* 69: 1505-7 (1990)
- ÖGAARD B, RÖLLA G, RUBEN J, DIJKMAN T, ARENDS J: Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. *Scand J Dent Res* 96: 209-11 (1988)
- PERDIGAO J, DENEHY G E, SWIFT E J, JR.: Effects of chlorhexidine on dentin surfaces and shear bond strengths. *Am J Dent* 7: 81-4 (1994)
- PETERSEN P E, LENNON M A: Effective use of fluorides for the prevention of dental caries in the 21st century: the WHO approach. *Community Dent Oral Epidemiol* 32: 319-21 (2004)
- PETERSSON L G: Fluoride mouthrinses and fluoride varnishes. *Caries Res* 27 Suppl 1: 35-42 (1993)
- QUIRYNEN M, AVONTROODT P, PEETERS W, PAUWELS M, COUCKE W, VAN STEENBERGHE D: Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formation. *J Clin Periodontol* 28: 1127-36 (2001)
- RIPA L W: Topical fluorides: a discussion of risks and benefits. *J Dent Res* 66: 1079-83 (1987)

- RIPA L W, LESKE G S, FORTE F, VARMA A: Effect of a 0.05% neutral NaF mouthrinse on coronal and root caries of adults. *Gerodontology* 6: 131-6 (1987)
- ROBERTS J F, BIBBY B G, WELLOCK W D: The effect of an acidulated fluoride mouthwash on dental caries. *J Dent Res* 27: 497-500 (1948)
- RØLLA G, LØE H, SCHIØTT C R: The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *J Periodontal Res* 5: 90-5 (1970)
- ROŠIN-GRGET K, LINCIR I, ANDRIJANIC A: In vitro fluoride uptake by enamel from different amine fluoride concentrations. *Caries Res* 36: 266-9 (2002)
- RUGG-GUNN A J, HOLLOWAY P J, DAVIES T G: Caries prevention by daily fluoride mouthrinsing. Report of a three-year clinical trial. *Br Dent J* 135: 353-60 (1973)
- SAUNDERS R H, JR., MEYEROWITZ C: Dental caries in older adults. *Dent Clin North Am* 49: 293-308 (2005)
- SCHAEKEN M J, KELTJENS H M, VAN DER HOEVEN J S: Effects of fluoride and chlorhexidine on the microflora of dental root surfaces and progression of root-surface caries. *J Dent Res* 70: 150-3 (1991)
- SCHIØTT C R: Effect of chlorhexidine on the microflora of the oral cavity. *J Periodontal Res Suppl* 12: 7-10 (1973)
- SCHIØTT C R, LØE H, JENSEN S B, KILIAN M, DAVIES R M, GLAVIND K: The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *J Periodontal Res* 5: 84-9 (1970)
- SILVA M F, MELO E V, STEWART B, DE VIZIO W, SINTES J L, PETRONE M E, et al.: The enhanced anticaries efficacy of a sodium fluoride and dicalcium phosphate dihydrate dentifrice in a dual-chambered tube. A 2-year caries clinical study on children in Brazil. *Am J Dent* 14 Spec No: 19A-23A (2001)
- SJÖGREN K, BIRKHED D, RUBEN J, ARENDS J: Effect of post-brushing water rinsing on caries-like lesions at approximal and buccal sites. *Caries Res* 29: 337-42 (1995)

- SPETS-HAPPONEN S, LUOMA H, FORSS H, KENTALA J, ALALUUSUA S, LUOMA A R, et al.: Effects of a chlorhexidine-fluoride-strontium rinsing program on caries, gingivitis and some salivary bacteria among Finnish schoolchildren. *Scand J Dent Res* 99: 130-8 (1991)
- TEN CATE J M: Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 57: 325-9 (1999)
- THERMO-ELECTRON-CORPORATION: Model EA 940 Expandable Ionanalyzer Instruction Manual. (1991a)
- THERMO-ELECTRON-CORPORATION: Orion 960 Autochemistry System Instruction Manual. Thermo Orion Corporationpp (1991b)
- THERMO-ELECTRON-CORPORATION: Orion 960 System "Titrator plus Ionmeter". (1991c)
- THERMO-ELECTRON-CORPORATION: Orion ionplus Fluoride Electrode Instruction Manual. Thermo Electron Corporationpp (2003)
- TINANOFF N, WEI S H, PARKINS F M: Effect of the acquired pellicle on fluoride uptake in tooth enamel in vitro. *Caries Res* 9: 224-30 (1975)
- TVEIT A B, HALSE A: The effect of a NaF solution and a fluoride varnish on the acid resistance of root dentin. *Acta Odontol Scand* 40: 35-43 (1982)
- ULLSFOSS B N, ÖGAARD B, ARENDS J, RUBEN J, RÖLLA G, AFSETH J: Effect of a combined chlorhexidine and NaF mouthrinse: an in vivo human caries model study. *Scand J Dent Res* 102: 109-12 (1994)
- VAN DER MEI H C, WHITE D J, KAMMINGA-RASKER H J, KNIGHT J, BAIG A A, SMIT J, et al.: Influence of dentifrices and dietary components in saliva on wettability of pellicle-coated enamel in vitro and in vivo. *Eur J Oral Sci* 110: 434-8 (2002)
- VAN LOVEREN C, BUIJS J F, BUIJS M J, TEN CATE J M: Protection of bovine enamel and dentine by chlorhexidine and fluoride varnishes in a bacterial demineralization model. *Caries Res* 30: 45-51 (1996)

- VAN RIJKOM H M, TRUIN G J, VAN 'T HOF M A: A meta-analysis of clinical studies on the caries-inhibiting effect of chlorhexidine treatment. *J Dent Res* 75: 790-5 (1996)
- VAN STRIJP A A, BUIJS M J, TEN CATE J M: In situ fluoride retention in enamel and dentine after the use of an amine fluoride dentifrice and amine fluoride/sodium fluoride mouthrinse. *Caries Res* 33: 61-5 (1999)
- VEHKALAHTI M, PAUNIO I: Association between root caries occurrence and periodontal state. *Caries Res* 28: 301-6 (1994)
- WEATHERELL J A, STRONG M, RALPH J P, ROBINSON C: Availability of fluoride at different sites in the buccal sulcus. *Caries Res* 22: 129-33 (1988)
- WEERHEIJM K L, GROEN H J: The residual caries dilemma. *Community Dent Oral Epidemiol* 27: 436-41 (1999)
- WHITE D J: The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Adv Dent Res* 9: 175-93; discussion 194-7 (1995)
- WYATT C C, MACENTEE M I: Caries management for institutionalized elders using fluoride and chlorhexidine mouthrinses. *Community Dent Oral Epidemiol* 32: 322-8 (2004)
- YATES R J, NEWCOMBE R G, ADDY M: Dentine hypersensitivity: a randomised, double-blind placebo-controlled study of the efficacy of a fluoride-sensitive teeth mouthrinse. *J Clin Periodontol* 31: 885-9 (2004)
- ZAURA-ARITE E, EXTERKATE R A, TEN CATE J M: Effect of high fluoride concentration on bovine dentin demineralization in narrow grooves in vitro. *Eur J Oral Sci* 107: 455-60 (1999)
- ZAURA-ARITE E, TEN CATE J M: Effects of fluoride- and chlorhexidine-containing varnishes on plaque composition and on demineralization of dentinal grooves in situ. *Eur J Oral Sci* 108: 154-61 (2000)



## 9 Anhang

### 9.1 Erläuterungen zu den Diagrammen

Box-Whisker-Plots (Boxplots) zeigen die Messwerte des KOH-löslichen oder des strukturell gebundenen Fluorids in gesundem und demineralisiertem Dentin. Die Boxen stellen 50% der Werte dar und zeigen den Median (gelb). Sie werden aus dem unteren-mittleren und oberen-mittleren Viertel (Quartil) der Werte gebildet, dem so genannten Interquartilbereich.

Die Länge der Whisker beträgt maximal das 1,5-fache des Interquartilabstands und wird immer durch einen Wert aus den Daten bestimmt.

Ausreißer sind Fälle mit Werten, die zwischen dem 1,5-fachen und 3-fachen des Interquartilabstands vom oberen oder unteren Rand der Box entfernt sind (Kreis in der jeweiligen Farbe).

Extremwerte sind Fälle mit Werten, die mehr als das 3-fache des Interquartilabstands von der oberen oder unteren Kante der Box entfernt sind (Sternchen in der jeweiligen Farbe).

Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Mundspüllösungen sind durch unterschiedliche Buchstaben über den Boxplots gekennzeichnet ( $p < 0,005$ ; Bonferroni).

Signifikante Unterschiede ( $p < 0,005$ ) zwischen gesunden und demineralisierten Gruppen sind durch Verbindungsklammer und Sternchen unter den Boxplots dargestellt (schwarz).

## 9.2 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Andrej M. Kielbassa für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung und Vollendung dieser Arbeit, Herrn Dr. Konrad Neumann für die Erstellung der Statistik, Herrn Prof. Dr. R. J. Radlanski für die Möglichkeit der Versuchsvorbereitungen an den Geräten der Abteilung für Experimentelle Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde und ganz besonders Frau Dr. Alexandra S. Rieben für ihre ständige Erreichbarkeit sowie ihre wertvollen Ratschläge und Lösungsansätze und stets engagierten, schnellen Hilfestellungen.

Herrn Thomas Grellert für die vielen kurzweiligen Stunden und die gute Unterstützung an der Fluoridelektrode sowie bei den Versuchsvorbereitungen.

Besonders möchte ich mich bei meinen Eltern, Dr. Franz Zimny und Dr. Jutta Zimny und Kathrin Behn für die Motivation, seelische Unterstützung und Großzügigkeit während der gesamten Zeit bedanken.

### **9.3 Lebenslauf**

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

## **Erklärung**

„Ich, Burghardt Zimny, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

**Der Einfluss von Chlorhexidin auf die Fluoridaufnahme von gesundem und demineralisiertem bovinem Dentin.**

**Eine In-situ- und In-vitro-Untersuchung**

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.“

## **Publikationsliste**

Rieben AS, Zimny B, Neumann K, Kielbassa AM:

„Einfluss von Chlorhexidin auf die In-situ-Fluoridaufnahme von Dentin.“

Dtsch Zahnärztl Z 2005; 60:A78 (Abstr.No. 247)

Rieben AS, Zimny B, Neumann K, Kielbassa AM:

"Influence of Chlorhexidine on Fluoride Uptake by Bovine Dentin in vitro."

Am J Dent (angenommen)