

6 Diskussion

6.1 Verwendung von Rinderzähnen und Lagerungsdauer der Proben

Die in der vorliegenden Studie verwendeten Zähne stammen ausnahmslos von schlachtfrischen Rindern. Aufgrund der guten Verfügbarkeit sowie der Größe sind Rinderzähne sehr gut zur Herstellung entsprechender Probenkörper geeignet. Des Weiteren sind die Zahnhartsubstanzen der Rinderzähne nicht durch unterschiedliche äußere Einflüsse vorgeschädigt, so dass von einer uniformen Reaktionsfähigkeit ausgegangen werden kann. Die chemische Zusammensetzung boviner Zahnhartsubstanzen entspricht weitgehend der menschlichen (ESSER et al. 1998). Daher eignen sich Rinderzähne insbesondere im Rahmen von Untersuchungen zum Demineralisationsverhalten sehr gut zur Substitution von menschlichen Zähnen. Idealerweise sollten menschliche Zähne für derartige Untersuchungen verwendet werden, da sie am besten die Auswirkungen der angewendeten Lösungen widerspiegeln. Der größte Nachteil bei der Verwendung von humanen Zahnproben ist jedoch, dass letztere nicht in ausreichender Qualität und Quantität zur Verfügung stehen. Diese Zahnproben haben häufig Initialläsionen und stammen aus unterschiedlichen Quellen und unterschiedlichen Altersstufen. Dadurch ergeben sich größere Variationsbreiten bei den Testergebnissen (MELLBERG 1992). Wie in dieser Studie wurden die Zähne vor der Durchführung der Untersuchungen geglättet und poliert, um oberflächliche Unebenheiten zu entfernen, und um Problemen bei den Zahnhartsubstanzmessungen vorzubeugen (MELLBERG 1992). Die Schmelzoberflächen enthalten jedoch größere Kristallite und Fluoridkonzentrationen als die tiefer liegenden Zahnschichten (WEATHERELL et al. 1973). Daher wird eine zunehmende Demineralisation nach einer Oberflächenbehandlung erwartet. Studien, welche dieses Problem beschrieben, konnten diese Hypothese entweder bestätigen (DE GROOT et al. 1986; MACPHERSON et al. 1991) oder aber widerlegen (FEATHERSTONE und MELLBERG 1981). Nichtsdestotrotz werden polierte, bovine Zahnhartsubstanzen als ein guter Ersatz für humane Schmelzproben angesehen. In der Studie wurden 130 gesunde demineralisierte Schmelzproben über einen Zeitraum von 14 Tagen in 13 unterschiedlichen Speichelersatzlösungen gelagert, welche zweimal täglich gewechselt wurden. Dies entspricht einem äußerst intensiven Kontakt, der unter klinischen Bedingungen nicht zu erwarten ist. Ein artifizieller

Speichelersatz wird nach Bedarf verwendet und unterliegt somit selbst bei bestimmungsgemäßer Anwendung üblicherweise keiner Tageshöchstdosis.

6.2 De- bzw. Remineralisationsverhalten der verwendeten Lösungen

Die verwendeten Lösungen wurden mit dem Zusatz von Kalzium, Phosphat und Fluorid angemischt. Die verschiedenen Speichelsubstituten unterschieden sich in der Höhe der Konzentration der verschiedenen Elektrolyte. Somit konnte untersucht werden, welche Menge und Zusammensetzung der Zusätze die besten Ergebnisse erzielte. Des Weiteren wurden die Auswirkungen eines leicht sauren (pH 5,5) und eines fast neutralen (pH 6,5) pH-Wertes bei gleichen Elektrolytkonzentrationen untersucht. Da bei Patienten mit einer verminderten Speichelproduktion der pH-Wert häufig von 6,8 auf 5,0 fällt (BEN-ARYEH et al. 1975; DREIZEN et al. 1976), wurde der Wert 5,5 verwendet, um den Grenzwert für eine beginnende Demineralisation im Schmelz zu simulieren (LARSEN und PEARCE 2003). Ein weiterer Grund für die Wahl dieses pH-Wertes ist die bessere Patientenakzeptanz saurer Speichelersatzmittel. Der pH-Wert von 5,5 spiegelt somit die klinischen Begebenheiten während der Bestrahlung wider. Im Gegensatz dazu wurde der annähernd neutrale pH-Wert von 6,5 gewählt, um die klinischen Voraussetzungen vor und nach einer Strahlentherapie (BEN-ARYEH et al. 1975) nachzuahmen und ein mögliches Remineralisationsvermögen der Lösungen zu ermitteln.

Bei einer Studie zur Untersuchung des Einflusses von Fluoriden und unterschiedlichen pH-Werten auf die Remineralisation von bovinen Schmelz wurde beobachtet, dass bei niedrigen Konzentrationen (0,03 ppm Fluorid) eine signifikant höhere Remineralisation bei pH 6,8 als bei pH 5,5 statt fand. Bei Fluoridkonzentrationen größer als 0,3 ppm wurde hingegen kein Unterschied ermittelt (LAMMERS et al. 1992). Dies lässt sich darauf zurückführen, dass bei hohen Fluoridkonzentrationen, unabhängig vom pH-Wert (5,5 oder 6,8), hauptsächlich fluoridiertes Hydroxylapatit präzipitiert, wobei dies bei den verschiedenen pH-Werten auf zwei unterschiedlichen Reaktionswegen geschieht (EANES 1980; EANES und MEYER 1978; LAMMERS et al. 1992). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen (Abbildung 12) die Nullhypothese, dass der pH-Wert keinen Einfluss auf die Remineralisation der untersuchten Schmelzproben hat, da sich die Werte für den

Mineralverlust bei gleichen Elektrolytkonzentrationen, aber unterschiedlichem pH-Wert nicht signifikant unterscheiden.

Die Zahnoberfläche unterliegt in der Mundhöhle ständigen Veränderungen. Die metabolische Aktivität von Mikroorganismen bei entsprechender Substratzufuhr führt zu einem pH-Wert-Abfall und damit zu Perioden der Demineralisation. Der menschliche Speichel ist jedoch eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung. Er stellt somit eine natürliche Remineralisationslösung dar, d.h. er kann Kalzium- und Phosphationen, die während der Demineralisation aus der Zahnoberfläche verloren gehen, während der Remineralisationsphase wieder einlagern (HELLWIG et al. 1999). Im menschlichen Speichel ist eine Kalziumkonzentration von ca. 1 mmol/l, eine Phosphatkonzentration von ca. 7 mmol/l, ca. 3,5 mmol/l Karbonat und zusätzlich 0,05 mg/l Fluorid enthalten (LARSEN und PEARCE 2003).

Durch die Zugabe von Kalzium-, Phosphat- und/oder Fluoridionen zu einer Lösung mit niedrigem pH-Wert bzw. hohem Gehalt an titrierbarer Säure wird eine prinzipiell demineralisierende Wirkung durch die Veränderung des Löslichkeitsproduktes von Apatit reduziert (BRUDEVOLD et al. 1965; LARSON und NYVAD 1999). Kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel mit verschiedenen Elektrolytkonzentrationen und $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ -Verhältnissen wurden bereits hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf Schmelz- bzw. Dentinproben untersucht. Dabei wurde nur ein Mineralgewinn nach Lagerung der Proben in Speichelersatzmitteln mit einem Zusatz von Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen beobachtet (KIELBASSA und MEYER-LUECKEL 2001; KIELBASSA et al. 2001; MEYER-LUECKEL et al. 2002). In der vorliegenden Studie konnte jedoch erst bei größerer Zugabe dieser Ionen eine neutrale bzw. remineralisierende Wirkung erzielt werden (Tabelle 5). Dies zeigt, dass bei leinsamenbasierter Lösungen erst bei höheren Konzentrationen ein remineralisierender Effekt erwartet werden kann und die natürlicherweise enthaltenen Elektrolyte nicht ausreichend sind.

In früheren Studien wurde ein signifikanter Mineralgewinn bei dem Produkt Oralube[®] festgestellt (KIELBASSA und SHOHADAI 1999; KIELBASSA et al. 2001; MEYER-LUECKEL et al. 2002). Dies wurde auf den hohen Gehalt an Fluorid- und Kalziumionen und den relativ hohen, dem menschlichen Speichel ähnlichen, $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ -Verhältnis zurückgeführt. Hierdurch ist das Lösungsgleichgewicht dieser Ionen in Richtung des Hydroxylapatits verschoben. Bei den Ergebnissen der vorliegenden Studie konnte jedoch keine Korrelation zwischen einem hohen $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ -Verhältnis und einer

Zunahme der Remineralisation ermittelt werden. In einer Studie zum Fluorideinfluss auf die Remineralisation von menschlichen Schmelzproben (SILVERSTONE 1981) wurde ein $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ -Verhältnis von 1:1,63 verwendet; die Annahme, dass dieses Verhältnis als optimal anzusehen ist, konnte in der vorliegenden Studie nur teilweise belegt werden, da zwar bei niedrigeren $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ -Verhältnis (Gruppen **XII** und **XIII**: 1:1,9) eine größere Remineralisation beobachtet werden konnte, aber keine Remineralisation bei Gruppe **IV** und **V** (1:1,74). Dies legt nahe, dass vor allem eine höhere Konzentration an Kalzium und Phosphat das Remineralisationspotential positiv beeinflusst.

Bezüglich des kinetischen Aspektes konnte in In-vitro-Studien gezeigt werden, dass die treibende Kraft von De- und Remineralisationsvorgängen der Sättigungsgrad bezüglich verschiedener Kalziumphosphatverbindungen ist (CHOW 2001). Es zeigte sich, dass sich Remineralisationen in übersättigten, wässrigen Lösungen hinsichtlich Apatit ereigneten (LARSEN und PEARCE 2003). In wässrigen Lösungen wird OCP als Katalysator für eine Remineralisation angesehen. Da Speichelersatzmittel jedoch aus Carboxymethylcellulose, Muzin oder Leinsamen bestehen, gelten diese für wässrige Lösungen berechenbaren Werte bei Speichelersatzmitteln nur bedingt. In der vorliegenden Studie wurde eine Remineralisation durch die in Leinsamen enthaltenen Polymere offensichtlich behindert. Diese mögliche Interaktion von Fluorid, Kalzium und Phosphat mit Polymeren wurde bereits in der Literatur beschrieben (GELHARD et al. 1983; MEYER-LUECKEL et al. 2006; VISSINK et al. 1985b). Dabei stellte sich heraus, dass CMC einen Komplex mit Kalzium und/oder Phosphat bilden kann (VISSINK et al. 1984b), wodurch die Remineralisation behindert wird. Des Weiteren wird die Viskosität erhöht und die Diffusion innerhalb der Lösungen herabgesetzt (AMAECHI und HIGHAM 2001; FEATHERSTONE 1984). Daher scheint eine übersättigte Lösung hinsichtlich OCP als Speichelersatzlösung am besten geeignet. Leinsamenextrakt enthält von Natur aus bereits Fluorid-, Kalzium- und Phosphationen (Tabelle 7, Tabelle 8), die mittels einer elektronensensitiven Elektrode ermittelt wurden. Obwohl den Gruppen **II** und **III** kein Kalzium und Phosphat zugegeben wurde, waren diese hinsichtlich HAP und FA gesättigt, nur die Lösung **III** lag hinsichtlich OCP unterhalb des Sättigungsgrades. Da diese Gruppen zu einem signifikant höheren Mineralverlust führten, kann daraus geschlossen werden, dass die natürlicherweise vorhandenen Ionen schlecht verfügbar sind und mit dem Leinsamen einen Polymerkomplex zu bilden scheinen (VISSINK et al. 1985b).

Es hat daher den Anschein, dass nur neu zugesetzte Ionen eine Remineralisation ermöglichen.

6.3 Vergleich der Ergebnisse mit den ermittelten Sättigungsgraden

In der vorliegenden Studie wurden die Sättigungsgrade bezüglich verschiedener Apatite mittels des Computerprogramms ION-PRODUCT[®] (SHELLIS 1988) berechnet. Dieses Programm wird normalerweise für wässrige Lösungen verwendet. Zu untersuchen war, ob dieses Computerprogramm ebenfalls für komplexere Lösungen, in diesem Fall für eine ölige Substanz, anwendbar ist. Hierbei stellte sich heraus, dass nahezu alle Lösungen bezüglich Oktakalziumphosphat (OCP), Hydroxyapatit (HAP) und Fluorapatit (FAP) übersättigt waren (Tabelle 10). Bei wässrigen Lösungen ist bekannt, dass das instabilere OCP als Vorläufer für die stabilere Hydroxyapatitphase bei der Remineralisation dient (NANCOLLAS und TOMAZIC 1974). Deshalb wurde auch ein Mineralgewinn bei den Lösungen, welche hinsichtlich OCP übersättigt waren, erwartet. Die Gruppen **III**, **V** und **VII** waren hinsichtlich OCP untersättigt (Tabelle 10) und führten daher zu einer fortschreitenden Demineralisation. Annähernd gesättigt waren die Gruppen **IX** und **XI** und führten daher auch zu einem relativ neutralen Effekt. Die Sättigungen sind jeweils bei den Gruppen mit dem pH-Wert 5,5 niedriger im Vergleich zu den Lösungen mit den gleichen Elektrolytkonzentrationen, jedoch mit pH-Wert 6,5 (Tabelle 10). Diese Tendenzen sind auch aus dem entstandenen Mineralverlust erkennbar. Eine Ausnahme besteht in dem Sättigungsgrad für Kalziumfluorid, dieser liegt jeweils bei dem pH-Wert 5,5 geringfügig höher, was dazu beitragen könnte, dass sich der Mineralverlust zwischen den Gruppen mit gleichen Kalzium- und Phosphatkonzentrationen aber unterschiedlichen pH-Wert nicht signifikant unterscheidet.

Die mit der elektronensensitiven Elektrode gemessenen Elektrolytkonzentrationen und die Konzentrationen, welche theoretisch in den Lösungen enthalten sein mussten, waren annähernd gleich (Tabelle 9, Tabelle 10). Dies belegt, dass die zusätzlich zu den Lösungen zugegebenen Fluorid-, Kalzium-, und Phosphatkonzentrationen keine Komplexe mit der Basis bildeten. Zusätzlich konnte anhand der Ergebnisse gezeigt werden, dass das Computerprogramm ION-PRODUCT[®] (SHELLIS 1988) auch für komplexere Lösungen anwendbar ist.

Das kommerziell erhältliche Speichelsubstitut Salinum[®] konnte hohe Sättigungsgrade hinsichtlich OCP, HAP und FA aufweisen. Da dieses Speicheleratzmittel jedoch einen signifikanten Mineralverlust verursachte, könnte dies mit dem niedrigen Sättigungsgrad gegenüber CaF_2 erklärt werden. In der Literatur wurde hierzu beschrieben, dass höhere Fluoridkonzentrationen eine größere Kalziumaufnahme in künstlich erzeugte Läsionen ermöglichen und somit die Remineralisation fördern (GIBBS et al. 1995). Mit Hilfe der Zugabe von Kalzium-, Phosphat- und/oder Fluoridionen wurde in der Vergangenheit versucht, den erosiven Charakter von Getränken zu reduzieren (GRENBY 1996). Hinsichtlich der Beurteilung von Speicheleratzmitteln ist prinzipiell ein ähnlicher Weg denkbar. Versuche zur remineralisierenden Wirkung eines Speicheleratzmittels ergaben, dass ein geringer Fluoridzusatz (2-5 ppm) bei demineralisiertem Schmelz zu einer signifikanten Erhöhung der Schmelzhärte führte (SHANNON und EDMONDS 1978; SHANNON et al. 1977). Nach gleichzeitiger Zugabe von Kalzium und Phosphat konnte die Mikrohärtigkeit weiter gesteigert werden (SHANNON et al. 1978), was auf einen verstärkten remineralisierenden Effekt schließen lässt. Dies entspricht den Beobachtungen, die nach Lagerung von Schmelzproben in Kuhmilch beschrieben wurden (GEDALIA et al. 1991). Milch enthält ebenfalls Kalzium und Phosphat in ausreichend hohen Konzentrationen und wurde darüber hinaus als Speicheleratzmittel vorgeschlagen (HEROD 1994).

Bei der Gabe von Fluoriden wird abhängig von der Fluoridkonzentration eine CaF_2 -Deckschicht auf der Schmelzoberfläche beobachtet, welche anschließend von Proteinen und Phosphat aus dem Speichel bedeckt wird. Aus diesem Kalziumfluoridpräzipitat diffundieren geringe Mengen Fluorid in den Zahnschmelz. Sinkt nun der pH-Wert in einen sauren Bereich, da die bedeckende Plaque metabolisch aktiv ist, wird die Schutzschicht aufgelöst. Dadurch diffundieren die Fluoridionen in die umgebene Flüssigkeit (Speichel, Speicheleratzmittel) und in den Zahnschmelz. Dort umgeben sie die Kristallite, entweder in der Hydrationshülle um die Kristallite oder als CaF_2 , wodurch sie dem Hydroxylapatit eine fluorapatitähnliche Eigenschaft verleihen. Dadurch werden die Kristallite bei einem kariösen Angriff nicht aufgelöst (HELLWIG et al. 1999). Daher ist es notwendig einen Übersättigungsgrad hinsichtlich CaF_2 zu erreichen. Bei der vorliegenden Studie stieg der Mineralgewinn gleich mit dem Anstieg der Kalziumfluoridsättigung (Tabelle 10).

In der vorliegenden Studie stellte sich heraus, dass die Variable Kalzium einen signifikanten Einfluss auf den Mineralgewinn hatte, Phosphat jedoch nicht. Damit konnte die Nullhypothese nur für Kalzium widerlegt werden. Dies wurde bereits in früheren Studien beschrieben, in denen verschiedene Kalzium- und Phosphatkonzentrationen und Verhältnisse untersucht wurden (EXTERKATE et al. 1993; TANAKA und KADOMA 2000). Dabei stellte sich heraus, dass Kalzium einen höheren Sättigungsgrad bewirkt als eine äquivalente Phosphatkonzentration. Daher sollte besser Kalzium als Phosphat zu einem Speichelersatzmittel hinzu gegeben werden.

6.4 Veränderungen der Läsionstiefen

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass sich die Läsionstiefen entweder vergrößerten oder bei den Lösungen, welche einen signifikanten Mineralgewinn verzeichneten sich nicht signifikant verringerten. In der Literatur wurde beschrieben, dass bei einer Lösung mit 3 mM Kalzium nur die oberflächliche Schicht remineralisierte. Eine Porenverringerng in der gesamten Läsion erfolgte nur zu 17 %. Da die hoch konzentrierte Kalziumlösung in Bezug auf OCP und HAP übersättigt war, fielen die leicht löslichen Verbindungen früher als HAP aus und blockierten die Oberflächenschicht (SILVERSTONE et al. 1981). In weiteren Studien wurde beschrieben, dass der in den nativen Zahnhartgeweben vorhandene Mineralgehalt direkt den Mineralgehalt der Läsionen und die maximale Wiedererhärtung bestimmt (GROENEVELD et al. 1975; WHITE et al. 1988). Des Weiteren wurde beschrieben, dass eine Stagnation der Läsionstiefe nach einem Remineralisationsversuch Mineraleinlagerungen nicht ausschließt, denn es wurde keine signifikante Veränderung der Tiefe artifizierlicher Läsionen nach einer nachweislich stattgefundenen Remineralisation festgestellt (KLINGER und WIEDEMANN 1985).

6.5 Verwendung von Leinsamenlösungen als Speichelersatzmittel

Speichelersatzmittel wurden vor allem für die Linderung der Beschwerden entwickelt (MATZKER und SCHREIBER 1972). Jedoch wird die Akzeptanz dieser Speichelersatzlösungen in der Literatur kontrovers diskutiert (OLSSON und AXELL 1991; VISCH et al. 1986; VISSINK et al. 1983), dabei handelte es sich jedoch

hauptsächlich um Produkte auf der Basis von CMC oder Muzin. In weiteren Untersuchungen wurde das Speichelersatzmittel Salinum[®] alleine und auch im Vergleich zu einem Ersatzmittel auf CMC-Basis *in vivo* untersucht. Dabei linderte Salinum[®] sowohl bei einer größeren Anzahl von Patienten als auch über einen längeren Zeitraum die Beschwerden einer Xerostomie als das Vergleichspräparat. Diese für den Untersucher blind durchgeführte Studie konnte ebenso einen positiven Effekt auf die Plaque- und Blutungsindices aufzeigen (ANDERSSON et al. 1995; JOHANSSON et al. 1994). Des Weiteren zeigte Salinum[®] eine gute Tendenz zur Ausbildung von Filmen zwischen Zahn/Flüssigkeit und Luft/Flüssigkeit. Diese Fähigkeit, einen Film sowohl auf hydrophoben als auch auf hydrophilen Oberflächen bilden zu können, ist eine wichtige Voraussetzung, um als Speichelersatzmittel geeignet zu sein. Es bedarf allerdings weiterer Studien, die in dieser Arbeit angesetzten Lösungen auf die gleiche Fähigkeit und auf die Substantivität zu kontrollieren. In In-vivo-Untersuchungen müssten außerdem die Akzeptanz hinsichtlich des Geschmackes und die Wirksamkeit zur Linderung der Symptomaten einer Xerostomie zu lindern, überprüft werden.

Bei der Messung der Viskosität wurden für Salinum[®] die bereits in der Literatur beschriebenen Werte ermittelt (Tabelle 11) (CHRISTERSSON et al. 2000). Diese im Vergleich zu den selbst angesetzten Leinsamenlösungen relativ hohe Viskosität könnte die Mineralisationseigenschaften ebenfalls beeinflusst haben, da beschrieben wurde, dass bei zunehmender Viskosität eine geringere Remineralisation zu erwarten ist (AMAECHI und HIGHAM 2001; FEATHERSTONE 1984; VISSINK et al. 1985b). Dieser Aspekt sollte in weiteren Studien näher betrachtet werden.

Die Viskosität einer Leinsamenlösung wird bei der Zugabe von Elektrolyten vermindert. Dies geschieht durch die Unterdrückung der intramolekularen Abstoßung und bewirkt eine Zusammenziehung der Polysaccharidmoleküle (FEDENIUK und BILIADERIS 1994). In dieser Studie wurde ebenfalls eine geringe Verringerung der Viskosität bei der Zugabe von Elektrolyten festgestellt. Diese ist jedoch für eine ausreichende Substantivität eines Speichelersatzmittels wichtig.

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde der Einfluss von Olivenöl auf demineralisiertem Dentin untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass die Fähigkeit, einen lipidhaltigen Film auf der Oberfläche von Schmelz und Dentin zu bilden, eine Verlangsamung der Diffusion von kariogenen Substanzen bewirkt. In Vergleich zu

destilliertem Wasser verursachte Olivenöl eine signifikante Verminderung der Demineralisation von Dentin (BUCHALLA et al. 2003). Diese Ergebnisse stellen eine Grundlage für die vorliegende Studie dar, denn das Vorhandensein von Lipiden, auch wenn der genaue protektive Schutzmechanismus noch nicht bekannt ist, bewirkt mit einer optimalen Kalzium-, Phosphat- und Fluoridkonzentration eine Remineralisation. Dies spiegeln auch die Ergebnisse der vorliegenden Studie wieder. In der Medizin wird Leinsamen bereits seit langem als Therapiemaßnahme bei Obstipation angewendet. Eine mögliche Diarrhøe als Nebenwirkung bei der täglichen Einnahme kann ausgeschlossen werden, da auch bei häufiger Anwendung die in den Magen-Darmtrakt gelangenden Bestandteile nur sehr gering sind. Des Weiteren wurden keine anderen Nebenwirkungen bei der Einnahme von Leinsamen beschrieben (WICHTL 1997).