

Medizinische Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
aus der Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie
Leiter: Prof. Dr. med. dent. A. M. Kielbassa

**Zum Einfluss unterschiedlicher Elektrolytkonzentrationen
potentieller leinsamenbasierender
Speichelersatzlösungen auf
demineralisiertes bovines Dentin.
Eine In-vitro-Studie**

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

vorgelegt von
Zahnärztin Kristina Franz
aus Münster

Referent: Prof. Dr. A. M. Kielbassa

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. R. Geßner

Gedruckt mit Genehmigung der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 19.09.2008

Ich widme diese Arbeit meiner Familie,
die mich nicht nur während des
Studiums großartig unterstützt hat.

Wesentliche Teile dieser Dissertationsschrift wurden in der folgenden Arbeit publiziert:

Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Kielbassa AM

Linseed based saliva substitutes and their effect on mineral dissolution of predemineralized bovine dentin in vitro.

J Dent 2006; 34:751-756

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	7
2. Literaturübersicht	8
2.1 Aufbau und Struktur gesunden Dentins	8
2.2 Kariesentstehung	9
2.3 Einfluss von F ⁻ , Ca ²⁺ - und PO ₄ ³⁻ -Ionen auf die Zahnhartsubstanzen	10
2.4 Produktion und Funktion von Speichel	13
2.4.1 Sekretionsstörungen der Speicheldrüsen	15
2.5 Xerostomie und ihre Auswirkungen	16
2.5.1 Strahlenkaries	17
2.5.2 Therapiemöglichkeiten bei Xerostomie	18
2.6 Speichelersatzmittel zur Therapie bei Xerostomie	20
2.6.1 Rheologisches Verhalten von Speichelersatzmitteln	22
2.6.2 Wirkung von Speichelersatzmitteln auf die Zahnhartsubstanzen	23
2.6.3 Leinsamen als Basis von Speichelersatzmitteln	24
3. Ziel der Untersuchung	25
4. Material und Methode	26
4.1 Herstellung von Dentinproben	26
4.2 Herstellung der verschiedenen Lösungen	27
4.3 Verarbeitung der Proben	29
4.4 Transversale Mikroradiografie	31
4.5 Messung des F ⁻ , Ca ²⁺ - und PO ₄ ³⁻ -Gehaltes der Basisleinsamenlösung	32
4.6 Viskositätsmessung	33
4.7 Statistische Auswertung	33

5.	Ergebnisse	34
5.1	Exemplarische Darstellung der Effekte am Beispiel repräsentativer Proben	34
5.2	Quantitative Auswertung	37
5.2.1	Auswertung des Mineralverlustes	37
5.2.2	Auswertung der Läsionstiefe	42
5.3	F ⁻ , Ca ²⁺ - und PO ₄ ³⁻ -Gehalt der Basisleinsamenlösung	46
5.4	Viskositätsbestimmung	47
5.5	Konstanz des pH-Wertes der Remineralisationslösung	47
6.	Diskussion	49
7.	Schlussfolgerung	57
8.	Zusammenfassung	58
	Deutsche Zusammenfassung	58
	Summary	59
9.	Literaturverzeichnis	60
	Anhang	68
	Materialliste	68
	Danksagung	71
	Curriculum Vitae	72
	Erklärung	73

1. Einleitung

Der Begriff Xerostomie bezeichnet die subjektiv empfundene Mundtrockenheit; die Xerostomie bedeutet für den Betroffenen häufig eine starke Einschränkung der Lebensqualität (GUCHELAAR et al. 1997). Verschiedene Ursachen spielen bei der Entwicklung der Xerostomie eine Rolle. Systemische Erkrankungen (z. B. Diabetes), Nebenwirkungen von Medikamenten (z. B. Antidepressiva), das Sjögren-Syndrom und vor allen Dingen die tumortherapeutische Bestrahlung sind hauptursächlich für das Auftreten (SREEBNY 1996). Die strahleninduzierte Xerostomie und ihre Auswirkungen (reduzierte antibakterielle Wirkung, Remineralisierung, Pufferwirkung und Selbstreinigung sowie gestörte Nahrungsaufnahme und Schluckbeschwerden) führen nach gegenwärtigem Wissensstand häufig zu einer progressiv verlaufenden Zerstörung der Dentition, die als „Strahlenkaries“ bezeichnet wird (JONGEBLOED et al. 1988; WILlich et al. 1988).

Da eine kausale Therapie der Hyposalivation nicht möglich ist, wird primär versucht, die Mundtrockenheit der Patienten symptomatisch zu behandeln. Ist das Speicheldrüsenparenchym nicht irreversibel geschädigt, kann der Speichelfluss durch gustatorische oder mastikatorische Maßnahmen stimuliert werden oder es werden Medikamente, wie z. B. Pilocarpin, eingesetzt. Häufig lindern die Patienten ihre Beschwerden jedoch auch durch die regelmäßige Aufnahme kleiner Flüssigkeitsmengen. Um für etwas längere Zeit das Austrocknen der Mundschleimhaut zu verhindern, können Speichelersatzmittel verwendet werden (GUCHELAAR et al. 1997; IMFELD 1984; ZIMMERMANN et al. 1998).

Ziel und Zweck des „künstlichen Speichels“ ist, das Symptom der Mundtrockenheit zu bekämpfen und dabei die Zahnhartsubstanzen nicht zu schädigen. Antimikrobielle und remineralisierende Wirkungen sind zusätzlich wünschenswert. In der Literatur gibt es jedoch zu möglichen remineralisierenden Eigenschaften nur wenige Hinweise; diese beziehen sich auf den Schmelz (GELHARD et al. 1983; KIELBASSA und SHOHADAI 1999; VISSINK et al. 1985) oder das Dentin (KIELBASSA und MEYER-LUECKEL 2001; MEYER-LUECKEL et al. 2002).

Ziel dieser In-vitro-Studie war es daher, den Einfluss von potentiellen Speichelersatzmitteln, basierend auf Leinsamen mit unterschiedlichen Elektrolytkonzentrationen und verschiedenen pH-Werten, auf demineralisiertes bovines Dentin zu untersuchen.

2. Literaturübersicht

2.1 Aufbau und Struktur gesunden Dentins

Dentin bildet als lebendes Gewebe, welches hochelastisch und verformbar ist, die Hauptmasse des Zahnes. Es wird koronal von Schmelz bedeckt und im Bereich der Wurzel von Zement (SCHROEDER 1992). Während der gesamten Lebensdauer kann es von den Odontoblasten als Sekundär- oder Tertiärdentin nachgebildet werden. Das Dentin wird von Dentinkanälchen durchzogen; darin befinden sich die Odontoblastenfortsätze, die von Dentinliquor umspült sind. Die Dichte und der Durchmesser der Dentinkanälchen nehmen von der Pulpa zur Schmelz-Dentin-Grenze hin ab (BAUME 1980; GARBEROGLIO und BRAÄNNSTRÖM 1976).

Die chemische Zusammensetzung des Dentins ist der des Knochens und Wurzelzementes sehr ähnlich, unterscheidet sich aber stark vom Schmelz. Gesundes Dentin besteht zu 70 Gewichtsprozenten (Gew.%) aus anorganischem, zu 20 Gew.% aus organischem Material und zu 10 Gew.% aus Wasser. Das Dentin besitzt bei 25 p Belastung eine durchschnittliche Vickers-Härte (HV) von 82,5. Schmelz- oder pulpanahe Dentinabschnitte sind weicher. Da Zement zu 65 Gew.% aus anorganischem, zu 23 Gew.% aus organischem, zu 12 Gew.% aus Wasser und Schmelz zu 95 Gew.% aus anorganischem, zu 4 Gew.% aus organischem und zu 1 Gew.% aus Wasser besteht, ist Dentin härter als Knochen oder Zement, aber weicher als Schmelz, denn der Anteil anorganischer Substanz bestimmt den Grad der Härte (SCHROEDER 1992).

Der anorganische Anteil besteht zum größten Teil aus Kalziumphosphat, das in kristalliner Form vorliegt. Die Kristalle sind kleiner als die des Schmelzes. Die organische Matrix des Dentins besteht zu 91-92 % aus Kollagen und zu 8-9 % aus nichtkollagener Grundsubstanz. Ferner sind Zitronensäure, nicht auflösbare Proteine, Mukopolysaccharide und Lipide Bestandteile des Dentins. Neben geringen Mengen an Karbonat und Magnesium sowie variablen Fluoridkonzentrationen enthält Dentin auch eine Reihe von Spurenelementen (z. B. Chrom, Eisen, Mangan Schwefel, Silizium, Zink) (JANSEN VAN RENSBURG 1994; SCHROEDER 1992).

Bei der rhythmisch ablaufenden Mineralisation des Dentins entstehen auch hypomineralisierte Bereiche, die Ebnerschen Linien. Von der Pulpa in Richtung

Schmelz setzt sich das Dentin aus Prädentin, Zwischendentin, zirkumpulpaalem Dentin und Manteldentin zusammen (SCHROEDER 1992). Das peritubuläre Dentin, welches die Dentinkanälchen von innen auskleidet, ist die von allen am stärksten mineralisierte Dentinstruktur (TAKUMA 1960).

2.2 Kariesentstehung

Die Karies als lokalisierte Erkrankung der Zahnhartgewebe verläuft in Phasen der Stagnation, Remission und Progression und führt zu bakteriell-chemischen Entkalkungs- und Auflösungsprozessen. Zur Demineralisierung von Dentin durch die gebildeten Säuren kommt es, wenn das kritische pH-Intervall von 6,2-6,7 erreicht ist.

Die heute allgemein akzeptierte Theorie der Kariesentstehung geht auf Miller (1898) zurück, der die chemoparasitäre Theorie vorstellte. Hierbei kommt es durch kariogene Mikroorganismen der Mundhöhle (Plaque) und ein Überangebot von kariogenem Substrat (vor allem niedermolekulare Kohlenhydrate) zur Produktion organischer Säuren. Bei ausreichend langer Einwirkzeit auf die Zahnhartsubstanzen (Wirt) beginnen die gebildeten Säuren, den Zahn zu demineralisieren. Darüber hinaus wird die Kariesentstehung zusätzlich durch sekundäre Faktoren beeinflusst. Sowohl der Speichel, die Immunabwehr und Zahnfehlstellungen bzw. -bildungen als auch vermutlich bisher nicht bekannte genetische Faktoren sowie Verhaltensweisen des Patienten und die Einstellung des behandelnden Zahnarztes spielen eine nicht unerhebliche Rolle. Die Zerstörung des Gleichgewichtes von De- und Remineralisation führt zur Entstehung der Karies, welche als multifaktorieller Prozess anzusehen ist (Abb. 1).

Die Plaque ist ein notwendiger Faktor für die Kariesentstehung, und ihre Metaboliten sind für die Demineralisation der Zahnhartsubstanzen verantwortlich. Beim Substrat haben Qualität, Quantität und vor allem die Häufigkeit der Nahrungsaufnahme einen entscheidenden Einfluss. Der Wirt kann durch Zahnfehlstellungen, Mikrodefekte und Zahnhartsubstanzanomalien begünstigend wirken.

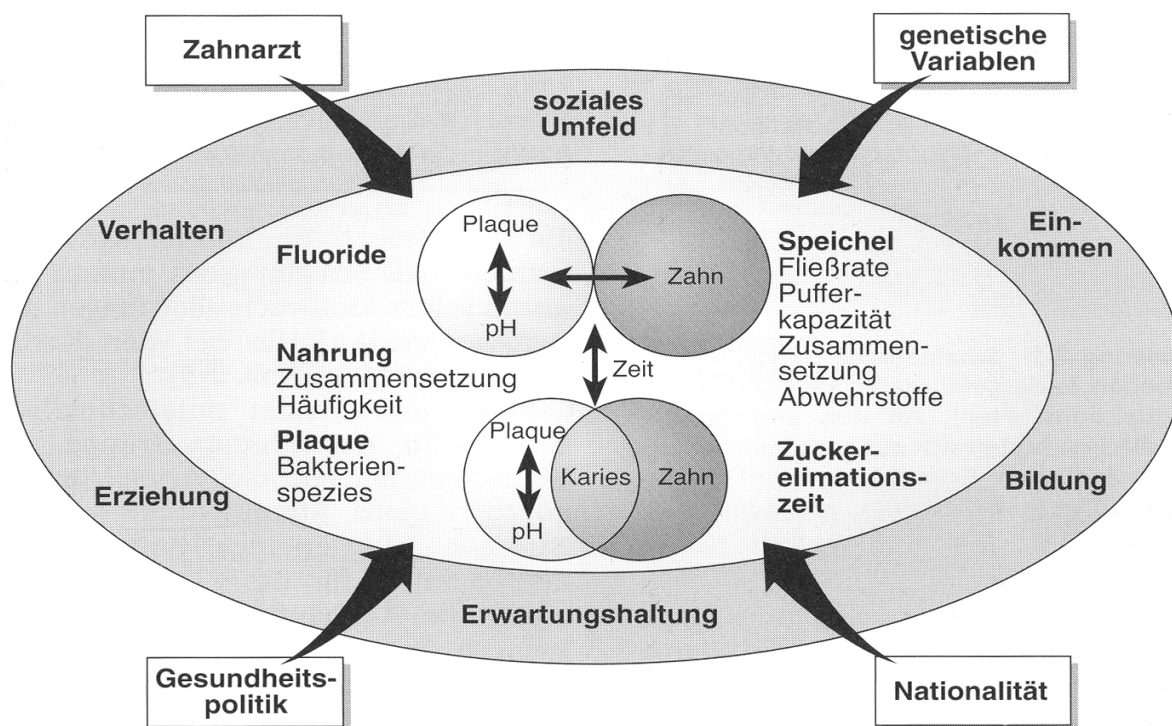


Abb. 1: Schematische Darstellung der wichtigsten ätiologischen Faktoren, die für die Entstehung einer Karies verantwortlich sind. Erst das Zusammenwirken der Hauptfaktoren führt zur Zerstörung der Zahnhartgewebe (Abbildung modifiziert nach FEJERSKOV und MANJI 1990, übernommen aus HELLOWIG et al. 2003).

Ein besonders wichtiges natürliches Schutzsystem stellt der Speichel dar. Er setzt sich aus den Sekreten der großen und kleinen Speicheldrüsen und der Sulkusflüssigkeit zusammen. Der Speichelfluss unterliegt zirkadianen Rhythmen. Die Speichelfließrate kann außerdem angeregt (Kautätigkeit) oder vermindert (Medikamente, Strahlentherapie) werden. Durch den Bikarbonat- und den Phosphatpuffer des Speichels können organische Säuren neutralisiert werden; als kalzium- und phosphatübersättigte Lösung stellt der Speichel eine natürliche Remineralisationslösung dar (HELLWIG et al. 2003).

2.3 Einfluss von F^- , Ca^{2+} - und PO_4^{3-} -Ionen auf die Zahnhartsubstanzen

Die zentrale Rolle von Fluoriden in der Kariesprophylaxe ist unbestritten, auch wenn bis heute nicht alle Wirkungsmechanismen der Fluoride zur Reduktion

der Karies endgültig geklärt sind. Bei der antikariogenen Wirkung von Fluoriden unterscheidet man zwei grundsätzlich unterschiedliche Prinzipien:

1. Die verminderte Säurelöslichkeit, die durch den festen Einbau von Fluorid in das Kristallgitter erfolgt. Zum einen geschieht dies an Fehlstellen der Kristalle bei nicht-stöchiometrisch aufgebautem Apatit. Andererseits können Fluoridionen auch in einer Substitutionsreaktion gegen Hydroxylionen ausgetauscht werden und es entsteht Fluorapatit. Diese Reaktionen vollziehen sich sowohl prä- als auch posteruptiv (HELLWIG et al. 2003).

2. Die Hemmung der Demineralisation bzw. Förderung der Remineralisation als Hauptwirkungsmechanismus. Der Demineralisationsprozess wird modifiziert, indem an die Kristalloberfläche adsorbierte Fluoridionen dem Kristall Eigenschaften von Fluorapatit verleihen und so die Löslichkeit herabsetzen. Des Weiteren schützt die sich oberflächlich bildende Kalziumfluoriddeckschicht die Kristalle vor einer Demineralisation. Zusätzlich wird die Demineralisationszeit verkürzt, da Mineralien früher repräzipitieren. Bei der Remineralisation führen Fluoride zur Bildung größerer und stabilerer Kristalle und diese begünstigen das Wachstum partiell entmineralisierter Kristalle. Eine remineralisierte Oberfläche besitzt daher eine erhöhte Resistenz gegenüber kariösen Angriffen (HELLWIG et al. 2003).

Die genannten Reaktionsmechanismen beziehen sich auf ionisch gebundenes Fluorid. Kovalent gebundenes Fluorid, wie zum Beispiel Natriummonofluorophosphat, diffundiert sehr viel langsamer in die Zahnhartsubstanzen. Monofluorophosphat wird hierbei gegen Phosphat ausgetauscht. Es kann aber auch zu einer Hydrolyse durch Enzyme bzw. Säuren kommen, so dass Fluoridionen frei vorliegen. Diese reagieren dann wie ionisch gebundene Fluoride. Grundsätzlich sind nach einer Fluoridapplikation demineralisierte Zahnhartsubstanzen in der Lage, erheblich mehr Fluorid aufzunehmen als gesunde Zahnhartsubstanzen. Sowohl bei gesunden als auch bei demineralisierten Zahnhartsubstanzen geht allerdings das oberflächlich eingelagerte Fluorid schnell wieder verloren, da es in den Speichel zurück diffundiert. Aus diesem Grund sollten entweder regelmäßig kleine Mengen Fluorid appliziert werden oder seltener hoch dosierte Fluoridgaben erfolgen (HELLWIG et al. 2003).

Dentin benötigt höhere Konzentrationen von Fluorid in einer Lösung als Schmelz, um eine Demineralisation zu verhindern bzw. den Mineralgehalt beizubehalten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass Dentin auf Grund seines

strukturellen Aufbaus leichter löslich ist und die Kristalle kleiner sind (TEN CATE 1999). Hohe Fluoridkonzentrationen verhindern eine Dentin- bzw. Wurzelkaries, niedrigere Konzentrationen von 1-10 mg/l reduzieren sie lediglich (NEWBRUN 1986).

Die Wirksamkeit der Remineralisation von humanem und bovinem Dentin, die generell ein ähnliches Remineralisationsvermögen zeigen wie Schmelz, ist *in vitro* in etwa proportional zur Quadratwurzel des Fluoridstandes in der Remineralisationslösung. Die Menge gebildeten Minerals im Dentin wird bestimmt durch die Diffusion des Fluorids in das Gewebe (ARENDS et al. 1990).

Eine Studie aus dem Jahre 2001 zeigte, dass es mit Fluoriden möglich ist, eine Remineralisation von Dentin zu erreichen, selbst wenn dieses von Schmelz bedeckt ist (TEN CATE 2001). Anhand einer anderen Studie, die sich mit der Demineralisation von humanem Schmelz und Dentin beschäftigte, wurde demonstriert, dass die deutlichste Inhibition der Demineralisation durch die Zugabe von Fluoriden bei abradierten Schmelzproben auftritt. Unter den Versuchsbedingungen wurden 2 ppm Fluorid benötigt, um die Demineralisation von Schmelz vollständig zu inhibieren. Im Vergleich dazu wurde mit dieser Menge bei Dentin keine Demineralisation verhindert (HERKSTRÖTER et al. 1991).

Den Beweis, dass fortgeschrittene Dentinläsionen trotz offensichtlichen Fehlens von Mineral im Läsionskörper zu remineralisieren sind, erbrachte eine Studie, bei der Dentinproben 20 Wochen in 0,1 ppm NaF-haltiger Remineralisationslösung lagen. Das Mineral setzte sich bevorzugt an der Oberflächenschicht ab, bis der Mineralgehalt den Wert von gesundem Dentin erreichte. Mit der Zeit nimmt aber auch der Mineralgehalt des Läsionskörpers zu. Das bedeutet, dass die remineralisierte Oberflächenschicht den Transport von mineralisierenden Ionen in den Läsionskörper nicht verhindern konnte (MUKAI und TEN CATE 2002). Eine Demineralisation wird verzögert, wenn dieser eine Remineralisation mit Fluoridionen vorausgegangen ist (LAMMERS et al. 1991).

Das alleinige Vorhandensein einer bestimmten Fluoridkonzentration reicht aber nicht aus, um eine Demineralisation zu verhindern. Wichtige Faktoren sind des Weiteren der pH-Wert und die Kalzium- und Phosphatkonzentration (TEN CATE und DUIJSTERS 1983). Sind die erwähnten Stoffkonzentrationen in einer wässrigen Lösung bekannt, dann kann nach der Methode von SHELLIS der Sättigungsgrad (DS) einer Lösung bestimmt werden. Ergibt sich hierbei ein Wert von eins, ist die Lösung gesättigt. $DS > 1$ zeigt, dass eine Lösung übersättigt und eine Remineralisation

prinzipiell möglich ist. $DS < 1$ kennzeichnet eine untersättigte Lösung, die zur Demineralisation tendiert. Der Sättigungsgrad von Hydroxylapatit wird also bestimmt durch den pH-Wert und die Konzentration an Kalzium- und Phosphationen in einer Lösung (SHELLIS 1988).

In der Studie aus dem Jahre 2000 verglichen TANAKA und KADOMA die Reduktion der Demineralisation von Zahnhartsubstanzen durch Kalzium- und Phosphationen. Die benötigte Menge an Phosphationen war hierbei ungefähr 20-fach höher als die Menge an Kalziumionen. Dieser größere inhibierende Effekt von Kalziumionen hängt damit zusammen, dass Kalziumionen einen größeren Einfluss auf den Grad der Sättigung der Lösung besitzen (TANAKA und KADOMA 2000).

Bei einem Vergleich von Lösungen mit unterschiedlichen Verhältnissen von Kalzium- und Phosphationen stellte sich heraus, dass eine Standardlösung mit 1,5 mmol/l Ca^{2+} und 0,9 mmol/l PO_4^{3-} die größte Remineralisation während der ersten Woche der Versuchsdauer zeigen konnte. Es zeigte sich, dass unterschiedlich zusammengesetzte Lösungen, bei denen die Verhältnisse von Kalzium- und Phosphationen weiter auseinander lagen, in Bezug auf die Remineralisation in der Tiefe der Läsion hinter der oben erwähnten Lösung zurückblieben. Die Unterschiede verringerten sich allerdings mit der Zeit der Versuchsdauer (EXTERKATE et al. 1993).

2.4 Produktion und Funktion von Speichel

In der Mundhöhle, die die erste Station des Verdauungstraktes darstellt, übernimmt der Mischspeichel, zusammengesetzt aus Sekreten der großen und kleinen Kopfspeicheldrüsen, Aufgaben der Verdauung und der Abwehr. Die ständig bestehende „Ruhesekretion“ von Speichel in die Mundhöhle besteht auch ohne äußere Einflüsse. Über diesen Grundbedarf hinaus kann durch Reize wie Kaubewegungen, Geschmackssensationen und Geruchsempfindungen zusätzlich Speichel sezerniert werden, der so genannte „Reizspeichel“. Verantwortlich für die Ruhesekretion sind vor allem die kleinen Speicheldrüsen, Glandula sublingualis und Glandula submandibularis. Der Reizspeichel wird größtenteils von der Glandula parotis gebildet (SEIFERT et al. 1984).

Der Speichel wird in einer Gesamtmenge von 0,5-1,5 l pro Tag produziert, wobei die Sekretionsrate, je nach Stimulation, zwischen 0,1 und 4 ml/min variiert. Er kleidet die gesamte Mundhöhle mit einem mindestens 0,1 µm dünnen Film aus. Zur Auslösung der Speichelproduktion kommt es reflektorisch (SILBERNAGL und DESPOPOULOS 1991). Die Rezeptoren der Azini werden über sympathische und parasympathische Bahnen oder direkt durch die in der Blutbahn zirkulierenden adrenergen und cholinergen Substanzen erreicht. Der Sekretionszyklus ist durch einen Feedback-Mechanismus zwischen Sekretproduktion und Sekretabgabe sowie durch tagesrhythmische Schwankungen gekennzeichnet (SEIFERT et al. 1984).

Ort der Speichelbildung sind die Azini der drei großen paarigen Unterkiefer-, Unterzungen- und Ohrspeicheldrüsen (Glandula submandibularis, Glandula sublingualis und Glandula parotis) und die der kleinen Speicheldrüsen. Man unterscheidet zwischen serösen, mukösen und gemischten Speicheldrüsen. Speichel, der den serösen Drüsenendstücken entstammt, enthält vorwiegend das Enzym Amylase. Die mukösen Drüsenanteile produzieren einen Speichel der überwiegend aus Sialomuzinen besteht (SEIFERT et al. 1984). Der zunächst gebildete Primärspeichel wird während seines Transports durch das Ausführungsgangsystem modifiziert. Hierbei kommt es zur Resorption von Na^+ und Cl^- und zur Sekretion von K^+ und HCO_3^- (SILBERNAGL und DESPOPOULOS 1991).

Die Gesamtmenge des Speichels besteht zu 99 % aus Wasser. Den Rest bilden anorganische und organische Substanzen, deren Konzentration individuell stark variiert. Bei den anorganischen Bestandteilen handelt es sich um Natrium, Kalium, Kalzium, Phosphat, Chlorid, Magnesium, Hydrogenkarbonat und Fluorid. Die wichtigsten organischen Bestandteile des Speichels sind Enzyme, Proteine und Glykoproteine (Muzine) (HELLWIG et al. 2003).

Zahlreiche Funktionen werden mit dem Speichel und einzelnen Speichelkomponenten erfüllt. Die Gesamtflüssigkeit dient der Spülfunktion. Puffersysteme wie der Bikarbonat- oder Phosphatpuffer neutralisieren organische Säuren. Fluorid, Phosphat, Kalzium, Statherin fördern die Remineralisation. Die Benetzung der Mundhöhle erfolgt mit Glykoproteinen und Muzin. Die antibakterielle Aktivität wird durch Antikörper, Lysozym, Laktoferrin und Laktoperoxidase aufrechterhalten. Enzyme wie Amylase oder Proteasen sorgen für die Andauung der Nahrung (Tab. 1) (HELLWIG et al. 2003).

Tab. 1: Funktion des Speichels und einzelner Speichelkomponenten

Funktion	Beteiligte Speichelkomponenten
Spülfunktion	Gesamtflüssigkeit
Pufferung von Säuren	Bikarbonat, Phosphat, Proteine
(Re-) Mineralisation	Fluorid, Phosphat, Kalzium, Statherin
Beschichtung	Glykoproteine, Muzin
Antibakterielle Aktivität	Antikörper, Lysozym, Laktoferrin, Laktoperoxidase
Andauung von Nahrung	Amylase, Proteasen

2.4.1 Sekretionsstörungen der Speicheldrüsen

Bei verminderter oder aufgehobener Speichelsekretion spricht man von Hyposialie bzw. Asialie. Von einer starken Hyposialie kann man sprechen, wenn die unstimulierte Sekretion der Parotis auf unter 0,001 ml/min fällt. Der Normalwert liegt bei 0,03-0,2 ml/min.

Die Xerostomie als Symptom einer unzureichenden Speichelmenge wird in der Mundhöhle hervorgerufen. Sind die Mundschleimhäute nicht ausreichend benetzt, vermitteln sie das Gefühl der Trockenheit, was jedoch nicht mit einer objektiv messbaren Austrocknung der Schleimhäute gleichzusetzen ist.

Die Ursachen der Xerostomie sind vielfältig. Es kann sich um eine Abnahme der peripheren Reize oder eine gestörte Erregungsleitung handeln. Zentrale Störungen oder Störungen der Speicheldrüseninnervation, die medikamenten-induziert besonders bei Psychopharmaka, Antidepressiva und Antihypertensiva auftreten, spielen eine Rolle. Störungen auf dem Niveau der Speicheldrüsen können erscheinen. Von klinischer Bedeutung ist hier die strahleninduzierte Hyposalivation, wobei durch die Bestrahlung irreversible Schädigungen der Speicheldrüsen zustande kommen. Das Sjögren-Syndrom, welches durch Autoantikörper gegen Speicheldrüsenangepithelien gekennzeichnet ist, führt über eine chronische Sialadenitis zur Hyposalivation. Darüber hinaus sind Einschränkungen des Speicheltransportes und vermehrter Speichelverbrauch Ursachen einer Xerostomie (SEIFERT et al. 1984). Eine weitere Ursache für eine Speicheldrüsenhypofunktion ist eine reduzierte Kaubewegung (SREEBNY 1989).

2.5 Xerostomie und ihre Auswirkungen

Die Xerostomie führt zu Einschränkungen der Lebensqualität. Zurzeit gibt es noch keine kausalen Behandlungsmöglichkeiten. Vorübergehende Erleichterung verschaffen nur befeuchtende Agenzien oder Speichelersatzmittel, wenn die Speicheldrüsen keine Funktion mehr zeigen (GUCHELAAR et al. 1997).

Im Zuge der Hyposalivation kommt es zu erheblichen Auswirkungen in der Mundhöhle. Die Patienten klagen über trockene und entzündlich gerötete Mundschleimhäute. Sind diese Beschwerden Folgen einer tumortherapeutischen Bestrahlung, spricht man auch von „Strahlen-Mukositis“, die einen unvermeidlichen Nebeneffekt dieser Behandlung darstellt. Das Ausmaß ist jedoch immer abhängig vom Grad der Mundhygiene (SPIJKERVET et al. 1990; SPIJKERVET 1991). Etwa zwei Wochen nach Bestrahlungsende klingen die Beschwerden ab, allerdings mit beeinträchtigter Heilungstendenz (BAKER 1982; MAXYMIW und WOOD 1989).

Durch Atrophie des Zungenepithels entstehen Zungenbrennen und Geschmacksstörungen. Die Lippen werden trocken und rissig. Kau-, Schluck- und Sprechgewohnheiten sind häufig nur schwierig durchzuführen (SEIFERT et al. 1984). Vermehrte Plaquebildung und Parodontitis sowie Infektanfälligkeit im Pharynxbereich und Gewichtsverlust treten auf (BEER 1998). Unverträglichkeit von Prothesen und Druckstellen verschaffen den Patienten zusätzliche Probleme. Häufig kommt es im Rahmen der Hyposalivation auch zu zunehmender Pilzbesiedlung in der Mundhöhle. Die oralen Symptome führen außerdem dazu, dass Patienten ihre Essgewohnheiten verändern und bevorzugt weiche, klebrige und kohlenhydratreiche Kost zu sich nehmen. Eine mangelnde Mundhygiene ist bei vielen Patienten die Konsequenz der schmerzhaft entzündlichen Veränderungen der Mundschleimhaut (GUCHELAAR et al. 1997). Als Resultat wird der „Strahlenkaries“ Vorschub geleistet.

Es ist unklar, ob die Veränderungen der Speichelquantität und -qualität direkter Effekt der Bestrahlung oder sekundär Folge der Schädigung der feinen vaskulären Strukturen sind. Sicher ist, dass seröse azinäre Zellen stärker betroffen sind als muköse und duktales. In Folge der tumortherapeutischen Bestrahlung sinkt die Speichelfließrate innerhalb der ersten Woche nach Beginn der Radiatio auf 50 %. Danach nimmt die Fließrate langsam weiter auf 5 % der ursprünglichen präradiotherapeutischen Fließrate ab. Der Speichel wird visköser und muköser und

nimmt ein weißliches, gelbliches oder sogar bräunliches Aussehen an. Zusätzlich fällt der pH-Wert des Speichels und wird sauer. Damit ergibt sich eine geringere Pufferkapazität gegenüber Säuren (DREIZEN et al. 1976; GUCHELAAR et al. 1997). Des Weiteren ist die antimikrobielle Wirksamkeit reduziert und die Zähne nehmen Schaden durch eine verminderte Remineralisation (JONGEBLOED et al. 1988). Die deutlichste Veränderung betrifft den Natriumgehalt. Durch die Bestrahlung wird die Reabsorption der Tubuli reduziert, was den Natriumgehalt des Speichels ansteigen lässt (BEN-ARYEH et al. 1975). Mit der Reduktion oder dem Verlust des Speichels steigen auch die kariogenen Mikroorganismen, auf Kosten der nichtkariogenen, in ihrem Verhältnis an. Dabei ist das vermehrte Auftreten von *Streptococcus mutans*, *Lactobazillus* spezieis und *Candida* spezieis von besonderer klinischer Relevanz (BROWN et al. 1978).

Die Ausdehnung der Speicheldrüsenfehlfunktion ist abhängig von verschiedenen Faktoren. Hierbei spielen das Bestrahlungsfeld, die Bestrahlungsdosis und die ursprüngliche Speicheldrüsenfunktion bzw. das vorherige Speicheldrüsenvolumen eine entscheidende Rolle (GUCHELAAR et al. 1997).

2.5.1 Strahlenkaries

Die Ursache der „Strahlenkaries“ ist bisher nicht eindeutig geklärt (ROSENBERG 1990). Einige Autoren führen ihre Entstehung auf die verminderte Speichelproduktion und das vermehrte Plaquewachstum zurück (NILLES und STOLL 1992), während andere eine direkte Schädigung durch die Bestrahlung vermuten (BERNHOF und SKAUG 1985; KIELBASSA et al. 1999; WILLICH et al. 1988).

Die „Strahlenkaries“ tritt in der Regel plötzlich und sehr progressiv auf. Besonders häufig sind die Glattflächen betroffen, die im Normalfall als relativ kariesresistent gelten (KATZ 1982).

Einige Autoren behaupten, dass es von entscheidender Bedeutung sei, ob die großen Speicheldrüsen in die Bestrahlung einbezogen wurden oder nicht (DREIZEN et al. 1976; TENOVUO und LAGERLÖF 1994). Dies verdeutlicht den großen Einfluss der Hyposalivation bei der Entstehung der „Strahlenkaries“. Dennoch ist auch diese Form der Karies multifaktoriell bedingt, wobei dem verminderten Speichelfluss eine zentrale Bedeutung zukommt (KIELBASSA et al. 1997). Bei den

bestrahlten Patienten ist das Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisation gestört, was zu einem rascheren Fortschreiten kariöser Läsionen führt.

Eine mögliche Konsequenz der Hyposalivation ist also die vermehrte Anfälligkeit für Karies. Das bedeutet nicht, dass es zwangsläufig zur Entstehung von Karies kommen muss. Diese wird allerdings begünstigt, da die Patienten weiche und flüssige Kost bevorzugen. Daraus folgen eine stärkere Retention der Nahrung und ein geringerer Abrieb durch die Nahrung. Weiterhin wird durch eine reduzierte Speichelmenge und eine zähere Speichelkonsistenz eine schlechtere Spülfunktion erreicht. Letztlich kann ein verstärkter Plaquebefall resultieren (BEER 1998).

2.5.2 Therapiemöglichkeiten bei Xerostomie

Das Ziel der Behandlung ist die symptomatische Erleichterung der Mundtrockenheit durch Speichelersatzmittel bzw. feuchte Agenzien oder aber ein therapeutisch induzierter Anstieg der Speichelfließrate mit Hilfe von Sialogoga. Kausale Therapieansätze fehlen bisher (GUCHELAAR et al. 1997).

Bei der Behandlung der Symptome der Xerostomie konzentriert man sich vor allem auf die Schleimhaut. Diese muss gereinigt und vor Infektionen geschützt werden. Hierfür verwendet man Wasserstrahlgeräte und 0,02%iges Chlorhexidin. Um die Schleimhaut nicht unnötig zu belasten, sollten die Patienten auf trockene, würzige und saure Speisen verzichten und keinen Alkohol oder Tabak zu sich nehmen (IMFELD 1984; REMICK et al. 1983).

Ist eine Stimulation der Speicheldrüsen möglich, was eine verbliebene Restaktivität der Speicheldrüsen voraussetzt, dienen Sialogoga der endogenen Benetzung und Lubrifikation. Diese pharmakologischen Speichelstimulantien sind Wirkstoffe wie Pilocarpin, Neostigmin, Nikotinamid oder Kaliumjodid; diese sind aber nur bei genauer Kenntnis der Ursache des verminderten Speichelflusses indiziert (DAVIES 1997; DAVIES et al. 1998; RIEKE et al. 1995). Pilocarpin hat sich als effektivste Substanz bei der Behandlung von unter Xerostomie leidenden Patienten erwiesen und ist in den meisten Ländern der Welt zum Zweck der Speichelstimulation zugelassen. Die durch Pilocarpin induzierte Vasodilatation in den Speicheldrüsen und der daraus resultierende Speichelsekretionsanstieg werden über cholinerg-muscarinerge Rezeptoren vermittelt. Die stimulierte Speichelsekretion ist in ihrer Zusammensetzung der normalen sehr ähnlich (KUSLER und

RAMBUR 1992). Eine Dosis von fünf bis zehn Milligramm Pilocarpin, die dreimal täglich verabreicht wird, führt zu einer Erhöhung der Speichelfließrate und somit zu einer Erleichterung der Symptome der Xerostomie. Bei der Anwendung von Pilocarpin kommt es allerdings auch zum Auftreten von Nebenwirkungen (z. B. Schwitzen, Frieren, Übelkeit, Schwindel, gastrointestinale Störungen) (JOHNSON et al. 1993). Somit ist dieses Medikament nicht für alle Patienten zu empfehlen und diese Therapieform erscheint nur für eine kleine Gruppe von Patienten geeignet. Schwer zu lindern sind auch die Beschwerden der Patienten bei Nacht, da die Speichelstimulantien nur am Tage einsetzbar sind (GUCHELAAR et al. 1997; IMFELD 1984).

Bei Kontraindikation, Unverträglichkeit oder Erfolglosigkeit muss der mastikatorischen Stimulation der Vorzug gegeben werden. Kauen regt den Speichelfluss an. Für Patienten mit ausgetrockneter Mundschleimhaut kann der Verzehr fester Nahrung manchmal jedoch schwierig sein, weshalb zu fester Nahrung jeweils ein Schluck Flüssigkeit genommen werden sollte. Geeignet sind auch zahnschonende Kaugummis. Diese können allerdings nur bei Patienten angewendet werden, die noch eine ausreichende Sekretion an Speichel aufweisen. Zahnschonende Bonbons, die Fruchtsäuren enthalten, rufen bei Mundtrockenheit Erosionen oder auch Demineralisationen an den Zähnen hervor. Auch bei Zahnlosen wird der Verzehr von sauren, den Speichelfluss stimulierenden Nahrungsmitteln und Getränken durch Schmerzen, die an der sehr verletzlichen Mundschleimhaut auftreten, begrenzt. Darüber hinaus können auch Substanzen, die einfach nur im Mund gehalten und nicht gekaut werden, den Speichelfluss anregen (IMFELD 1984; SREEBNEY 1996; VAN DER REIJDEN et al. 1999). Neben einer Anregung des Speichelflusses können Kaugummis auch als Träger von Substanzen (Fluoride, Chlorhexidin oder Nikotin) dienen und auf diese Weise zusätzlich die Zahn- und Mundgesundheit unterstützen (ITTHAGARUN und WEI 1997).

Bleibt die Speichelstimulation erfolglos, ist eine dauernde exogene Benetzung und Lubrifikation notwendig. Hierfür wurden in der Vergangenheit die unterschiedlichsten Flüssigkeiten verwendet (Wasser, Salzwasser, Olivenöl, Glycerin, Paraffin oder Zitronensäure). Einige dieser (Netz-) Mittel weisen einen sauren pH-Wert auf. Um die Zahnhartsubstanzen zu schützen, sollten bei Bezahten keine Mundspüllösungen mit saurem pH-Wert und hohem Gehalt an titrierbarer Säure verwendet werden, da In-vivo-Versuche eine potentiell

schädigende Wirkung auf Schmelz und Dentin zeigten (KIDD und JOYSTON-BECHAL 1984). Außerdem verfügen diese nicht über die viskoelastischen Eigenschaften der physiologischen Mundflüssigkeit, so dass der Effekt nicht lang anhaltend ist. Deshalb wurde künstlicher Speichel, der Carboxymethylcellulose (CMC), Polyethylenoxid (PEO) oder Muzin als Basisstoff enthalten kann, entwickelt (IMFELD 1984; MEYER-LUECKEL und KIELBASSA 2002; VISSINK et al. 1988). Erleichterung können den Patienten auch Luftbefeuchter in den Räumen bringen (SREEBNY 1989).

2.6 Speichelersatzmittel zur Therapie bei Xerostomie

Wenn eine Stimulierung der Speicheldrüsen nicht oder nur minimal funktioniert, müssen Speichelersatzmittel eingesetzt werden. Die meisten Ersatzspeichel versuchen, die Elektrolytzusammensetzung von natürlichem Speichel nachzuahmen (SREEBNY 1989). Ziel und Zweck eines Speichelersatzmittels ist in erster Linie, das Feuchthalten der Mund- und Rachenschleimhaut in einer möglichst den natürlichen Verhältnissen entsprechenden Art und Weise zu gewährleisten. Dies ist wichtig, weil Wasser, Tee und Säfte keine nachhaltige Hilfe bieten. Erklärbar ist dies durch die fehlende Herabsetzung der Oberflächenspannung, die für ein längeres Befeuchten der Schleimhaut nötig ist und bei Speichel durch die enthaltenen Muzine erreicht wird. Des Weiteren soll eine antimikrobielle Wirksamkeit gegen karies- und parodontopathogene Keime vorliegen und die Inhaltsstoffe sollen eine remineralisierende Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen haben. Es ist wichtig, dass es zu keiner schädlichen Wirkung auf den Organismus kommt und dass der Geschmack des Speichelersatzmittels für den Patienten akzeptabel ist (GUIJARRO GUIJARRO et al. 2001; IMFELD 1984; LEVINE et al. 1987; MATZKER und SCHREIBER 1972; MEYER-LUECKEL und KIELBASSA 2002). Nicht unerheblich bezüglich des Erfolges einer Therapie mit Speichelersatzmitteln ist die Instruktion und die Compliance des Patienten (VISSINK et al. 1988).

Der erste synthetische Ersatzspeichel (Glandosane), der dem natürlichen Speichel in physikalischer und chemischer Hinsicht nachgeahmt wurde, angenehm schmeckt und lange stabil bleibt, enthält CMC, Sorbit, Kaliumchlorid, Natriumchlorid, Magnesiumchlorid, Calciumchlorid, Dikaliumhydrogenphosphat und Kaliumrhodanid und wurde 1972 entwickelt. Die Kombination von CMC und Sorbitol

resultierte jedoch in einer höheren Viskosität des Präparates im Vergleich zum natürlichen Speichel. Es stellte sich heraus, dass der Ersatzspeichel den Patienten eine fühlbare Erleichterung der Beschwerden brachte, unabhängig davon, welche Ursache dem Speichelmangel zu Grunde lag. Die verbrauchte Menge an künstlichem Speichel war immer geringer als die Menge fehlenden natürlichen Speichels (LEVINE et al. 1987; MATZKER und SCHREIBER 1972). In Sprayform verwendet wurden rund 17 ml pro Tag appliziert. Von Nebenwirkungen wurde nicht berichtet.

Dieses Produkt zog viele Imitationsprodukte nach sich (z. B. Saliment, Salube, Moi-Stir, Salivart, Artisial, Orex und Xero-Lube), die als Basisstoffe alle CMC enthalten (IMFELD 1984). Im Jahre 1974 beschrieben S'GRAVENMADE et al. ein Speichelersatzmittel auf der Basis von tierischem Muzin. Es führte bis zu vier Stunden nach Applikation bei einer Menge von nur 3-5 ml pro Tag zu subjektiver Erleichterung. Im Vergleich zu CMC-Produkten traten weniger Mukosairritationen auf. Aus einer vergleichenden Studie zwischen CMC- und Muzin-Produkten ergab sich eine bessere subjektive Erleichterung, eine längere Wirkungsdauer und eine geringere Klebrigkeit für Muzin, aber auch ein schlechteres Remineralisationsverhalten als für CMC-Produkte (IMFELD 1984; S'GRAVENMADE et al. 1974).

Im Laufe der Zeit kamen weitere Speichelersatzmittel auf den Markt, die unter anderem Natrium-Carboxymethylcellulose (Na-CMC), Carboxyethylcellulose (CEC), Hydroxyethylcellulose (HEC), tierisches Muzin, Leinsamenöl, Sorbitol oder PEO als Basis enthielten. Unterschiede gab es in Bezug auf die anorganischen Zusätze, das Vorhandensein von Enzymen und den pH-Wert (GELHARD et al. 1983; VAN DER REIJDEN et al. 1997; VISSINK et al. 1985).

Eine vergleichende Untersuchung von ANDERSSON et al. (1995) an 20 Patienten führte zu dem Ergebnis, dass ein Präparat auf Leinsamenölbasis bei einer größeren Anzahl von Patienten auch über einen längeren Zeitraum eine subjektiv bessere Wirkung als das Vergleichspräparat MAS-84 auf CMC-Basis erzielte. Zusätzlich hatte das Leinsamenprodukt einen positiven Effekt auf die Plaque- und Blutungsindizes (ANDERSSON et al. 1995).

Darüber hinaus scheint nicht jedes Speichelersatzmittel bei jedem Patienten gleichermaßen wirksam zu sein. Patienten mit reduziertem Ruhespeichel bevorzugen eher Produkte, die Polyacrylsäure enthalten, während Patienten mit

größeren Speichelfließraten muzinhaltige Präparate präferieren (VAN DER REIJDEN et al. 1996).

2.6.1 Rheologisches Verhalten von Speichersatzmitteln

Natürlicher Speichel ist eine viskoelastische Flüssigkeit mit nicht-Newton'schem rheologischem Verhalten (DAVIS 1970). Flüssigkeiten, die CMC und HEC enthalten, imitieren dieses Verhalten nicht exakt. Sie sind eher Newton'sche Flüssigkeiten (IMFELD 1984).

Hochmolekulares PEO ist in wässriger Lösung dem viskoelastischen Verhalten des natürlichen Speichels ähnlich. Als Basisstoff eines Speichersatzmittels ist es dennoch ungeeignet, obwohl es im Mund eine bessere Wirkung zeigte als ein Vergleichspräparat auf CMC-Basis. Die Klebrigkeit an der Verpackungsflasche war so groß, dass Probleme in der technischen Herstellung keine kommerzielle Vermarktung zuließen (MARKS und ROBERTS 1983; ROBERTS 1977; ROBERTS 1982). Außerdem bemängelte eine andere Studie die hohe Viskosität der PEO-Basis und favorisierte eine Muzinbasis für Speichersatzmittel (VISSINK et al. 1984).

Im Speichel sorgen die enthaltenen Muzine durch Herabsetzung der Oberflächenspannung für einen idealen Feuchtigkeitsfilm, der lange anhftet, ohne zu verkleben (NIEUW AMERONGEN et al. 1987). Mit bovinem Submandibulärmuzin oder Magenmuzin vom Schwein als Basis im Speichersatzmittel wird eine dem natürlichen Speichel sehr ähnliche Viskosität erreicht (VISSINK et al. 1984), die im Vergleich zu CMC-Produkten sowohl auf poliertem Schmelz als auch auf oraler Mukosa gute befeuchtende Eigenschaften zeigt (VISSINK et al. 1986). Darüber hinaus wurden verschiedene Speichersatzmittel und die darin enthaltenen Polysaccharide in Bezug auf ihre Benetzungsfähigkeit, ihre Tendenz zur Bildung von Oberflächenfilmen und ihre Viskosität mit den Eigenschaften des humanen Speichels (HS) verglichen (CHRISTERSSON et al. 2000; REEH et al. 1996; VAN DER REIJDEN et al. 1994). Hierbei konnte unter anderem gezeigt werden, dass die Benetzungsfähigkeit einer Lösung unabhängig von ihrer Viskosität ist (HATTON et al. 1987; LEVINE et al. 1987).

In einer weiteren Studie wurden die rheologischen Eigenschaften von Salinum (Leinsamenbasis), Saliva Orthana (Muzinbasis), MAS 84 (CMC-Basis) mit

denen des Speichels verglichen. Mit Ausnahme des CMC-basierenden Produktes zeigten die beiden anderen eine dem natürlichen Speichel ähnlich gute Tendenz zur Ausbildung von Filmen an der Grenzschicht zwischen Zahn/Flüssigkeit und Luft/Flüssigkeit. Die Fähigkeit, einen Film sowohl auf hydrophoben als auch auf hydrophilen Oberflächen bilden zu können, scheint ein wichtiges Merkmal für den klinischen Erfolg eines Speichelersatzmittels zu sein (CHRISTERSSON et al. 2000).

2.6.2 Wirkung von Speichelersatzmitteln auf die Zahnhartsubstanzen

Von Speichelersatzmitteln werden einerseits neutrale Wirkungen und andererseits remineralisierende Effekte erwartet. Die Literatur verfügt nur über wenige Untersuchungen, die sich mit der Wirkung von Speichelersatzmitteln auf die Zahnhartsubstanzen beschäftigen. Bei entsprechender Zusammensetzung kann der künstliche Speichel einen nicht unerheblichen demineralisierenden Einfluss auf Schmelz bzw. Dentin haben (JOYSTON-BECHAL und KIDD 1987; KIELBASSA und SHOHADAI 1999; KIELBASSA und MEYER-LUECKEL 2001; KIELBASSA et al. 2001; MEYER-LUECKEL et al. 2002).

Mit einer Zugabe von Kalzium-, Phosphat- und/oder Fluoridionen kann das Lösungsgleichgewicht von Apatit dahingehend verändert werden, dass die demineralisierende Wirkung reduziert wird (BRUDEVOLD et al. 1965). Dies konnte SHANNON bereits 1978 belegen, als er in einer In-vitro-Studie eine Zunahme der Mikrohärtigkeit an humanen Schmelzproben zeigte, die in dem CMC-haltigen Speichelersatzmittel VA-Oralube lagerten (SHANNON et al. 1978). In einer weiteren Studie wurde ein Fluoridgehalt von 2 mg/l als optimal angegeben (SHANNON und EDMONDS 1978). Nach Lagerung in Artisal, welches bis auf das Fehlen von Fluorid ansonsten dem oben genannten Präparat ähnlich ist, wurden Schmelz- und Dentinproben nicht weiter demineralisiert und die Läsionstiefen der Proben waren nach der In-vitro-Exposition nicht vergrößert. Für das Produkt Oralube konnte in mehreren In-vitro-Studien eine Verringerung der Läsionstiefe und ein Mineralgewinn an künstlich erzeugten Schmelz- und Dentinläsionen aufgezeigt werden. Zurückzuführen ist das unter anderem auf den hohen Gehalt an Fluorid- bzw. Kalziumionen (KIELBASSA und SHOHADAI 1999; KIELBASSA und MEYER-LUECKEL 2001; KIELBASSA et al. 2001; MEYER-LUECKEL et al. 2002). Dies zeigt die Wichtigkeit des optimalen Fluoridgehalts für die Remineralisation von Zahnhartsubstanzen.

2.6.3 Leinsamen als Basis von Speichersatzmitteln

Das Speichersatzmittel Salinum besteht aus einem in Wasser löslichen Extrakt aus Leinsamen. Die physikalischen Eigenschaften dieses Extraktes sind denen der Glykoproteine des Speichels sehr ähnlich. Im Jahre 1994 erschien eine erste Studie mit Salinum, in welcher der Effekt auf die Symptome der Mundtrockenheit getestet wurde. 37 Patienten, die unter schweren Symptomen auf Grund von Hyposalivation litten, wurden über 7 Tage behandelt. Die Mehrzahl von ihnen berichtete von einer Linderung der Symptome. Diejenigen, die am stärksten betroffen waren, verspürten auch die größte Erleichterung (JOHANSSON et al. 1994).

Im Jahre 2001 wurde eine weitere Untersuchung durchgeführt. Diesmal wurden 22 Patienten mit Sjögren-Syndrom über einen Zeitraum von drei Wochen untersucht. Den Versuchspersonen wurde Salinum mit und ohne Chlorhexidin verabreicht. Beide Produkte führten zu einem verringerten Plaque- und Blutungsindex, reduzierter Reibung und einer Abnahme der Mundtrockenheit. Die Kombination von Salinum und Chlorhexidin zeigte zusätzlich einen Rückgang von anaeroben Mikroorganismen und Streptococcus-Arten. Sprechprobleme und die Reizungen der Mundschleimhäute wurden durch Salinum gelindert. Positive Effekte wurden also sowohl nach der Verwendung von Salinum alleine als auch in Kombination mit Chlorhexidin beobachtet (JOHANSSON et al. 2001).

3. Ziel der Untersuchung

Die subjektiv empfundene Mundtrockenheit, auch Xerostomie genannt, ist ein Symptom, das in Zusammenhang mit verschiedenen Erkrankungen, als Nebenwirkung von Medikamenten oder nach tumortherapeutischer Bestrahlung auftritt. Folglich ist eine große Anzahl von Patienten betroffen, deren Lebensqualität zum Teil stark beeinträchtigt ist. Das bedeutet unter anderem, dass Sprech-, Schluck- und Kaugewohnheiten erschwert sind und die Personen ihre Essgewohnheiten dahingehend verändern, dass sie weiche, kohlenhydratreiche Nahrung zu sich nehmen, wodurch das Kariesrisiko erhöht ist.

Um die Beschwerden zu lindern, werden den Betroffenen oftmals Speichelersatzmittel empfohlen. Dieser „künstliche Speichel“ sollte aus zahnmedizinischer Sicht durch Befeuchten der Mundschleimhäute nicht nur das orale Wohlbefinden steigern, sondern darüber hinaus die Zahnhartsubstanzen nicht schädigen. Als weiteres zusätzliches Ziel ist eine Remineralisation von initialen Schmelz- und Dentinläsionen wünschenswert.

Ziel dieser Studie war es daher, den Einfluss von „künstlichem Speichel“ (basierend auf Leinsamen) mit verschiedenen Elektrolytkonzentrationen und unterschiedlichen pH-Werten auf demineralisiertes bovines Dentin *in vitro* zu untersuchen. Infolgedessen besagt die Null-Hypothese dieser Arbeit, dass mit einer Erhöhung der Elektrolytmenge keine weitere Demineralisation zu erwarten ist.

4. Material und Methode

4.1 Herstellung von Dentinproben

Für die Untersuchung wurden 38 Rinderfrontzähne post mortem extrahiert. Diese wurden nach vorsichtiger Säuberung bis zur weiteren Verarbeitung bei Raumtemperatur in 0,9%iger Kochsalzlösung (NaCl-Lösung 0,9 %; Delta Select, Pfullingen, Deutschland) gelagert. Unter ständiger Wasserkühlung wurde zunächst die Krone abgetrennt und danach eine 3 mm dicke Wurzelscheibe separiert. Dieser zervikale Wurzelblock wurde nun geviertelt (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Die entstandenen 3×3 mm² großen Dentinproben wurden jeweils zu sechst in einen Block aus Kunstharz eingebettet (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland). Anschließend wurden die Oberflächen der Probenblöcke an einem Polierautomaten (Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz - Buehler, Düsseldorf, Deutschland) mit Schleifpapier (Schleifpapier: Körnung 1000, 2500, 4000; Exakt) aufsteigender Körnung poliert. Durch diesen Substanzabtrag an der ehemaligen Wurzeloberfläche wurde die Zementschicht entfernt und die Oberfläche standardisiert. Die Umdrehungszahl der Poliermaschine war auf 300 U/min eingestellt. Danach wurde das äußere Drittel jeder Dentinoberfläche mit einem säurefesten Nagellack (Nagellack; Betrix, Frankfurt/Main, Deutschland) abgedeckt. Dieser Dentinbereich konnte nach visueller Überprüfung als gesunder Probenbereich definiert werden und diente somit als interne Kontrolle für die spätere Versuchsauswertung. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die 152 Dentinproben erneut in 0,9%iger Kochsalzlösung bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Anschließend wurden die Dentinproben für sechs Tage bei 37 °C in einem Wärmeschrank (Wärmeschrank BR 6000; Heraeus Kulzer) in einer Demineralisationslösung (Tab. 2) gelagert. Der pH-Wert (pH-Meter CG 819; Schott, Hofheim, Deutschland) wurde täglich kontrolliert und gegebenenfalls korrigiert. Die Einstellung erfolgte mit Milchsäure bei zu hohen und mit KOH bei zu niedrigen pH-Werten, so dass während des gesamten Versuchszeitraumes ein konstanter pH-Wert von 5,6 eingehalten wurde.

Tab. 2: Zusammensetzung der Demineralisationslösung

Konzentration	Inhaltsstoff	Menge
3 mM	Kalziumchlorid ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$)	4,41 g
3 mM	Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	4,08 g
250 mM	Milchsäure (90 %) ($\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$)	205 ml
10 M	Kalilauge (KOH)	280 ml
6 μM	Methylendiphosphonsäure (MHDP)	10,56 mg
	Aqua dest. (H_2O)	ad 10 l

Standardpufferlösungen (CertiPUR; Merck, Darmstadt, Deutschland) mit pH-Werten von 4,0 und 7,0 wurden zur Kalibrierung des pH-Meters verwendet. Zur Kontrolle wurden nach Ablauf der Versuchszeit, also nach sechs Tagen, zwei Dünnschliffe angefertigt, um die Demineralisationstiefen zu überprüfen.

Im Anschluss an die Demineralisation wurde das zweite äußere Drittel jeder Dentinoberfläche mit Nagellack (Nagellack; Betrix) versehen, um die Demineralisation während des weiteren Versuchablaufes zu schützen. Hiernach wurden die Proben wieder in Kochsalzlösung gelagert.

4.2 Herstellung der verschiedenen Lösungen

Nach der Demineralisation wurden die Dentinproben in 15 Gruppen zu je zehn Proben aufgeteilt und für zwei Wochen in verschiedenen Leinsamenlösungen (jeweils 15 ml) bei 37 °C (CRT Brutschrank Incubat; Melag, Berlin, Deutschland) gelagert. Während der Versuchsdauer wurden diese Lösungen zweimal täglich (alle 12 h) erneuert. Einmal am Tag wurde der pH-Wert kontrolliert und gegebenenfalls korrigiert (Milchsäure bzw. KOH).

Die diversen Ansätze beruhten auf einer Basislösung aus Leinsamen (Bio Leinsaat braun; Neuform international, Zarrentin, Deutschland). Hierfür wurden 50 g Leinsamen zusammen mit 1 l Aqua dest. in einem hitzefesten Glasgefäß über einem Bunsenbrenner zum Kochen gebracht. Nach 20 Minuten Kochzeit (unter gelegentlichem Umrühren) wurde die Flüssigkeit über eine Wasserstrahlpumpe (Wasserstrahlpumpe; Brand, Wertheim, Deutschland) von den Resten der

Leinsamen getrennt. Die verbliebene Menge wurde mit Aqua dest. auf 1 l aufgefüllt. Nach Abkühlung wurden die entsprechenden Mengen an KCl, NaCl, MgCl₂ und Konservierungsmitteln hinzugefügt (Tab. 3) und danach die hergestellte Basislösung homogenisiert (Ultra-Turrax T25; Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland).

Aus dieser Basislösung wurden, durch Zugabe verschiedener Mengen an CaCl₂, KH₂PO₄ und NaF, sieben Gruppen hergestellt. Hiernach wurden diese Lösungen halbiert und jeweils auf einen pH-Wert von 5,5 bzw. 6,5 eingestellt. Daraus resultierten 14 unterschiedliche Gruppen. Als Vergleichsgruppe diente das kommerziell erhältliche Speichelerersatzmittel Salinum (Biosurface Pharma AB, Askim, Schweden), welches ebenfalls auf Leinsamen basiert.

Tab. 3: Zusammensetzung der verschiedenen Lösungen auf Leinsamenbasis (Angaben in mg/l)

Gruppe	CaCl ₂	KH ₂ PO ₄	NaF	pH	Basislösung
1	Salinum				
2	--	--	--	6,5	KCl 1,218 g/l NaCl 0,856 g/l MgCl ₂ 0,0244 g/l Methyl-4-hydroxybenzoat (1 mg/l) Propyl-4-hydroxybenzoat (0,2 mg/l) Leinsamen (50 g/l)
3	--	--	--	5,5	
4	--	--	1,26	6,5	
5	--	--	1,26	5,5	
6	8,3	--	1,26	6,5	
7	8,3	--	1,26	5,5	
8	--	155,5	1,26	6,5	
9	--	155,5	1,26	5,5	
10	8,3	155,5	1,26	6,5	
11	8,3	155,5	1,26	5,5	
12	119,3	155,5	1,26	6,5	
13	119,3	155,5	1,26	5,5	
14	119,3	1044,5	1,26	6,5	
15	119,3	1044,5	1,26	5,5	

Erläuterung:

Kaliumchlorid 99,5-100,5 %, Merck, Darmstadt; Kaliumdihydrogenphosphat min 98 %, Merck, Darmstadt; Kalziumchlorid ≥ 90,0 % wasserfrei, Merck, Darmstadt; Leinsamen, Neuform international, Zarrentin; Magnesiumchlorid > 98 % wasserfrei, Merck, Hohenbrunn; Methyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %, Merck, Darmstadt; Natriumchlorid min. 99,5 %, Merck, Darmstadt; Natriumfluorid min. 99,0 % reinst, Omikron, Neckarwestheim; Propyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %, Merck, Darmstadt

4.3 Verarbeitung der Proben

Im Anschluss an die In-vitro-Exposition wurden die 6er Blöcke getrennt und jede Probe halbiert, indem sie senkrecht zur demineralisierten Oberfläche durchgeschnitten wurde (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau). Jeweils eine Hälfte wurde an ihrer Schnittfläche poliert (Körnung erst 2500, dann 4000) und danach mit Sekundenkleber (Henkel, Düsseldorf, Deutschland) auf einen Objektträger aus Plexiglas geklebt (Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland) (Abb. 2).

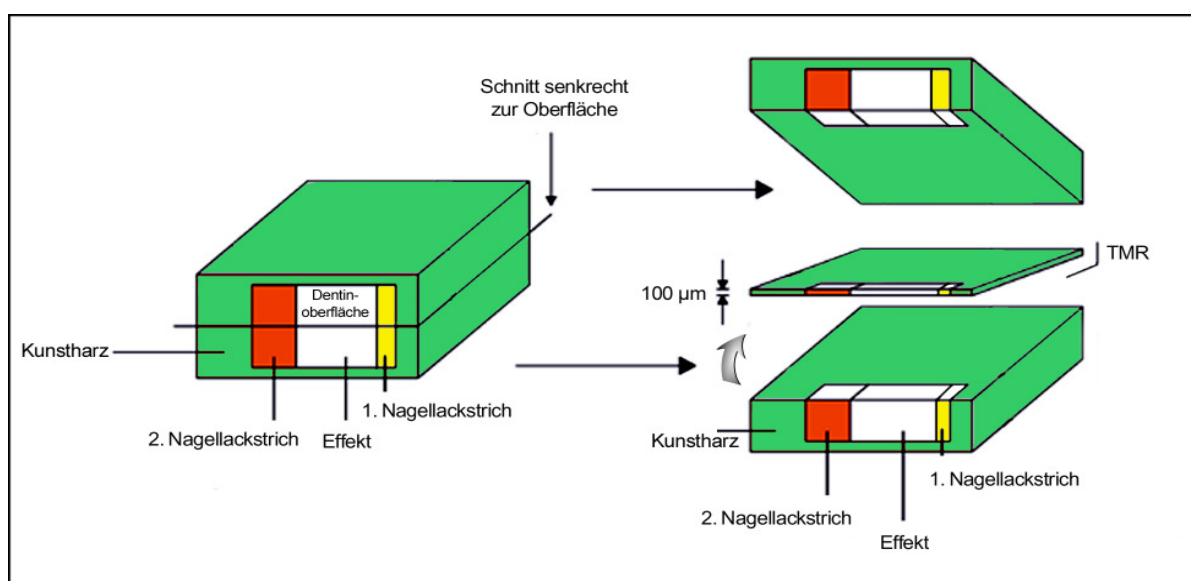


Abb. 2: Schematische Darstellung der Dünnschliffpräparation für die mikroradiografische (TMR) Auswertung. - 1. Nagellackstrich = Kontrolle, bzw. geschützte, gesunde Dentinoberfläche
 - 2. Nagellackstrich = ehemals der Demineralisationslösung ausgesetzte Dentinoberfläche
 - Effekt = zuvor demineralisierte und dann der Lösung ausgesetzte Dentinoberfläche

Die aufgeklebten Proben wurden unter ständiger Wasserkühlung mit einer 200 µm dicken, diamantierten Bandsäge (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau) auf Schnitte von ca. 500 µm Dicke reduziert. Die Vorschubkraft des Probentisches betrug dabei 50 g, die Schnittgeschwindigkeit der Säge war auf 200 m/min eingestellt. Zum Schluss wurden die Proben zur definitiven Parallelisierung und Glättung mit gewässertem Schleifpapier (Körnung 500, 1200, 2500, 4000) in

einer Mikroschleifapparatur (Exakt Mikroschleifsystem; Exakt Apparatebau) bearbeitet. Es resultierten 100 µm dicke Dentinschliffe (Abb. 2), deren Stärken mit einem digitalen Mikrometer (Digimatic Bügelmessschraube; Mitutoyo, Kawasaki, Japan) bei einer Genauigkeit von 0,001 mm, überprüft wurden.

Die fertig gestellten Dünnschliffe wurden vorsichtig vom Objektträger (Diaplust) und aus dem verbliebenen Kunstharz gelöst. Danach wurden diese auf speziellen Probenhaltern fixiert (Abb. 3) (TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland), um die Dentinproben auf diese Weise in das Kameragehäuse eines Röntgenstrahlengenerators (Abb. 4) (PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande) einbringen zu können. Während dieses Schrittes war es besonders wichtig, die Dentinprobe tatsächlich nur für den kurzen Zeitraum der mikroradiographischen Aufnahme leicht zu trocknen und ansonsten immer feucht zu halten. Zur

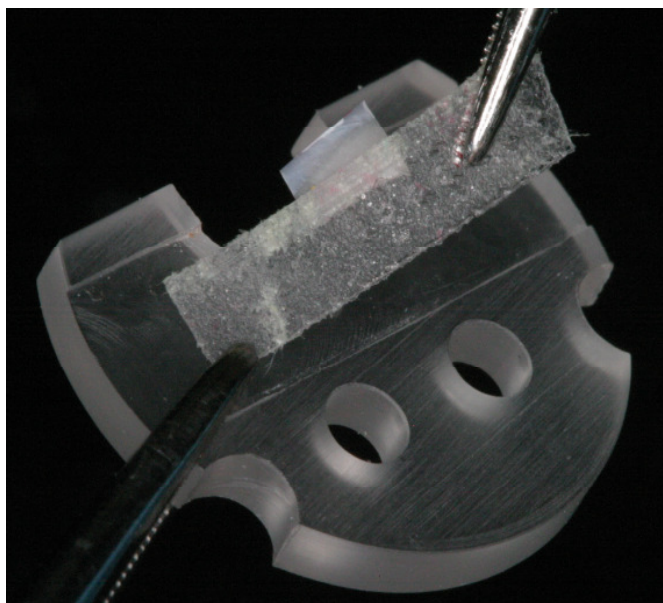


Abb. 3: TMR-Probenhalter mit Dünnschliff (Rieben). Anfertigung der Mikroradiogramme wurde ein hochauflösender, holographischer Spezialfilm (high speed holographic film; Kodak SO 253, Stuttgart, Deutschland) verwendet. Dieser wurde unter Lichtausschluss auf eine Filmrolle aufgezogen, von der man die Filmrollen bestücken konnte, die in das Kameragehäuse eingelegt wurden. Der Probenhalter mit der Dentinprobe wurde in den Probenträgerhalter des Aluminiumschlittens gesetzt und dieser bis zum Anschlag in das Kameragehäuse geschoben. Die Anordnung der Probe erfolgte somit unter Kontakt parallel zum Film. Der Aluminiumschlitten konnte bei geschlossenem Kameragehäuse mit eingelegtem Film entnommen und die Probe gewechselt werden. Der Aluminiumschlitten befand sich rechts neben einer Aluminiumeichtreppe, die auf Filmhöhe montiert war. Diese Eichtreppe diente der Kalibrierung des Computers für die Auswertung der mikroradiografischen Filme.

Die Dentinprobe wurde zusammen mit der Al-Eichtreppe durch Röntgenstrahlung auf den Film (high speed holographic film; Kodak SO 253) projiziert. Dabei wurden die Röntgenstrahlen in einer vertikal montierten

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

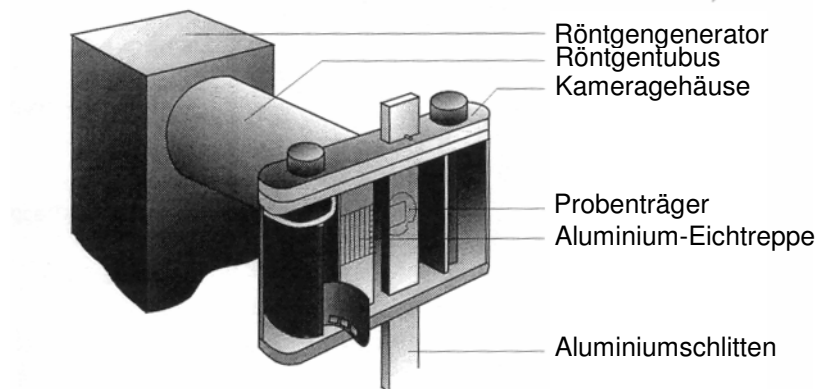


Abb. 4: Röntgentubus mit Kameragehäuse (zitiert nach SCHUSTER 2002).

Die mikroradiografische Aufnahme erfolgte anschließend bei einer Röhrenspannung von 20 kV und einem Röhrenstrom von 20 mA über einen Zeitraum von 12 Sekunden. Nach jeder Aufnahme wurde der Film, ohne belichtet zu werden, weitergedreht. Die Dentinproben wurden hiernach wieder vom Probenhalter entfernt und zurück auf den Objektträger gesetzt. Die Aufbewahrung erfolgte anschließend wiederum in Kochsalzlösung. Die vollen Filmrollen konnten noch im Kameragehäuse zurückgespult werden und wurden daraufhin entwickelt.

4.4 Transversale Mikroradiografie

Nach der Entwicklung der Filme wurden die mikroradiografischen Aufnahmen mit einem Durchlichtmikroskop (Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an dem eine Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan) angeschlossen war, untersucht. Zur Berechnung der Läsionstiefe und des Mineralverlustes wurde das Programm Transversal Micro Radiography (TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande) verwendet.

Mit Hilfe der transversalen Mikroradiografie ist es möglich, den Mineralverlust (mineral loss, in Vol.% \times μm) und die Läsionstiefen (in μm) der verschiedenen Proben zerstörungsfrei zu messen. Die Dentinproben bestanden jeweils aus drei

unterschiedlichen Bereichen: 1. der Kontrollbereich, als gesunder Bereich, der von Beginn an mit Nagellack abgedeckt war; 2. der demineralisierte Bereich, der erst vor dem zweiten Lagern mit Nagellack geschützt wurde und 3. der Bereich, der zusätzlich noch der Leinsamenlösung ausgesetzt war und als Effektbereich bezeichnet werden kann. Anhand des Kontrollbereiches konnte der Mineralgehalt von gesundem Dentin berechnet werden und diente somit als Grundlage zur Ermittlung des Mineralverlustes und der Läsionstiefe für den demineralisierten und den Effektbereich. Durch einheitliche Auswertungen der Demineralisationen und der Effekte, beginnend bei 10 Vol.% Mineralverlust wurde ein standardisiertes Vorgehen gewährleistet.

4.5 Messung des F⁻, Ca²⁺- und PO₄³⁻-Gehaltes der Basisleinsamenlösung

Mit einem automatischen Titrator (Orion Auto Chemistry System 960; Fischer Scientific, Ulm, Deutschland) sowie der jeweiligen ionenspezifischen Elektrode (Fisher Scientific) wurde von der Basisleinsamenlösung, die als Grundlage der verschiedenen erzeugten potentiellen Speichellersatzmittel diente, der bereits vorhandene Gehalt an Fluorid, Phosphat und Kalzium bestimmt.

Zur Fluoridbestimmung wurden 10 ml der Basisleinsamenlösung mit 90 ml Aqua dest. verdünnt und diese Verdünnung anschließend 10:1 mit Tisab (Fisher Scientific) versetzt. Zur Messung wurde ein Fluoridstandard (0,01) Molar verwendet.

Zur Bestimmung des Kalziumgehaltes wurden ebenfalls 10 ml der Basisleinsamenlösung mit 90 ml Aqua dest. verdünnt. 50 ml dieser verdünnten Basisleinsamenlösung wurden mit 0,5 ml KCl versetzt.

Zur Phosphatbestimmung wurden erneut 10 ml der Basisleinsamenlösung mit 90 ml Aqua dest. verdünnt. Zu 10 ml der verdünnten Basisleinsamenlösung wurden danach 20 ml Isopropanol, 2 ml Lanthannitrat (Lanthannitrat - Hexahydrat; Merck) und 40 ml Aqua dest. gegeben. Als Eichlösung diente 0,1 molarer Fluoridstandard.

4.6 Viskositätsmessung

Bei einer Flüssigkeitstemperatur von 37 °C wurde mit Hilfe eines Kapillarviskosimeters (Schott, Mainz, Deutschland) die Viskosität bestimmt (n = 5). Anhand der Poiseuille-Gleichung:

$$V = \frac{\pi \cdot r^4}{8\eta l} (p_1 - p_2) \cdot t$$

ergibt sich die Viskosität, indem man die Durchlaufzeit einer Lösung durch eine Kapillare mit Radius R und Länge l misst. Treibende Kraft ist dabei die Flüssigkeit selbst. Bevor die Messungen durchgeführt werden konnten, mussten die zu messenden Lösungen noch zentrifugiert werden (Ultrazentrifuge L 70; Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland); dies erfolgte bei 3000 rpm für zehn Minuten.

4.7 Statistische Auswertung

Signifikante Unterschiede der Mineralverlust- sowie der Läsionstiefenänderung nach Lagerung der Proben in den Leinsamenlösungen wurden mit der Varianzanalyse (ANOVA) bestimmt. Einzelvergleiche zwischen den verschiedenen Gruppen erfolgten mittels post-hoc-Vergleich nach *Bonferroni*. Die Unterschiede im Mineralverlust und in der Läsionstiefe vor und nach der Effektphase wurden mit dem t-Test kalkuliert. Hierbei wurde auf eine *Bonferroni*-Korrektur verzichtet.

Mit dem *allgemeinen linearen Modell* wurde der generelle Einfluss von Kalzium und Phosphat sowie des pH-Wertes und Fluorid bestimmt. Mit dem *Bonferroni*-Test wurden die verschiedenen Zugaben an Kalzium und Phosphat auf signifikante Unterschiede überprüft. Alle Tests wurden auf einem Signifikanzniveau von 5 % durchgeführt.

5. Ergebnisse

5.1 Exemplarische Darstellung der Effekte am Beispiel repräsentativer Proben

Mit Hilfe der TMR-Software wurden alle Proben der 15 Versuchsgruppen dargestellt und ausgewertet. Hierbei wurden jeweils die Mineralverluste (grau schraffierte Fläche) und die Läsionstiefen (1. senkrechter gelber Strich) der demineralisierten Probenanteile und der Effektbereiche berechnet. Eine Auswertung der gesunden Kontrollbereiche wurde qualitativ durchgeführt; es wurden nur solche Proben verwendet, die keine Veränderung der Oberfläche aufwiesen.

Abbildung 5 zeigt zwei repräsentative Messkurven der Mikroradiogramme einer Dentinprobe aus Gruppe 1 (Salinum). Die erste Darstellung zeigt den Bereich nach sechstägiger Demineralisation (Abb. 5A); die zweite verdeutlicht den Effekt nach zweiwöchiger Lagerung in Lösung 1 (Salinum) (Abb. 5B). Die Lagerung in Salinum führte sowohl zu einer Vergrößerung des Mineralverlustes (von 1371 Vol.% x μm auf 2219 Vol.% x μm) als auch zu einer Zunahme der Läsionstiefe (von 84 μm auf 133 μm).

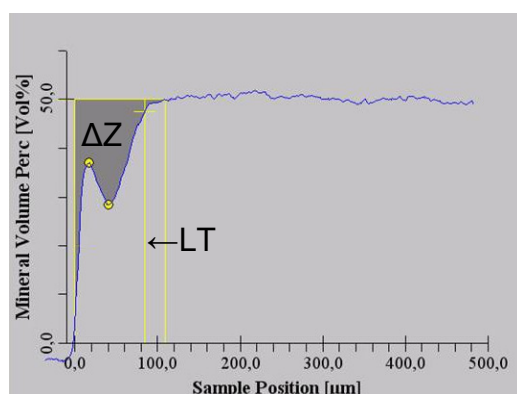
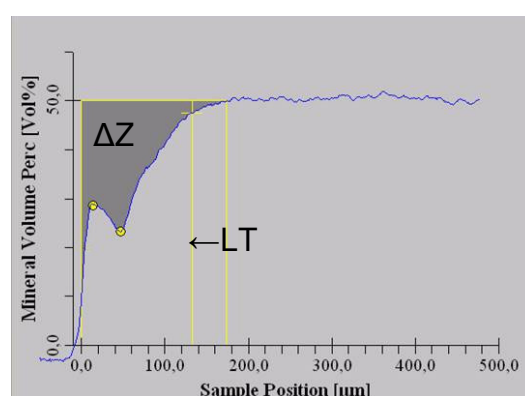
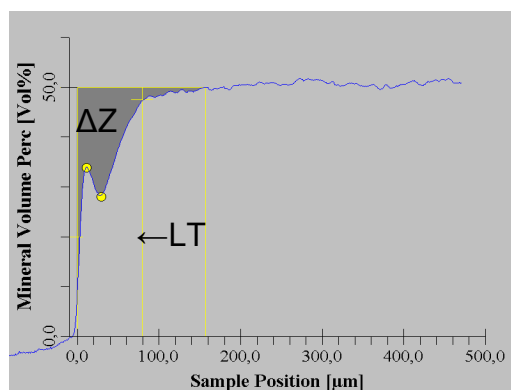
5A**5B**

Abb. 5: Darstellung des Mineralverlustes (ΔZ) sowie der Läsionstiefe (LT) einer Dentinprobe nach Demineralisation (A) und anschließender Lagerung (B) in Salinum. Eine ausgeprägte Demineralisation nach der Lagerung ist deutlich erkennbar.

Nach Demineralisation (Abb. 6A) und Lagerung in Lösung 2 für zwei Wochen (Abb. 6B) konnte ebenfalls eine Zunahme des Mineralverlustes und der Läsionstiefe beobachtet werden. Im Anschluss an die Demineralisation wurde ein Mineralverlust von 1244 Vol.% x μm und eine Läsionstiefe von 79 μm gemessen. Nach der Lagerung in Lösung 2 betrug der Mineralverlust 1789 Vol.% x μm und die Läsionstiefe 106 μm .

6A



6B

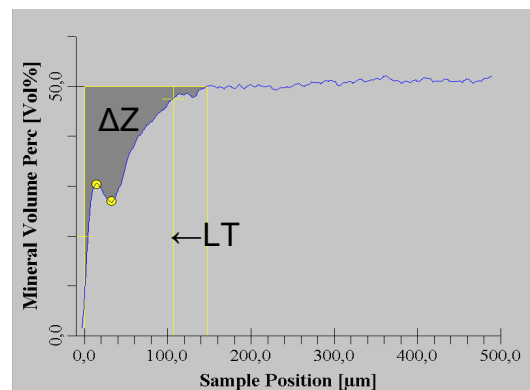
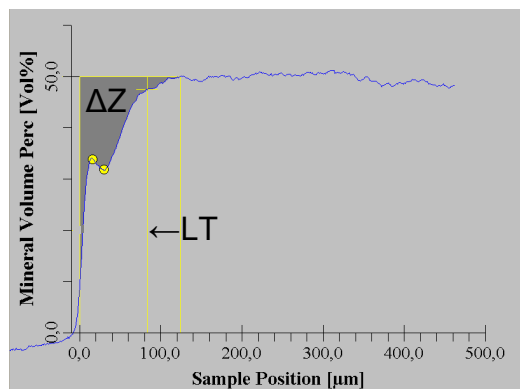


Abb. 6: Darstellung des Mineralverlustes (ΔZ) sowie der Läsionstiefe (LT) einer Dentinprobe nach Demineralisation (A) und anschließender Lagerung (B) in Lösung 2. Nach der Lagerung sind eine Vergrößerung des Mineralverlustes und eine Erhöhung der Läsionstiefe deutlich erkennbar.

Die Darstellung der Messkurven der Mikroradiogramme vor und nach Lagerung in Lösung 14 verdeutlicht eine Zunahme der Läsionstiefe bei annähernd gleich bleibendem Mineralverlust. Nach der Demineralisation wurde ein Mineralverlust von 1136 Vol.% x μm und eine Läsionstiefe von 83 μm (Abb. 7A) gemessen. Nach der Lagerung in Lösung 14 wurde ein Mineralverlust von 1007 Vol.% x μm und eine Läsionstiefe von 132 μm (Abb. 7B) bestimmt. Diese Zunahme der Läsionstiefe bei gleich bleibendem Mineralverlust könnte durch eine weitere Demineralisation im Läsionskörper bei gleichzeitiger Präzipitation der herausgelösten Mineralien an der Läsionsoberfläche bedingt sein.

7A



7B

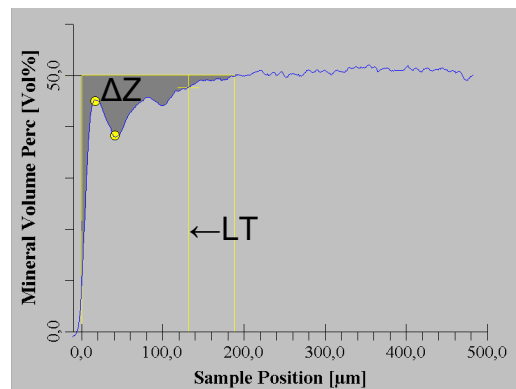


Abb. 7: Darstellung des Mineralverlustes (ΔZ) sowie der Läsionstiefe (LT) einer Dentinprobe nach Demineralisation (A) und anschließender Lagerung (B) in Lösung 14. Eine Zunahme der Läsionstiefe bei annähernd gleich bleibendem Mineralverlust ist erkennbar.

5.2 Quantitative Auswertung

5.2.1 Auswertung des Mineralverlustes

In Tabelle 4 sind alle 15 Gruppen mit ihren mittleren Mineralverlusten und den dazugehörigen Standardabweichungen angegeben. Die Werte jeder Gruppe setzen sich dabei immer aus zehn Einzelmessungen zusammen. Der erste Wert der Mineralverluste bezieht sich auf den demineralisierten Dentinbereich (die Ausgangswerte unterscheiden sich nicht signifikant untereinander) und der zweite auf den Effektbereich (nach Lagerung in den verschiedenen Lösungen). Die Differenz dieser beiden Werte ergibt den effektiven Mineralverlust.

Die effektiven Mineralverluste der Gruppen 1-3 unterschieden sich nach Lagerung der Dentinproben in ihren jeweiligen Lösungen im Vergleich zu den Gruppen 7-15 signifikant ($p < 0,05$; ANOVA, *Bonferroni*) (Abb. 8). Lösung 14 verursachte keine signifikante Erhöhung des Mineralverlustes, die anderen Lösungen induzierten hingegen eine signifikante Erhöhung des Mineralverlustes ($p < 0,05$; t-Test).

Die von Versuchsbeginn an mit Nagellack bedeckten Kontrollbereiche sind in der Auswertung und somit in Tabelle 4 nicht aufgeführt. Sie wurden nach der Versuchsdurchführung visuell beurteilt. Dies ergab keinen Unterschied zwischen der Probenoberfläche und den tieferen Bereichen der Probe, was zu dem Schluss führt, dass es zu keinerlei Demineralisation gekommen ist und daher von einer anfänglich gesunden Dentinoberfläche im Kontrollbereich ausgegangen werden kann.

Tab. 4: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Mineralverluste (Vol.% x µm) der verschiedenen Gruppen (Gr.) nach Demineralisation (D) und Lagerung in den unterschiedlichen Lösungen (E)

Gr.	CaCl mg/l	KH ₂ PO ₄ mg/l	NaF mg/l	pH	Mineralverlust D		Mineralverlust E		Signi- fikanz
					MW	± SD	MW	± SD	
1	Salinum				1393	301	2923	793	***
2	--	--	--	6,5	1242	356	2731	918	***
3	--	--	--	5,5	1098	276	2509	432	***
4	--	--	1,26	6,5	1322	328	2256	405	***
5	--	--	1,26	5,5	1143	145	2307	491	***
6	8,3	--	1,26	6,5	1208	443	2041	558	***
7	8,3	--	1,26	5,5	1262	264	1992	477	***
8	--	155,5	1,26	6,5	1315	277	1805	436	**
9	--	155,5	1,26	5,5	1218	264	1819	210	***
10	8,3	155,5	1,26	6,5	1354	378	1770	314	**
11	8,3	155,5	1,26	5,5	1342	328	2088	305	***
12	119,3	155,5	1,26	6,5	1257	191	1731	313	**
13	119,3	155,5	1,26	5,5	1460	482	2117	641	***
14	119,3	1044,5	1,26	6,5	1263	259	1479	411	n.s.
15	119,3	1044,5	1,26	5,5	1256	345	1585	419	**

Erläuterung:

Signifikante Unterschiede zwischen Demineralisation und Effekt sind mit Sternchen (** = p < 0,01, *** = p < 0,001) gekennzeichnet (t-Test). Weiße Zeilen entsprechen Lösungen mit einem pH-Wert von 5,5 und gelbe Zeilen Lösungen mit einem pH-Wert von 6,5.

Abbildung 8 zeigt die veränderten Mineralverluste ($\Delta\Delta Z$; in Vol.% x μm) der Dentinproben nach Lagerung in den verschiedenen Lösungen (jeweils $n = 10$). Nach der Lagerung in den Lösungen 1-3 war der Mineralverlust im Vergleich zu den Lösungen 7-15 signifikant erhöht ($p < 0,05$; *Bonferroni*). Außerdem war der Mineralverlust der Gruppe 14 im Vergleich zu den Gruppen 1-5 signifikant niedriger.

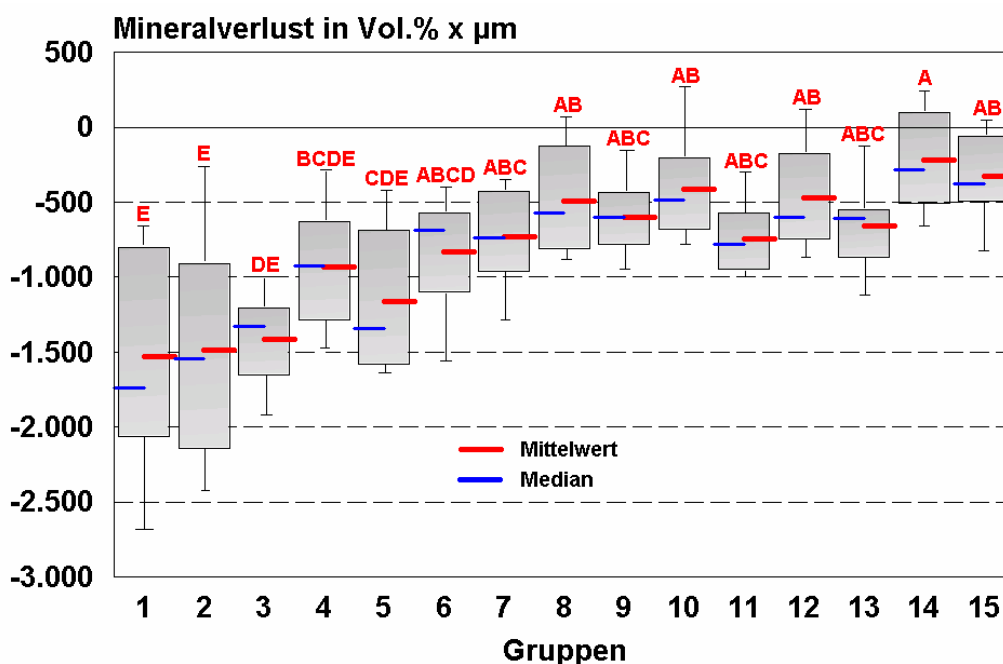


Abb. 8: Änderung des Mineralverlustes ($\Delta\Delta Z$; Vol.% x μm) nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben (jeweils $n = 10$) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whisker-plots mit den jeweiligen Quartilen, Medianen und Mittelwerten). Gruppen, die durch mindestens einen gleichen Buchstaben gekennzeichnet sind, unterscheiden sich nicht signifikant (*Bonferroni*).

In Abbildung 9 sind die absoluten Mineralverluste (in Vol.% x μm) der demineralisierten Dentinproben nach Lagerung in den verschiedenen Lösungen dargestellt. Diese Lösungen enthielten (nach jeweiliger Zusammenfassung von Gruppen mit gleichen Konzentrationen) sowohl drei unterschiedliche Kalzium- (0 mg/l, 8,3 mg/l und 119,3 mg/l Zugabe zur Basislösung) als auch drei unterschiedliche Phosphatkonzentrationen (0 mg/l, 155,5 mg/l und 1044,5 mg/l Zugabe zur Basislösung) und zwei unterschiedliche Fluoridkonzentrationen (0 mg/l und 1,26 mg/l Zugabe zur Basislösung).

Die höchste Kalziumzugabe führte im Vergleich zu den Gruppen mit den geringeren Kalziumzugaben zu einer signifikant geringeren Mineralverluständerung.

Bei den Phosphatzugaben unterschieden sich alle drei Gruppen signifikant voneinander (*Bonferroni*). Eine Fluoridzugabe zur potentiellen Remineralisationslösung führte ebenfalls zu einer signifikant geringeren Mineralverluständerung (t-Test).

Nach dem allgemeinen linearen Modell zeigt die Mineralverluständerung keine signifikante Abhängigkeit von der Kalzium-Zugabe ($p = 0,379$), wohl aber von der Phosphat- ($p = 0,000$) und der Fluorid-Zugabe ($p = 0,001$).

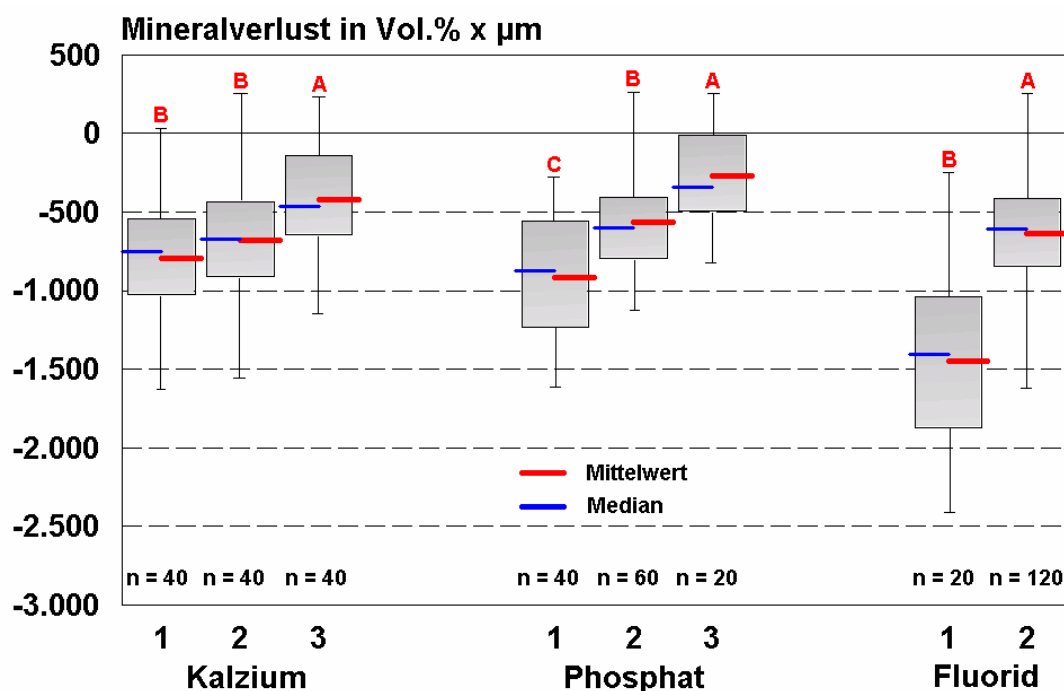


Abb. 9: Mineralverlust (Vol.% x μm) nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben (jeweils $n = 10$) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whisker-plots mit den jeweiligen Quartilen, Medianen und Mittelwerten). Aufteilung der Gruppen nach den jeweils zwei oder drei unterschiedlichen Mengen der Ionenzugaben. Gruppen, die durch mindestens einen gleichen Buchstaben gekennzeichnet sind, unterscheiden sich nicht signifikant (*Bonferroni*, t-Test).

Die veränderten Mineralverluste ($\Delta\Delta Z$; in Vol.% x μm) der demineralisierten und gelagerten Dentinproben (unterteilt in die beiden unterschiedlichen pH-Werte) sind in Abbildung 10 dargestellt. Der pH-Wert hatte keinen signifikanten Einfluss auf den Mineralverlust (t-Test). Des Weiteren zeigte auch das allgemein lineare Modell keine signifikante Abhängigkeit des Mineralverlustes vom pH-Wert ($p = 0,368$).

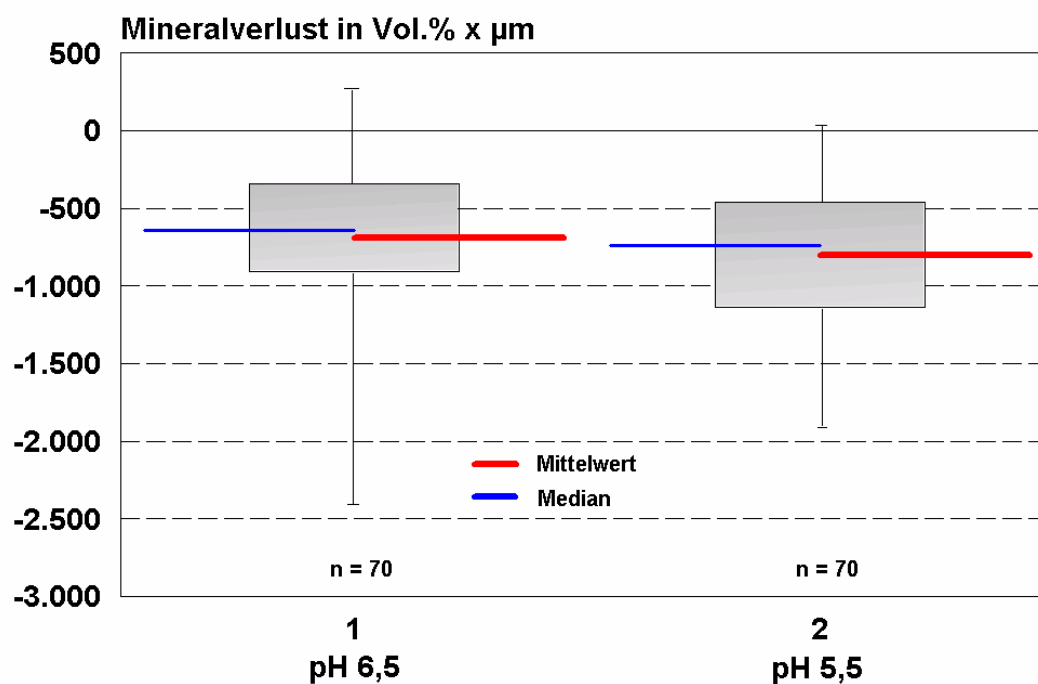


Abb. 10: Mineralverlust (Vol.% x μm) nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben (jeweils n = 10) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whisker-plots mit den jeweiligen Quartilen, Medianen und Mittelwerten). Aufteilung der Gruppen nach den beiden unterschiedlichen pH-Werten. Die beiden Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (t-Test).

5.2.2 Auswertung der Läsionstiefe

Die mittleren Läsionstiefen und entsprechenden Standardabweichungen der demineralisierten (keine signifikanten Unterschiede) und danach den verschiedenen Lösungen ausgesetzten Dentinproben sind in Tabelle 5 dargestellt. Nach Lagerung der Proben in den potentiellen Speichelersatzmitteln unterschieden sich die Gruppen 1-3, 5-7 und 12-14 signifikant von den Werten nach der Demineralisation, wobei es sich bei Gruppe 12 um eine signifikante Remineralisation handelte (t-Test).

Tab. 5: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Läsionstiefen (μm) der verschiedenen Gruppen (Gr.) nach Demineralisation (D) und Lagerung in den unterschiedlichen Lösungen (E)

Gr.	CaCl ₂ mg/l	KH ₂ PO ₄ mg/l	NaF mg/l	pH	Läsionstiefe D		Läsionstiefe E		Signi- fikanz
					MW	± SD	MW	± SD	
1	Salinum				86	22	149	30	***
2	--	--	--	6,5	77	13	134	34	***
3	--	--	--	5,5	76	18	136	13	***
4	--	--	1,26	6,5	93	22	111	43	n.s.
5	--	--	1,26	5,5	73	6	94	12	***
6	8,3	--	1,26	6,5	83	22	119	53	*
7	8,3	--	1,26	5,5	82	19	109	42	*
8	--	155,5	1,26	6,5	88	14	102	40	n.s.
9	--	155,5	1,26	5,5	80	18	85	20	n.s.
10	8,3	155,5	1,26	6,5	87	19	88	34	n.s.
11	8,3	155,5	1,26	5,5	84	13	97	33	n.s.
12	119,3	155,5	1,26	6,5	77	7	71	9	*
13	119,3	155,5	1,26	5,5	84	18	129	41	**
14	119,3	1044,5	1,26	6,5	89	17	126	37	*
15	119,3	1044,5	1,26	5,5	87	20	101	44	n.s.

Erläuterung:

Signifikante Unterschiede zwischen den Läsionstiefen nach Demineralisation und Lagerung der Proben in den Lösungen sind mit Sternchen (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$) gekennzeichnet (t-Test). Weiße Zeilen entsprechen Lösungen mit einem pH-Wert von 5,5 und gelbe Zeilen einem pH-Wert von 6,5.

Die Ergebnisse der Läsionstiefen (μm) nach der Lagerung der Dentinproben in den jeweiligen Lösungen sind in Abbildung 11 dargestellt (jeweils $n = 10$). Signifikant erhöht war die Läsionstiefe nach Lagerung der Proben in den Gruppen 1-3 im Vergleich zu 10 und 12, aber auch nach Lagerung in den Gruppen 1 und 3 im Vergleich zu 9, 10 und 12 ($p < 0,05$; *Bonferroni*).

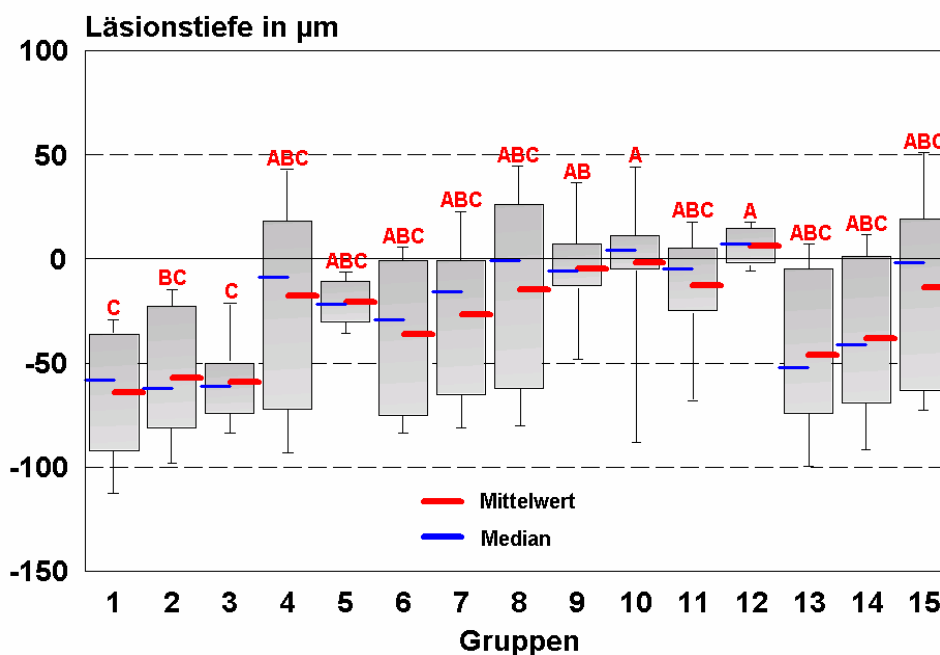


Abb. 11: Läsionstiefen (μm) nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben (jeweils $n = 10$) in den verschiedenen Remineralisationslösungen (100 % box-and-whiskers-plots mit den jeweiligen Quartilen, Medianen und Mittelwerten). Gruppen, die mindestens einen gleichen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich nicht signifikant (*Bonferroni*).

Die absoluten Läsionstiefen (μm) der demineralisierten Dentinproben nach Lagerung in den verschiedenen Lösungen sind in Abbildung 12 dargestellt. Aufgeschlüsselt sind diese Lösungen nach drei unterschiedlichen Kalzium- (0 mg/l, 8,3 mg/l und 119,3 mg/l Zugabe zur Basislösung), drei unterschiedlichen Phosphatkonzentrationen (0 mg/l, 155,5 mg/l und 1044,5 mg/l Zugabe zur Basislösung) und zwei unterschiedlichen Fluoridkonzentrationen (0 mg/l und 1,26 mg/l Zugabe zur Basislösung).

Sowohl bei den Kalzium- als auch bei den Phosphatkonzentrationen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (*Bonferroni*). Durch Zugabe von Fluorid wurden die Läsionstiefen signifikant geringer vergrößert (t-Test).

Auf gleiche Weise beschreibt das allgemeine lineare Modell eine signifikante Abhängigkeit der Läsionstiefe vom Vorhandensein von Fluorid ($p = 0,000$), aber keine Abhängigkeit von Kalzium ($p = 0,369$) oder Phosphat ($p = 0,066$).

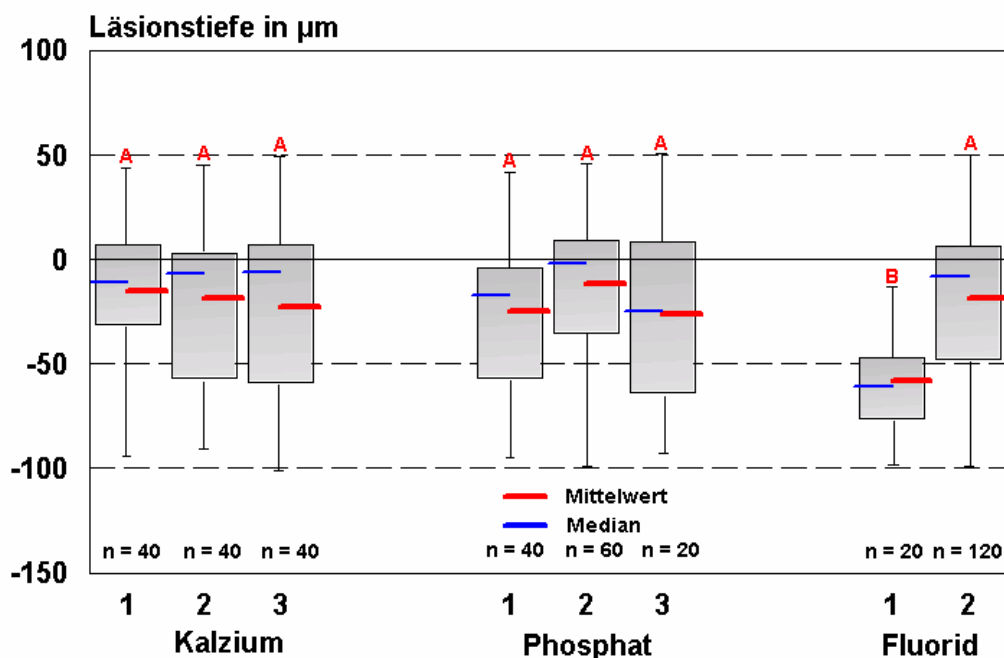


Abb. 12: Läsionstiefen (μm) nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben (jeweils $n = 10$) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whisker-plots mit den jeweiligen Quartilen, Medianen und Mittelwerten). Aufteilung der Gruppen nach den jeweils zwei oder drei unterschiedlichen Mengen der Ionenzugaben. Gruppen, die durch mindestens einen gleichen Buchstaben gekennzeichnet sind, unterscheiden sich nicht signifikant (*Bonferroni*, t-Test).

In der folgenden Abbildung 13 sind die Läsionstiefen (μm) der demineralisierten Dentinproben nach der Lagerung in den verschiedenen Lösungen gezeigt, unterteilt nach den beiden unterschiedlichen pH-Werten (kein signifikanter Unterschied). Das allgemein lineare Modell zeigte ebenfalls keine Abhängigkeit der Läsionstiefen vom pH-Wert ($p = 0,914$).

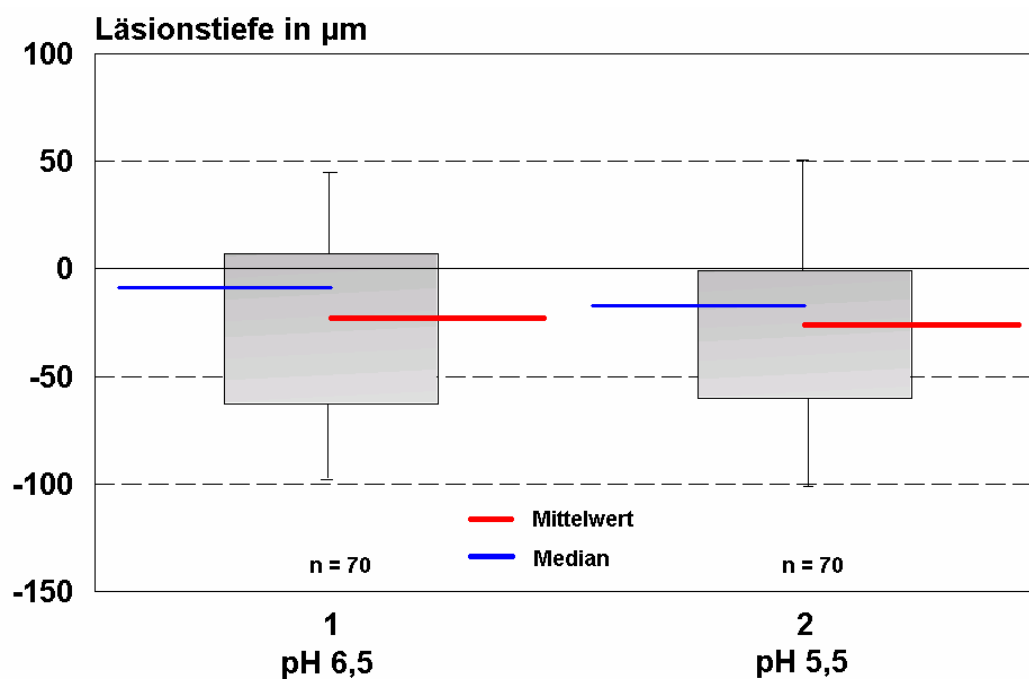


Abb. 13: Läsionstiefen (μm) nach Lagerung der demineralisierten Dentinproben (jeweils $n = 10$) in den verschiedenen Lösungen (100 % box-and-whisker-plots mit den jeweiligen Quartilen, Medianen und Mittelwerten). Aufteilung der Gruppen nach den beiden unterschiedlichen pH-Werten, die sich nicht signifikant unterscheiden ($p > 0,05$; t-Test).

5.3 F⁻, Ca²⁺- und PO₄³⁻-Gehalt der Basisleinsamenlösung

Durch die Messungen mit dem automatisierten Titrator (Orion Auto Chemistry System 960; Fischer Scientific) konnten die Mengen an Fluorid, Kalzium und Phosphat in der Basisleinsamenlösung bestimmt werden. Ein Liter der Leinsamenlösung enthielt 1,43 mg F⁻ (= 0,075 mM), was umgerechnet 3,16 mg/l NaF entspricht. Bei der Kalziumbestimmung resultierte ein Wert von 37 mg/l (= 0,93 mM) in der Basislösung (dies entspricht 103 mg/l CaCl₂). Des Weiteren enthielt ein Liter der Basislösung 510 mg/l PO₄³⁻(= 5,4 mM) und damit umgerechnet 731 mg/l KH₂PO₄.

Tab. 6: Zusammensetzung der verschiedenen Lösungen auf Leinsamenbasis mit den gesamten verfügbaren Ionen (Bestandteile der Basislösung und zugegebene Elektrolyte)

Gruppe	DS			CaCl ₂		KH ₂ PO ₄		NaF		pH	Basislösung
	OCP	HAP	CaF ₂	mg/l	mM	mg/l	mM	mg/l	mM		
1	2,9	11,9	0,5	314	2,85	1075	7,9	3,4	0,08	6,3	Salinum
2	1,8	7,5	0,3	103	0,93	731	5,4	3,16	0,075	6,5	KCl 1,218 g/l NaCl 0,856 g/l MgCl ₂ 0,0244 g/l Methyl4hydroxybenzoat (1mg/l) Propyl4hydroxybenzoat (0,2 mg/l) Leinsamen (50 g/l)
3	0,5	1,5	0,3	103	0,93	731	5,4	3,16	0,075	5,5	
4	1,8	7,5	0,4	103	0,93	731	5,4	4,2	0,1	6,5	
5	0,5	1,5	0,4	103	0,93	731	5,4	4,2	0,1	5,5	
6	1,8	7,8	0,4	111	1	731	5,4	4,2	0,1	6,5	
7	0,5	1,5	0,4	111	1	731	5,4	4,2	0,1	5,5	
8	1,9	7,9	0,4	103	0,93	887	6,6	4,2	0,1	6,5	
9	0,5	1,6	0,4	103	0,93	888	6,6	4,2	0,1	5,5	
10	1,9	7,9	0,4	111	1	888	6,6	4,2	0,1	6,5	
11	0,5	1,6	0,4	111	1	888	6,6	4,2	0,1	5,5	
12	2,7	11,9	0,5	222	2	888	6,6	4,2	0,1	6,5	
13	0,8	2,4	0,5	222	2	887	6,6	4,2	0,1	5,5	
14	3,2	13,6	0,4	222	2	1776	13,2	4,2	0,1	6,5	
15	1,0	2,9	0,5	222	2	1776	13,2	4,2	0,1	5,5	

Erläuterung:

Sättigungsgrad (DS), Oktakalziumphosphat (OCP), Hydroxylapatit (HAP), Kalziumfluorid (CaF₂)

Auf der Grundlage dieser Messungen konnten anschließend für die verschiedenen Gruppen die in der Tabelle 6 angegebenen Werte an maximal verfügbaren Ionen errechnet werden.

Den Sättigungsgrad einer wässrigen Lösung in Bezug auf die Apatite kann man mit einer Softwarekalkulation (ION-PRODUCT) errechnen, wenn der pH-Wert und die Ionenkonzentrationen bekannt sind (SHELLIS 1988). Für die Kalkulation wurden die Ionen der Basisleinsamenlösung und die zusätzlich zugeführten Ionen addiert.

5.4 Viskositätsbestimmung

Mit dem Ubbelohde-Viskosimeter (Kappillarviskosimeter; Schott) wurde sowohl für Salinum (Biosurface Pharma AB) als auch für die Basislösung bei 37 °C die Viskosität bestimmt. Für Salinum (Biosurface Pharma AB) wurde ein Wert von 27 mm²/s und für die Leinsamenlösung mit Konservierungsmitteln ein Wert von 5,9 mm²/s ermittelt.

5.5 Konstanz des pH-Wertes der Remineralisationslösung

Während der 14-tägigen Remineralisationsphase wurde zweimal täglich der pH-Wert kontrolliert und einmal täglich entsprechend der gewünschten Vorgabe (5,5 oder 6,5) korrigiert. Mit Hilfe von Milchsäure und KOH wurde der pH-Wert entweder saurer oder alkalischer eingestellt. In Tabelle 7 sind die dafür benötigten Mengenangaben dargestellt.

Aus den beiden vorderen Spalten kann man entnehmen, welche Gruppen bezüglich des pH-Wertes am wenigsten konstant waren. Die Gruppen 3, 5, 7, 9, 11 und 13, mit einem pH-Wert von 5,5, benötigten relativ häufige Titrationszugaben. In der dritten Spalte sind die Differenzen aus KOH-Milchsäure, mit positivem oder negativem Vorzeichen, aufgeführt. Ein positives Vorzeichen deutet auf mehr alkalische Titration, also auf einen zu niedrigen pH-Wert hin. Negative Vorzeichen bedeuten, dass ein pH-Wert von über 5,5 bzw. 6,5 gemessen wurde. Das zeigt, dass ein pH-Wert von 6,5 im Laufe der Zeit eher abfällt und ein pH-Wert von 5,5 eher ansteigt.

Tab. 7: Titrationszugaben in mg zur Einstellung des jeweiligen pH-Wertes der einzelnen Gruppen

Gruppe	KOH	Milchsäure	KOH-Milchsäure
1	-	-	-
2	144 mg	96 mg	48 mg
3	144 mg	360 mg	-216 mg
4	192 mg	216 mg	-24 mg
5	456 mg	600 mg	-144 mg
6	96 mg	120 mg	-24 mg
7	288 mg	528 mg	-240 mg
8	240 mg	144 mg	96 mg
9	360 mg	432 mg	-72 mg
10	192 mg	120 mg	72 mg
11	312 mg	456 mg	-144 mg
12	144 mg	120 mg	24 mg
13	192 mg	432 mg	-240 mg
14	216 mg	144 mg	72 mg
15	48 mg	216 mg	-168 mg

6. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden 150 demineralisierte bovine Dentinproben verwendet, die über einen Zeitraum von 14 Tagen in 14 verschiedenen potentiellen Speichelersatzmitteln gelagert wurden. Jeder Ansatz basierte auf derselben, aus Leinsamen hergestellten Basislösung, der dann unterschiedliche Mengen an Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen zugegeben wurde. Die Lösungen wurden alle zwölf Stunden gewechselt. Zum Vergleich wurde Salinum, ebenfalls ein Produkt auf Leinsamenbasis, verwendet. Der Versuchsaufbau simulierte einen sehr intensiven Kontakt der Probenkörper mit dem Speichelersatzmittel, der unter In-vivo-Bedingungen nicht in diesem Maße zu erwarten ist. Künstlicher Speichel wird jedoch nach Bedarf zugeführt und erreicht aus diesem Grund keine Tageshöchst Dosen. Daher dürften Beobachtungen, ähnlich denen dieses Versuchs, *in vivo* nach längerer Verwendung durchaus zu erwarten sein.

Menschliches Dentin wäre als Probenkörper das Mittel der Wahl, da es exakt das zu untersuchende Material darstellt. Zur Versuchsdurchführung kann es aber nur schwer herangezogen werden. Nachteile sind das inconstante Alter und die unterschiedlichen Quellen der menschlichen Dentinproben, was zu großen Variabilitäten bei den Versuchsergebnissen führen würde (MELLBERG 1992). Zur Probenherstellung wurden schlachtfrischen Rindern Zähne extrahiert. Die hieraus präparierten bovinen Dentinproben eignen sich unter anderem auf Grund ihrer Verfügbarkeit und Größe besonders gut für einen Ersatz von menschlichem Dentin. Da Rinderzähne nicht durch äußere Einflüsse vorgeschädigt sind (z. B. Ernährungsverhalten), kann man von einer uniformen Reaktionsfähigkeit ausgehen. In ihrer chemischen Zusammensetzung, der Struktur und Anzahl der Dentinkanälchen sowie der nahezu identischen physikalischen Eigenschaften entsprechen bovine Zahnhartsubstanzen weitgehend denen des Menschen (ESSER et al. 1998). Daraus ergibt sich ein adäquater Ersatz von Humandentin durch Rinderdentinproben bei Untersuchungen zu De- und Remineralisationsvorgängen.

In der vorliegenden Studie wurde jeweils ein reines De- bzw. Remineralisationsmodell verwendet. Im Gegensatz dazu gibt es „pH-cycling“-Modelle, die beide Komponenten enthalten und somit die klinischen Bedingungen realistischer widerspiegeln (HERKSTRÖTER et al. 1991). Mit dem vorliegenden Modell wird allerdings eine potentielle Remineralisation effizienter und nach kürzerer

Versuchsdauer erreicht. Bei längerer Versuchsdurchführung wären wahrscheinlich dennoch die beobachteten Unterschiede zwischen der Demineralisation und dem Effektbereich deutlicher gewesen, da mehr Zeit für eine mögliche Remineralisation zur Verfügung gestanden hätte.

Dentinproben können im Gegensatz zu Schmelzproben bei Austrocknung schrumpfen (ARENDS et al. 1997). Diese Schrumpfung tritt vor allem bei demineralisierten Dentinproben auf. Daraus ergeben sich Probleme bei der Auswertung von Mineralverlust und Läsionstiefe nach mikroradiographischen Aufnahmen, denn nach unterschiedlicher Trocknung kommt es zu variablen Schrumpfungen, die dann die Ergebnisse nicht mehr miteinander vergleichbar machen. Werden die Dünnschliffe von Dentinproben jedoch mit Ethandiol behandelt kann eine Schrumpfung des demineralisierten Probenbereiches bis zu einer Stunde vermieden werden. Ein Unterlassen dieser Ethandiol-Behandlung würde nach zweistündiger Lufttrocknung zu Schrumpfungseffekten von 20-30 % führen. Werden die Dentinproben nicht einer solchen Behandlung unterzogen, ist es von äußerster Wichtigkeit, dass die Proben während der ganzen Versuchsdurchführung feucht gehalten werden. Die einzige Ausnahme stellt die kurze Zeit der mikroradiographischen Aufnahme dar, die nicht länger als 20 Sekunden dauert. Unter Beachtung dieser Versuchsbedingungen beträgt die Schrumpfung nur 1-2 % und ist somit vernachlässigbar gering. In folgenden Studien sollte man die Dünnschliffe der Dentinproben dennoch sicherheitshalber mit Ethandiol behandeln, um mit Bestimmtheit, auch bei unbeabsichtigten Verzögerungen der Versuchsschritte, Schrumpfungen im Probenbereich ausschließen zu können (INABA et al. 1995; RUBEN und ARENDS 1993).

Die verwendeten Dentinproben wiesen nach der Versuchsdurchführung jeweils nebeneinander einen gesunden Bereich (1. Nagellackstrich), einen Effektbereich und einen demineralisierten Bereich (2. Nagellackstrich) auf. Daher lag ein demineralisierter Bereich nie in direkter Nachbarschaft zu einem gesunden Bereich. Zur Standardisierung wurden bei der Auswertung der Demineralisationen die Messungen deshalb standardisiert bei einer Läsionstiefe mit einem Mineralverlust von 10 Vol.% begonnen. Auf diese Weise wurden die Demineralisations- und die Effektbereiche einheitlich ausgewertet. Alternativ hätte man über den Effektbereich hinweg die Oberfläche des gesunden Bereiches zur Demineralisation hin übertragen können. Auf Grund der großen Distanz hätte dies

aber zu Ungenauigkeiten geführt. In weiteren Studien sollten daher besser zwei gesunde Bereiche definiert werden, um den Effekt- sowie den Demineralisationsbereich besser mit dem gesunden Kontrollbereich vergleichen zu können.

In der vorliegenden Studie wurden unterschiedliche potentielle Speichersatzmittel auf Leinsamenbasis mit zwei unterschiedlichen pH-Werten (5,5 und 6,5) untersucht. Der Speichel von Patienten, die an Hyposalivation leiden, verändert sich sowohl quantitativ als auch qualitativ. Er wird wesentlich visköser, wechselt seine Farbe von weiß nach braun und der pH-Wert sinkt von ursprünglich 6,8 auf bis zu 5,0 ab (BEN-ARYEH et al. 1975; DREIZEN et al. 1976). Primär sollen Speichersatzmittel die Mund- und Rachenschleimhaut feucht halten und somit die durch den veränderten Speichel entstandenen Symptome beim Kauen, Schlucken und Sprechen lindern (MATZKER und SCHREIBER 1972).

Der niedrigere der beiden gewählten pH-Werte (5,5) liegt unter dem kritischen pH-Intervall (6,2-6,7), bei dem Dentin zu demineralisieren beginnt. Da der pH-Wert während und nach einer Strahlentherapie ebenfalls meist in Bereiche unterhalb dieser Werte absinkt, scheint es fraglich, ob durch ein Speichersatzmittel mit einem neutralen pH-Wert das Milieu der Mundhöhle bzw. der Plaque effektiv verändert werden kann. Der gewählte pH-Wert von 5,5 simulierte deshalb annäherungsweise die klinischen Bedingungen in der Mundhöhle bei Xerostomie-Patienten. Darüber hinaus scheinen saure Speichersatzmittel gegenüber solchen mit neutralem pH-Wert besser zu schmecken und eine möglicherweise verbliebene Restaktivität der Speicheldrüsen könnte durch einen niedrigeren pH-Wert angeregt werden. Allerdings beeinflussen die vergleichsweise hohen Zugaben von Kalzium- und Phosphationen zu einem sauren Speichersatzmittel den Geschmack negativ. Der nahezu neutrale pH-Wert von 6,5 wurde gewählt, um ein potentielles Remineralisationspotential darzustellen, da Lösungen mit einem höheren pH-Wert bei gleicher ionischer Zusammensetzung (Ca^{2+} , PO_4^{3-} und F^-) eine höhere Sättigung aufweisen.

Der Literatur sind einige Untersuchungen zur Auswirkung von Speichersatzmitteln oder Polymeren auf Schmelz zu entnehmen (JOYSTON-BECHAL und KIDD 1987; KIELBASSA und SHOHADAI 1999; KIELBASSA et al. 2001; MEYER-LUECKEL et al. 2006b; VAN DER REIJDEN et al. 1997). Die Wirkung auf Dentin wurde bisher nur vereinzelt untersucht (KIELBASSA und MEYER-LUECKEL 2001; MEYER-LUECKEL et al. 2002). Diese ist aber gerade für die von einer Hyposalivation

betroffenen, häufig älteren Patienten interessant, da bei diesen in Folge von Rezessionen der Gingiva das Wurzeldentin oftmals freiliegt. Das Demineralisationsmuster, das für unbestrahltes Dentin gilt, kann nach den Erkenntnissen der Untersuchungen von KIELBASSA et al. (1998) auch auf bestrahltes Dentin übertragen werden. Daraus resultieren dieselben ätiologischen Faktoren der Karies für Patienten mit „Strahlenkaries“, wie für Patienten mit durchschnittlichen Speichelsekretionsraten (KIELBASSA et al. 1998). Allerdings wirkt eine Strahlentherapie erweichend auf das Dentin; die daraus resultierenden Folgen sind komplex und wurden mit dem Abplatzen größerer Schmelzareale in Verbindung gebracht (KIELBASSA 2004).

Bei entsprechenden Zusammensetzungen besitzen Speichelersatzmittel ein nicht zu vernachlässigendes demineralisierendes Potential auf Schmelz (JOYSTON-BECHAL und KIDD 1987; KIELBASSA und SHOHADAI 1999; KIELBASSA et al. 2001). Auch in Untersuchungen zur Wirkung kommerziell erhältlicher Speichelersatzmittel auf Dentin zeigten verschiedene Präparate erhöhte Mineralverluste und Läsionstiefen (KIELBASSA und MEYER-LUECKEL 2001; MEYER-LUECKEL et al. 2002). Die in der vorliegenden Studie verwendeten pH-Werte von 5,5 bzw. 6,5 der potentiellen Speichelersatzmittel lassen, bei einem kritischen pH-Intervall von 6,2-6,7 für Wurzeldentin (HELLWIG et al. 2003), einen demineralisierenden Effekt erwarten, wenn keine oder nur geringe Konzentrationen kariesprotektiver Ionen in den Lösungen enthalten sind.

Kazium- und phosphatübersättigte Lösungen ermöglichen hingegen eine Remineralisation. Der Speichel stellt solch eine Lösung auf natürliche Weise dar (HELLWIG et al. 2003). Hierdurch können die heraus gelösten Kalzium- und Phosphationen während der Remineralisationsphase repräzipitieren. Vergleichbare Fähigkeiten werden aus zahnmedizinischer Sicht von künstlichem Speichel gefordert.

Durch eine Zugabe von Kalzium-, Phosphat- und/oder Fluoridionen kann die potentiell demineralisierende Wirkung einer Lösung mit niedrigem pH-Wert bzw. hohem Gehalt an titrierbarer Säure durch eine Veränderung des Löslichkeitsproduktes von Apatit vermindert werden (BRUDEVOLD et al. 1965; LARSEN und NYVAD 1999). Salinum und auch die ersten beiden potentiellen Speichelersatzmittel, die nur unzureichende Zusätze der oben genannten Elektrolyte enthielten, führten zu signifikant stärkeren Demineralisationen als

Lösungen mit entsprechender Ionenkonzentration (Abb. 8). Diese Ergebnisse bestätigen die Resultate anderer Untersuchungen zum Effekt von Speichersatzmitteln auf Dentin (KIELBASSA und MEYER-LUECKEL 2001; MEYER-LUECKEL et al. 2002) und unterstreichen die positive Wirkung der oben genannten Ionen auf die Remineralisation.

In der Vergangenheit wurde bereits versucht, den erosiven Charakter von Getränken durch die Zugabe dieser Elektrolyte zu reduzieren (GRENBY 1996). Studien zu Speichersatzmitteln konnten eine Erhöhung der Härte demineralisierten Schmelzes bei einem Zusatz von 2-5 ppm Fluorid aufzeigen (SHANNON und EDMONDS 1978). Werden zusätzlich noch Kalzium- und Phosphationen zugegeben, erhöht sich die Mikrohärtigkeit weiter (SHANNON et al. 1978), was auf einen verstärkten remineralisierenden Effekt schließen lässt. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch für Schmelzproben, die in Kuhmilch gelagert wurden (GEDALIA et al. 1991). Deshalb wurde Milch ebenfalls als Speichersatzmittel vorgeschlagen (HEROD 1994). Einen positiven Effekt zeigten Fluoride auch bei Versuchen mit Dentinproben. Hierbei waren allerdings höhere Konzentrationen notwendig, um eine Remineralisation zu erzeugen, da Dentin einerseits aus kleineren Kristallen als Schmelz aufgebaut ist und zum anderen eine höhere Löslichkeit als Schmelz besitzt (TEN CATE 1999).

Die in der vorliegenden Studie verwendeten potentiellen Speichersatzmittel führten zu Ergebnissen, die die positive Wirkung von Elektrolyten als Zusatz zu einer Basislösung unterstreichen. Die starke Demineralisation der Dentinproben bei reiner Verwendung der Basislösung wurde schon durch die alleinige Zugabe von Fluoridionen reduziert. Wurden zusätzlich noch Kalzium- und Phosphationen hinzugegeben, wurde eine weitere Verringerung der Demineralisation beobachtet. Mit ansteigender Elektrolytkonzentration verstärkte sich dieser Effekt (Tab. 4). Dies zeigt der signifikant geringere Mineralverlust der Proben bei Verwendung der höchsten Kalziumkonzentration im Vergleich zu den beiden geringeren Kalziumkonzentrationen. Auch bei Zugabe von Kaliumphosphat konnte eine signifikante Abnahme des Mineralverlustes festgestellt werden (Abb. 9). Eine vergleichbare Remineralisation wie bei dem Speichersatzmittel Oralube in einer früheren Studie konnte allerdings nicht beobachtet werden. Dies könnte durch den in Oralube enthaltenen Basisstoff Sorbitol, den höheren pH-Wert dieses Speichersatzmittels oder aber durch den etwas höheren Anteil Fluorid in Oralube

bedingt sein (MEYER-LUECKEL et al. 2002). Bei größerer Zugabe der verwendeten Elektrolyte scheint eine Remineralisation mit leinsamenbasierten Lösungen eventuell möglich, wie dies bereits für Schmelz beobachtet werden konnte (MEYER-LUECKEL et al. 2006a).

Anhand von Abbildung 10 und Abbildung 13 zeigt sich, dass ein pH-Wert von 5,5 im Vergleich zu 6,5 keinen signifikanten Einfluss auf den Mineralverlust oder die Läsionstiefe bei den hier verwendeten Lösungen hatte. Dennoch wiesen die Gruppen mit dem niedrigeren pH-Wert tendenziell schlechtere Ergebnisse auf. Dies kann damit erklärt werden, dass während der 14-tägigen Lagerung der Dentinproben diesen Gruppen mehr Milchsäure zugegeben werden musste, um den pH-Wert konstant bei 5,5 zu halten (Tab. 7). Hieraus ergab sich eine Verschiebung des Gleichgewichtes von De- und Remineralisation auf Grund der erhöhten Menge an undissoziierter Säure.

Die treibende Kraft für De- und Remineralisationsvorgänge ist der Sättigungsgrad (DS) in Bezug auf Kalzium und Phosphat (CHOW 2001). Mithilfe der Software gestützten Kalkulation (SHELLIS 1988) wurde für manche der potentiellen Speichelersatzmittel eine Übersättigung in Bezug auf Oktakalziumphosphat (OCP) bzw. für alle Gruppen in Bezug auf Hydroxylapatit (HAP) berechnet (Tab. 6). Wie von wässrigen Lösungen bekannt ist, stellt OCP eine Vorstufe des wesentlich stabileren HAP im Remineralisationsprozess dar (NANCOLLAS und TOMAZIC 1974). Auf Grund von Beobachtungen, nach denen eine Remineralisation in kalzium- und phosphatübersättigten wässrigen Lösungen stattfindet (LARSEN und PEARCE 2003), hätte bei allen oben erwähnten Gruppen ein Mineralgewinn beobachtet werden müssen. Das Ausbleiben der erwarteten Remineralisation könnte durch die unterschiedliche Herkunft der Elektrolyte erklärt werden. Leinsamen beinhaltet von Natur aus Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen, welche auch in der Basisleinsamenlösung gemessen werden konnten. Zusätzlich wurden zu fast allen Gruppen noch unterschiedliche Mengen an Elektrolyten hinzugefügt. Lösung 2, die keine zusätzlichen Kalzium- und Phosphationen enthielt, zeigte sowohl hinsichtlich des Mineralverlustes als auch bezogen auf die Läsionstiefe die größten Demineralisationen. Dieses Ergebnis kann als Hinweis darauf gesehen werden, dass vor allem die zusätzlich zugeführten Ionen der Demineralisation entgegen wirken. Dies ist mit den natürlichen Ionen der Basislösung aus Leinsamen allein nicht möglich, da diese vorzugsweise Komplexe mit den Polymeren der

Leinsamenlösung bilden könnten (VISSINK et al. 1985). In einer Studie mit Schmelzproben wurde gezeigt, dass sowohl leicht unter- als auch leicht übersättigte Lösungen in Bezug auf Hydroxylapatit sowie Fluorapatit zur Bildung von Läsionen führen können (THEUNS et al. 1986). Dies konnte auch für leinsamenbasierte Lösungen bezüglich Schmelz bestätigt werden (MEYER-LUECKEL et al. 2006a).

Speichelersatzmittel basieren auf Muzin, Zellulose oder einer Lösung auf Leinsamenbasis. Diese Polymere können mit Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen reagieren, wodurch eine Remineralisation behindert würde. Der inhibierende Effekt der Polymere konnte zuerst für CMC und Muzin beschrieben werden und wurde auf eine Komplexbildung mit Kalzium- und/oder Phosphationen zurückgeführt (VISSINK et al. 1985). Infolgedessen waren diese Elektrolyte für eine Remineralisation nicht verfügbar. Außerdem wurde durch die gleichzeitig ansteigende Viskosität der Speichelersatzmittel die Diffusionsrate der in den Lösungen enthaltenen Elektrolyte reduziert (AMAECHEI und HIGHAM 2001; FEATHERSTONE 1984; GELHARD et al. 1983; VISSINK et al. 1985). Diese Wechselwirkungen konnten in der vorliegenden Studie auch für leinsamenbasierte Lösungen aufgezeigt werden.

Mit steigender Viskosität einer Lösung sind weniger Remineralisationserscheinungen zu beobachten, was zum einen mit der oben erwähnten reduzierten Diffusionsrate zu erklären ist (AMAECHEI und HIGHAM 2001; VISSINK et al. 1985). Zum anderen führt eine höhere Viskosität an den Grenzflächen zwischen Lösung und Dentinoberfläche zu einer verlängerten Adhäsion der Polymere an der Dentinoberfläche. Hierdurch könnten einerseits Demineralisationen gehemmt werden; andererseits würde somit einer Remineralisation entgegen gewirkt werden (ACKER und SCHORMÜLLER 1967). Salinum weist jedoch eine weitaus höhere Viskosität auf als die selbst hergestellten Leinsamenlösungen. Neben der geringeren Verfügbarkeit von Kalzium- und/oder Phosphationen auf Grund der oben erwähnten Komplexbildung könnte somit vor allem der Viskositätsunterschied die demineralisierende Wirkung von Salinum erklären. Um Lösungen mit unterschiedlichen Elektrolytkonzentrationen in Bezug auf Demineralisation und Remineralisation vergleichen zu können müsste demnach die Viskosität der Lösungen angeglichen werden.

Durch die Verwendung von Salinum konnten Patienten, die unter Hyposalivation leiden, die Symptome der Mundtrockenheit gut lindern. In diesem Fall könnte die hohe Viskosität von Salinum diesen Effekt positiv beeinflusst haben,

weil eine lange Retention der Substanz an den Schleimhäuten erreicht wurde (VISSINK et al. 1985). Die größten Erfolge mit Salinum wurden bei Patienten erzielt, die unter den schwersten Symptomen litten (JOHANSSON et al. 1994). Wie auch diese Ergebnisse zeigen, scheint eine Basis auf Leinsamen für ein Speichelersatzmittel sinnvoll und sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

7. Schlussfolgerung

Eine neutrale Wirkung eines Speichelersatzmittels auf Dentin ist erstrebenswert, weil der Personenkreis der Speichelersatzmittel anwendet, häufig freiliegende Dentinoberflächen aufweist. Diese Dentinoberflächen werden von einem Speichelersatzmittel benetzt, so dass eine potentiell demineralisierende Lösung eine negative Auswirkung auf das Dentin besitzen könnte. Salinum kann deshalb nur eingeschränkt als Speichelersatzmittel für bezahnte Patienten empfohlen werden. Auf Grund der guten Erfolge von Salinum bei der Linderung der Symptome einer Xerostomie scheint dieses Speichelersatzmittel allenfalls für zahnlose Patienten sowie Patienten, die keine freiliegenden Zahnhälse aufweisen, geeignet.

Leinsamen scheint nach den Ergebnissen dieser Studie als Basis eines Speichelersatzmittels durchaus in Frage zu kommen. Bei ausreichender Zugabe von Fluorid-, Kalzium- und Phosphationen und einem annähernd neutralen pH-Wert scheint eine neutrale Wirkung eines Speichelersatzmittels auf Leinsamenbasis auf Dentin erzielbar. Ob über die in dieser Studie gezeigte Reduktion der Demineralisation hinaus eine zuverlässige Remineralisation des Dentins möglich ist, sollte in weiteren Studien bei längerer Versuchsdauer evaluiert werden.

Deutsche Zusammenfassung

Den unter Xerostomie leidenden Patienten werden in der Regel Speichelerersatzmittel verabreicht, um ihre Symptome zu lindern. Remineralisationsvorgänge können durch die in Speichelerersatzmitteln enthaltenen Polymere behindert werden. Ziel der vorliegenden Studie war daher, die Wirkung eines Speichelerersatzmittels auf Leinsamenbasis mit unterschiedlichen Mengen an Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen und verschiedenen pH-Werten zu untersuchen. Mineralverlust und Läsionstiefe der bovinen Dentinproben wurden nach dem In-vitro-Versuch beurteilt.

Für den Versuch wurden aus 38 extrahierten Rinderfrontzähnen 150 Dentinproben präpariert. Diese wurden in Kunstharz eingebettet und oberflächlich poliert. Ein Drittel der Probenoberfläche wurde zu Beginn mit säurefestem Nagellack abgedeckt (Kontrolle Gesund). Im Anschluss wurden die Proben sechs Tage demineralisiert (pH 5,6; 37 °C). Die Hälfte jeder demineralisierten Oberfläche wurde danach wieder mit Nagellack abgedeckt. Anschließend wurden die Proben (jeweils $n = 10$) bei 37 °C für zwei Wochen 14 verschiedenen auf Leinsamen basierenden Lösungen mit pH 5,5/6,5 sowie Salinum ausgesetzt und alle 12 Stunden erneuert. Nach Abschluss der Versuchsreihe wurden Dünnschliffe (100 μm) erstellt. Durch die Lagerung entstandene Unterschiede in Mineralverlust und Läsionstiefe wurden mikroradiografisch (TMR 2.0.27.2) untersucht.

Bezüglich der Läsionstiefe konnte bei allen Gruppen, mit Ausnahme der Gruppe 12 ($p = 0,047$; t-Test), eine Demineralisation festgestellt werden. Der Mineralgehalt war nach Lagerung in den Lösungen verglichen mit denjenigen nach Demineralisation geringer, wobei die Proben, die in der Lösung mit dem höchsten Gehalt an Kalzium- und Phosphationen lagen, keine signifikanten Veränderungen des Mineralverlustes aufwiesen ($p = 0,065$). Salinum führte zu signifikant höherem Mineralverlust und signifikant größerer Läsionstiefe als die äquivalent gesättigten Lösungen ($p < 0,05$; *Bonferroni*). Das allgemeine lineare Modell zeigte eine signifikante Abhängigkeit des Mineralverlustes von der Phosphat- ($p = 0,000$) und der Fluorid- ($p = 0,001$), aber nicht von der Kalziumzugabe ($p = 0,397$) und dem pH-Wert ($p = 0,368$). Die Läsionstiefe war nur von der Fluoridzugabe signifikant abhängig ($p = 0,000$). Die Zugabe von Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen scheint einen positiven Effekt auf die Remineralisationsfähigkeit von auf Leinsamen basierenden Lösungen zu haben.

Summary

Moistening of the oral mucosa helps to relieve the symptoms in patients suffering from xerostomia and, therefore, saliva substitutes have been developed. Polymers used in saliva substitutes might inhibit remineralization. Thus, the aim of the present study was to determine the effects of various linseed based solutions differing in calcium, phosphate, and fluoride concentrations on the mineral loss and lesion depth of predemineralized bovine dentin at two pH values in vitro.

150 dentin specimens were prepared from the cervical region from 38 freshly extracted permanent, bovine central incisors. Specimens were embedded in epoxy resin, ground flat and handpolished up to 4000 grit. Subsequently, one third of each specimen's surface was covered with an acid resistant nail varnish to serve as control of sound dentin. The specimens were demineralized in an incubator (37 °C) at pH 5,6 for six days. Half of each of the demineralized surfaces were again partially covered with nail varnish. Subsequently, the specimens (n = 10) were exposed to 14 different linseed based solutions at pH 5,5 and 6,5 as well as to Salinum for 14 days (37 °C). All solutions were renewed every 12 hours and the pH was controlled. After in vitro exposure thin sections were prepared (100 µm) and contact microradiographs of the specimens were obtained. Differences in mineral loss and lesion depth between the values prior to and after storage in the solutions were evaluated (TMR 2.0.27.2).

In terms of lesion depths, further demineralization could be verified within all groups apart from group 12 (p = 0,047). After exposure to the various solutions decreased mineral contents compared to those after demineralization could be observed whereas for the specimens stored in the solution containing the highest calcium and phosphate concentrations no significant changes in mineral loss could be evaluated (p = 0,065). Salinum induced a significantly greater mineral loss as well as lesion depth compared to equivalent saturated solutions (*Bonferroni*). The general linear model revealed a significant dependency for mineral loss from 'phosphate' (p = 0,000) and 'fluoride' (p = 0,001), but not from 'calcium' (p = 0,397) and 'pH' (p = 0,368). Lesion depth is only significantly dependent from 'fluoride' (p = 0,000). The addition of calcium, phosphates and fluorides seems to have a positive effect on the remineralizing qualities of linseed based saliva substitutes.

9. Literaturverzeichnis

- ACKER L, SCHORMÜLLER J: Kohlenhydratreiche Lebensmittel; Handbuch der Lebensmittelchemie. Springer, Berlin-München, 1967.
- AMAECHI BT, HIGHAM SM: In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent* 2001;29:371-376.
- ANDERSSON G, JOHANSSON G, ATTSTROM R, EDWARDSSON S, GLANTZ PO, LARSSON K: Comparison of the effect of the linseed extract Salinum and a methyl cellulose preparation on the symptoms of dry mouth. *Gerodontology* 1995;12:12-17.
- ARENDS J, RUBEN JL, CHRISTOFFERSEN J, JONGEBLOED WL, ZUIDGEEST TGM: Remineralization of human dentin in vitro. *Caries Res* 1990;24:432-435.
- ARENDS J, RUBEN JL, INABA D: Major topics in quantitative microradiography of enamel and dentin: R parameter, mineral distribution visualization, and hyper-remineralization. *Adv Dent Res* 1997;11:403-414.
- BAKER DG: The radiobiological basis for tissue reactions in the oral cavity following therapeutic X - irradiation. *Arch Oral Biol* 1982;108:21-24.
- BAUME LJ: The biology of pulp and dentine. A historic, terminologic-taxonomic, histologic-biochemical, embryonic and clinical survey. *Monogr Oral Sci* 1980;8:1-220.
- BEER KT: Kampf der Radio-Xerostomie. *Ther Umsch* 1998;7:453-455.
- BEN-ARYEH H, GUTMAN D, SZARGEL R, LAUFER D: Effects of irradiation on saliva in cancer patients. *Int J Oral Surg* 1975;4:205-210.
- BERNHOF CH, SKAUG N: Oral findings in irradiated edentulous patients. *Int J Oral Surg* 1985;14:416-427.
- BROWN LR, DREIZEN S, DALY TE, DRANE JB, HANDLER S, RIGGAN LJ, JOHNSTON DA: Interrelations of oral microorganisms, immunoglobulins, and dental caries following radiotherapy. *J Dent Res* 1978;57:882-893.
- BRUDEVOLD F, GRON P, MC CANN HG: Physico-chemical aspects of the enamel saliva system. *Adv Fluoride Res* 1965;3:63-65.
- CHOW LC: Solubility of calcium phosphates. *Monogr Oral Sci* 2001;18:94-111.
- CHRISTERSSON CE, LINDH L, ARNEBRANT T: Film-forming properties and viscosities of saliva substitutes and human whole saliva. *Eur J Oral Sci* 2000;108:418-425.
- DAVIES A: Saliva substitutes or stimulants. *Palliat Med* 1997;11:254-255.

- DAVIES AN, DANIELS C, PUGH R, SHARMA K: A comparison of artificial saliva and pilocarpine in the management of xerostomia in patients with advanced cancer. *Palliat Med* 1998;12:105-111.
- DAVIS SS: The rheological properties of saliva. *Rheol Acta* 1970;10:28-35.
- DREIZEN S, BROWN LR, HANDLER S, LEVY BM: Radiation-induced xerostomia in cancer patients. Effect on salivary and serum electrolytes. *Cancer* 1976;38:273-278.
- ESSER M, TINSCHERT J, MARX R: Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1998;53:713-717.
- EXTERKATE RAM, DAMEN JJM, TEN CATE JM: A Single-section Model for Enamel De- and Remineralization Studies. 1. The Effects of Different Ca/P Ratios in Remineralization Solutions. *J Dent Res* 1993;72:1599-1603.
- FEATHERSTONE JD: Diffusion phenomena and enamel caries development. Karger, Basel, 1984.
- FEJERSKOV O, MANJI F: Risk assessment in dental caries. In: Bader JD: Risk assessment in dentistry. Chapel Hill, NC: University of North Carolina Dental Ecology, 1990:215-217.
- GARBEROGLIO R, BRAÄNNSTRÖM M: Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 1976;21:355-362.
- GEDALIA I, DAKNAR A, SHAPIRA L, LEWINSTEIN I, GOULTSCHIN J, RAHAMIN E: Enamel softening with Coca Cola and rehardening with milk or saliva. *Am J Dent* 1991;4:120-122.
- GELHARD TB, FIDLER V, S'GRAVENMADE EJ, VISSINK A: Remineralization of softened human enamel in mucin- or CMC-containing artificial salivas. *J Oral Pathol* 1983;12:336-341.
- GRENBY TH: Lessening dental erosive potential by product modification. *Eur J Oral Sci* 1996;104:221-228.
- GUCHELAAR HJ, VERMES A, MEERWALDT JH: Radiation-induced xerostomia: pathophysiology, clinical course and supportive treatment. *Support Care Cancer* 1997;5:281-288.
- GUIJARRO GUIJARRO B, LOPEZ SANCHEZ AF, HERNANDEZ VALLEJO G: Treatment of xerostomia. A review. *Med Oral* 2001;6:7-18.
- HATTON MN, LEVINE MJ, MARGARONE JE, AGUIRRE A: Lubrication and viscosity features of human saliva and commercially available saliva substitutes. *J Oral Maxillofac Surg* 1987;45:496-499.

- HELLWIG E, KLIMEK J, ATTIN T: Einführung in die Zahnerhaltung. Vol. 3, Urban&Schwarzenberg, München, 2003.
- HERKSTRÖTER FM, WITJES M, ARENDS J: Demineralization of human dentine compared with enamel in a pH-cycling apparatus with a constant composition during de- and remineralization periods. *Caries Res* 1991;25:317-322.
- HEROD EL: The use of milk as a saliva substitute. *J Public Health Dent* 1994;54:184-189.
- IMFELD T: Oligosialie und Xerostomie II: Diagnose, Prophylaxe und Behandlung. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984;94:1083-1096.
- INABA D, IJIMA Y, TAKAGI O, RUBEN J, ARENDS J: The influence of air-drying on hyper-remineralization of demineralized dentine: a study on bulk as well as on thin wet section of bovine dentine. *Caries Res* 1995;29:231-236.
- ITTHAGARUN A, WEI SH: Chewing gum and saliva in oral health. *J Clin Dent* 1997;8:159-162.
- JANSEN VAN RENSBURG BG: Mundbiologie. Quintessenz, Berlin, 1994.
- JOHANSSON G, ANDERSSON G, ATTSTROM R, GLANTZ PO, LARSSON K: The effect of Salinum on the symptoms of dry mouth: a pilot study. *Gerodontology* 1994;11:46-49.
- JOHANSSON G, ANDERSSON G, EDWARDSSON S, BJÖRN AL, MANTHORPE R, ATTSTRÖM R: Effects of mouthrinses with linseed extract Salinum without/with chlorhexidine on oral conditions in patients with Sjögren`s syndrome. A double-blind crossover investigation. *Gerodontology* 2001;18:87-94.
- JOHNSON JT, FERRETTI GA, NETHERY WJ, VALDEZ IH, FOX PC, NG D, MUSCOPLAT CC, GALLAGHER SC: Oral pilocarpine for post-radiation xerostomia in patients with head and neck cancer. *N Engl J Med* 1993;329:390-395.
- JONGEBLOED WL, S'-GRAVENMADE EJ, RETIEF DH: Radiation caries: A review and SEM study. *Am J Dent* 1988;1:139-146.
- JOYSTON-BECHAL S, KIDD EA: The effect of three commercially available saliva substitutes on enamel in vitro. *Br Dent J* 1987;163:187-190.
- KATZ S: The use of fluoride and chlorhexidine for the prevention of radiation caries. *J Am Dent Assoc* 1982;104:164-170.
- KIDD EAM, JOYSTON-BECHAL S: Mouth lubricants and saliva substitutes. *Caries Res* 1984;18:155.
- KIELBASSA AM, ROWBOTHAM F, HELLWIG E, SCHADE-BRITTINGER C: Der Einfluss der Mundhygiene auf die Entstehung der initialen Karies in tumortherapeutisch bestrahltem Schmelz: Eine In-situ-Untersuchung. *Dtsch Zahnärztl Z* 1997;52:735-740.

- KIELBASSA AM, SCHALLER HG, HELLWIG E: Qualitative Befunde bei *in situ* erzeugter Initialkaries in tumortherapeutisch bestrahltem Dentin. Acta Med Dent Helv 1998;3:161-168.
- KIELBASSA AM, SHOHADAI SP: Die Auswirkungen von Speichelersatzmitteln auf die Läsionstiefe von demineralisiertem Schmelz. Dtsch Zahnärztl Z 1999;54:757-763.
- KIELBASSA AM, WRBAS KT, DORNFELD B, HELLWIG E, SCHADE-BRITTINGER C: Zum Einfluss der tumortherapeutischen Bestrahlung auf die Kariesentstehung in menschlichem Dentin. Dtsch Zahnärztl Z 1999;54:31-37.
- KIELBASSA AM, MEYER-LUECKEL H: Die Auswirkungen von Speichelersatzmitteln und Mundspüllösungen auf Dentin. Schweiz Monatsschr Zahnmed 2001;111: 1060-1066.
- KIELBASSA AM, SHOHADAI SP, SCHULTE-MONTING J: Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel. Support Care Cancer 2001;9:40-47.
- KIELBASSA AM: Strahlentherapie im Kopf- und Halsbereich. Schlütersche, Hannover, 2004.
- KUSLER DL, RAMBUR BA: Treatment for radiation-induced xerostomia. Cancer Nurs 1992;15:191-195.
- LAMMERS PC, BORGGREVEN JM, DRIESSENS FC: Acid- susceptibility of Lesions in Bovine Enamel after Remineralization at Different pH Values and in the Presence of Different Fluoride Concentrations. J Dent Res 1991;70:1486-1490.
- LARSEN MJ, NYVAD B: Enamel erosion by soft drinks and orange juice relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. Caries Res 1999;33:81-87.
- LARSEN MJ, PEARCE EI: Saturation of human saliva with respect to calcium salts. Arch Oral Biol 2003;48:317-322.
- LEVINE MJ, AGUIRRE A, HATTON MN, TABAK LA: Artificial salivas: present and future. J Dent Res 1987;66 (Spec No.):693-698.
- MARKS NJ, ROBERTS B: A proposed new method for the treatment of dry mouth. Ann R Coll Surg Engl 1983;65:191-193.
- MATZKER J, SCHREIBER J: Synthetischer Speichel zur Therapie der Hyposalivation, insbesondere der radiogenen Sialadenitis. Laryngo Rhino Otol 1972;51:422-428.
- MAXYMIW WG, WOOD RE: The role of dentistry in head and neck radiation therapy. J Can Dent Assoc 1989;55:193-198.

- MELLBERG JR: Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 1992;71 (Spec. No.):913-919.
- MEYER-LUECKEL H, KIELBASSA AM: Use of saliva substitutes in patients with xerostomia. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2002;112:1037-1058.
- MEYER-LUECKEL H, SCHULTE-MONTING J, KIELBASSA AM: The effect of commercially available saliva substitutes on pre-demineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 2002;8:192-198.
- MEYER-LUECKEL H, TSCHOPPE P, KIELBASSA AM: Effect of various $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ concentrations of linseed-based saliva substitutes on enamel *in vitro*. *J Oral Rehabil* 2006a;33:760-766.
- MEYER-LUECKEL H, TSCHOPPE P, STENZEL WR, HOPFENMÜLLER W, KIELBASSA AM: Effect of polymers used in saliva substitutes on demineralized bovine enamel and dentine. *Am J Dent* 2006b;19:308-312.
- MUKAI Y, TEN CATE JM: Remineralization of Advanced Root Dentin Lesions in vitro. *Caries Res* 2002;36:275-280.
- NANCOLLAS GH, TOMAZIC B: Growth of Calcium Phosphate on Hydroxyapatite Crystals. Effect of Supersaturation and Ionic Medium. *J Phys Chem* 1974;78:2218-2225.
- NEWBRUN E: Prevention of root caries. *Gerodontology* 1986;5:33-41.
- NIEUW AMERONGEN AV, ODERKERK CH, DRIESSEN AA: Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. *Caries Res* 1987;21:297-309.
- NILLES A, STOLL P: Caries prevention in radiotherapy of the head-neck area. *Laryngorhinoontologie* 1992;71:561-563.
- REEH ES, DOUGLAS WH, LEVINE MJ: Lubrication of saliva substitutes at enamel-to-enamel contacts in an artificial mouth. *J Prosthet Dent* 1996;75:649-656.
- REMICK R, BLASBERG B, PATTERSON B, CARMICHAEL R, MILES J: Clinical aspects of xerostomia. *J Clin Psychiatry* 1983;44:63-65.
- RIEKE JW, HAFERMANN MD, JOHNSON JT, LEVEQUE FG, IWAMOTO R, STEIGER BW, MUSCOPLAT C, GALLAGHER SC: Oral pilocarpine for radiation-induced xerostomia: integrated efficacy and safety results from two prospective randomized clinical trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;31:661-669.
- ROBERTS B: A study of the viscosity of saliva at different shear rates in dentate and edentulous patients. *J Dent* 1977;5:303-309.
- ROBERTS B: Help for the dry mouth patient. *J Dent* 1982;10:226-231.

- ROSENBERG SW: Chronic dental complications. *Nat Cancer Inst Monogr* 1990;9:173-176.
- RUBEN J, ARENDS J: Shrinkage Prevention of in vitro Demineralized Human Dentine in Transversal Microradiography. *Caries Res* 1993;27:262-265.
- SCHROEDER HE: *Orale Strukturbiologie*. Vol. 4, Thieme, Stuttgart-New York, 1992.
- SCHUSTER FJ: In vitro Untersuchung zum Einfluss von Fluorid und Milch auf die erosive Demineralisation des menschlichen Zahnschmelzes mit zwei unterschiedlichen Analysemethoden; Dissertation. Giessen, 2002.
- SEIFERT G, MIEHLKE A, HAUBRICH J, CHILLA R: *Speicheldrüsenkrankheiten*. Vol. 1, Thieme, Stuttgart-New York, 1984.
- S'GRAVENMADE EJ, ROUKEMA P, PANDERS A: The effect of mucin-containing artificial saliva on severe xerostomia. *Int J Oral Surg* 1974;3:435-439.
- SHANNON IL, EDMONDS EJ: Effect of fluoride concentration on rehardening of enamel by a saliva substitute. *Int Dent J* 1978;28:421-426.
- SHANNON IL, TRODAHL JN, STARCKE EN: Remineralization of enamel by a saliva substitute designed for use by irradiated patients. *Cancer* 1978;41:1746-1750.
- SHELLIS RP: A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. *Comput Appl Biosci* 1988;4:373-379.
- SILBERNAGL S, DESPOPOULOS A: *Taschenatlas der Physiologie*. Vol. 4, Thieme, Stuttgart-New York, 1991.
- SPIJKERVET FKL, VAN SAENE HKF, VAN SAENE JJM, PANDERS AK, VERMEY A, D.M. M: Mucositis prevention by selective elimination of flora in irradiated head and neck cancer patients. *J Oral Pathol Med* 1990;19:486-489.
- SPIJKERVET FKL: *Irradiation mucositis. Prevention and treatment*. Munksgaard, Kopenhagen, 1991.
- SREEBNY LM: Recognition and treatment of salivary induced conditions. *Int Dent J* 1989;39:197-204.
- SREEBNY LM: Xerostomia: diagnosis, management and clinical complications. In: Edgar WM, O'Mullane DM: *Saliva and oral health*. Thanet Press, Margate, 1996:43-66.
- TAKUMA S: Electron microscopy of the structure around the dentinal tubule. *J Dent Res* 1960;39:973-981.
- TANAKA M, KADOMA Y: Comparative Reduction of Enamel Demineralization by Calcium and Phosphate in vitro. *Caries Res* 2000;34:241-245.

- TEN CATE JM, DUIJSTERS PEE: Influence of fluoride in solution on tooth demineralization; I. chemical data. *Caries Res* 1983;17:193-199.
- TEN CATE JM: Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 1999;57:325-329.
- TEN CATE JM: Remineralization of Caries Lesions Extending into Dentin. *J Dent Res* 2001;80:1407-1411.
- TENOVUO J, LAGERLÖF F: Saliva. In: Thylstrup A, Fejerskov O: *Textbook of Clinical Cariology*. Munksgaard, Copenhagen, 1994:17-43.
- THEUNS HM, DRIESSENS FC, VAN DIJK JW: Effect of Under- and Supersaturation with Respect to Some Apatites in Demineralizing Buffers on Artificial Carious Lesion Formation in Human Tooth Enamel. *Caries Res* 1986;20:315-323.
- VAN DER REIJDEN WA, VEERMAN EC, NIEUW AMERONGEN AV: Rheological properties of commercially available polysaccharides with potential use in saliva substitutes. *Biorheology* 1994;31:631-642.
- VAN DER REIJDEN WA, VAN DER KWAAK H, VISSINK A, VEERMAN EC, NIEUW AMERONGEN AV: Treatment of xerostomia with polymer-based saliva substitutes in patients with Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1996;39:57-63.
- VAN DER REIJDEN WA, BUIJS MJ, DAMEN JJ, VEERMAN EC, TEN CATE JM, NIEUW AMERONGEN AV: Influence of polymers for use in saliva substitutes on de- and remineralization of enamel in vitro. *Caries Res* 1997;31:216-223.
- VAN DER REIJDEN WA, VISSINK A, VEERMAN EC, NIEUW AMERONGEN AV: Treatment of oral dryness related complaints (xerostomia) in Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 1999;58:465-474.
- VISSINK A, WATERMAN HA, S'GRAVENMADE EJ, PANDERS AK, VERMEY A: Rheological properties of saliva substitutes containing mucin, carboxymethylcellulose or polyethylenoxide. *J Oral Pathol* 1984;13:22-28.
- VISSINK A, S'GRAVENMADE EJ, GELHARD TB, PANDERS AK, FRANKEN MH: Rehardening properties of mucin- or CMC-containing saliva substitutes on softened human enamel. Effects of sorbitol, xylitol and increasing viscosity. *Caries Res* 1985;19:212-218.
- VISSINK A, DE JONG HP, BUSSCHER HJ, ARENDS J, S'GRAVENMADE EJ: Wetting properties of human saliva and saliva substitutes. *J Dent Res* 1986;65:1121-1124.
- VISSINK A, S'GRAVENMADE EJ, PANDERS AK, VERMEY A: Treatment of hyposalivation. *Ear Nose Throat J* 1988;67:179-185.
- WILLICH N, GUNDACKER K, ZWINGERS T, ROHLOFF R: Die Entwicklung von Strahlenkaries nach hochdosis Bestrahlung. *Strahlenther Onkol* 1988;164:466-473.

ZIMMERMANN JS, WILHELM R, NIEHOFF P, SCHNEIDER R, KOVACS G, KIMMIG B:
Prophylaxe und Therapie akuter Strahlenfolgen an Haut und Schleimhaut.
Strahlenther Onkol 1998;174:142-148.

Materialliste

- Mat. 1 Analysenwaage Typ AG204; Mettler, Gießen, Deutschland
- Mat. 2 Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 3 Bio Leinsaat braun; Neuform International, Zarrentin, Deutschland
- Mat. 4 CCD Videokamera Modul XC77CE, Sony, Tokio, Japan
- Mat. 5 CRT Brutschrank Incubat; Melag, Berlin, Deutschland
- Mat. 6 Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat. 7 Falcon Probenröhrchen 50 ml; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 8 Fluoridelektrode Typ 96-09 BN; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
- Mat. 9 High speed holographic film; Kodak SO 253, Stuttgart, Deutschland
- Mat. 10 Kaliumchlorid 99,5-100,5 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 11 Kaliumdihydrogenphosphat min 98 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 12 Kaliumhydroxid-Plätzchen min. 85,0 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 13 Kalziumchlorid $\geq 90,0$ % wasserfrei gepulvert; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 14 Kalziumelektrode Typ 9700 BN; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
- Mat. 15 Kamera: Kontax RTS; Yashika Co., LTD, Tokio, Japan
- Mat. 16 Kapillarviskosimeter; Schott, Mainz, Deutschland
- Mat. 17 Lanthannitrat – Hexahydrat; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 18 Leukofix; Beiersdorf, Hamburg, Deutschland
- Mat. 19 Magnesiumchlorid >98 % wasserfrei; Merck, Hohenbrunn, Deutschland
- Mat. 20 Methylendiphosphonsäure >98 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 21 Methyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 22 Mikrometerschraube; Mitutoyo, Kawasaki, Japan

Mat. 23	Mikropipette Acura 821; Socorex, Lausanne, Schweiz
Mat. 24	Milchsäure etwa 90 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 25	Nagellack; Betrix, Frankfurt/Main, Deutschland
Mat. 26	Natriumchlorid min. 99,5 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 27	Natriumchlorid 0,9 % Lösung; Delta Select, Pfullingen, Deutschland
Mat. 28	Natriumfluorid min. 99,0 % reinst; Omikron, Neckarwestheim, Deutschland
Mat. 29	Objektträger; Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland
Mat. 30	pH-Meter CG 819; Schott Geräte, Hofheim, Deutschland
Mat. 31	Propyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 32	Pufferlösung CertiPUR pH 4,00 und 7,00; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 33	Röntgenstrahlgenerator, PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande
Mat. 34	Rührgerät IKA-Combimag RCT; Jahnke & Kunkel, Staufen, Deutschland
Mat. 35	Salinum; Biosurface Pharma AB, Askim, Schweden
Mat. 36	Schleifpapier Körnung 1000, 2500, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland
Mat. 37	Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz - Buehler, Düsseldorf, Deutschland
Mat. 38	Schleifsystem Exakt 400cs; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
Mat. 39	Sekundenkleber; Henkel, Düsseldorf, Deutschland
Mat. 40	Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland
Mat. 41	Thermo Orion Elektrode, Orion Auto Chemistry System 960; Fischer Scientific, Ulm, Deutschland
Mat. 42	TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande

-
- Mat. 43 TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland
- Mat. 44 Ultra-Turrax T25; Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland
- Mat. 45 Ultrazentrifuge L 70; Beckmann Coulter, Krefeld, Deutschland
- Mat. 46 Wärmeschrank BR 6000; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland
- Mat. 47 Wasserstrahlpumpe; Brand, Wertheim, Deutschland
- Mat. 48 Weithalsflaschen 1500 ml; Merck, Darmstadt, Deutschland

Danksagung

Ganz herzlich möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. A. M. Kielbassa, bedanken, der es mir ermöglicht hat, diese Dissertation zu erstellen.

Der nächste Dank gilt meinem Betreuer, Herrn Oberarzt Dr. H. Meyer-Lückel, ohne dessen Geduld und Hilfsbereitschaft diese Arbeit sicherlich nicht zustande gekommen wäre.

Bei Herrn Dr. W. R. Stenzel (Institut für Lebensmittelhygiene) und seinem Team möchte ich mich für die Unterstützung während der Herstellung der Basislösungen bedanken und dafür, dass er uns seine Räumlichkeiten und Geräte immer bereitwillig zur Verfügung gestellt hat.

Frau G. Bölling (Abteilung für experimentelle Zahnheilkunde) und Herrn R. Toll (Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie) gilt ein Dank für die freundliche Unterstützung während des experimentellen Teils dieser Arbeit.

Dr. P. Tschoppe danke ich für die hilfreichen Tipps, die er mir auf Grund seiner wissenschaftlichen Erfahrungen geben konnte.

Ebenfalls danke ich Zahnarzt M. Pumpe für die Klärung sämtlicher aufgetretener EDV-Probleme.

Bei Frau Dr. A. S. Rieben möchte ich mich für die Überlassung ihres Bildes des TMR-Probenhalters bedanken.

Curriculum Vitae

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

Erklärung

„Ich, Kristina Franz, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: [Zum Einfluss unterschiedlicher Elektrolytkonzentrationen potentieller leinsamenbasierender Speichelersatzlösungen auf demineralisiertes bovines Dentin. Eine In-vitro-Studie] 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.“

18.09.2007

Kristina Franz