

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

DISSERTATION

**Untersuchung zum Einfluss von Magnesium und Karbonat
auf die demineralisierenden Eigenschaften niedrig- und
hochvisköser Lösungen auf demineralisierten Schmelz
*in vitro***

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Barbara Izabela Sochaczewski
aus Wyrzysk (Polen)

Datum der Promotion: 14.02.2014

Von Herzen und mit Dank
meinem Ehemann Florian
und meiner Familie
gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1	Abstrakt.....	1
2	Abstract.....	2
3	Einleitung.....	3
4	Literaturübersicht	4
4.1	Aufbau und Zusammensetzung von gesundem Zahnschmelz.....	4
4.2	Vergleich von humaner und boviner Zahnhartsubstanz	4
4.3	Grundlagen der Kariesätiologie	5
4.4	Zusammensetzung und Funktion von Speichel.....	7
4.5	Aufbau der Speicheldrüsen und Speichelsekretion	8
4.6	Speicheldrüsenerkrankungen und Sekretionsstörungen	9
4.7	Hyposalivation und Xerostomie – Ätiologie und Pathogenese	10
4.8	Die sogenannte Strahlenkaries	11
4.9	Therapiemöglichkeiten bei Hyposalivation	13
4.10	Speichelersatzmittel und ihre Wirkung auf Zahnhartsubstanzen.....	14
4.11	Rheologisches Verhalten von Speichelersatzmitteln	18
4.12	Magnesium und Karbonat	19
4.12.1	Bestandteil von Zahnhartsubstanzen.....	19
4.12.2	Einfluss auf De- und Remineralisationsprozesse	20
5	Ziel der Arbeit und Arbeitshypothese.....	24
6	Material und Methoden	25
6.1	Vorbereitung und Demineralisation der Schmelzproben	25
6.2	Herstellung der Lösungen zur Lagerung und Durchführung der Versuche.....	27
6.3	Vorbereitung der Proben für die Mikroradiografie.....	28
6.4	Transversale Mikroradiografie.....	29
6.5	Mikroradiografische Untersuchung/Auswertung.....	31
6.6	Statistische Auswertung	31
6.7	Berechnung der Sättigung von DKPD, OKP und HA.....	32
6.8	Kalzium- und Magnesiumbestimmung	32
7	Ergebnisse.....	33
7.1	Quantitative Auswertung.....	33
7.1.1	Mineralverlust Schmelz.....	33

7.1.2 Läsionstiefe Schmelz	34
7.2 Ergebnisse der Sättigungsberechnung für DKPD, OKP und HA.....	35
7.3 Ergebnisse der Kalzium- und Magnesiumbestimmung.....	36
7.4 Qualitative Auswertung	36
8 Diskussion	41
9 Schlussfolgerungen.....	46
10 Literaturverzeichnis	47
11 Anhang.....	55
11.1 Abkürzungsverzeichnis.....	55
11.2 Liste der verwendeten Materialien	58
11.3 Eidesstattliche Versicherung.....	61
11.4 Lebenslauf.....	62
11.5 Danksagung	63

1 Abstrakt

Problemstellung: Die symptomatische Behandlung von Beschwerden, die durch eine Hyposalivation verursacht werden, erfolgt meist durch die Anwendung von Speichelersatzmitteln. **Zielsetzung:** Ziel der Studie war, den Einfluss von Magnesium und Karbonat auf die demineralisierenden Eigenschaften von niedrig- und hochviskösen Lösungen (potentielle Speichelersatzmittel) auf demineralisierten bovinen Zahnschmelz *in vitro* zu untersuchen. **Material und Methoden:** Für die Untersuchung wurden 128 Schmelzproben aus den Labialflächen von 50 frisch extrahierten Rinderfrontzähnen präpariert. Die Proben wurden in Kunstharz eingebettet, unter ständiger Wasserkühlung poliert und teilweise mit Nagellack abgedeckt (Kontrollbereich). Anschließend erfolgte eine Lagerung in einer Demineralisationslösung für 16 Tage (37 °C, pH 4,95). Im Anschluss wurde ein Teil des demineralisierten Bereichs erneut mit Nagellack abgedeckt. Die einzelnen Gruppen (n=16) wurden dann für 5 (Effekt 1) bzw. 10 (Effekt 2) Wochen in den verschiedenen niedrig- und hochviskösen Lösungen gelagert, wobei alle zwei Tage die Lösungen erneuert und der pH kontrolliert wurden. Nach Abschluss der Lagerung wurden Dünnschliffe von den Proben angefertigt und die Mineralverluste und Läsionstiefen mikroradiografisch ausgewertet. Zusätzlich wurden in den Ausgangslösungen die Sättigungen von Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD), Oktakalziumphosphat (OKP) und Hydroxylapatit (HA) berechnet und eine Kalzium- und Magnesiumbestimmung durchgeführt. **Ergebnisse:** In den Gruppen 2 (niedrigvisköses [N] Magnesium [Mg]), 3 (N Karbonat [CO₃]), 4 (N Mg/CO₃) und 7 (hochvisköses [H] CO₃) kam es nach 5 Wochen zu einem signifikanten Mineralverlust. Nach 10 Wochen wurde eine signifikante Zunahme des Mineralverlustes in den Gruppen 1 (N), 2 (N Mg), 4 (N Mg/CO₃), 5 (H) und 7 (H CO₃) beobachtet. In allen Gruppen kam es zu einer signifikanten Zunahme der Läsionstiefe nach 5 und 10 Wochen. Alle Lösungen waren bezüglich DKPD, OKP und HA ungesättigt (Sättigung < 1). Die Magnesium- und Kalziumbestimmung ergab Werte, die deutlich unter den hinzugefügten Mengen lagen. **Schlussfolgerungen:** Magnesium und/oder Karbonat in den niedrigviskösen Lösungen führten zu keinem Effekt. Im hochviskösen Medium zeigte Karbonat keinen Einfluss, während Magnesium einen hemmenden Einfluss auf die Demineralisation zeigte. Die Verwendung des Zitratpuffers führte vermutlich zu einer Kalziumbindung und damit zu bezüglich DKPD, OKP und HA ungesättigten Lösungen.

Schlagwörter: Magnesium, Karbonat, Speichelersatzmittel, Demineralisation

Klinische Bedeutung: Ein positiver Einfluss auf humanen Zahnschmelz durch die Zugabe von Magnesium zu Speichelersatzmitteln wäre denkbar. Eine Zugabe von Karbonat scheint nicht sinnvoll. Zitratpuffer scheint bei kalziumabhängigen Reaktionen ungeeignet.

2 Abstract

Statement of problem: The symptomatic treatment of discomforts caused by hyposalivation mostly occurs by the application of artificial saliva substitutes.

Objectives: The aim of this study was to investigate the influence of magnesium and carbonate on the demineralizing capacities of low and high viscous solutions (potential artificial saliva substitutes) on predemineralized bovine enamel *in vitro*. **Materials and**

methods: For this investigation 128 enamel specimens were prepared from the labial surfaces of 50 freshly extracted bovine incisors. The specimens were embedded in epoxy resin, polished under constant water cooling and partially covered with nail varnish (control area). Subsequently, storage in a demineralization solution for 16 days (37 °C, pH 4,95) took place. Then the demineralized area was again partially covered with nail varnish. The individual groups (n=16) were then stored for 5 (effect 1) and 10 (effect 2) weeks in the different low and high viscous solutions, changing the solutions and controlling the pH every two days. After the end of the storage thin sections of the specimens were prepared and the mineral loss and the lesion depth were evaluated by contact microradiography. Additionally, the saturation in the solutions of dicalcium phosphate dihydrate (DCPD), octacalcium phosphate (OCP) and hydroxyapatite (HA) was calculated and a determination of magnesium and calcium was executed before storage. **Results:** In group 2 (low viscous [N] magnesium [Mg]), 3 (N carbonate [CO₃]), 4 (N Mg/CO₃) and 7 (high viscous [H] CO₃) a significant mineral loss after storage for 5 weeks occurred. After 10 weeks a significant increase of the mineral loss was observed in group 1 (N), 2 (N Mg), 4 (N Mg/CO₃), 5 (H) and 7 (H CO₃). In all groups a significant increase of the lesion depth occurred after storage for 5 and 10 weeks. All solutions were undersaturated regarding DCPD, OCP and HA (saturation<1). The determination of magnesium and calcium revealed measured values noticeably below the added amounts. **Conclusions:** Magnesium and/or carbonate had no effect in the low viscous solutions. In a high viscous medium carbonate showed no effect, while magnesium had an inhibitory effect on demineralization. The use of citrate buffer led presumably to a binding of calcium and therefore resulted in undersaturated solutions regarding DCPD, OCP and HA.

Keywords: magnesium, carbonate, saliva substitute, demineralization

Clinical significance: A positive influence on human enamel by addition of magnesium to saliva substitutes seems possible. An addition of carbonate seems not useful. Citrate buffer seems unsuitable for reactions depending on calcium.

3 Einleitung

Der Begriff der Hyposalivation beschreibt die objektivierbare Abnahme der Speichelsekretion [Chiappin et al. 2007]. Für die Hyposalivation sind diverse Ursachen bekannt. Selten sind entwicklungsbedingte Störungen wie z. B. eine Aplasie der Speicheldrüsen [Drummond und Chisholm 1984], deutlich häufiger kommen die Einnahme bestimmter Medikamente (über 400 verschiedene) [Tschoppe et al. 2010] oder systemische Erkrankungen wie z. B. Diabetes mellitus vor [Mese und Matsuo 2007]. Am häufigsten tritt eine Hyposalivation nach tumortherapeutischer Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich durch irreversible Zerstörung des Drüsenparenchyms auf [Kielbassa und Schilli 1997]. Dabei kommt es zu einer Einschränkung der Lebensqualität der Betroffenen durch das Auftreten von Dysphagie, Geschmacksverlust oder -veränderung, Sprachproblemen und deutlich erhöhtem Kariesrisiko [Jongebloed et al. 1988; Kielbassa et al. 2006a; Dirix et al. 2008].

Eingesetzte Speichelersatzmittel sollten aus zahnmedizinischer Sicht nicht nur eine subjektive Linderung der Beschwerden für den Betroffenen bewirken, sondern die Zahnhartsubstanzen möglichst nicht schädigen und im Idealfall vorhandene initiale Läsionen remineralisieren und vor weiterem Mineralverlust schützen. Durchgeführte In-vitro-Untersuchungen zeigten ein hohes Demineralisierungspotential handelsüblicher Speichelersatzmittel [Kielbassa und Shohadai 1999; Kielbassa et al. 2000; Meyer-Lueckel et al. 2002; Meyer-Lueckel et al. 2006]. Durch die Modifikation von Speichelersatzmitteln, z. B. durch Kalzium- und Phosphatsupplementation, Zugabe von Fluorid oder Einstellung unterschiedlicher Viskositäten, ist eine Veränderung der de- oder remineralisierenden Eigenschaften bezogen auf die Zahnhartsubstanzen möglich [Vissink et al. 1985, Meyer-Lueckel et al. 2007, Tschoppe et al. 2009a].

Studien, die sich mit De- und Remineralisationsprozessen befassten, zeigten einen Einfluss von Magnesium und Karbonat. Karbonat förderte die Umwandlung von Oktakalziumphosphat zu Apatit; das Endprodukt war jedoch karbonathaltig, und Magnesium hat diese Umwandlung gehemmt [LeGeros et al. 1989; Ban et al. 1993]. Auch ein gegenseitiger Einfluss von Magnesium und Karbonat wurde bereits beobachtet, wobei je nach eingestelltem pH-Wert ein synergistischer Effekt oder eine gegenseitige Aufhebung der Wirkung beobachtet wurden [Cao und Harris 2008]. Bereits sehr geringe Magnesiumkonzentrationen (10 μM) bewirkten einen hemmenden Effekt auf die Mineralisation [Saito et al. 2003]. Somit könnte die Zugabe von Magnesium und/oder Karbonat zu Speichelersatzmitteln einen positiven Einfluss auf deren Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen haben, aber auch zu einer negativen Wirkung führen.

Ziel dieser Studie war es daher, den Einfluss von Magnesium und Karbonat auf die demineralisierenden Eigenschaften von niedrig- und hochviskösen Lösungen auf demineralisierten bovinen Zahnschmelz *in vitro* zu untersuchen.

4 Literaturübersicht

4.1 Aufbau und Zusammensetzung von gesundem Zahnschmelz

Ausgereifter humaner Zahnschmelz besteht zu ca. 93 Gew.% aus anorganischen (mineralischen) Verbindungen und zu etwa 3 Gew.% aus Wasser. Organische Verbindungen wie Proteine und Lipide bilden die restlichen etwa 4 Gew.% der Substanz [Sauerwein 1974]. Der anorganische Anteil setzt sich vorwiegend aus Kalzium und Phosphor, mit geringen Anteilen von Natrium, Magnesium, Chlor und Kalium, zusammen [Schroeder 1992]. Das Verhältnis von Kalzium und Phosphor schwankt zwischen 1,8 und 2,4. Das Schmelzmineral liegt als Apatitverbindungen in Form kleiner Kristalle vor, wobei es sich um nicht stöchiometrische Verbindungen der Formel $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ handelt [Sauerwein 1974; Schroeder 1992]. Durch Substitution der Hydroxylgruppen können Fluorapatit oder fluoridiertes Hydroxylapatit mit einer stabileren Kristallgitterstruktur, aber auch karboniertes Apatit mit einer gegenüber einem kariösen Angriff weniger resistenten Kristallgitterstruktur entstehen [Sauerwein 1974; LeGeros 1991]. Auch eine Reihe von Spurenelementen (wie z. B. Vanadium, Mangan oder Molybdän) sind in ausgereiftem Schmelz vorhanden [Schroeder 1992].

Humaner Zahnschmelz ist die härteste Substanz des menschlichen Körpers (5-8 in der Mohsschen Härteskala; 260-360 KHN, Knoop-Härtenummern; 300-430 VH, Vickershärte) [Schroeder 1992]; durch einen hohen Elastizitätsmodul, aber eine geringe Zugfestigkeit ist Schmelz gleichzeitig jedoch auch die sprödeste Zahnhartsubstanz [Schumacher und Schmidt 1983; Gwinnett 1992].

Sowohl die Härte als auch die Schmelzzusammensetzung variieren an verschiedenen Stellen eines Zahnes. So nimmt die Härte zur Schmelz-Dentin-Grenze hin ab. Die Konzentrationen von Fluorid, Chlor und Kalzium nehmen von der Schmelzoberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze ab, während die Konzentrationen von Wasser, Karbonat, Magnesium und Natrium zur Schmelzoberfläche hin abnehmen [Schroeder 1992].

4.2 Vergleich von boviner und humaner Zahnhartsubstanz

Die Gewinnung von unversehrten und kariesfreien sowie ausreichend großen Proben für Untersuchungen von Zahnhartsubstanzen gestaltet sich häufig schwierig; deshalb eignen sich Rinderzähne sehr gut zur Substitution von menschlichen Zähnen [Gente et al. 1985]. Boviner und humaner Zahnschmelz zeigen eine ähnliche Zusammensetzung. Bei bovinem Zahnschmelz liegen ein gemessener Kalziumgehalt von 31,1 %, ein Phosphatgehalt von 15,5 % und ein Magnesiumgehalt von 0,4 % vor. Die gemessenen Werte für humanen Zahnschmelz von 35 % Kalzium, 16,8 % Phosphor und 0,2 %

Magnesium zeigen eine nur kleine Abweichung [Esser et al. 1998]. Die Kalziumverteilung ist bei bovinem und humanem Schmelz sehr ähnlich, mit einer Abnahme der Kalziumkonzentration von der Schmelzoberfläche in Richtung Schmelz-Dentin-Grenze [Davidson et al. 1973].

Auch der lineare thermische Ausdehnungskoeffizient für Rinderschmelz stimmt mit dem Wert für nassen menschlichen Zahnschmelz überein ($\alpha = (11,2 \pm 0,6) \times 10^{-6} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$) [Gente et al. 1985]. Zwar konnten Unterschiede in der histologischen Struktur nachgewiesen werden (unterschiedliche Anordnung der Schmelzprismen, größerer interprismatischer Bereich bei bovinem Schmelz), aber dennoch zeigen Schmelzläsionen bei bovinem und humanem Schmelz eine ähnliche und vergleichbare Struktur [Edmunds et al. 1988; Reeh et al. 1995]. Durch diesen histologischen Unterschied und eine etwas geringere Härte des bovinen Zahnschmelzes [Reeh et al. 1995] entstehen kariöse Läsionen in bovinem Schmelz etwa doppelt so schnell [Edmunds et al. 1988].

Ein Vorteil von bovinen Schmelzproben für Studien ist die verglichen mit humanem Schmelz homogenere Kalziumverteilung [Davidson et al. 1973]. Eine Eignung von bovinem Zahnschmelz als Ersatz für humanen Schmelz wurde in mehreren Untersuchungen belegt [Edmunds et al. 1988; Reeh et al. 1995].

4.3 Grundlagen der Kariesätiologie

Karies ist die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanzen. Die Zahnkaries ist ein lokalisierter pathologischer Vorgang (Krankheit) bakteriellen Ursprungs, der mit einem fortschreitenden Verfall (Demineralisation) der Zahnhartsubstanzen einhergeht und schließlich zur Höhlenbildung (Kavität) führt [Baume 1962; FDI 1976]. MILLER stellte 1898 erstmals seine chemoparasitäre Theorie zur Kariesentstehung vor. Diese wurde im Laufe der Jahre weiter untersucht und erweitert und gilt heute als allgemein akzeptiert.

Durch das Zusammentreffen und -wirken von kariogenen Mikroorganismen und Substrat bei einem Wirt (mit vorhandenen Zähnen) über eine bestimmte Zeit kann es zur Entstehung einer Karies kommen [König 1987; Klimm 1997]. Sekundäre Faktoren wie Speichelfluss und -zusammensetzung, Dauer und Häufigkeit der Substratzufuhr, Immunabwehr des Wirts, Zahnfehlstellungen und -bildungen sowie sozioökonomische und verhaltensbezogene Komponenten können ebenfalls einen Einfluss auf die Entstehung und das Fortschreiten einer Karies haben (Abb. 1) [König 1987; Klimm 1997].



Abb.1: Schematische Darstellung der vier Grundvoraussetzungen für die Entstehung kariöser Läsionen und weiterer Einflussfaktoren [in Anlehnung an König 1987].

Zunächst kommt es durch Anheftung von Mikroorganismen an die Pellikel und/oder die Zahnoberfläche und anschließende intermikrobielle Adhäsion und das Wachstum von Mikroorganismen zur Ausbildung einer Plaque [Klimm 1997]. Bakterielle Plaque ist eine weiche, variabel dicke, dicht verfilzte Auflagerung, die aus verschiedenen Bakterien und einer Matrix (bakterielle Produkte, Speichelkomponenten) besteht [Schroeder 1983]. Durch anschließende Zufuhr kohlenhydrathaltiger Speisen kommt es durch Verstoffwechslung (Glykolyse) der Kohlenhydrate durch die in der Plaque vorhandenen Mikroorganismen zur Bildung organischer Säuren wie z. B. Laktat und Propionat. Dabei sinkt der pH-Wert in der Plaque. Sinkt er in oder unter den kritischen Bereich (für Zahnschmelz 5,2-5,7), kommt es zu einem Mineralverlust aus der Zahnoberfläche. Vor allem Kalzium und Phosphat gehen verloren [König 1987; Klimm 1997].

Mikroorganismen, die eine entscheidende Rolle bei der Kariesentstehung spielen, sind Streptokokken, vor allem die Streptococcus mutans-Gruppe, Laktobazillen, Aktinomyzeten und Veillonellen [Klimm 1997]. Hervorzuheben ist Streptococcus mutans, der sowohl azidogen als auch selbst säuretolerant ist [Featherstone 2004].

Kommt es durch häufige Kohlenhydratzufuhr zu regelmäßigem pH-Wert-Abfall in oder unter den kritischen Bereich, erhöht sich das Kariesrisiko deutlich. [Featherstone 2004]. Das vorhandene Gleichgewicht von Demineralisation und Remineralisation, das stark vom Speichelfluss sowie seiner Zusammensetzung abhängt, kann sich in Richtung fortschreitender Demineralisation entwickeln und zur Ausbildung einer manifesten Karies führen [Driessens und Wöltgens 1986].

4.4 Zusammensetzung und Funktion von Speichel

Speichel wird von den drei großen paarigen Speicheldrüsen (Gl. parotis, Gl. submandibularis, Gl. sublingualis) und den kleinen Speicheldrüsen (Gll. buccales, Gll. palatinae, Gll. labiales, Gll. linguales) sezerniert [Klimm 1997]. Dabei variieren die Mengenangaben des sezernierten Speichels in der Literatur zum Teil erheblich. Die Angaben liegen zwischen 700 ml/Tag bis zu 1000-1500 ml/Tag [Sauerwein 1974; Imfeld 1984a]. Es wird zudem zwischen unstimuliertem Speichelfluss (in Ruhe) und stimuliertem Speichelfluss (durch Kautätigkeit, Geschmacks- und Geruchsreize) unterschieden [Edgar und Mullane 1990]. Bei normalem Speichelfluss werden >0,25 ml/min Speichel in Ruhe sezerniert; die Werte für stimulierten Speichelfluss liegen bei >1,0 ml/min [Nederfors 2000].

Speichel wurde von SREEBNY 1989 als *Aqua vitae* der Mundhöhle bezeichnet [Sreebny et al. 1989]. Damit wird auf die umfangreiche Bedeutung und die vielfältigen Funktionen des Speichels hingewiesen. Speichel besteht zu 99,4 % aus Wasser und zu 0,6 % aus löslichen organischen und anorganischen sowie unlöslich geformten Stoffen [Imfeld 1984a]. Zu den anorganischen Bestandteilen gehören Elektrolyte wie Kalzium, Phosphat, Natrium, Magnesium, Natrium, Kalium und Chlorid. Zu den organischen Inhaltsstoffen gehören Enzyme wie Amylase oder Lysozym, Proteine und Glykoproteine sowie Immunglobuline [Imfeld 1984a; König 1987; Lagerlöf und Oliveby 1994]. Die Funktionen der einzelnen Bestandteile des Speichels sind im Überblick in Tabelle I dargestellt.

Die Zusammensetzung des Speichels kann in Abhängigkeit von Sekretionsrate, Stimulationsdauer und -grad und nach vorherrschender sezernierender Drüse variieren. Auch diätetische Einflüsse und ein zirkadianer Rhythmus wurden festgestellt [Imfeld 1984a; Whelton 1990]. Speichel ist hypotonisch [Imfeld 1984a]. Sein pH-Wert liegt im Bereich von 6,0-7,5 [Klimm 1997]. Eine Übersättigung an Kalziumphosphaten im Bereich des physiologischen Speichel-pH liegt vor [Larsen und Pearce 2003]. Der sezernierte Speichel kann, je nach vorherrschender Drüse, serös (dünnflüssig) oder mukös (zähflüssig) sein, auch Mischformen (seromukös oder mukoserös) sind möglich

Tab I: Speichelbestandteile und deren Funktion

Speichelbestandteile	Funktion
Gesamtflüssigkeit	Spülfunktion/Clearance, Mukosalubrifikation (Phonetik), Gleitmittel für Kau- und Schluckakt
Bikarbonat, Phosphat, Proteine	Pufferung von Säuren
Glykoproteine, Muzine	Beschichtung der Zahnoberflächen und der Mundschleimhaut (durch Viskoelastizität)
Phosphat, Kalzium, Fluorid, Statherin	(Re-)Mineralisation der Zahnhartsubstanzen
Amylase, Proteasen	Vorverdauung durch Spaltung von Stärke in Maltose und Grenzdextrine
Immunglobulin A, Lysozym, Laktoferrin, Laktoperoxidase	Antibakterielle Wirkung/Immunabwehr

[Klimm 1997]. Der Speichel wird steril in den Mund abgegeben. Es erfolgt sofort eine Kontamination mit Mikroorganismen, wobei die Zusammensetzung der Mikroflora in der Mundhöhle ähnelt. In 1 ml Speichel sind etwa 10^8 - 10^9 Mikroorganismen vorhanden [Van Houte und Green 1974].

4.5 Aufbau der Speicheldrüsen und Speichelsekretion

Die Speicheldrüsen werden in die großen paarigen und die kleinen Speicheldrüsen unterteilt. Zu den großen zählen die Gl. parotis, Gl. submandibularis und Gl. sublingualis. Die kleinen Speicheldrüsen liegen bukkal (Gll. buccales), palatinal (Gll. palatinae), labial (Gll. labiales) und lingual (Gll. linguales) in der Mundhöhle verteilt [Klimm 1997]. Die Drüsen bestehen aus Endstücken (Azini) und aus Ausführungsgängen (Schalt- und Streifenstücke). Kleinere Ausführungsgänge vereinigen sich zu größeren und schließlich zum Hauptausführungsgang der jeweiligen Speicheldrüse. Das Drüsenparenchym ist durch Bindegewebssepten in Lappen und Läppchen (Lobuli) gegliedert. In den Bindegewebssepten verlaufen größere Ausführungsgänge, Blutgefäße und Nerven [Lüllmann-Rauch 2003].

In den Azini wird der so genannte Primärspeichel sezerniert. Dieser ist isoton (Ionenkonzentration wie im Blut). Bei der Passage des Primärspeichels durch die Ausführungsgänge werden Ionen wie Na^+ und Cl^- aus dem Drüsenlumen resorbiert und K^+ und HCO_3^- sezerniert. Dabei entsteht der hypotone Sekundärspeichel bzw. endgültige Speichel, da aufgrund der Epithelbeschaffenheit im Streifenstück kein Wasser nachfolgen kann [Huppelsberg und Walter 2003; Lüllmann-Rauch 2003].

In Ruhe (unstimulierter Speichel) werden etwa 70 % der täglichen Speichelmenge von den Gll. submandibulares produziert, etwa 25 % von den Gll. parotidea, etwa 3 % von den Gll. sublinguales sowie etwa 2 % von den kleinen Speicheldrüsen. Die Gl. parotis verfügt über die größte Reservekapazität, so dass sich bei Stimulation vor allem der Parotisanteil des Speichels erhöht [Samandari und Mai 1995; Imfeld 1984a].

Je nach Beschaffenheit des transportierenden Epithels der Azini sezernieren die Speicheldrüsen ein seröses (dünnflüssiges und proteinreiches) oder ein muköses (zähflüssiges und muzinreiches) Sekret oder eine Mischform [Lüllmann-Rauch 2003]. Das Sekret der Gl. parotis ist serös, das der Gl. sublingualis vorwiegend mukös und das der Gl. submandibularis seromukös (vorwiegend serös) [Klimm 1997].

Die Speichelproduktion ist primär nervös gesteuert. Eine autonome Innervation von Sympatikus und Parasympatikus erfolgt, wobei die Komponente des Parasympatikus stärker und sekretorisch wirkt und zu reichlicher Produktion eines eher dünnen Speichels führt. Die Sympatikus-Komponente ist schwächer und führt zur Produktion einer kleineren Menge eines zähflüssigen Speichels [Imfeld 1984a; Huppelsberg und Walter 2003]. Beteiligt sind die Fasern des VII. und IX. Hirnnervs (Parasympatikus) und die postganglionären Fasern des Ganglion cervicale superior (Sympatikus). Die Speichelproduktion kann durch emotionelle und psychische Faktoren und durch konditionierte und unkonditionierte Reflexe (z. B. Geruch, Mastikation) beeinflusst werden [Imfeld 1984a].

4.6 Speicheldrüsenerkrankungen und Sekretionsstörungen

Eine Reihe von Speicheldrüsenerkrankungen ist bekannt. Sie können als alleinige Erkrankungen auftreten oder sind Teil einer Allgemeinerkrankung oder eines Syndroms [Chisholm und Mason 1975]. Die meisten führen zu einer eingeschränkten Funktion und somit zu einer Sekretionsstörung bezogen auf Speichelmenge und/oder -zusammensetzung der jeweiligen Drüse(n).

Die entzündlichen Erkrankungen der Speicheldrüsen können in bakteriell und viral bedingte sowie akute und chronische Erkrankungen eingeteilt werden [Reuther und Kübler 2002]. Diese Sialadenitiden führen meist zu einer schmerzhaften Schwellung der betroffenen Drüse(n). Die akuten Sialadenitiden sind meist bakteriell (z. B. Parotitis durch Streptokokken und Staphylokokken) oder viral (z. B. Parotitis epidemica [Mumps]) bedingt. Chronische Sialadenitiden können bakteriell bedingt sein (häufig ist die Gl. parotis betroffen) oder zur Gruppe der obstruktiven oder radiogenen Sialadenitiden gehören [Reuther und Kübler 2002].

Obstruktive Speicheldrüsenentzündungen sind die häufigsten chronischen Sialadenitiden, Hauptursache sind Gangobstruktionen durch Speichelsteine [Reuther und Kübler 2002]. Radiogene Sialadenitiden treten durch eine Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich im Rahmen einer Tumortherapie auf. Dabei kommt es nach einer entzündlichen Reaktion meist auch zu einer irreversiblen Zerstörung des Drüsenparenchyms vorwiegend im Bereich der Azini. Die Gl. parotis ist dabei deutlich strahlensensibler als die Gl. submandibularis und sublingualis [Nederfors 2000].

Die Sialadenosen sind im Gegensatz zu den Sialadenitiden nichtentzündliche parenchymatöse Erkrankungen der Speicheldrüsen, die mit schmerzlosen Schwellungen und Sekretionsstörungen einhergehen [Reuther und Kübler 2002]. Eher selten treten angeborene Fehlbildungen oder Nichtanlage der Speicheldrüsen auf. Auch Neoplasien der Speicheldrüsen sind selten (etwa 3 % aller Tumoren) [Chisholm und Mason 1975].

Das Sjögren-Syndrom ist eine Autoimmunerkrankung, die sich durch die Hauptkomponenten Hypergammaglobulinämie, immunologische Veränderungen, Speicheldrüsenanschwellungen und milde Arthritis auszeichnet [Imfeld 1984a]. Dabei kommt es zur Ausbildung der Symptomen-Trias Keratokonjunktivitis sicca, Xerostomie und rheumatische Arthritis [Chisholm und Mason 1975]. Durch eine diffuse lymphozytäre Infiltration der Drüsen kann es bis zu einer totalen Zerstörung des Parenchyms und der Ausführungsgänge kommen [Imfeld 1984a].

Die genannten Speicheldrüsenerkrankungen und Sekretionsstörungen können zu einer Hyposalivation (oder zumindest einer subjektiv empfundenen Xerostomie) mit entsprechenden Symptomen für den Betroffenen führen sowie zu entsprechenden negativen Folgen für die Zahnhartsubstanzen und die Mundschleimhäute [Nederfors 2000].

4.7 Hyposalivation und Xerostomie – Ätiologie und Pathogenese

Der Begriff der Hyposalivation beschreibt die Abnahme der Speichelfließrate auf Werte von $<0,1$ ml/min bei unstimuliertem Speichelfluss und $<0,7$ ml/min bei stimuliertem Speichelfluss [Nederfors 2000]. Die Xerostomie hingegen meint das subjektive Empfinden von Mundtrockenheit [Nederfors 2000].

Eine mögliche Ursache ist die Einnahme bestimmter Medikamente. Über 400 Medikamente, darunter Antidepressiva, Psychopharmaka, Antihistaminika, Diuretika, Antihypertensiva können zu einer Hyposalivation führen [Atkinson et al. 2005; Tschoppe et al. 2010]. Dabei können sowohl die Menge der eingenommenen Medikamente als auch der Tageszeitpunkt einen Einfluss auf die Ausprägung von Hyposalivation und Xerostomie haben [Napenas et al. 2009].

Eine Reihe systemischer Erkrankungen kann zu einer Hyposalivation oder Xerostomie führen. Dazu gehören Autoimmunerkrankungen wie z. B. das Sjögren-Syndrom, der systemische Lupus erythematosus oder die Sarkoidose, endokrinologische Erkrankungen wie z. B. Diabetes mellitus, neurologische Erkrankungen wie z. B. Parkinson oder Alzheimer oder auch Infektionserkrankungen wie z. B. HIV/AIDS [Nederfors 2000; Atkinson et al. 2005].

Eine weitere mögliche Ursache ist die Strahlentherapie im Kopf-Hals-Bereich im Rahmen einer Tumorbehandlung [Tschoppe et al. 2010]. Wenn die großen Speicheldrüsen im Bestrahlungsfeld liegen, kommt es zu einer Funktionsstörung der jeweiligen Speicheldrüse durch eine Degeneration, Atrophie und Nekrose der Azini und durch eine chronische Entzündung. Dadurch bedingt kommt es zu einem Verlust des Drüsenparenchyms, der die Hauptursache für die Funktionseinschränkung oder den -verlust darstellt [Guchelaar et al. 1997]. Das Ausmaß der Dysfunktion ist vom Bestrahlungsfeld, vom Ausgangszustand und von der Ausgangsfunktion der Speicheldrüsen sowie von der Bestrahlungsdosis abhängig [Guchelaar et al. 1997]. Ab einer Bestrahlungsdosis von 25-40 Gy kommt es bereits zu irreversiblen Schäden an der Gl. parotis, die strahlensensibler ist als die übrigen Speicheldrüsen. Bei einer häufig angewandten therapeutischen Dosis von 60-70 Gy kommt es entsprechend zu ausgeprägter Degeneration des Drüsengewebes der Speicheldrüsen [Kielbassa et al. 2006a].

Seltene Ursache der Hyposalivation ist eine Agenesie oder Aplasie der Speicheldrüsen [Drummond und Chisholm 1984].

Durch die oben aufgeführten Ursachen kann es nicht nur zu einer Abnahme der Speichelfließrate, sondern auch zu einer veränderten Speichelzusammensetzung kommen. Eine Strahlentherapie führt zu einer verringerten Bikarbonat-Konzentration und zu einer erhöhten Na^+ -, Cl^- -, Ca^{2+} -, Mg^{2+} - und Protonen-Konzentration [Dreizen et al. 1976]. Der verringerte bis ausbleibende Speichelfluss und die veränderte Speichelzusammensetzung führen zu einem deutlich erhöhten Kariesrisiko bei noch vorhandenen Zähnen, zu Sprach- und Mastikationsschwierigkeiten, zu Geschmacksverlust, Mukositis mit deutlich erhöhtem Risiko für Candidiasis, Prothesenunverträglichkeit und mangelndem Prothesenhalt mit entsprechend signifikantem Einfluss auf die Lebensqualität der Betroffenen [Atkinson et al. 2005; Dirix et al. 2007; Tschoppe et al. 2010].

4.8 Die sogenannte Strahlenkaries

Bereits kurze Zeit nach dem Einsetzen einer Radiotherapie entwickeln viele Betroffene eine rasch fortschreitende „Strahlenkaries“, die besser als radiogen induzierte Karies bezeichnet werden sollte [Bornstein et al. 2001]. In der Literatur herrscht Uneinigkeit darüber, ob bestrahlte Zahnhartsubstanzen vor allem durch eine direkte Strahlen-

wirkung kariesanfälliger werden oder vor allem eine indirekte Strahlenwirkung, wie die Veränderung des Speichels, zur Strahlenkaries führt. Es wurden histologische Veränderungen an der Schmelz-Dentin-Grenze beobachtet, wo es zu einer direkt radiogenen Retraktion der Odontoblastenfortsätze kam [Grötz et al. 1997]. Die dadurch veränderte Stoffwechsellistung wurde für die unterminierende Zerstörung mit häufig großflächigem Schmelzverlust verantwortlich gemacht [Anneroth et al. 1985; Grötz et al. 2001]. Andere Untersuchungen zeigten keine erhöhte Kariesanfälligkeit von bestrahltem Zahnschmelz und einen positiven Einfluss einer guten Mundhygiene [Kielbassa et al. 2000; Kielbassa et al. 2006b]. Heute werden indirekte und direkte Strahlenwirkungen für die Strahlenkaries verantwortlich gemacht, wobei die indirekten, nachfolgend aufgeführten Wirkungen als Hauptfaktoren gelten [Kielbassa et al. 1999; Kielbassa et al. 2006a].

Durch die strahleninduzierte Mukositis ist die Mundhygiene häufig schmerzhaft und nur eingeschränkt möglich. Es kommt zu einer starken Abnahme der Speichelfließrate und einer veränderten Speichelzusammensetzung mit einer erhöhten Viskosität und einer geringeren Pufferkapazität. Der pH fällt in einen kariogenen Bereich von etwa 5,0. Die Remineralisationskapazitäten des Speichels sind signifikant eingeschränkt [Beetz et al. 1999; Kielbassa et al. 2006a]. Der verringerte Speichelfluss führt zur verminderten Clearance und einer veränderten oralen Mikroflora. Die Menge der kariogenen Mikroorganismen wie *Streptococcus mutans* und Laktobazillen nimmt zu, während die Menge der nicht-kariogenen Mikroorganismen abnimmt. Auch die Candida-Zahlen sind deutlich erhöht. Die Gesamtzahl der Bakterien bleibt etwa gleich [Brown et al. 1975; Keene et al. 1981]. Wegen der schmerzhaften Mukositis neigen Betroffene zu eher weicher, häufig kohlenhydratreicher Kost [Imfeld 1984a].

Die Strahlenkaries beginnt meist im zervikalen Bereich der Zähne und breitet sich dann über die Glattflächen aus; die üblichen Kariesprädispositionsstellen (z. B. der Approximalbereich) bleiben zunächst unbetroffen [Bornstein et al. 2001; Kielbassa et al. 2006a]. Histologisch unterscheidet sich eine initiale Strahlenkaries nicht von einer initialen Karies an unbestrahlter Zahnhartsubstanz [Kielbassa et al. 1997b; Kielbassa et al. 1998; Kielbassa et al. 2006a]. Nach einer zunächst auftretenden initialen Strahlenkaries im Bereich der Glattflächen, besonders zervikal, kommt es zur Kavitation und zum Verlust flächiger Anteile des Schmelzmantels. Im weiteren Verlauf zeigt sich ein subtotaler bis totaler Verlust des Schmelzmantels und eine Erweichung des Dentins und schließlich eine vollständige Zerstörung der Zahnkrone. Diese Entwicklung erfolgt häufig völlig schmerzfrei [Grötz et al. 2001]. Regelmäßig durchgeführte Mundhygienemaßnahmen, vorzugsweise in Verbindung mit lokalen Fluoridierungsmaßnahmen, können die Entstehung und Progression einer Strahlenkaries reduzieren [Kielbassa et al. 1997a; Beetz et al. 1999].

4.9 Therapiemöglichkeiten bei Hyposalivation

Die Therapiewahl bei Hyposalivation richtet sich zunächst danach, ob und in welchem Umfang eine Restfunktion der Speicheldrüsen vorhanden ist [Nieuw Amerongen und Veerman 2003].

Bei ausreichend vorhandener Restfunktion ist das Ziel der Therapie eine Speichelflussstimulation. Bei nicht oder nicht ausreichend vorhandener Restfunktion auf Grund einer umfangreichen irreversiblen Zerstörung des Speicheldrüsenparenchyms wird vor allem palliativ behandelt, um die Symptome zu lindern [Nieuw Amerongen und Veerman 2003].

Die Stimulation des Speichelflusses kann lokal oder systemisch erfolgen. Lokal ist die Therapie der Wahl der Einsatz von zahnschonenden Kaugummis. In der Vergangenheit wurde auch über den Einsatz von Fruchtsäure enthaltenden Süßigkeiten wie Bonbons berichtet. Wegen der schädigenden Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen (Erhöhung des Risikos für Karies und Erosionen) ist diese Therapie aus zahnmedizinischer Sicht jedoch ungeeignet [Imfeld 1984b; Davies 1997].

Systemisch werden Sialagoga (den Speichelfluss fördernde Medikamente), vor allem Pilocarpin, eingesetzt [Rieke et al. 1995]. Pilocarpin ist ein Parasympathomimetikum, das durch seine muskarin-cholinergen Eigenschaften die Sekretion exokriner Drüsen fördert. Durch Wirkung auf cholinerge Rezeptoren der Speicheldrüsen kommt es zu einer Vasodilatation in den Speicheldrüsen und nachfolgend zu einer vermehrten Speichelsekretion. Die Zusammensetzung des systemisch-medikamentös stimulierten Speichels ist ähnlich der normalen Speichelzusammensetzung [Guchelaar et al. 1997]. Dosisabhängig können unerwünschte Nebenwirkungen auftreten. Häufigste Nebenwirkung ist Schwitzen, aber auch über Schwindel, Übelkeit oder Kopfschmerzen wurde berichtet [Rieke et al. 1995; Guchelaar 1997]. Dennoch kann es unter der Einnahme von Pilocarpin zu einer signifikanten Verbesserung der Speichelfließrate und zu einer Linderung der Symptome der Hyposalivation mit meist erträglichen Nebenwirkungen kommen [Rieke et al. 1995].

Ist eine Speichelstimulation nicht erfolgreich, erfolgt eine symptomatische Therapie mit Mundspüllösungen und Speichelersatzmitteln [Meyer-Lueckel und Kielbassa 2002]. Die regelmäßige Befeuchtung der Mundhöhle mit Wasser führt auf Grund der fehlenden viskoelastischen Eigenschaften zu einer nur kurz andauernden Linderung [Imfeld 1984b; Davies 1997]. In der Vergangenheit wurden verschiedene Mundspüllösungen zur symptomatischen Therapie der Hyposalivation empfohlen. Neben dem Einsatz von Wasser wurden Salzwasser, Oliven-, Fisch- oder Mineralöl, Natriumbikarbonatlösungen, glyzerin- und säurehaltige Lösungen vorgeschlagen, die wenig bis ungeeignet sind und zum Teil eine Zahn schädigende Wirkung haben [Imfeld

1984b]. Fluoridhaltige Mundspüllösungen, Tee oder fluoridhaltiges Mineralwasser sowie Milch wurden wegen ihrer kariesprotektiven Wirkung bevorzugt [Herod 1994]. Wegen der auch hier fehlenden viskoelastischen Eigenschaften ist der Nutzeffekt gering [Imfeld 1984b; Vissink et al. 1988]. Lösungen mit scharfem Geschmack und Alkoholgehalt können die Mukosa zusätzlich irritieren und sollten vermieden werden [Remick et al. 1983]. Mundspüllösungen mit einem sauren pH-Wert und einem hohen Anteil an titrierbaren Säuren sollten bei Bezahten nicht verwendet werden, da in In-vitro-Untersuchung eine potenziell schädigende Wirkung sowohl auf Schmelz als auch auf Dentin gezeigt werden konnte [Kielbassa et al. 2000; Meyer-Lueckel et al. 2002].

Speichelersatzmittel sind komplexe Substanzen, meist auf Muzin- oder Carboxymethylcellulose-Basis. Wegen der besseren viskoelastischen Eigenschaften führen sie zu einer länger anhaltenden subjektiven Erleichterung der Symptome einer Hyposalivation [Imfeld 1984b; Davies 1997]. In-vitro-Untersuchungen zeigten auch bei Speichelersatzmitteln zum Teil potenziell demineralisierende Eigenschaften auf die Zahnhartsubstanzen, so dass ihr Einsatz nicht uneingeschränkt empfohlen werden kann [Kielbassa und Shohadai 1999; Kielbassa et al. 2000].

In einer Vergleichsstudie bevorzugten Patienten Pilocarpin, auch wenn Speichelersatzmittel ebenfalls zu einer Linderung ihrer Symptome führten [Davies et al. 1998]. Der Vergleich von Kaugummi und Speichelersatzmitteln ergab keinen signifikanten Unterschied, auch wenn der Einsatz von Kaugummi insgesamt positiver bewertet wurde [Davies 2000]. Wie bereits erwähnt, können Pilocarpin (Sialagoga) und Kaugummi als Speichelstimulanzien nur bei vorhandener Restfunktion der Speicheldrüsen eingesetzt werden. Patienten ohne oder mit zu geringer Restfunktion sind auf den Einsatz von Speichelersatzmitteln angewiesen [Meyer-Lueckel und Kielbassa 2002]. Daher muss beim Einsatz von Speichelersatzmitteln weiterhin ein besonderes Augenmerk nicht nur auf die subjektive Linderung der Beschwerden, sondern auch auf die potenziell de- oder remineralisierende Wirkung von Speichelersatzmitteln auf die Zahnhartsubstanzen gerichtet werden.

4.10 Speichelersatzmittel und ihre Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen

Das erste Speichelersatzmittel, das als Basisstoff Carboxymethylcellulose (CMC) enthielt, wurde 1972 entwickelt. Zusätzlich waren auch Kalzium und Phosphat enthalten [Matzker und Schreiber 1972]. Im Laufe der Jahre wurden diverse Zusätze und Modifikationen untersucht, um Eigenschaften wie die Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen oder die Akzeptanz durch den Anwender positiv zu beeinflussen. Eingesetzte Speichelersatzmittel sollten aus zahnmedizinischer Sicht nicht nur eine subjektive Linderung der Beschwerden für den Betroffenen bewirken, sondern die

Zahnhartsubstanzen möglichst nicht schädigen und im Idealfall vorhandene initiale Läsionen remineralisieren und vor weiterem Mineralverlust schützen [Kielbassa und Shohadai 1999].

So wurde z. B. bereits 1977 ein Speichelersatzmittel (später VA-Oralube®) entwickelt, das durch Einstellung einer dem Speichel ähnlichen Viskosität sowie Elektrolytzusammensetzung und durch die Zugabe von 5,0 mg/l Fluorid nicht nur eine Festigung von Zahnschmelz in den Untersuchungen zeigte, sondern auch von Probanden positiv bewertet wurde [Shannon et al. 1977].

Zur Süßung und Verbesserung der Oberflächenaktivität wurde später meist Sorbitol zugesetzt. Wegen seiner Eigenschaft, Komplexe mit Kalzium bilden zu können, kann ein Sorbitol-Zusatz aber wiederum zu einem negativen Einfluss auf die Schmelz festigenden Eigenschaften eines Speichelersatzmittels führen [Vissink et al. 1985]. Weitere Speichelersatzstoffe kamen im Laufe der Jahrzehnte hinzu, die als Basis Natrium-Carboxymethylcellulose (Na-CMC), Carboxyethylcellulose (CEC), Hydroxyethylcellulose (HEC), tierisches Muzin, Leinsamenöl, Sorbitol oder Polyethylenoxid (PEO) enthielten [Meyer-Lueckel und Kielbassa 2002].

Außer hinsichtlich der unterschiedlichen Basisstoffe unterscheiden sich die Speichelersatzmittel bezüglich diverser anorganischer Zusätze, des Vorhandenseins von Enzymen und des pH-Wertes. Tabelle II gibt einen Überblick über einige Speichelersatzmittel und deren Zusammensetzung.

Einige Einschränkungen und mögliche Probleme sollten bezogen auf kommerzielle Speichelersatzmittel bedacht werden: zum einen die Kosten bei einer Nutzung über einen längeren Zeitraum, zum anderen der Geschmack, der von vielen Patienten als unangenehm beklagt wird, aber vor allem die nur kurz anhaltende Wirkung und damit Erleichterung für den Patienten [Guchelaar 1997].

Einige Untersuchungen wurden im Laufe der letzten Jahre bezogen auf die Auswirkungen der Speichelersatzmittel auf die Zahnhartsubstanzen durchgeführt. Die Untersuchungen befassten sich sowohl mit kommerziell erhältlichen als auch mit experimentell hergestellten oder kommerziellen, aber experimentell modifizierten Speichelersatzmitteln. Bei experimentell hergestellten und kommerziellen, aber experimentell modifizierten Speichelersatzmitteln können die Einflüsse einzelner Parameter, wie z. B. der Fluoridkonzentration, besser untersucht werden.

Durchgeführte In-vitro-Untersuchungen zeigten ein hohes Demineralisierungspotential handelsüblicher Speichelersatzmittel [Kielbassa und Shohadai 1999; Kielbassa et al. 2000; Meyer-Lueckel et al. 2002; Meyer-Lueckel et al. 2006].

Tab. II: Speichelersatzmittel und deren Zusammensetzung [Meyer-Lueckel und Kielbassa 2002]

Speichel- ersatzmittel	CaCl ₂ (mg/l)	K ₂ HPO ₄ (mg/l)	KH ₂ PO ₄ (mg/l)	Fluorid (mg/l)	Basis	pH	Sonstige
Artisial [®]	166	802	326	-	Na-CMC	6,7	KCl, NaCl, MgCl ₂ , Parahydroxybenzoat, Sorbit
VA-Oralube [®]	166	802	326	2	Na-CMC	7,0	KCl, NaCl, MgCl ₂ , Methylhydroxybenzoat, Sorbitol, FD&C Red 40
Luborant [®]	166	803	366	4,3	Na-CMC	6,9 später 6,0	KCl, MgCl ₂ , Sorbit, Carmoisin red CI 14720, Natriumnipasept
Glandosane [®]	148	348	-	-	Na-CMC	5,1	KCl, NaCl, MgCl ₂ , Sorbit, Na-benzoat, Sorbinsäure, CO ₂
weitere Produkte auf CMC-Basis ohne nähere Angaben: Saliment [®] , Salube [®] , Moi Stir [®] , Salivart [®] , Orex [®] , Rinse Solution [®] , Salisynt [®] , Saliva Substitute [®] , Xerolube [®] (Cellulose gum).							
biotène [®]	-	-	-	-	CEC HEC	5,2	Lactoperoxidase, Lactoferrin, Glucoseoxidase, Lysozym, Na-benzoat, Xylit, EDTA
Oralbalance [®]	-	-	-	-	HEC Gel	-	Lactoperoxidase, Glucoseoxidase, Malitol, Xylitol, Aloe vera, Dextrose, Polyacrylate
Saliva medac [®]	-	-	-	-	Muzin	5,4	Na-edetat, H ₂ O ₂ , Xylit, Benzalkoniumchlorid, Hydroxybenzoat, ätherische Öle
Saliva Orthana [®]	150	350	-	4,2	Muzin	6,7	NaCl, MgCl ₂ , Sorbitol, Kaliumthiocyanat, Pfefferminze
Oralube [®]	60	665	-	2,3	Sorbitol	6,9	KCl, NaCl, MgCl ₂ , Methylhydroxybenzoat
Salinum [®]	-	ja	-	-	Lein- samenöl	-	Wasserlösliche Polysaccharide, Metagin 0,1 %

Die kommerziellen Produkte Luborant[®] und Saliva Orthana[®] führten bei einer In-vitro-Untersuchung an humanem Schmelz zu einer signifikanten Remineralisation initialer Läsionen, während das Produkt Glandosane[®] keine Remineralisation, aber eine (nicht signifikante) weitere Demineralisation verursachte [Joysten-Bechal und Kidd 1987]. Glandosane[®] zeigte auch in weiteren Studien *in vitro* einen negativen Einfluss [Kielbassa und Shohadai 1999; Smith et al. 2001; Meyer-Lueckel et al. 2002]. Es kam zu signifikant erhöhten Läsionstiefen bei einer Untersuchung an Schmelzproben und zu einem signifikanten Mineralverlust bei einer Untersuchung an Dentinproben [Kielbassa

und Shohadai 1999; Kielbassa und Meyer-Lueckel 2001]. Die Verwendung von Glandosane[®] ist daher bei bezahnten Patienten nicht zu empfehlen. In denselben In-vitro-Untersuchungen zeigten die Produkte Artisial[®], Oralube[®], Saliva medac[®] und Oralbalance[®] an Dentinproben keine signifikante Auswirkung auf den Mineralverlust [Kielbassa und Meyer-Lueckel 2001], während Oralube[®] an Schmelzproben zu einer signifikanten Verringerung der Läsionstiefe führte [Kielbassa und Shohadai 1999].

In-vitro-Studien mit experimentell hergestellten oder kommerziellen, aber experimentell modifizierten Speichelersatzmitteln untersuchten den Einfluss der Basisstoffe (CMC/Muzin), des pH-Wertes, des Kalzium-/Phosphatverhältnisses, der Kalziumphosphatsättigung (bezogen auf verschiedene Kalziumphosphate), der Fluoridkonzentration oder weiterer Zusätze, wie z. B. Sorbitol, auf die re- und demineralisierenden Eigenschaften.

Eine Zugabe von CMC oder Muzin zu einer Lösung führt zu einer geringeren Remineralisationskapazität. Zum einen kommt es zu einer erhöhten Viskosität und damit zu einer geringeren Diffusionsrate. Zum anderen besitzen beide Stoffe eine Affinität zu Kalzium, so dass eine Komplexbildung möglich ist. Dadurch steht weniger freies Kalzium für den Remineralisationsprozess zur Verfügung [Vissink et al. 1985]. Präparate auf Muzinbasis zeigen ein geringeres Remineralisationsvermögen, weil die Affinität zu Kalziumionen stärker als beim CMC ist [Gelhard et al. 1983; Vissink et al. 1985].

Eine Zugabe von Sorbitol kann auch zu einer Komplexbildung mit Kalzium und damit zu einem verringerten Remineralisationsvermögen führen [Vissink et al. 1985].

Die Fluoridzugabe zum Produkt Oralube[®] ergab einen signifikant positiven Effekt auf die Härte der Schmelzoberfläche bis zu einer Konzentration von 2 ppm. Eine weitere Erhöhung der Fluoridkonzentration führte nicht zu einer weiteren Steigerung der Härte der Schmelzoberfläche [Shannon und Edmonds 1978]. In einer anderen Studie förderten Fluoridkonzentrationen von bis zu 0,1 mM die Remineralisation von zuvor demineralisiertem Dentin [Meyer-Lueckel et al. 2006].

Die Sättigung bzw. Übersättigung einer Speichelersatzlösung auf Muzinbasis durch Erhöhung der Kalziumphosphatkonzentration hat einen positiven Effekt auf das Remineralisationsvermögen sowohl auf Schmelz als auch auf Dentin (in Abhängigkeit vom pH) [Meyer-Lueckel und Kielbassa 2006; Meyer-Lueckel et al. 2006]. Eine Untersuchung ergab, dass eine Oktakalziumsättigung von 3,2 und ein pH von 6,5 in einer Lösung mit CMC-Basis zu einer Remineralisation von Schmelz führen kann [Meyer-Lueckel et al. 2007]. Eine neuere Untersuchung ergab, dass ein experimentelles Speichelersatzmittel auf CMC-Basis das größte Remineralisationsvermögen bei einer Sättigung von 2 bezogen auf Oktakalziumphosphat hat [Meyer-Lueckel et al. 2010]. Ein

höherer Sättigungsgrad hatte keine Auswirkung oder sogar einen demineralisierenden Effekt. Eine Rolle scheint dabei die Ausbildung eines adsorbierten CMC-Films an der Grenzfläche Schmelz/Flüssigkeit zu spielen sowie eine Wechselwirkung des an den CMC-Film gebundenen Kalziums mit dem Phosphat. Bei Übersättigung könnte eine Einschränkung der Kalziumdiffusion auf Grund heterogener Nukleationen auftreten [Meyer-Lueckel et al. 2010].

4.11 Rheologisches Verhalten von Speichersatzmitteln

Speichersatzmittel sollten ein dem natürlichen Speichel ähnliches rheologisches Verhalten aufweisen [Vissink et al. 1984]. Nur dann ist eine langanhaltende und zufriedenstellende Wirkung möglich. Viele Betroffene beklagen sich vor allem über die kurze Wirkdauer und die notwendige häufige Anwendung handelsüblicher Speichersatzmittel [Guchelaar et al. 1997].

Natürlicher Speichel ist eine viskoelastische Flüssigkeit mit nicht-Newtonschem rheologischem Verhalten [Imfeld 1984b]. Nicht-Newtonsche Flüssigkeiten zeigen ein zeit- oder schergeschwindigkeitsabhängiges Verhalten [Hahnel et al. 2009]. Im Speichel enthaltene Muzine setzen die Oberflächenspannung herab und stellen somit einen für lange Zeit haftenden Feuchtfilm auf der Mund- und Rachenschleimhaut bereit. Gleichzeitig schützen sie auch die Zahnhartsubstanzen vor Demineralisation durch Säuren [Nieuw Amerongen et al. 1987]. Glykoproteine können selektiv an Zahnoberflächen binden und bewirken somit eine Benetzung [Hatton et al. 1987].

Speichersatzmittel auf Muzinbasis (tierisches Muzin) und natürlicher Speichel zeigen ein ähnliches rheologisches Verhalten [Vissink et al. 1984; Hatton et al. 1987]. In einer Untersuchung wurde eine subjektive Linderung der Beschwerden durch muzinhaltige Speichersatzmittel nachgewiesen [’s-Gravenmade und Panders 1981].

Demgegenüber steht der Nachteil einer geringeren Remineralisationskapazität bzw. einer potenziell demineralisierenden Wirkung im Vergleich zu CMC-Produkten. Muzine haben eine stärkere Affinität zu Kalziumionen, so dass in entsprechenden Lösungen weniger freies Kalzium für Remineralisationsprozesse zur Verfügung steht. Auch ein Zusammenhang zur Viskosität wurde vermutet [Gelhard et al. 1983; Vissink et al. 1985].

Speichersatzmittel auf CMC- und Polyethylenoxidbasis zeigen nicht die viskoelastischen Eigenschaften des Speichels [Vissink et al. 1984]. Allerdings besitzt ein Speichersatzmittel auf CMC-Basis ein besseres Remineralisationsvermögen [Gelhard et al. 1983].

Ein Vergleich der Fähigkeit zur Benetzung zeigte an Schmelz eine Überlegenheit CMC- und muzinhaltiger Speichelersatzmittel gegenüber Speichel. An oraler Mukosa war das Benetzungsverhalten von humanem Speichel und einer Lösung auf CMC-Basis ähnlich. Das Muzinpräparat war beiden überlegen [Vissink et al. 1986].

Zum rheologischen Verhalten gehört auch die Fähigkeit, die Friktion zwischen zwei sich (gegeneinander) bewegenden Flächen zu verringern und damit die Bewegung zu erleichtern [Hahnel et al. 2009]. Speichelersatzmittel auf Muzinbasis zeigen diesbezüglich im Gegensatz zu Mitteln auf CMC-Basis ein ähnliches Verhalten wie humaner Speichel und schützen somit besser vor möglicher Attrition bei unter Xerostomie leidenden Patienten [Hatton et al. 1987].

Eine neuere Studie untersuchte die rheologischen Eigenschaften von Salinum[®] (Leinsamenbasis), Saliva Orthana[®] (Muzinbasis) und MAS 84[®] (CMC-Basis) im Vergleich zu denen des menschlichen Speichels. Die Tendenz zur Ausbildung eines Films an der Grenzschicht zwischen Zahn/Flüssigkeit und Luft/Flüssigkeit war ähnlich gut bei humanem Speichel und den Speichelersatzmitteln auf Muzin- und Leinsamenbasis. MAS 84[®] auf CMC-Basis zeigte diese Tendenz nicht. Somit scheint ein wichtiges Merkmal für den klinischen Erfolg eines künstlichen Speichels die Fähigkeit zu sein, einen Film sowohl auf hydrophoben als auch auf hydrophilen Oberflächen bilden zu können [Christersson et al. 2000].

Zu den rheologischen Eigenschaften, die zur Wirkung und Akzeptanz eines Speichelersatzmittels beitragen, zählen also sowohl die Viskosität als auch die Benetzungsfähigkeit als auch die Fähigkeit, die Friktion zwischen zwei sich (gegeneinander) bewegenden Flächen zu verringern [Hahnel et al. 2009]. Ein aus zahnmedizinischer Sicht ideales Speichelersatzmittel sollte diese Eigenschaften in Verbindung mit einem guten Remineralisationsvermögen aufweisen.

4.12 Magnesium und Karbonat

4.12.1 Bestandteil von Zahnhartsubstanzen

Magnesium und Karbonat gehören beide zu den natürlicherweise vorkommenden anorganischen Bestandteilen der Zahnhartsubstanzen. Die Magnesium- und Karbonatkonzentration nehmen von der Schmelzoberfläche in Richtung Schmelz-Dentin-Grenze ab [Schroeder 1992; Robinson et al. 2000].

Magnesium kann als Baustein im Apatitgitter, adsorptiv an die Oberfläche der Apatitkristalle gebunden oder als Magnesiumphosphat vorhanden sein. Ein hoher Magnesiumgehalt ist besonders im Bereich der Fissuren und an der Schmelz-Dentin-Grenze im Gebiet der Pulpahörner zu verzeichnen. Dichte sowie Kalzium- und

Phosphatgehalt sind in Gebieten mit hohem Magnesiumgehalt relativ niedrig, die Resistenz gegenüber einem kariösen Angriff in diesen Regionen also entsprechend geringer [Schumacher und Schmidt 1983]. Der Magnesiumgehalt nimmt in den Zahnhartsubstanzen mit steigendem Alter zu [Schroeder 1992]. Da Magnesiumionen alkalische Phosphatasen aktivieren können, werden sie in diesem Zusammenhang zur Karies in Beziehung gebracht [Schumacher und Schmidt 1983]. Karbonationen können Bestandteil der Schmelzkristalle oder adsorptiv an die Oberfläche dieser Kristalle gebunden sein. Es kann zum Einbau von Karbonat in das Schmelzmineral kommen. Das entstehende karbonierte Apatit ist gegenüber einem kariösen Angriff weniger resistent als Hydroxylapatit. Je höher der Karbonatgehalt, umso höher die Kariesanfälligkeit. In der Oberflächenschicht des Schmelzes variiert der Karbonatgehalt und nimmt mit zunehmendem Alter ab. In den tieferen Schmelzschichten bleibt er eher konstant [Schumacher und Schmidt 1983].

Bei einem kariösen Angriff wurde ein hoher selektiver Verlust von Magnesium und Karbonat in der transluzenten Zone beobachtet. Das steht im Einklang mit der Beobachtung, dass Magnesium und Karbonat mit einem löslicheren und weicheren Mineral im Zusammenhang stehen [Robinson et al. 2000].

Eine Studie, die Magnesium und Karbonat in Schmelz und synthetischem Apatit untersuchte, kam zu dem Ergebnis, dass im Schmelz die Magnesium- und Karbonatkonzentration von der Schmelzoberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze hin abnehmen [LeGeros et al. 1996]. Dabei liegt stellenweise eine ungleichmäßige Magnesium- und Karbonatverteilung vor. Im Zusammenhang damit wird die beobachtete Abnahme der Kristallgröße in den inneren Schmelzanteilen sowie die größere Auflösungsstendenz gesehen. In synthetischen Apatiten war die Aufnahme von Magnesium abhängig vom Magnesium/Kalzium-Verhältnis, von der Temperatur, dem pH und einer eventuellen Anwesenheit von Karbonat oder Fluorid. Die Kristallinität nahm mit steigendem Magnesiumgehalt und mit kombinierter Aufnahme von Magnesium und Karbonat ab. Ein höherer Magnesiumgehalt machte das Apatit löslicher. Dieser Effekt war synergistisch zu dem Effekt von Karbonat [LeGeros et al. 1996].

4.12.2 Einfluss auf De- und Remineralisationsprozesse

Einige Untersuchungen wurden durchgeführt, um den Einfluss von Magnesium und/oder Karbonat auf De- und Remineralisationsprozesse *in vitro* zu bestimmen.

Ban et al. untersuchten 1993 *in vitro* die Umwandlung von Oktakalziumphosphat (im Folgenden OKP) zu Apatit. Aus der Literatur sind zwei Umwandlungsprozesse bekannt: OKP wird erstens durch eine *in situ* stattfindende Hydrolyse zu Apatit; zweitens wird OKP aufgelöst und nachfolgend kann Apatit präzipitieren, wobei eventuell in der

Umgebung vorhandene Ionen eingebaut werden können. Auch von einer Kombination der beiden Vorgänge wurde berichtet [Brown et al. 1962]. Magnesium führte zu einer Hemmung der Umwandlung von OKP zu Apatit durch Einfluss auf die Gitterstruktur und Anlagerung an die Oberfläche („surface poisoning“) [Ban et al. 1993].

Eine In-vitro-Studie zeigte ebenfalls einen hemmenden Einfluss von Magnesium auf die Umwandlung von OKP zu Apatit. Der hemmende Einfluss des Magnesiums war stärker als der fördernde Einfluss von Kalzium. Karbonat förderte in dieser Studie die Umwandlung von OKP zu Apatit. Es entstand ein karbonathaltiges Endprodukt [LeGeros et al. 1989].

In einer weiteren Untersuchung wurde eine Verzögerung der Umwandlung von OKP zu Apatit durch Zugabe von Magnesium beobachtet [Eanes und Rattner 1981]. Dabei wurde zum einen eine Stabilisierung von Vor- und Zwischenstufen des Apatits, wie z. B. OKP/Dikalziumphosphatdihydrat (im Folgenden DKPD)-Mischungen durch Hemmung der Hydrolyse vermutet. Zum anderen wurde von einer direkten Wirkung wie einer vorübergehenden Adsorption von Magnesium an aktive Reaktionszentren ausgegangen. Durch Blockierung dieser Reaktionszentren können diese nicht an anderen Reaktionen partizipieren, sei es Apatitwachstum, Hydrolyse von OKP zu Apatit oder Bildung einer Apatitvorstufe [Eanes und Rattner 1981].

Bei der Untersuchung des Einflusses von Magnesium auf die Hydrolyse von OKP kam eine andere Studie zu einem ähnlichen Ergebnis [Tung et al. 1992].

Eine weitere In-vitro-Untersuchung von Hydroxylapatitbildung (Hydroxylapatit im Folgenden HA) wies nach, dass Magnesium in die Struktur von sich bildendem HA durch Austausch gegen Kalzium aufgenommen wird. Die daraus resultierende gestörte bzw. veränderte Gitterstruktur führt zur Verlangsamung und damit Hemmung der HA-Bildung [Blumenthal 1989].

Bei einer Härteprüfung nach Lagerung von oberflächlich erweichtem bovinem Schmelz in Magnesium und/oder Fluorid enthaltenden Lösungen nahm die Härte der Schmelzoberfläche in allen Lösungen signifikant zu [Collys et al. 1990]. Zwischen den einzelnen Lösungen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Es wurde vermutet, dass eine magnesiumhaltige Kalziumphosphatverbindung entstanden ist, die nicht HA entspricht. Ein im Anschluss simulierter Säureangriff zeigte jedoch eine deutlich erhöhte Säureanfälligkeit der Schmelzoberfläche nach Lagerung in der nur Magnesium als Zusatz enthaltenden Lösung. Die magnesiumhaltige Kalziumphosphatverbindung war weniger kristallin und stabil. Zusätzlich wurde eine Wechselwirkung zwischen Magnesium und Fluorid postuliert [Collys et al. 1990].

Im Gegensatz dazu ergab eine ältere In-vitro-Studie keinen hemmenden Effekt von Magnesium auf die Kristallisation von Kalziumphosphaten [Taves und Neuman

1964]. Eine neuere In-vitro-Untersuchung der Remineralisation von Dentin zeigte hingegen, dass bereits eine Menge von nur 10 μM Magnesium zu einer Hemmung der Mineralinduktion führte. Dosisabhängig verlängerte Magnesium die Induktionszeit für die Mineralisation [Saito et al. 2003].

Magnesium und Karbonat zeigten in einer Kristallwachstumsstudie einen hemmenden bzw. störenden Effekt auf das Kristallwachstum [Barrère et al. 1999]. Durch Zugabe von Magnesium entstanden an Kalzium mangelnde Apatitkristalle. Zugabe von Karbonat führte zu einem karbonierten Apatit. Während Karbonat aufgenommen wurde, störte Magnesium das Wachstum eher durch Einfluss auf die OKP-Bildung durch bevorzugte Magnesiumphosphatkomplex-Bildung. Eine mögliche Zusammenwirkung bei vorhandenem Magnesium und Karbonat ist denkbar: Während Magnesium zur Komplexbildung mit Phosphat führt, kann die Substitution von Karbonat in die Apatitstruktur leichter erfolgen [Barrère et al. 1999].

In einer weiteren Untersuchung, die sich mit dem Einfluss von Magnesium und/oder Karbonat auf die Präzipitation von Kalziumphosphaten befasste, wurde eine Wechselwirkung beobachtet, die vom pH abhängig war [Cao und Harris 2008]. Einzeln hinzugegeben, bewirkten sowohl Magnesium als auch Karbonat einen negativen Effekt auf die Kristallinität und die Präzipitationsrate. Karbonat beeinflusste nur die Präzipitationsrate signifikant, der Einfluss auf die Kristallinität war eher gering. Magnesium zeigte einen signifikant stärkeren Einfluss als Karbonat sowohl auf die Kristallinität als auch auf die Präzipitationsrate. Bei einem pH von 7,1 kam es zu einer synergistischen Hemmung durch Magnesium und Karbonat durch Aufnahme in die Kalziumphosphatstruktur. Bei höherem pH (9,2) wurde aus dem synergistischen Effekt ein antagonistischer, die hemmende Wirkung wurde durch die Anwesenheit der jeweils anderen Komponente abgeschwächt. Vermutlich ist in wässriger Lösung stabiles Magnesiumkarbonat entstanden [Cao und Harris 2008].

Lammers et al. untersuchten den Einfluss von Fluorid und Karbonat auf die Remineralisation von bovinem Schmelz *in vitro*. Abhängig von der Fluorid- und Karbonatkonzentration bewirkte Karbonat eine Hemmung oder Förderung der Remineralisation. Eine Wechselwirkung zwischen Karbonat und Fluorid wurde postuliert, da bei einer bestimmten Konzentration (1 ppm Fluorid und 0,1 und 10,0 mmol/l Karbonat) Fluorid einen hemmenden Einfluss auf die Remineralisation zu haben schien. Die Unterschiede in der Remineralisation wurden durch unterschiedliches Kristallwachstum, Präzipitation verschiedener Mineralien mit unterschiedlichen Präzipitationsraten und Verzögerung von Präzipitationsschritten je nach Bedingungen begründet [Lammers et al. 1991].

Die nachfolgende Tabelle III gibt einen Überblick über die Ergebnisse der hier erwähnten Studien bezogen auf die Magnesium- und Karbonatwirkung.

Die Wirkung von Magnesium und Karbonat in hochviskösen Lösungen, also auch potentiellen Basislösungen für Speichelersatzmittel, ist noch unerforscht.

Tab. III: Überblick über Studien, die sich mit der Wirkung von Magnesium und/oder Karbonat auf De- und Remineralisationsprozesse befasst haben.

Studie	Wirkung von Magnesium	Wirkung von Karbonat
Ban et al. 1993	Hemmung der Umwandlung von OKP zu Apatit	nicht untersucht
LeGeros et al. 1989	Hemmung der Umwandlung von OKP zu Apatit	Förderung der Umwandlung von OKP zu Apatit (mit karbonathaltigem Endprodukt)
Eanes und Rattner 1981	Verzögerung der Umwandlung von OKP zu Apatit	nicht untersucht
Tung et al. 1992	Hemmung der Hydrolyse von OKP	nicht untersucht
Blumenthal 1989	Verlangsamung und Hemmung der HA-Bildung	nicht untersucht
Collys et al. 1990	Steigerung der Härte der Schmelzoberfläche, Säureanfälligkeit dennoch erhöht	nicht untersucht
Taves und Neuman 1964	keine Wirkung	nicht untersucht
Saito et al. 2003	Hemmung der Mineralinduktion bereits durch 10 µM	nicht untersucht
Barrère et al. 1999	Störung des Kristallwachstums, vermutete Wechselwirkung mit Karbonat	Störung des Kristallwachstums, vermutete Wechselwirkung mit Magnesium
Cao und Harris 2008	negativer Effekt auf Kristallinität und Präzipitationsrate stärker als bei Karbonat; synergistischer und antagonistischer Effekt abhängig vom pH	negativer Effekt auf Präzipitationsrate signifikant, auf Kristallinität nicht signifikant und insgesamt schwächer als bei Magnesium; synergistischer und antagonistischer Effekt abhängig vom pH
Lammers et al. 1991	nicht untersucht	Hemmung oder Förderung der Remineralisation in Abhängigkeit von vorhandener Fluoridkonzentration

Erläuterung: (OKP) Oktakalziumphosphat, (HA) Hydroxylapatit

5 Ziel der Arbeit und Arbeitshypothese

Die Hyposalivation wird vor allem durch eine tumortherapeutische Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich verursacht. Bei kaum oder nicht mehr vorhandener Restfunktion der Speicheldrüsen durch irreversible Zerstörung des Drüsenparenchyms finden regelmäßig Speichelersatzmittel zur Therapie und Linderung der Symptome Anwendung. Durch eine Modifikation der Zusammensetzung von Speichelersatzmitteln können die Eigenschaften dieser Lösungen und damit ihr Einfluss auf die Zahnhartsubstanzen verändert werden. Bei Studien, die sich mit De- und Remineralisationsprozessen befassen, zeigten auch die Zugabe von Magnesium und/oder Karbonat einen Einfluss auf die Apatitentstehung. Dabei kam es zu einer Hemmung (Magnesium) oder Förderung (Karbonat) der Apatitentstehung [LeGeros et al. 1989; Ban et al. 1993]. Magnesiumkonzentrationen von nur 10 μM führten bereits zu einer hemmenden Wirkung auf die Mineralisation [Saito et al. 2003]. Bei gleichzeitiger Zugabe von Magnesium und Karbonat konnten auch ein synergistischer Effekt oder eine gegenseitige Aufhebung der Wirkung beobachtet werden [Cao und Harris 2008].

Ziel dieser Studie war es daher, den Einfluss von Magnesium und Karbonat auf die demineralisierenden Eigenschaften von niedrig- und hochviskösen Lösungen auf demineralisierten bovinen Schmelz *in vitro* zu untersuchen. Die niedrigviskösen Lösungen waren wässrige Lösungen, die hochviskösen Lösungen waren auf Carboxymethylcellulose-Basis. Ein pH-Wert von 6,3 wurde bei allen Lösungen eingestellt. Durch die Zugabe von Zitratpuffer wurde der pH-Wert für die Dauer der Untersuchungen konstant gehalten. Sowohl bei den niedrig- als auch bei den hochviskösen Lösungen wurden jeweils Magnesium, Karbonat oder Magnesium und Karbonat zugesetzt. Als Negativkontrolle diente jeweils eine Lösung, die weder Magnesium noch Karbonat enthielt, sonst aber genau die gleiche Zusammensetzung aufwies. Die demineralisierten bovinen Schmelzproben wurden zunächst für 16 Tage in einer Demineralisationslösung nach Buskes demineralisiert und anschließend für 5 und 10 Wochen in den entsprechenden niedrig- und hochviskösen Lösungen gelagert. Danach erfolgte die Auswertung der gesunden Kontrollbereiche, der demineralisierten und der für 5 und 10 Wochen in den Lösungen gelagerten Probenbereiche mit Hilfe der transversalen Mikroradiografie. Untersucht wurden die Parameter Mineralverlust und Läsionstiefe, wobei jeweils mit den Ausgangswerten nach Demineralisation verglichen wurde.

Die Nullhypothese besagte, dass im wässrigen potentiell demineralisierenden Medium die Zugabe von Magnesium und/oder Karbonat keinen Einfluss auf die Demineralisation hat und dass dieser Effekt im hochviskösen Medium ähnlich ist.

6 Material und Methoden

6.1 Vorbereitung und Demineralisation der Schmelzproben

Für die Untersuchung wurden 50 frisch extrahierte, gesunde, bleibende Rinderfrontzähne *post mortem* verwendet. Nach vorsichtiger Säuberung wurden die Zähne in 0,9 % Kochsalzlösung (isotonische Kochsalzlösung; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) bei Raumtemperatur bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt. Mit Hilfe einer Trennscheibe wurden unter Wasserkühlung pro Rinderfrontzahn 4 Proben ($3 \times 4 \times 3$ mm³) aus der Labialfläche gewonnen (Abb. 2).

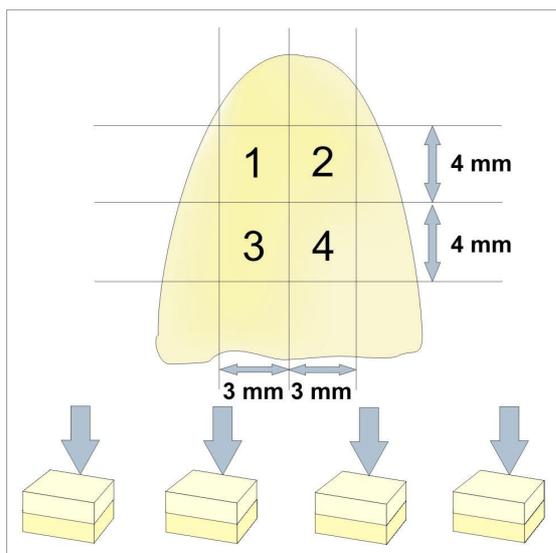


Abb. 2: Vier aus der labialen Fläche herauspräparierte Schmelzproben.

Anschließend wurde die Schmelzoberfläche mit einer Poliermaschine (Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland) mit Schleifpapier (Schleifpapier Körnung 1200, 2500, 4000; EXAKT, Norderstedt, Deutschland) aufsteigender Körnung (1200, 2500, 4000) unter ständiger Wasserkühlung plan geschliffen und poliert, um parallele und standardisierte Oberflächen zu schaffen. Die Umdrehungszahl der Poliermaschine war auf 300 U/Min. eingestellt. Mit Hilfe einer Silikonform wurden die Schmelzproben in Kunstharz (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) eingebettet, wobei je 5 Proben zu einem Block zusammengefasst wurden. Mit Kunstharz teilbedeckte Proben wurden durch eine erneute Politur unter ständiger Wasserkühlung wieder vollständig freigelegt. Je ein Viertel jeder Probe wurde mit Nagellack (L'oréal Paris Jet-Set Shine; L'oréal Paris, Asnières Cedex, Frankreich) abgedeckt, um später als Kontrollwert zu dienen (Abb. 3). In Verarbeitungspausen wurden die Proben wiederum bei Raumtemperatur in Kochsalzlösung aufbewahrt und so vor dem Austrocknen geschützt.

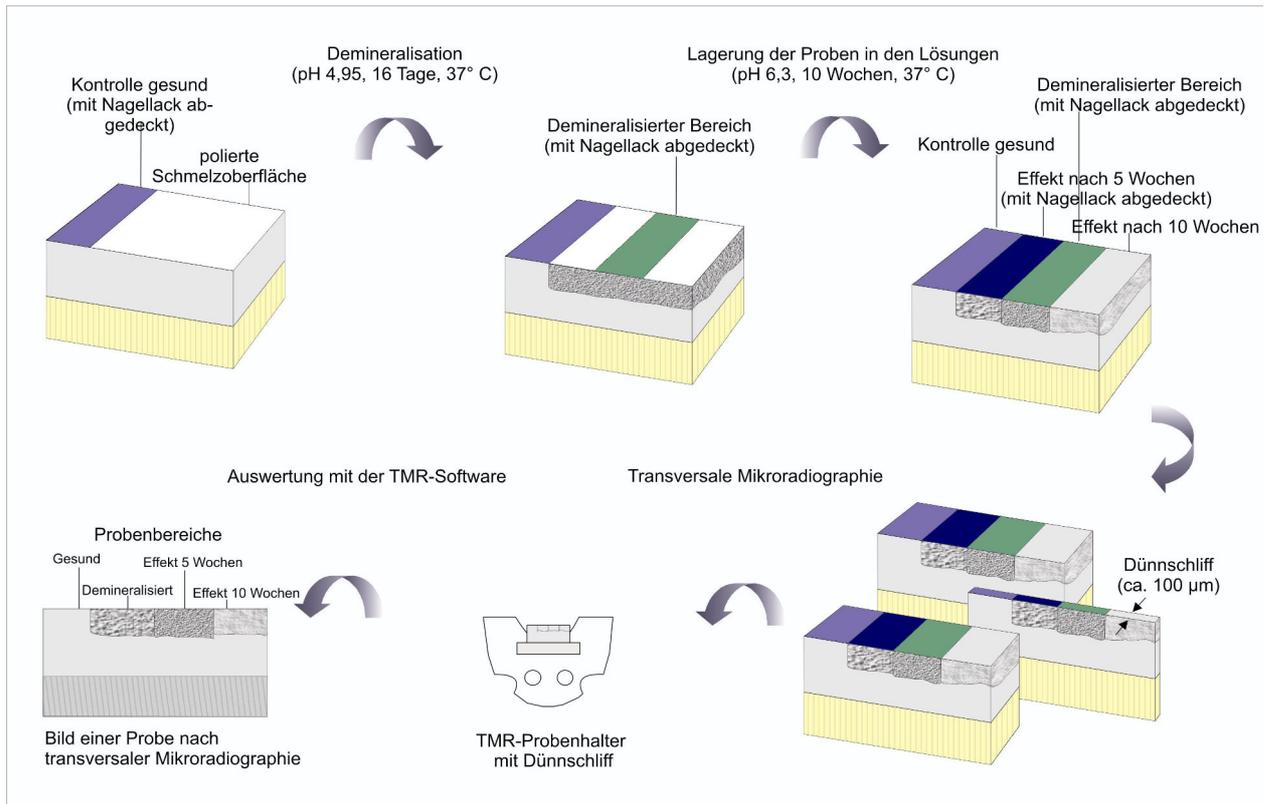


Abb. 3: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs von der für die Demineralisation vorbereiteten Schmelzprobe über die Demineralisation und Lagerung in den verschiedenen Lösungen bis zur Dünnschliffpräparation und die mikroradiografische Auswertung (TMR) [in Anlehnung an Tschoppe 2005].

Nach Herstellung einer Demineralisationslösung nach Buskes (Zusammensetzung siehe Tab. IV) wurden die Schmelzproben 16 Tage lang bei 37 °C in einem Wärmeschrank (Venticell 404; MMM, Planegg, Deutschland) in einem Gefäß darin demineralisiert. Täglich wurde der pH-Wert der Lösung (4,95) mit Hilfe eines pH-Meters (GMH 3510 (pH-Meter); Greisinger Electronic, Regenstauf, Deutschland) kontrolliert und bei festgestellter Abweichung durch Hinzupipetieren (Falcon, 1 ml; Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, New Jersey, USA) von Kaliumhydroxid (bei zu niedrigem Wert) oder Salzsäure (bei zu hohem Wert) unter manuellem Umrühren korrigiert. So wurde ein konstanter pH-Wert von 4,95 während der gesamten Demineralisationszeit eingehalten. Nach 16 Tagen wurden 10 Proben beliebig ausgewählt und es wurde durch transversale Mikroradiografie und mikroradiografische Auswertung (Erläuterung siehe unter 4.5) die Demineralisationstiefe kontrolliert (100-150 µm, entspricht einem initialkariösen Schmelzbereich; Abb. 4).

Nach durchgeführter Demineralisation wurde ein weiteres Viertel jeder Probe mit Nagellack (L'oréal Paris Jet-Set Shine; L'oréal Paris) abgedeckt. Die Proben wurden bis

zur weiteren Verarbeitung erneut bei Raumtemperatur in Kochsalzlösung aufbewahrt (Abb. 3).

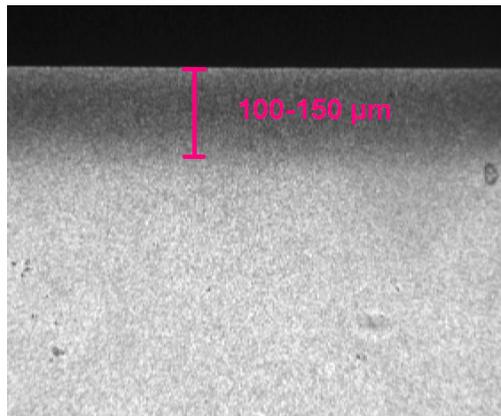


Abb. 4: Mikroradiografische Aufnahme zur Kontrolle der Demineralisationstiefe.

Tab. IV: Zusammensetzung der Demineralisationslösung für Schmelz nach Buskes [Buskes et al. 1985]

Inhaltsstoff	Konzentration	Menge
Kalziumdichlorid-2-hydrat ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$)	3 mM	2205 mg
Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	3 mM	2041 mg
Methylendiphosphensäure (MHDP)	6 μM	5,4 mg
Eisessig (CH_3COOH) (100% Essigsäure)	50 mM	14,30 ml
Kalilauge (KOH) ad pH 5,0	10 M	23 ml
Thymol ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$)	in Spuren	
Aqua dest (H_2O)	ad 5000 ml	

6.2 Herstellung der Lösungen zur Lagerung und Durchführung der Versuche

Die Lösungen für die Lagerung wurden durch Zusammenfügen der einzelnen Bestandteile hergestellt und homogenisiert (Rührgerät IKA-Combimag RCT; Janke&Kunkel, Staufen, Deutschland) (Tab. V), wobei von jeder Lösung 1 l hergestellt wurde. Die Schmelzproben wurden zu 8 Gruppen à 16 Proben aufgeteilt. Die Lagerung erfolgte in Probenröhrchen (Zentrifugenröhrchen mit Stehrand, 50 ml; VWR, Darmstadt, Deutschland) im Wärmeschrank bei 37 °C, wobei jedes Röhrchen so mit der jeweiligen Lösung befüllt wurde, dass alle Proben einer Gruppe vollständig von der Lösung bedeckt waren. Die In-vitro-Lagerungszeit betrug insgesamt 10 Wochen. Alle zwei Tage wurden die Lösungen in den Probenröhrchen erneuert. Vor der Erneuerung wurde der pH-Wert der Lösungen (6,3) mit Hilfe eines pH-Meters (GMH 3510 (pH-Meter); Greisinger

Electronic) kontrolliert. Nach 5 Wochen Lagerung wurden die Schmelzproben aus den Lösungen entnommen und es wurde je ein weiteres Viertel jeder Probe mit Nagellack (L'oréal Paris Jet-Set Shine; L'oréal Paris) abgedeckt. Es schlossen sich weitere 5 Wochen Lagerung an, wobei wiederum pH-Wert-Kontrollen und Erneuerungen der Lösungen alle zwei Tage stattfanden. Nach abgeschlossener Lagerung wurden die Proben aus den Lösungen entfernt, mit Aqua dest. (Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi) abgespült und erneut in Kochsalzlösung bei Raumtemperatur bis zur Auswertung gelagert.

Tab. V: Zusammensetzungen und Konzentrationen der verschiedenen Lösungen

Gruppe	CMC (g/l)	MgCl ₂ (mg/l)	NaHCO ₃ (mg/l)	CaCl ₂ × 2H ₂ O/ KH ₂ PO ₄ (mg/l)	Sorbit (g/l)	pH	Basislösung
1	--	--	--				
2	--	142,5	--				Zitratpuffer 0,1 M ad 1000 ml (frisch angesetzt)
3	--	--	352,8				NaF 4,2 mg/l
4	--	142,5	352,8	352,8/522,24	20	6,3	KCl 1,218 g/l
5	10	--	--				NaCl 0,856 g/l
6	10	142,5	--				Methyl ₄ hydroxybenzoat 1 g/l
7	10	--	352,8				Propyl ₄ hydroxybenzoat 0,2 g/l
8	10	142,5	352,8				

Erläuterung: Carboxymethylcellulose; Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
 Kaliumchlorid 99,5-100 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
 Kalium-2-hydrogenphosphat min. 98 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
 Kalziumchlorid-Dihydrat; Merck, Darmstadt, Deutschland
 Magnesiumchlorid >98 %; Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Deutschland
 Methyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %; Sigma-Aldrich Chemie GmbH,
 Steinheim, Deutschland
 Natriumchlorid min. 99,5 %; Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH,
 Seelze, Deutschland
 Natriumfluorid min. 99 %; Omikron GmbH, Neckarwestheim, Deutschland
 Natriumhydrogencarbonat; Merck, Darmstadt, Deutschland
 Propyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
 Sorbit; Merck, Darmstadt, Deutschland

6.3 Vorbereitung der Proben für die Mikroradiografie

Jede Schmelzprobe wurde zunächst mit der Bandsäge (EXAKT Trennschleifsystem 300 CL; EXAKT, Norderstedt, Deutschland) unter ständiger Wasserkühlung senkrecht zur Oberfläche halbiert. Je eine Hälfte wurde zur weiteren Auswertung verwendet. Die durch das Sägen entstandene rauhe Oberfläche wurde mit der Poliermaschine (Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler) mit Schleifpapier aufsteigender

Körnung (1200, 2500, 4000) ebenfalls unter ständiger Wasserkühlung poliert. Anschließend wurden die Proben mit Sekundenkleber (Sekundenkleber; Henkel, Düsseldorf, Deutschland) auf Objektträger (Plexiglas-Objektträger; dia-plus, Oststeinbek, Deutschland) aufgeklebt. Dabei zeigte die polierte Oberfläche zum Objektträger hin, und das Aufkleben erfolgte punktuell am Dentin und am noch vorhandenen umgebenden Kunstharz (Technovit 4071; Heraeus Kulzer), um ein anschließendes Ablösen der Schmelzprobe zur weiteren Auswertung nach erfolgtem Dünnschliff zu ermöglichen. Durch einen weiteren Sägeschnitt mit einer diamantierten 0,1 mm dicken Säge (EXAKT Trennschleifsystem 300 CL; EXAKT) unter ständiger Wasserkühlung entstanden 300 µm dicke, zur Oberfläche des Objektträgers planparallele Probenkörper. Die Schnittgeschwindigkeit der Säge war auf eine mittlere Schnittgeschwindigkeit von 150-250 m/min und die Vorschubkraft des Probentisches auf eine geringe Vorschubkraft von 50-75 g eingestellt. Die endgültige Glättung und Parallelisierung der Probenkörper erfolgte mit einem Mikroschleifsystem (EXAKT Mikroschleifsystem 400 CS; EXAKT, Norderstedt, Deutschland) mit gewässertem Schleifpapier aufsteigender Körnung (1200, 2500, 4000).

Die Probendicke, die mit einer Mikrometerschraube (Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan) bei einer Genauigkeit von 1 µm überprüft wurde, betrug nach diesem Vorgang 100 (10) µm [Mittelwert (Standardabweichung)].

Nach abgeschlossenem Dünnschliff wurden die Schmelzproben mit einem Skalpell (Skalpell; Feather, Osaka, Japan) von den Objektträgern und dem noch vorhandenen Technovit (Kunstharz) gelöst und mit einem schmalen Streifen Leukofix (Leukofix; BSN medical, Hamburg, Deutschland) auf TMR-Halter (TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland) für die anschließende Transversale Mikroradiografie geklebt (Abb. 3). Bei Raumtemperatur wurden die so vorbereiteten Schmelzproben wiederum in 0,9 % Kochsalzlösung gelagert.

6.4 Transversale Mikroradiografie

Die transversale Mikroradiografie ist eine nicht-destruktive Standardmethode zur Beschreibung von De- und Remineralisationsphänomenen von Zahnhartsubstanzen. Damit können sowohl ein Mineralverlust als auch eine mögliche Läsionstiefe bestimmt werden.

Die Aufnahmen der Schmelzproben wurden in einer Apparatur bestehend aus einem linsenlosen Photoapparatgehäuse durchgeführt, welches an der eigentlichen Objektivseite mit einem Röntgentubus eines Röntgenstrahlengenerators (Röntgenstrahlengenerator PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande) verbunden war (Abb. 5).



Abb. 5: Kamera für die Mikroradiografie.

Im Photoapparatgehäuse befand sich auf Filmhöhe eine Eichtreppe aus Aluminium (10 Stufen von je 1 mm Breite), die der späteren Kalibrierung des Computers für die Auswertung der Mikroradiogramme diente. Rechts von der Eichtreppe befand sich ein Aluminiumschlitten, der die TMR-Probenhalter samt Dünnschliff während der mikroradiografischen Aufnahme in exakter Position zur Eichtreppe in Beziehung hielt. Gleichzeitig diente der Aluminiumschlitten durch Herausziehen nach oben dem Wechsel der TMR-Probenhalter und damit der Dünnschliffe nach jeder Aufnahme, ohne dass das Kameragehäuse geöffnet werden musste. Damit wurde eine zwischenzeitige Belichtung des Films ausgeschlossen.

Die Mikroradiogramme wurden auf einem hochauflösenden, holografischen Spezialfilm (Motion Picture safety film Fuji fine grain positive film 71337; FUJIFILM, Düsseldorf, Deutschland) erstellt. Dafür wurde der Film manuell in einer lichtundurchlässigen Kassette auf eine handelsübliche Filmrolle aufgespult. Nach Einlegen des Spezialfilms und Schließen des Kameragehäuses wurden die Mikroradiogramme angefertigt. Dafür wurde über den Aluminiumschlitten jeweils ein TMR-Probenhalter samt einem Dünnschliff in das Kameragehäuse eingebracht und anschließend die Probe zusammen mit der Aluminiumeichtreppe auf den Film projiziert. Dabei wurden die Schmelzproben bei einer Röhrenspannung von 20 kV und einem Röhrenstrom von 20 mA 10 Sekunden lang belichtet. Die Röntgenstrahlen wurden in einer vertikal montierten Röntgenröhre von einer Kupferanode mit Nickelfilterung emittiert und sie durchdrangen die Dünnschliffe parallel zur behandelten Oberfläche und senkrecht zur

Schnittebene. Nachdem auf diese Weise alle Mikroradiogramme angefertigt worden waren, wurden die Proben erneut in 0,9 % Kochsalzlösung gelagert.

6.5 Mikroradiografische Untersuchung/Auswertung

Für die Auswertung wurden die Spezialfilme mit den mikroradiografischen Aufnahmen entwickelt. Dann wurden die Einzelaufnahmen mit einem Durchlichtmikroskop (Durchlichtmikroskop „Axioskop 2“; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an dem eine Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77 CE; Sony, Tokio, Japan) angeschlossen war, digitalisiert und auf einen angeschlossenen Computer übertragen. Zuvor wurde das Mikroskop gekühlt. Die Untersuchung der Mikroradiogramme erfolgte mit einer speziellen TMR-Software (Transversal Microradiography [TMR] für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research, Amsterdam, Niederlande).

Bei jeder Probenaufnahme wurde zunächst die Lichtintensität am Mikroskop in einem gesunden Bereich adjustiert. Dann wurde bei 16facher Vergrößerung jede Stufe der mitbelichteten Aluminiumeichtreppe gescannt und im Programm abgespeichert. Anschließend erfolgte die eigentliche Auswertung der jeweiligen Probe, indem die vier verschiedenen Schmelzbereiche „Gesund“, „Demineralisation“, „Effekt 1“ (nach 5 Wochen) und „Effekt 2“ (nach 10 Wochen) auch gescannt und abgespeichert wurden. Durch die im Computerprogramm abgespeicherten Werte der Dicke, Röntgenabsorption und Grauwerte jeder Stufe der Aluminiumeichtreppe konnte ein Vergleich mit den Graustufen jedes Probenbereiches im digitalisierten Mikroradiogramm erfolgen. Damit konnte der Mineralverlust (Vol.%) als Funktion der Probentiefe (μm) automatisch berechnet werden. Außerdem konnte der gesamte Mineralverlust (Vol.% \times μm) jeder Probe durch Integration von Läsionstiefe (μm) und Mineralgehalt (Vol.%) ermittelt werden.

6.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe der SPSS-Software (SPSS [Statistical Package for Social Sciences], Version 11.5.1; SPSS, München, Deutschland) durchgeführt. Alle Variablen wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest auf Normalverteilung untersucht. Der gepaarte *t*-Test wurde zum Vergleich innerhalb einer Gruppe verwendet, um die Veränderungen innerhalb einer Gruppe festzustellen. Der Gruppenvergleich für je einen Wert erfolgte mit ANOVA One Way. Mehrfachvergleiche wurden mit dem Post-hoc-Test nach Tukey durchgeführt. Bei allen Tests wurde das Signifikanzniveau mit 5 % festgelegt.

6.7 Berechnung der Sättigung von DKPD, OKP und HA

Zunächst wurden die einzelnen Ionenkonzentrationen der Lösungen kalkuliert. Es folgt ein Beispiel für die Berechnung von Ionenkonzentrationen: Für eine Lösung, die 2,4 mmol/l $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ und 3,84 mmol/l KH_2PO_4 enthält, ergeben sich folgende Ionenkonzentrationen: 2,4 mmol/l Ca^{2+} , 3,84 mmol/l K^+ , 3,84 mmol/l anorganisches Phosphat und 2,4 mmol/l Cl^- . Anschließend erfolgte die Bestimmung der Sättigung aller 8 Lösungen hinsichtlich DKPD, OKP und HA mittels der Software nach Shellis (siehe Tab. VIII unter 5.2) [Shellis 1988]. In die Berechnung fließen H^+ und OH^- nicht ein, weil sie bereits im pH enthalten sind. Kristallisationswasser (wie z. B. in $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) kann vernachlässigt werden. Anionen aus mehreren Komponenten zählen wie ein Ion, so umfasst z. B. „Phosphat“ H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} und PO_4^{3-} .

6.8 Kalzium- und Magnesiumbestimmung

In den Ausgangslösungen wurden Kalzium und Magnesium bestimmt. Dazu wurden die Ausgangslösungen mit entgastem H_2O um den Faktor 10 verdünnt und für die Messung auf einen pH von 6,3 eingestellt. Kalzium wurde mit Hilfe einer kalziumionenselektiven Elektrode (Metrohm, Nr. 6.0508.110) bestimmt, die zuvor mit CaCl_2 -Lösungen ($\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$; 99,5 %, Fluka, Nr. 21097) unterschiedlicher Konzentrationen kalibriert wurde (10 mM, 1 mM, 0,1 mM und 0,01 mM). Für die Messung des Mg^{2+} -Potentials wurden eine ionenselektive Membran mit einem Uni ISE MT050 Elektrodenkörper (C-CIT, Wädenswil, Schweiz) sowie eine Metrohm-Bezugselektrode (Nr. 6.0750.100) eingesetzt. Die Kalibrierung erfolgte hierbei mit MgCl_2 -Lösungen ($\text{MgCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$; >99 %, Roth, Nr. 2189.0) in den Konzentrationen 10 mM, 1 mM, 0,1 mM und 0,01 mM. Die Einstellung des pH-Wertes wurde mit 10 mM NaOH-Lösung und 10 mM HCl-Lösung durchgeführt. Die Bestimmung erfolgte durch den Einsatz eines Titrationsexperimentes, wobei ein kommerzielles, computergesteuertes Titrationssystem (Firma Metrohm, Filderstadt) eingesetzt wurde, das über die Titrationsoftware Tiamo 1.1 gesteuert wird.

Die kontinuierlich gemessenen Elektrodenpotentiale wurden jeweils aufgezeichnet und anschließend in Konzentrationen umgerechnet.

7 Ergebnisse

7.1 Quantitative Auswertung

7.1.1 Mineralverlust Schmelz

Alle *in vitro* demineralisierten Schmelzproben zeigten oberflächliche Läsionen mit erhöhter Mineralisation der obersten Schicht (verglichen mit dem Mineralgehalt des Läsionskörpers). Der Mittelwert (SD) für die demineralisierten Kontrollbereiche lag bei 4275 Vol.% × µm (867 Vol.% × µm).

Tabelle VI zeigt die mittleren Mineralverluste sowie die dazugehörigen Standardabweichungen der jeweiligen Gruppen nach Demineralisation und nach Lagerung in den verschiedenen niedrig- und hochviskösen Lösungen für 5 Wochen (e1) und für 10 Wochen (e2). Die Anzahl der zusammengefassten Einzelmessungen bei jeder Gruppe lag bei 14 (Ausnahme: Bei Gruppe 2 erfolgten 13 Einzelmessungen jeweils nach 5 und nach 10 Wochen).

Das Ausmaß der Demineralisation und der erhöhten oder verringerten Mineralverluste ist in Tabelle VI angegeben.

Bei Betrachtung der Mineralverluste der Schmelzproben nach 5 Wochen Lagerung zeigten die Gruppen 2 bis 4 (Lagerung in niedrigviskösen Lösungen) eine weitere signifikante Demineralisation ($p=0,026$ Gruppe 2, $p=0,033$ Gruppe 3, $p=0,005$ Gruppe 4; gepaarter *t*-Test; Tab. VI). Bei den Gruppen 5 bis 8, die in hochviskösen Lösungen gelagert wurden, zeigte hingegen nur die Gruppe 7 eine signifikante Zunahme der Demineralisation ($p=0,009$; Tab. VI). Eine Remineralisation trat in Gruppe 6 auf, auch wenn die Verringerung des Mineralverlustes nicht signifikant war ($p=0,408$; Tab. VI). In den Gruppen 1, 5 und 8 kam es nach 5 Wochen zu einer weiteren Demineralisation; die *p*-Werte sind aber nicht signifikant ($p>0,05$; Tab. VI).

Nach Lagerung in den verschiedenen Lösungen für 10 Wochen fand sich eine signifikante Zunahme der Demineralisation in den Gruppen 1 ($p=0,025$), 2 ($p=0,002$) und 4 ($p=0,004$) bei den niedrigviskösen Lösungen und in den Gruppen 5 ($p=0,021$) und 7 ($p=0,019$) bei den hochviskösen Lösungen (Tab. VI). In den Gruppen 3, 6 und 8 war die Demineralisation nicht signifikant ($p>0,05$; Tab. VI).

Tab. VI: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Mineralverluste (Vol.% × μm) nach der Demineralisation (d) und Lagerung in den verschiedenen Lösungen nach 5 Wochen (e1) und nach 10 Wochen (e2) (p<0,05, gepaarter *t*-Test)

Nr.	Lösung	Mineralverlust d		Mineralverlust e1		P-Wert	Mineralverlust e2		P-Wert
		MW	SD	MW	SD		MW	SD	
1	N	3971	900	4332	1141	0,171	4695	1260	0,025
2	N Mg	4236	578	4594	797	0,026	5360	836	0,002
3	N CO ₃	4040	750	4415	841	0,033	4380	639	0,147
4	N Mg/CO ₃	4006	1111	4545	1035	0,005	4466	1072	0,004
5	H	4576	701	4858	1256	0,253	5369	1097	0,021
6	H Mg	4241	908	4030	1161	0,408	4543	1322	0,346
7	H CO ₃	4482	823	5181	854	0,009	5242	1369	0,019
8	H Mg/CO ₃	4646	1162	4739	1200	0,778	4993	1078	0,273

Erläuterung: Signifikante Unterschiede zwischen den Mineralverlusten nach Demineralisation (d) und nach Lagerung in den verschiedenen Lösungen für 5 Wochen (e1) und 10 Wochen (e2) sind fett gekennzeichnet (p<0,05). Der Buchstabe N bei den Bezeichnungen der Lösungen steht für niedrigviskös, der Buchstabe H für hochviskös.

7.1.2 Läsionstiefe Schmelz

Die demineralisierten Kontrollbereiche zeigten für die Läsionstiefe einen Mittelwert (SD) von 147 (23) μm.

In Tabelle VII sind die mittleren Läsionstiefen sowie die Standardabweichungen nach Demineralisation und nach Lagerung in den verschiedenen Lösungen für 5 (e1) und für 10 (e2) Wochen zusammengefasst. Innerhalb jeder Gruppe erfolgten jeweils 14 Einzelmessungen (Ausnahme: Gruppe 2 mit 13 Einzelmessungen nach 5 und nach 10 Wochen). Das Ausmaß der Zunahme oder der Verringerung der Läsionstiefe sind in Tabelle VII angegeben.

In allen Gruppen kam es nach Lagerung in den verschiedenen niedrig- und hochviskösen Lösungen nach 5 und nach 10 Wochen zu einer signifikanten Zunahme der Läsionstiefe (p<0,05; gepaarter *t*-Test; Tab. VII).

Tab. VII: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Läsionstiefen (μm) nach der Demineralisation (d) und Lagerung in den verschiedenen Lösungen nach 5 Wochen (e1) und 10 Wochen (e2) ($p < 0,05$, gepaarter t -Test)

Nr.	Lösung	Läsionstiefe d		Läsionstiefe e1		P-Wert	Läsionstiefe e2		P-Wert
		MW	SD	MW	SD		MW	SD	
1	N	145	28	193	49	<0,001	201	55	<0,001
2	N Mg	144	16	185	30	<0,001	221	66	0,001
3	N CO ₃	142	22	178	40	0,003	189	45	0,001
4	N Mg/CO ₃	136	22	188	35	<0,001	196	39	<0,001
5	H	157	26	192	52	0,007	207	50	0,001
6	H Mg	144	26	163	26	0,020	185	40	<0,001
7	H CO ₃	150	22	200	39	<0,001	212	55	<0,001
8	H Mg/CO ₃	160	25	196	37	0,001	209	45	0,003

Erläuterung: Signifikante Unterschiede zwischen den Läsionstiefen nach Demineralisation und nach Lagerung in den verschiedenen Lösungen für 5 Wochen (e1) und 10 Wochen (e2) sind fett gekennzeichnet ($p < 0,05$). Der Buchstabe N bei den Bezeichnungen der Lösungen steht für niedrigviskös, der Buchstabe H für hochviskös.

7.2 Ergebnisse der Sättigungsberechnung für DKPD, OKP und HA

In Tabelle VIII sind die Ergebnisse der Berechnung der Sättigung für DKPD, OKP und HA bezüglich einer wässrigen Lösung zusammengefasst. Die kalkulierten Sättigungswerte zeigen, dass alle Lösungen bezüglich DKPD, OKP und HA ungesättigt waren (Sättigung < 1).

Tab. VIII: Sättigungsberechnung aller Lösungen bezüglich DKPD, OKP und HA

Nr.	Lösung	Sättigung DKPD	Sättigung OKP	Sättigung HA
1	N	0,1621	0,2757	0,949
2	N Mg	0,1628	0,2773	0,956
3	N CO ₃	0,1627	0,2771	0,955
4	N Mg/CO ₃	0,1628	0,2773	0,956
5	H	0,1621	0,2757	0,949
6	H Mg	0,1628	0,2773	0,956
7	H CO ₃	0,1627	0,2771	0,955
8	H Mg/CO ₃	0,1628	0,2773	0,956

Erläuterung: (DKPD) Dikalziumphosphatdihydrat, (OKP) Oktakalziumphosphat, (HA) Hydroxylapatit

7.3 Ergebnisse der Kalzium- und Magnesiumbestimmung

In Tabelle IX sind die Messergebnisse der Magnesium- und Kalziumbestimmung zusammengefasst. Die gemessenen Werte liegen sowohl beim Magnesium als auch beim Kalzium deutlich unter den hinzugefügten Mengen.

Tab. IX: Ergebnisse der Magnesium- und Kalziumbestimmung

Nr.	Lösung	Mg	Mg	Mg	Ca	Ca	Ca
		zugegeben	gemessen	gemessen unverdünnt	zugegeben	gemessen	gemessen unverdünnt
		mM	µM	µM	mM	µM	µM
1	N	--	11,4	0,60	2,4	3,3	0,82
2	N Mg	1,5	95,0	2,67	2,4	3,6	0,71
3	N CO ₃	--	13,1	0,69	2,4	3,7	0,76
4	N Mg/CO ₃	1,5	106,1	3,27	2,4	3,7	1,00
5	H	--	3,7	0,16	2,4	2,4	0,14
6	H Mg	1,5	57,8	0,68	2,4	6,2	0,12
7	H CO ₃	--	7,8	0,18	2,4	2,5	0,10
8	H Mg/CO ₃	1,5	37,5	0,85	2,4	2,5	0,13

Erläuterung: Ca wurde als CaCl₂ × 2H₂O zugegeben. Die Ausgangslösungen wurden mit entgastem H₂O um den Faktor 10 verdünnt und für die Messung auf einen pH = 6,3 eingestellt. Der Buchstabe N bei den Bezeichnungen der Lösungen steht für niedrigviskös, der Buchstabe H für hochviskös.

7.4 Qualitative Auswertung

Der Mittelwertgraph der Bereiche „Gesund“ aller 128 Schmelzproben zeigte einen geringen oberflächlichen Mineralverlust. Dieser wurde auf projektionsbedingte Fehler zurückgeführt (Abb. 6). Nach 16tägiger Demineralisation der Schmelzproben zeigt der entsprechende Mittelwertgraph das typische Bild einer initialen Läsion. Zu erkennen sind eine pseudointakte Oberflächenschicht (im Folgenden OS) sowie ein Läsionskörper (im Folgenden LK) (Abb. 6). Aus dem Mittelwertgraphen geht hervor, dass der Mineralgehalt von der Schmelzoberfläche bis zu seinem Höhepunkt innerhalb der OS ansteigt (violetter Punkt in Abb. 6). Danach sinkt der Mineralgehalt mit zunehmender Läsionstiefe auf seinen geringsten Wert ab (violettes Rechteck in Abb. 6), der sich im LK befindet. Bis zum gesunden Schmelzbereich nimmt der Mineralgehalt danach stetig zu (Abb. 6).

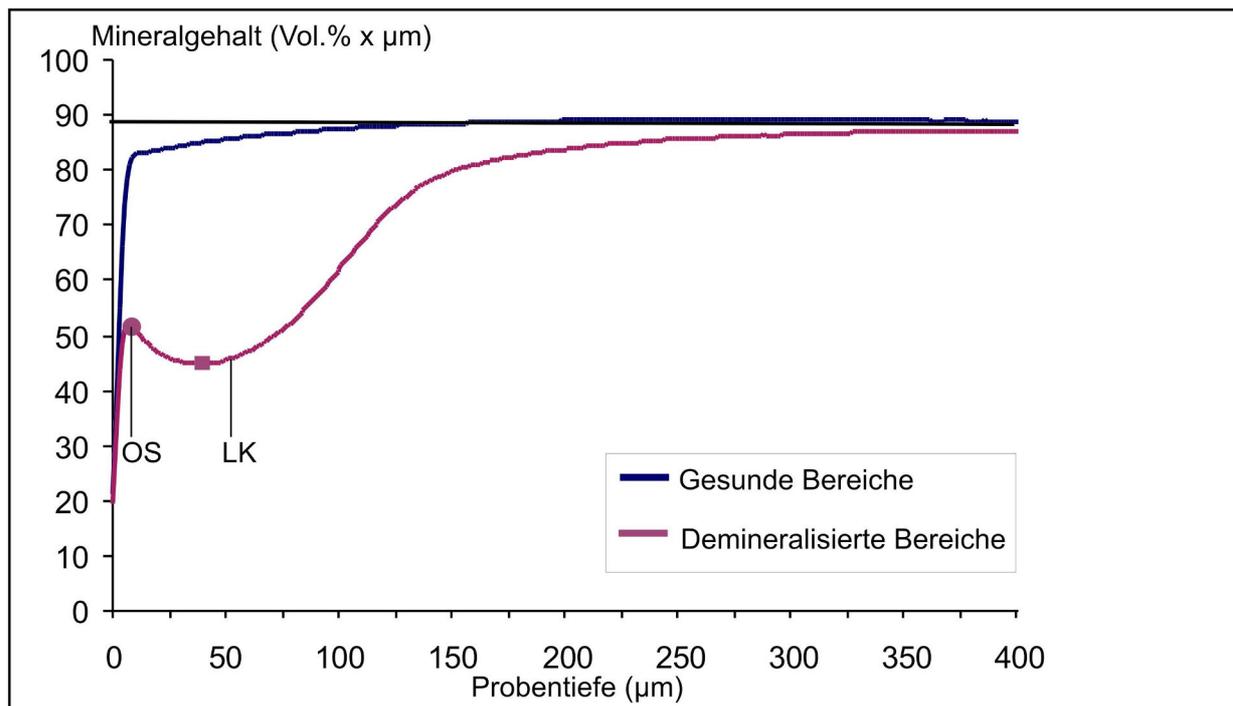


Abb. 6 Mittelwertgraphen aller gesunden und demineralisierten Probenbereiche. Der violette Punkt stellt den Bereich des höchsten Mineralgehaltes in der Läsion dar, das violette Rechteck den geringsten Mineralgehalt der Läsion. Die Abkürzung OS bedeutet pseudointakte Oberflächenschicht und LK Läsionskörper.

Die Mittelwertgraphen, die von den Messwerten aller Probenbereiche nach 5 Wochen/Effekt 1 erstellt wurden, wurden wegen der besseren Übersicht nach Gruppen 1 bis 4 (niedrigvisköse Lösungen) und Gruppen 5 bis 8 (hochvisköse Lösungen) aufgeteilt dargestellt (Abb. 7 und Abb. 8).

Nach 5 Wochen Lagerung sind insgesamt keine großen Veränderungen erkennbar (Abb. 7). Bei allen 4 Lösungen bleibt der Grundaufbau einer initialen Läsion erhalten. In der Lösung 1 kam es zu einer leichten Abnahme der Läsionstiefe bei gleichzeitiger leichter Mineraleinlagerung im Bereich des LK. Im Bereich der OS kam es zu einem leichten Mineralverlust (Abb. 7). Die Lösung 2 führte sowohl in der OS als auch im LK zu einem leichten Mineralverlust mit leichter Zunahme der Läsionstiefe (Abb. 7). In der Lösung 3 kam es zum stärksten Zuwachs des Mineralgehalts im Bereich der OS bezogen auf die niedrigviskösen Lösungen, der Mineralzuwachs im LK war ähnlich dem in der Lösung 1, ebenfalls mit einer leichten Abnahme der Läsionstiefe (Abb. 7). Die Lösung 4 führte zu keiner Veränderung im LK, an der OS trat ein geringer Mineralgewinn (nicht signifikant) auf (Abb. 7).

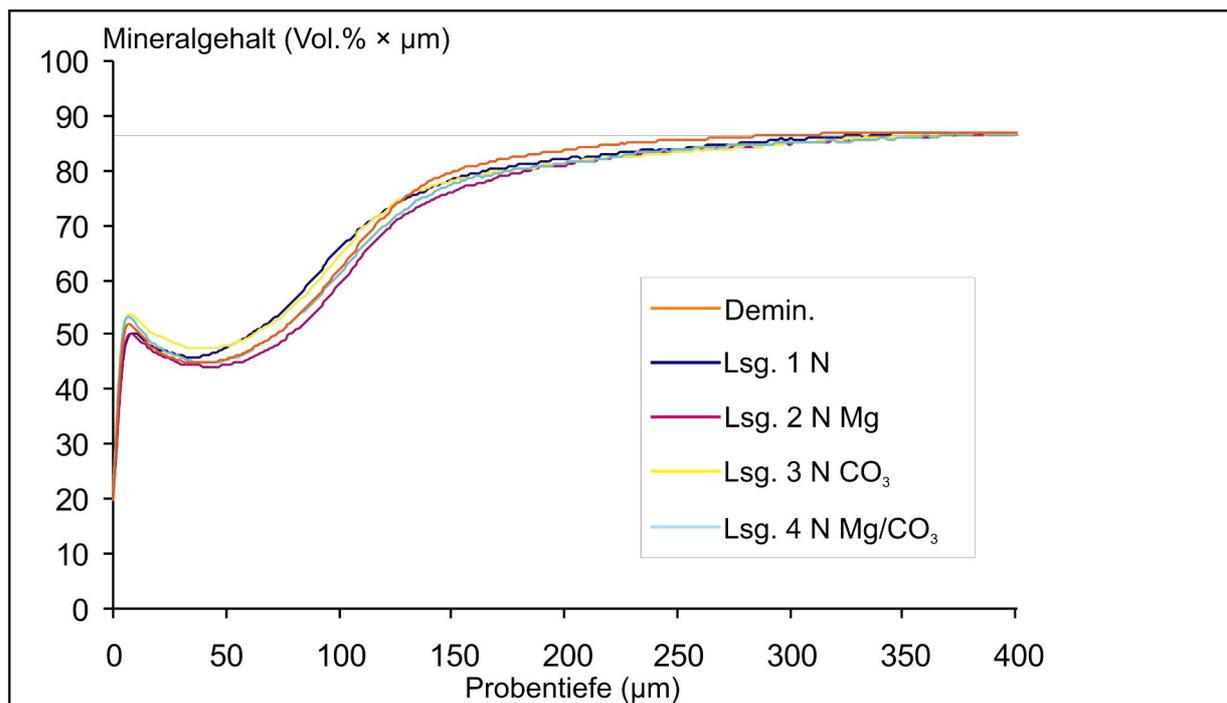


Abb. 7 Mittelwertgraphen der Probenbereiche „Effekt 1“ nach fünfwöchiger Lagerung in den Lösungen 1 bis 4 (N = niedrigviskös, Mg = Zugabe von Magnesium, CO₃ = Zugabe von Karbonat). Zur Beurteilung der jeweiligen Veränderung ist der Mittelwertgraph der Probenbereiche „Demineralisation“ mit abgebildet.

Nach 5 Wochen Lagerung in den Lösungen 5 bis 8 (hochvisköse Lösungen) kam es ebenfalls zu keinen deutlichen Strukturveränderungen der Läsionen. Die Grundform der Läsion blieb auch hier unverändert erhalten (Abb. 8). Kleine Abweichungen sind im Folgenden beschrieben: Die Lösung 5 verursachte einen leichten Mineralverlust im Bereich der OS, während im LK keine Veränderung auftrat. Die Läsionstiefe blieb unverändert (Abb. 8). In der Lösung 6 kam es zum stärksten Mineralgewinn sowohl in der OS als auch im LK bei leichter Abnahme der Läsionstiefe (Abb. 8). Die Lösung 7 führte zu keiner Veränderung (Abb. 8). In der Lösung 8 kam es zu einem ähnlich starken Mineralgewinn in der OS wie in der Lösung 6. Im LK war der Mineralgewinn größer als in den Lösungen 5 und 7, aber schwächer als in der Lösung 6 (Abb. 8).

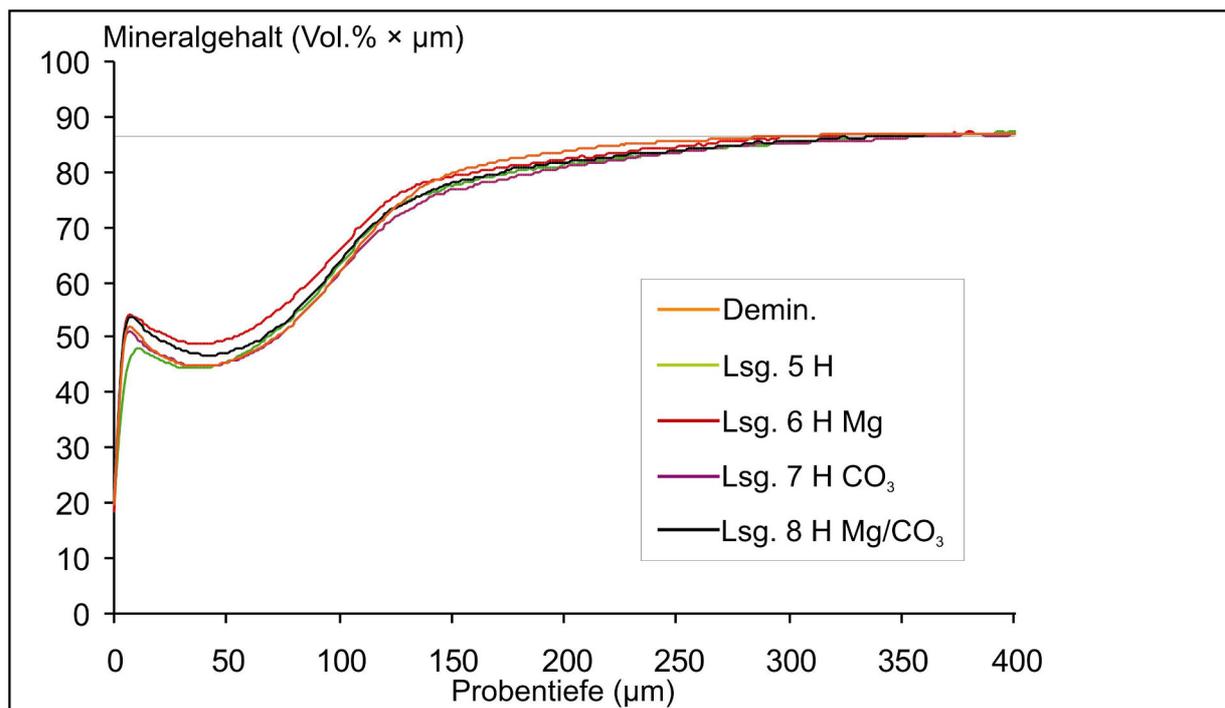


Abb. 8 Mittelwertgraphen der Probenbereiche „Effekt 1“ nach fünfwöchiger Lagerung in den Lösungen 5 bis 8 (H = hochviskös, Mg = Zugabe von Magnesium, CO₃ = Zugabe von Karbonat)). Zur Beurteilung der jeweiligen Veränderung ist der Mittelwertgraph der Probenbereiche „Demineralisation“ mit abgebildet.

Die erstellten Mittelwertgraphen der Probenbereiche nach 10 Wochen Lagerung/Effekt 2 zeigen, dass zum Teil strukturelle Veränderungen in den demineralisierten Läsionen stattgefunden haben. In den Lösungen 1, 5, 7 und 8 kam es jeweils zu einer ähnlichen Veränderung. Die OS ist nicht mehr zu erkennen. Sowohl im Bereich der OS als auch im Bereich des LK kam es zu einem Mineralverlust, ohne dass sich die Läsionstiefe veränderte (Abb. 9). Die Lösung 2 führte nach 10 Wochen Lagerung zur stärksten Veränderung. In der OS und im LK kam es zu einem Mineralverlust bei einer nur schwachen Zunahme der Läsionstiefe. Die OS ging verloren (Abb. 9). In der Lösung 3 trat ein leichter Mineralverlust in der OS auf, die nur noch im Ansatz zu erkennen ist. Im LK hingegen trat ein leichter Mineralgewinn auf bei insgesamt unveränderter Läsionstiefe (Abb. 9). Die Lösung 4 führte zu einem Mineralverlust der OS, diese ist kaum noch vorhanden. Im LK ist der Mineralverlust nur im äußeren Probenbereich zu sehen. Ab einer Proben-tiefe von etwa 50 μm ist kein Mineralverlust mehr im Bereich des LK vorhanden. Auch die Läsionstiefe ist unverändert (Abb. 9). Die Lösung 6 bewirkte einen Mineralverlust in der OS, diese ist nicht mehr erkennbar. Im Zentrum des

LK ist ein leichter Mineralgewinn bei einer leichten Abnahme der Läsionstiefe zu verzeichnen (Abb. 9).

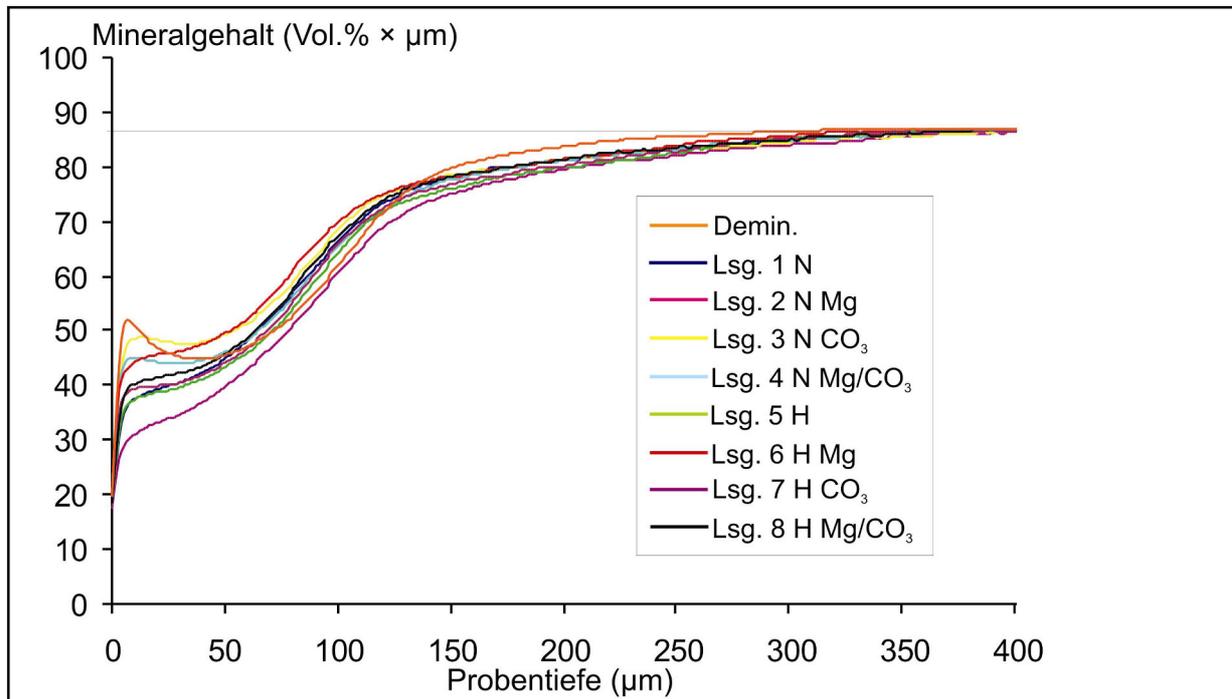


Abb. 9 Mittelwertgraphen der Probenbereiche „Effekt 2“ nach 10wöchiger Lagerung in den jeweiligen Lösungen (N = niedrigviskös, H = hochviskös, Mg = Zugabe von Magnesium, CO₃ = Zugabe von Karbonat). Zur Beurteilung der jeweiligen Veränderung ist der Mittelwertgraph der Probenbereiche „Demineralisation“ mit abgebildet.

8 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden ausschließlich Frontzähne von schlachtfrischen Rindern verwendet. Bovine Zähne zeigen eine ähnliche Zusammensetzung wie humane Zähne, sind besser verfügbar und ihre Größe ermöglicht die Herstellung geeigneter Proben [Gente et al. 1985; Esser et al. 1998]. Unterschiede in der histologischen Struktur und Zusammensetzung führen zu einer etwas geringeren Härte und dazu, dass eine kariöse Läsion bzw. Demineralisation in bovinem Schmelz etwa doppelt so schnell entsteht wie in humanem Schmelz [Edmunds et al. 1988; Reeh et al. 1995]. Durch die homogenere Kalziumverteilung, verglichen mit humanem Schmelz, und geringe Vorschädigung durch äußere Einflüsse, kann von einer uniformen Reaktionsfähigkeit ausgegangen werden [Davidson et al. 1973]. Rinderschmelz ist daher besonders zur Substitution von humanen Zähnen im Rahmen von De- und Remineralisationsuntersuchungen geeignet.

Bei der vorliegenden Untersuchung wurden 128 gesunde, zuvor demineralisierte Schmelzproben über einen Zeitraum von 5 und 10 Wochen in wässrigen Lösungen und potentiellen Basislösungen von Speichelersatzmitteln gelagert. Die Lösungen wurden alle zwei Tage ausgewechselt. Dies entspricht einem sehr intensiven Kontakt, der unter klinischen Bedingungen so nicht zu erwarten ist. Ein Speichelersatzmittel soll jedoch nach Bedarf verwendet werden und unterliegt auch bei bestimmungsgemäßer Anwendung normalerweise keiner Tageshöchst-dosis [Kielbassa und Shohadai 1999]. Bei irreversibler Schädigung der Speicheldrüsen ist ein regelmäßiger klinischer Einsatz über viele Jahre denkbar, so dass ein Untersuchungszeitraum von 5 Wochen *in vitro* realistisch scheint, um mögliche Auswirkungen der potentiellen Speichelersatzmittel auf die Zahnhartsubstanzen zu untersuchen. Ein Zeitraum von 10 Wochen Lagerung scheint eher ungeeignet. So führte er in der vorliegenden Studie in 6 von 8 Gruppen zu einer tendenziell erosiven Veränderung mit Auflösung der ursprünglichen Läsionsstruktur (vgl. Abb. 9).

Bei allen Lösungen wurde ein pH von 6,3 eingestellt, also ein Wert, der etwas unter dem normalen durchschnittlichen Speichel-pH bei Gesunden liegt. Nach durchgeführter Strahlentherapie haben Betroffene meist einen leicht erniedrigten Speichel-pH [Dreizen et al. 1976]. Frühere Studien haben gezeigt, dass eine Remineralisation durch Speichelersatzmittel auf CMC- und Muzin-Basis eher bei einem pH von 6,5 als 5,5 zu erwarten ist. Daher scheint ein höherer pH (über 6,0) für Speichelersatzmittel vorteilhaft zu sein [Meyer-Lueckel et al. 2006; Meyer-Lueckel et al. 2007]. Der pH wurde während der Lagerungsdauer von 5 bzw. 10 Wochen durch einen Zitratpuffer konstant gehalten. Zitratpuffer werden häufig in Nahrungsmitteln im Bereich des in der aktuellen Studie angewandten pH verwendet [Chuy und Bell 2006]. Es ist keine toxische Wirkung bekannt und der pH wurde auf diese Weise effektiv konstant gehalten.

Das Verhältnis von Kalzium und Phosphat wurde wie in früheren Studien in einem „physiologischen“ Bereich von 1:1,6 gewählt [Tschoppe et al. 2008; Tschoppe et al. 2009b]. In-vitro-Studien zeigten bei Lösungen und Speichelersatzmitteln auf CMC-Basis eine Remineralisationsfähigkeit bei einer Sättigung von $S_{OKP}=2$ [Tschoppe et al. 2009a; Meyer-Lueckel et al. 2010]. Eine weitere Steigerung der Sättigung führte zu keiner weiteren Steigerung der Remineralisation [Tschoppe et al. 2009a]. In einer Untersuchung resultierte die theoretische Sättigung $S_{OKP}=2$ in einer gemessenen Sättigung von $S_{OKP}=0,3$, also in einer bezüglich OKP ungesättigten Lösung. Dennoch trat eine Remineralisation ein [Meyer-Lueckel et al. 2010]. Eine andere Studie zeigte den höchsten Mineralgewinn mit einer Sättigung von $S_{OKP}=3,2$ bei einem pH von 6,5 [Meyer-Lueckel et al. 2007]. In der vorliegenden Studie waren alle Lösungen bezüglich DKPD, OKP und HA ungesättigt (vgl. Tab. VIII). Die Sättigung von OKP lag bei einem Wert von knapp unter 0,3, die Sättigung von DKPD bei etwa 0,16 und die von HA bei einem Wert von knapp unter 1.

Die gewählten Kalzium- und Phosphatkonzentrationen waren die für Speichelersatzmittel höchsten zulässigen. Da Speichelersatzmittel als Medizinprodukte gesetzlichen Regelungen unterliegen, können die Konzentrationen nicht beliebig gesteigert werden. Die Menge oder das Verhältnis könnten in „unphysiologischen“ Werten resultieren. Bei zu hohen Konzentrationen können Präzipitate (bestehend aus amorphen Kalziumphosphaten) entstehen, wodurch dann weniger freies Kalzium und Phosphat für eine mögliche Remineralisation zur Verfügung stehen [Vissink et al. 1985; Meyer-Lueckel et al. 2010]. Die vorliegende Studie bestätigt frühere Beobachtungen, dass bezüglich OKP, DKPD und HA ungesättigte Lösungen potentiell demineralisierend sind [Tschoppe et al. 2009a; Meyer-Lueckel et al. 2007].

Die Veränderung der Viskosität einer Lösung, bei sonst gleicher Zusammensetzung, kann sich auf die Reaktionsfähigkeit der darin enthaltenen Inhaltsstoffe auswirken. Durch die Zugabe von CMC zu einer Lösung wird die Viskosität erhöht. Frühere Untersuchungen zeigten nicht nur eine veränderte Fließfähigkeit, sondern auch einen Einfluss auf die Diffusion innerhalb solcher hochviskösen Lösungen. Es kam zu einer verringerten Diffusionsrate. Ein dadurch möglicher Einfluss auf De- und Remineralisationsprozesse wurde diskutiert [Gelhard et al. 1983; Vissink et al. 1984; Vissink et al. 1985]. CMC zeigte außerdem eine Affinität zu Kalziumionen. Durch Komplexbildung zwischen CMC und Kalziumionen waren weniger freie Kalziumionen für eine mögliche Remineralisation verfügbar [Gelhard et al. 1983; Vissink et al. 1984; Vissink et al. 1985]. In der vorliegenden Studie führte die Lagerung der Schmelzproben in den Lösungen 1 (N) und 5 (H, CMC-Basis) (Kontrollgruppen ohne Zugabe von Magnesium und/oder Karbonat) nach 5 Wochen bezogen auf den Mineralverlust zu

keiner signifikanten Demineralisation. Nach 10 Wochen Lagerung hatte in beiden Gruppen 1 und 5 eine signifikante weitere Demineralisation stattgefunden.

Bezüglich der Läsionstiefe gab es sowohl nach 5 als auch nach 10 Wochen eine signifikante Zunahme, sowohl in der niedrig- als auch in der hochviskösen Lösung. Nach 5 Wochen blieb der Grundaufbau der Initialläsion erhalten. Die Auflösung der OS und damit der ursprünglichen Läsionsstruktur bestätigt die Beobachtung, dass ein Lagerungszeitraum von 10 Wochen ungünstig scheint. Ein signifikanter Unterschied zwischen der niedrig- und der hochviskösen Lösung konnte nicht festgestellt werden, was frühere Untersuchungen [Vissink et al. 1985] bezüglich des Einflusses von CMC nicht stützt. Die sehr niedrigen gemessenen Kalziumkonzentrationen in den Lösungen (vgl. Tab. IX) könnten auf eine mögliche, früher bereits postulierte Bindung von Kalzium an CMC hindeuten [Gelhard et al. 1983; Vissink et al. 1985]. Da aber keine signifikanten Unterschiede zwischen den Lösungen ohne und mit CMC-Basis bestehen, muss ein weiterer Einflussfaktor in Betracht gezogen werden. Denkbar ist nämlich ein Einfluss des Zitratpuffers. So kann auch Zitrat Komplexe mit Kalzium bilden, was die ähnlichen Ergebnisse in der niedrig- und in der hochviskösen Lösung erklären würde. In dem Fall sollte der Einsatz von Zitratpuffer bei Untersuchungen von kalziumabhängigen Systemen bzw. Reaktionen überdacht werden [Mohan 2006].

In der Literatur findet man unterschiedliche Studien, die den Einfluss von Magnesium und/oder Karbonat auf De-/Remineralisationsprozesse untersucht haben [LeGeros et al. 1989; Lammers et al. 1991; Ban et al. 1993; Barrère et al. 1999]. Die Ergebnisse zeigten unterschiedliche Auswirkungen durch die Zugabe von Magnesium und/oder Karbonat. In einigen Studien führte Magnesium zur Hemmung der Umwandlung von OKP zu Apatit und damit zu einer Hemmung der Remineralisation [Eanes und Rattner 1981; LeGeros et al. 1989; Ban et al. 1993]. Als Ursachen wurden eine Veränderung der Gitterstruktur durch Einbau von Magnesium bzw. eine Hemmung durch Anlagerung an die Oberflächen oder an aktive Reaktionszentren sowie eine Stabilisierung von Vor- und Zwischenstufen von Apatit diskutiert [Eanes und Rattner 1981; LeGeros et al. 1989; Blumenthal 1989; Tung et al. 1992; Ban et al. 1993]. Bereits eine Zugabe von 10 μM Magnesium führte zu einer Hemmung der Mineralinduktion und zu einer Verlängerung der Induktionszeit für die Mineralisation [Saito et al. 2003]. Eine frühere Studie zeigte keinen hemmenden Effekt von Magnesium [Taves und Neuman 1964]. Karbonat förderte die Umwandlung von OKP zu Apatit, wobei ein karbonathaltiges Endprodukt entstand [LeGeros et al. 1989]. Eine Kristallwachstumsstudie zeigte einen störenden Effekt auf das Kristallwachstum sowohl durch Magnesium als auch durch Karbonat [Barrère et al. 1999]. Auch eine Wechselwirkung zwischen Magnesium und Karbonat wurde angenommen [Barrère et al. 1999; Cao und Harris 2008]. Alle diese Untersuchungen fanden in niedrigviskösen Medien statt.

In der vorliegenden Studie kam es in der Gruppe 2 (N Mg) nach 5 und 10 Wochen zu einem signifikanten Mineralverlust. Auch wenn der Mineralverlust im Vergleich zur Kontrollgruppe 1 (N ohne Magnesium) signifikant war, dürfte die Ursache eher in der fehlenden Sättigung an DKPD, OKP und HA und damit der potentiell demineralisierenden Wirkung der Lösung selbst zu suchen sein. Eine Wirkung durch die Zugabe von Magnesium kann jedoch nicht vollständig ausgeschlossen werden und würde frühere Untersuchungen bestätigen [Eanes und Rattner 1981; Saito et al. 2003].

In Gruppe 6 (H Mg) trat im Gegensatz zur Lagerung in der niedrigviskösen Lösung nach 5 Wochen eine Abnahme des Mineralverlustes auf, also eine Hemmung der Demineralisation. Auch nach 10 Wochen kam es zu keinem signifikanten Mineralverlust. Das widerlegt die Nullhypothese der vorliegenden Studie, die besagt, dass Magnesium keinen Einfluss auf die Demineralisation habe. Wie bereits früher publiziert wurde, kommt es in einer hochviskösen Lösung (CMC) an der Grenzfläche zwischen Lösung und (im vorliegenden Fall) Schmelzoberfläche zur Ausbildung einer Adsorptionsschicht [Tschoppe et al. 2008; Meyer-Lueckel et al. 2010]. Diese zunächst ungesättigte Adsorptionsschicht bindet vermutlich Magnesiumionen an freie Karboxylatgruppen. Ist die Schicht gesättigt, können keine weiteren Ionen mehr aufgenommen werden, also auch keine Kalziumionen aus dem Mineral. Die Adsorptionsschicht kann auch den Ionentransport aus der Läsion oder in die Läsion behindern [Tschoppe et al. 2008]. Dies ist eine mögliche Erklärung für die in der vorliegenden Studie beobachtete Hemmung der Demineralisation durch Magnesium.

In Gruppe 3 (N CO₃), Gruppe 4 (N CO₃/Mg) und Gruppe 7 (H CO₃) kam es nach 5 Wochen zu einem signifikanten Mineralverlust. Im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollgruppen 1 (N) und 5 (H) ist der Mineralverlust zwar signifikant, aber wie in Gruppe 2 wird die Ursache eher die fehlende Sättigung an DKPD, OKP und HA sein als die Zugabe von Karbonat bzw. Karbonat und Magnesium selbst. Während in Gruppe 4 und Gruppe 7 nach 10 Wochen ein weiterer signifikanter Mineralverlust auftritt, ist die Veränderung in Gruppe 3 (N CO₃) nicht signifikant. Ein möglicher positiver Effekt durch die Zugabe von Karbonat wie die Förderung der Umwandlung von OKP zu Apatit wäre denkbar, wie bereits zuvor beobachtet wurde [LeGeros et al. 1989].

In Gruppe 8 (H CO₃/Mg) trat kein signifikanter Mineralverlust auf, aber auch kein Mineralgewinn (wie in Gruppe 6). Auch hier könnte eine eventuell vorhandene Adsorptionsschicht, wie bereits erläutert, eine Rolle spielen [Tschoppe et al. 2008; Meyer-Lueckel et al. 2010].

In der vorliegenden Studie kam es in allen 8 Gruppen zu einer signifikanten Zunahme der Läsionstiefen (vgl. Tab. VII). Da es nicht in allen Gruppen zu einem signifikanten Mineralverlust kam, spricht das für eine, zumindest teilweise, Umverteilung des Minerals.

Nach 5 Wochen Lagerung blieb die Läsionsstruktur in allen 8 Gruppen erhalten (vgl. Abb. 7 und Abb. 8). In Gruppe 6 kam es zum stärksten Mineralgewinn, sowohl im Bereich der OS als auch im Bereich des LK, bei leichter Abnahme der Läsionstiefe. Das bestätigt die Ergebnisse der quantitativen Auswertung, bei der in Gruppe 6 eine (nicht signifikante) Remineralisation nach 5 Wochen beobachtet wurde. Nach 10 Wochen Lagerung sieht man im Rahmen der qualitativen Auswertung generell strukturelle Veränderungen der Läsionen mit undeutlicher oder fehlender OS und mit Mineralverlusten im Bereich des LK (vgl. Abb. 9). Die Veränderungen zeigen eine erosive Tendenz und bestätigen, dass die Ergebnisse nach 5 Wochen als sicherer bzw. aussagekräftiger anzusehen sind.

Die vorliegende Studie bestätigt, dass CMC eine gute Basis für ein Speichelerersatzmittel darstellt. Die in früheren Untersuchungen beobachtete Kalziumbindung konnte nicht bestätigt werden, da kein deutlicher Unterschied zwischen der CMC-freien niedrigviskösen Lösung 1 und der hochviskösen Lösung 5 auf CMC-Basis beobachtet wurde (vgl. Tab. VI) [Gelhard et al. 1983; Vissink et al. 1984; Vissink et al. 1985]. Wie zuvor in der Literatur beschrieben, ist der Zitratpuffer in der Lage, den pH über einen längeren Zeitraum (in der vorliegenden Studie 10 Wochen) effektiv konstant zu halten [Chuy und Bell 2006]. Die Zugabe von Magnesium und/oder Karbonat zu den niedrigviskösen Lösungen bewirkte keinen Effekt, was die Nullhypothese bestätigt. Im hochviskösen Medium zeigte Karbonat, wie vermutet, keinen Effekt, während Magnesium, entgegen der Nullhypothese, einen hemmenden Einfluss auf die Demineralisation hatte. Da Speichelerersatzmittel aus zahnmedizinischer Sicht nicht nur eine subjektive Linderung der Beschwerden für den Betroffenen bewirken, sondern die Zahnhartsubstanzen möglichst nicht schädigen und im Idealfall vorhandene initiale Läsionen remineralisieren und vor weiterem Mineralverlust schützen sollten, wäre die Zugabe von Magnesium zu Speichelerersatzmitteln ein möglicher Ansatz, um die Remineralisationsfähigkeiten zu verbessern. Zuvor sollten jedoch weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um die mögliche positive Wirkung genauer zu beurteilen. Sinnvoll wäre der Einsatz eines nicht toxischen Puffers, der weniger Einfluss auf die Kalziumkonzentration hat und damit für kalziumabhängige Reaktionen geeigneter ist.

9 Schlussfolgerungen

Die Zugabe von Karbonat zeigte in dieser Studie weder im niedrig- noch im hochviskösen Medium einen Effekt. Ein möglicher Einsatz von Karbonat bei der Herstellung von Speichelersatzmitteln scheint daher nicht sinnvoll.

In der vorliegenden Studie konnte in Gruppe 6 (H Mg) ein hemmender Einfluss auf die Demineralisation von bovinem Schmelz durch die Zugabe von Magnesium zu einer hochviskösen Lösung auf CMC-Basis gezeigt werden. Bei der Weiterentwicklung von Speichelersatzmitteln auf CMC-Basis wäre eine Zugabe von Magnesium ein möglicher Ansatz zur Verbesserung der positiven Wirkung eines Speichelersatzmittels auf Zahnschmelz.

Zitratpuffer ist in der Lage, über einen längeren Zeitraum (z. B. 10 Wochen) den pH-Wert einer Lösung konstant zu halten; gleichzeitig ist er nicht toxisch. Zitrat kann jedoch Komplexe mit Kalzium bilden, wodurch weniger freies Kalzium in der Lösung zur Verfügung steht. Da in der vorliegenden Studie die früher beobachtete Bindung von Kalzium durch CMC nicht bestätigt werden konnte, muss von einem Einfluss des Zitratpuffers ausgegangen werden, da nur sehr wenig freies Kalzium in den Lösungen nachgewiesen werden konnte. Daher ist Zitratpuffer zur Untersuchung kalzium-abhängiger Reaktionen wenig geeignet.

Um einen möglichen positiven Einfluss durch die Zugabe von Magnesium zu potentiellen Speichelersatzmitteln genauer zu untersuchen, sollten zukünftige Studien durchgeführt werden, bei denen ein nicht toxischer Puffer verwendet wird, der nicht zu einer Kalziumbindung führt.

10 Literaturverzeichnis

Anneroth G, Holm LE, Karlson G. The effect of radiation on teeth. A clinical, histologic and microradiography study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1985;14:269-274.

Atkinson JC, Grisius M, Massey W. Salivary hypofunction and xerostomia: Diagnosis and treatment. *Dent Clin N Am* 2005;49:309-326.

Ban S, Matsuura M, Arimoto N, Hayashizaki J, Itoh Y, Hasegawa J. Factors affecting the transformation of octacalcium phosphate to apatite in vitro. *Dent Mater J* 1993;12(2):106-117.

Barrère F, Layrolle P, Van Blitterswijk CA, De Groot K. Biomimetic calcium phosphate coatings on Ti6Al4V: A crystal growth study of octacalcium phosphate and inhibition by Mg^{2+} and HCO_3^- . *Bone* 1999;25(2):107S-111S.

Baume LJ. Allgemeine Grundsätze für eine internationale Normung der Kariesstatistiken. *Int Dent J* 1962;12:279.

Beetz I, Rößler R, Kielbassa AM. Kariesprophylaxe während und nach einer Strahlentherapie. *Prophylaxe Impuls* 1999;3:156-163.

Blumenthal NC. Mechanisms of inhibition of calcification. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1989;247:279-289.

Bornstein M, Filippi A, Buser D. Früh- und Spätfolgen im intraoralen Bereich nach Strahlentherapie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2001;111(1):61-68.

Brown WE, Smith JP, Lehr FR, Frazier AW. Octacalcium phosphate and hydroxyapatite. *Nature* 1962;196:1048-1055.

Brown LR, Dreizen S, Handler S, Johnston DA. Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. *J Dent Res* 1975;54(4):740-750.

Cao X, Harris W. Carbonate and magnesium interactive effect on calcium phosphate precipitation. *Environ Sci Technol* 2008;42:436-442.

Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta* 2007;383(1-2):30-40.

Chisholm DM, Mason DK. Salivary gland disease. *Br Med Bull* 1975;31(2):155-158.

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.

Chuy S, Bell LN. Buffer pH and pKa values as affected by added glycerol and sucrose. *Food Research International* 2006;39:342-348.

Collys K, Slop D, Coomans D. Interaction of magnesium and fluoride in the rehardening and acid resistance of surface-softened bovine enamel in vitro. *Magnesium Trace Elem* 1990;9:47-53.

Davidson CL, Boom G, Arends J. Calcium Distribution in Human and Bovine Surface Enamel. *Caries Res* 1973; 7:349-359.

Davies AN. The management of xerostomia: a review. *European Journal of Cancer Care* 1997;6:209-214.

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. *Palliative Medicine* 1998;12:105-111.

Davies AN. A comparison of artificial saliva and chewing gum in the management of xerostomia in patients with advanced cancer. *Palliative Medicine* 2000;14:197-203.

Dreizen S, Brown LR, Handler S, Levy BM. Radiation-induced xerostomia in cancer patients - Effect on salivary and serum electrolytes. *CCancer* 1976;38:273-278.

Dirix P, Nuyts S, Vander Poorten V, Delaere P, Van den Bogaert W. The influence of xerostomia after radiotherapy on quality of life: results of a questionnaire in head and neck cancer. *Support Care Cancer* 2008;16(2):171-179.

Driessens FCM, Wöltgens JHM. Tooth development and caries, Volume 2. CRC Press 1986.

Drummond JR, Chisholm DM. A qualitative and quantitative study of the ageing human labial salivary glands. *Arch Oral Biol* 1984;29(2):151-155.

Eanes ED, Rattner SL. The effect of magnesium on apatite formation in seeded supersaturated solutions at pH 7.4. *J Dent Res* 1981;60(9):1719-1723.

Edgar WM, Mullane DM. Saliva and oral health. British Dental Association, London 1990;27-41.

Edmunds DH, Whittaker DK, Green RM. Suitability of Human, Bovine, Equine and Ovine Tooth Enamel for Studies of Artificial Bacterial Carious Lesions. *Caries Res* 1988; 22:327-336.

Esser M, Tinschert J, Marx R. Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1998; 53:713-717.

Featherstone JDB. The continuum of dental caries-Evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004; 83:C39-C42.

Fédération Dentaire Internationale (dt. Bearbeitung: Franke G). Klassifizierung epidemiologischer Studien über Zahnkaries und Definitionen verwandter Begriffe. *J Dent Res* 1976;26:73.

Gelhard TB, Fidler V, 's-Gravenmade EJ, Vissink A. Remineralization of softened human enamel in mucin- or CMC-containing artificial salivas. *Journal of Oral Pathology* 1983;12:336-341.

Gente M, Sondermann U, Lehmann KM. Linearer thermischer Ausdehnungskoeffizient von Rinderschmelz und Rinderdentin. *Dtsch Zahnärztl Z* 1985;40:488-490.

Grötz KA, Duschner H, Kutzner J, Thelen M, Wagner W. Neue Erkenntnisse zur Ätiologie der sogenannten Strahlenkaries. Nachweis direkter radiogener Veränderungen an der Schmelz-Dentin-Grenze. *Strahlenther Onkol* 1997;173:668-676.

Grötz KN, Riesenbeck D, Brahm R, Seegenschmiedt MH, Al.Nawas B, Dörr W, Kutzner J, Willich N, Thelen M, Wagner W. Chronische Strahlenfolgen an den Zahnhartgeweben („Strahlenkaries“). *Strahlenther Onkol* 2001;2:96-104.

Guchelaar H-J, Vermes A, Meerwaldt JH. Radiation-induced xerostomia: pathophysiology, clinical course and supportive treatment. *Support Care Cancer* 1997;5:281-288.

Gwinnett AJ. Structure and Composition of Enamel. *Operative Dentistry* 1992; Supplement 5:10-17.

Hahnel S, Behr M, Handel G, Bürgers R. Saliva substitutes for the treatment of radiation-induced xerostomia - a review. *Support Care Cancer* 2009;17(11):1331-1343.

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.

Herod EL. The use of milk as a saliva substitute. *J Public Health Dent* 1994;54:184-189.

Huppelsberg J, Walter K. *Kurzlehrbuch Physiologie*. Georg Thieme Verlag 2003:147-148.

Imfeld T. Oligosalie und Xerostomie 1: Grundlagen, Epidemiologie, Ätiologie, Pathologie. *Acta Parodontol* 1984a;13(3):81-110.

Imfeld T. Oligosalie und Xerostomie 2: Diagnose, Prophylaxe und Behandlung. *Acta Parodontol* 1984b;13(4):111-138.

Jongebloed WL, Gravenmade EJ, Retief DH. Radiation caries: A review and SEM study. *Am J Dent* 1988;1:139-146.

Joyston-Bechal S, Kidd EAM. The effect of three commercially available saliva substitutes in enamel in vitro. *Br Dent J* 1987;163:187-190.

Keene HJ, Daly T, Brown LR, Dreizen S, Drane JB, Horton IM, Handler SF, Perkins DH. Dental caries and *Streptococcus mutans* prevalence in cancer patients with irradiation-induced xerostomia: 1-13 years after radiotherapy. *Caries Res* 1981;15:416-427.

Kielbassa AM, Schilli K. Betreuung des tumortherapeutisch bestrahlten Patienten aus Sicht der Zahnerhaltung. Zahnärztl Mitt 1997;87:58-68.

Kielbassa AM, Rowbotham F, Hellwig E, Schade-Brittinger C. Der Einfluß der Mundhygiene auf die Entstehung der initialen Karies in tumortherapeutische bestrahltem Schmelz. Dtsch Zahnärztl Z 1997a;52(11):735-740.

Kielbassa AM, Pioch T, Rowbotham F, Hellwig E, Staehle HJ. In vivo erzeugte Demineralisation bei tumortherapeutisch bestrahltem, menschlichem Zahnschmelz. Eine REM-Untersuchung. Acta Med Dent Helv (Schweiz Monatsschr Zahnmed) 1997b;2:193-198.

Kielbassa AM, Schaller HG, Hellwig E. Qualitative Befunde bei in situ erzeugter Initialkaries in tumortherapeutisch bestrahltem Dentin. Eine kombiniert rasterelektronenmikroskopische und mikroradiographische Studie. Acta Med Dent Helv (Schweiz Monatsschr Zahnmed) 1998;3:161-168.

Kielbassa AM, Shohadai SP. Die Auswirkung von Speichelersatzmitteln auf die Läsionstiefe von demineralisiertem Schmelz. Dtsch Zahnärztl Z 1999;54(12):757-763.

Kielbassa AM, Wrbas KT, Dornfeld B, Hellwig E, Schade-Brittinger C. Zum Einfluß der tumortherapeutischen Bestrahlung auf die Kariesentstehung in menschlichem Dentin. Eine In-vitro- und In-situ-Untersuchung. Dtsch Zahnärztl Z 1999;54:31-37.

Kielbassa AM, Schendera A, Schulte-Mönting J. Microradiographic and microscopic studies on in situ induced initial caries in irradiated and nonirradiated dental enamel. Caries Res 2000;34:41-47.

Kielbassa AM, Shohadai SP, Schulte-Mönting J. Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel. Support Care Cancer 2000;9(1):40-47.

Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H. Die Auswirkung von Speichelersatzmitteln und Mundspüllösungen auf Dentin. Schweiz Monatsschr Zahnmed 2001;111:1060-1066.

Kielbassa AM, Hinkelbein W, Hellwig E, Meyer-Lückel H. Radiation-related damage to dentition. Lancet Oncol 2006a;7(4):326-335.

Kielbassa AM, Hellwig E, Meyer-Lueckel H. Effects of irradiation on in situ remineralization of human and bovine enamel demineralized in vitro. Caries Res 2006b;40(2):130-5.

Klimm W. Kariologie. Carl Hanser Verlag München Wien 1997:73-125.

König KG. Karies und Parodontopathien. Thieme 1987:14-40.

Lagerlöf F, Oliveby A. Caries-protective factors in saliva. Adv Dent Res 1994;8(2):229-238.

Lammers PC, Borggreven JM, Driessens FC, Van Dijk JW. Influence of fluoride and carbonate on in vitro remineralization of bovine enamel. *J Dent Res* 1991;70:970-974.

Larsen MJ, Pearce EIF. Saturation of human saliva with respect to calcium salts. *Archives of Oral Biology* 2003;48:317-322.

LeGeros RZ, Daculsi G, Orly I, Abergas T, Torres W. Solution-mediated transformation of octacalcium phosphate (OCP) to apatite. *Scanning Microsc* 1989;3(1):129-137; discussion 137-138.

LeGeros RZ. *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*. Karger 1991.

LeGeros RZ, Sakae T, Bautista C, Retino M, LeGeros JP. Magnesium and carbonate in enamel and synthetic apatites. *Adv Dent Res* 1996;10(2):225-231.

Lüllmann-Rauch R. *Histologie*. Georg Thieme Verlag 2003:91-93,298-300.

Matzker J, Schreiber J. Synthetischer Speichel zur Therapie der Hyposalivation, insbesondere der radiogenen Sialadenitis. *Z Laryngol Rhinol Otol* 1972;51:422-428.

Mese H, Matsuo R. Salivary secretion, taste and hyposalivation. *J Oral Rehabil* 2007;34(10):711-723.

Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. Die Verwendung von Speichelersatzmitteln bei Patienten mit Xerostomie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2002;112(10):1037-1048.

Meyer-Lueckel H, Schulte-Mönting J, Kielbassa AM. The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 2002;8(4):192-198.

Meyer-Lueckel H, Hopfenmuller W, von Klinggraeff D, Kielbassa AM. Microradiographic study on the effects of mucin-based solutions used as saliva substitutes on demineralised bovine enamel in vitro. *Arch Oral Biol* 2006; 51(7):541-547.

Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. Influence of calcium phosphates added to mucin-based saliva substitutes on bovine dentin. *Quintessence Int* 2006;37:537-544.

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;34:750-756.

Meyer-Lueckel H, Chatzidakis AJ, Kielbassa AM. Effect of various calcium/phosphates ratios of carboxymethylcellulose-based saliva substitutes on mineral loss of bovine enamel in vitro. *Journal of Dentistry* 2007;35:851-857.

Meyer-Lueckel H, Cölfen H, Verch A, Tschoppe P. Effects of carboxymethyl cellulose-based saliva substitutes with varying degrees of saturation with respect to calcium phosphates on artificial enamel lesions. *Caries Res* 2010;44:127-134.

- Mohan C. Buffers - A guide for the preparation and use of buffers in biological systems. EMD Biosciences 2006.
- Napenas JJ, Brennan MT, Fox PC. Diagnosis and treatment of xerostomia (dry mouth). *Odontology* 2009;97:76-83.
- Nederfors T. Xerostomia and hyposalivation. *Adv Dent Res* 2000;14:48-56.
- 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.
- Nieuw Amerongen AV, Veerman ECI. Current therapies for xerostomia and salivary gland hypofunction associated with cancer therapies. *Support Care Cancer* 2003;11:226-231.
- Reeh ES, Douglas WH, Levine MJ. Lubrication of human and bovine enamel compared in an artificial mouth. *Archs oral Biol* 1995; 40 (11):1063-1072.
- Remick R, Blasberg B, Patterson B, Carmichael R, Miles J. Clinical aspects of xerostomia. *J Clin Psychiatry* 1983;44:63-65.
- Reuther JF, Kübler NR. Erkrankungen der Speicheldrüsen. In: Schwenzer N, Ehrenfeld M. Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde, Band 2 Spezielle Chirurgie. Georg Thieme Verlag 2002;23-37.
- 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 Radiation Oncology Biol Phys* 1995;31(3):661-669.
- Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11(4):481-495.
- Saito T, Toyooka H, Ito S, Crenshaw MA. In vitro study of remineralization of dentin: Effect of ions on mineral induction by decalcified dentin matrix. *Caries Res* 2003;37:445-449.
- Samandari F, Mai JK. Funktionelle Anatomie für Zahnmediziner, Band 1. Quintessenz Verlags-GmbH 1995:222-229.
- Sauerwein E. Kariologie. Thieme 1974:62-78.
- Schroeder HE. Orale Strukturbiologie, Vol. 4. Thieme 1992:73-85.
- Schroeder HE. Pathobiologie oraler Strukturen, Zähne, Pulpa, Parodont. Karger Basel 1983.
- Schumacher GH, Schmidt H. Anatomie und Biochemie der Zähne. Gustav Fischer Verlag 1983:15-16,299.

's-Gravenmade EJ, Panders AK. Clinical applications of saliva substitutes. *Front oral Physiol* 1981;3:154-161.

Shellis RP. A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. *Computer Appl Biosci* 1988;4:373-379.

Shannon IL, McCrary BR, Starcke EN. A saliva substitute for use by xerostomic patients undergoing radiotherapy to the head and neck. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977;44:656-661.

Shannon IL, Edmonds EJ. Effect of fluoride concentration on rehardening of enamel by a saliva substitute. *Int Dent J* 1978;28:421-426.

Smith G, Smith AJ, Shaw L, Shaw MJ. Artificial saliva substitutes and mineral dissolution. *Journal of Oral Rehabilitation* 2001;28:728-731.

Sreebny LM. Recognition and treatment of salivary induced conditions. *Int Dent J* 1989;39:197-204.

Taves DR, Neuman WF. Factors controlling calcification in vitro: Fluoride and magnesium. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1964;108:390-397.

Tschoppe P. Mikroradiografische Untersuchung zum Einfluss verschiedener in Speichelersatzmitteln enthaltener Basisstoffe auf demineralisierten Schmelz und Dentin *in vitro*. Diss. Berlin 2005.

Tschoppe P, Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. Effect of carboxymethylcellulose-based saliva substitutes on predemineralised dentin evaluated by microradiography. *Arch Oral Biol* 2008;53:250-256.

Tschoppe P, Kielbassa AM, Toll R, Meyer-Lueckel H. Modification of the mineralizing capacity of a saliva substitute (Saliva Natura) on enamel in vitro. *Laryngo-Rhino-Otol* 2009a;88:717-722.

Tschoppe P, Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H. Evaluation of the remineralising capacities of modified saliva substitutes in vitro. *Arch Oral Biol* 2009b;54:810-816.

Tschoppe P, Wolgin M, Pischon N, Kielbassa AM. Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health. *Quintessence int* 2010;41(4):321-333.

Tung MS, Tomazic B, Brown WE. The effects of magnesium and fluoride on the hydrolysis of octacalcium phosphate. *Archs oral Biol* 1992;37(7):585-591.

Van Houte J, Green DB. Relationship between the concentration of bacteria in saliva and the colonization of teeth in humans. *Infect Immun* 1974;9(4):624-630.

Vissink A, Waterman HA, 's-Gravenmade EJ, Panders AK, Vermey A. Rheological properties of saliva substitutes containing mucin, carboxymethylcellulose or polyethylenoxide. *Journal of Oral Pathology* 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(3):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(9):1121-1124.

Vissink A, 's-Gravenmade EJ, Panders AK, Vermey A. Treatment of hyposalivation. *Ear Nose Throat J* 1988;67:179-185.

Whelton H. Introduction: The anatomy and physiology of salivary glands. In: Edgar WM, Mullane DM. *Saliva and oral health*. British Dental Association, London 1990;1-8.

11 Anhang

11.1 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AIDS	Acquired immunodeficiency syndrome
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
Ca ²⁺	Kalziumion
CaCl	Kalziumchlorid
CaCl ₂ × 2H ₂ O	Kalziumdichlorid-2-hydrat
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Kalziumhydroxylapatit
CEC	Carboxyethylcellulose
CH ₃ COOH	Eisessig
C ₁₀ H ₁₄ O	Thymol
Cl ⁻	Chloridion
CO ₃	Karbonat
CMC	Carboxymethylcellulose
d	Demineralisation
DCPD	dicalcium phosphate dihydrate
DKPD	Dikalziumphosphatdihydrat
e1	Effekt 1
e2	Effekt 2
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
g	Gramm
Gew.%	Gewichtsprozent
Gl/Gll.	Glandula/Glandulae
Gy	Grey
H	hochviskös
HA	Hydroxylapatit/hydroxyapatite

HCl	Chlorwasserstoff/Salzsäure (in in Wasser gelöster Form)
HCO ³⁻	Hydrogenkarbonat
HEC	Hydroxyethylcellulose
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
K ⁺	Kaliumion
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
KNH	Knoop-hardness numbers
KOH	Kalilauge
kV	Kilovolt
K ₂ HPO ₄	Dikaliumhydrogenphosphat
l	Liter
LK	Läsionskörper
M	Molar
mA	Milliampere
mg	Milligramm
Mg ²⁺	Magnesiumion
MgCl ₂	Magnesiumdichlorid
MHDP	Methylendiphosphonsäure
min.	Mindestens
min	Minute
Min.	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mmol	Millimol
MW	Mittelwert

N	niedrigviskös
Na ⁺	Natriumion
NaCl	Natriumchlorid
Na-CMC	Natrium-Carboxymethylcellulose
NaF	Natriumfluorid
NaHCO ₃	Natriumhydrogenkarbonat
NaOH	Natronlauge
OCP	octacalcium phosphate
OKP	Oktakalziumphosphat
OS	Oberflächenschicht
PEO	Polyethylenoxid
pH	potentia Hydrogenii
ppm	parts per million
SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TMR	Transversale Mikroradiografie
U/Min.	Umdrehungen pro Minute
VH	Vickershärte
Vol.%	Volumenprozent
z. B.	Zum Beispiel
µm	Mikrometer

11.2 Liste der verwendeten Materialien

- Mat. 1 Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland
- Mat. 2 Calciumchlorid-Lösung ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, Nr. 21097); Fluka, Buchs, Schweiz
- Mat. 3 Calciumionenselektive Elektrode, Nr. 6.0508.110; Metrohm, Filderstadt, Deutschland
- Mat. 4 Carboxymethylcellulose (CMC); Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
- Mat. 5 CCD-Videokamera Modul XC 77 CE; Sony, Tokio, Japan
- Mat. 6 Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan
- Mat. 7 Durchlichtmikroskop „Axioskop 2“; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat. 8 Eppendorf Reference 10-100 μl ; Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Mat. 9 Eppendorf Research 1000; Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Mat. 10 Essigsäure/Eisessig (CH_3COOH); Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 11 EXAKT Mikroschleifsystem 400 CS; EXAKT Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 12 EXAKT Trennschleifsystem 300 CL; EXAKT Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 13 Faber-Castell Multimark 1523 permanent; Faber-Castell, Stein, Deutschland
- Mat. 14 Falcon, 1 ml; Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, New Jersey, USA
- Mat. 15 GMH 3510 (pH-Meter); Greisinger Electronic GmbH, Regenstauf, Deutschland
- Mat. 16 HI 7004 pH 4,01 Pufferlösung; Hama Instruments, Szeged, Ungarn
- Mat. 17 HI 7007 pH 7,01 Pufferlösung; Hama Instruments, Szeged, Ungarn
- Mat. 18 Ionenselektive Membran mit Uni ISE MT050 Elektrodenkörper; C-CIT, Wädenswil, Schweiz
- Mat. 19 Isotonische Kochsalzlösung; Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland
- Mat. 20 Kaliumchlorid (KCl); Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 21 Kalium-2-hydrogenphosphat (KH_2PO_4); Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 22 Kaliumhydroxid (KOH); Merck, Darmstadt, Deutschland

- Mat. 23 Kalziumchlorid-Dihydrat ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$); Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 24 Kunststoffbehälter, 400 ml; Komax, Gasan-dong, Guncheon-gu, South Korea
- Mat. 25 Leukofix; BSN medical GmbH & Co. KG, Hamburg, Deutschland
- Mat. 26 Magnesiumchlorid (MgCl_2); Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Deutschland
- Mat. 27 Magnesiumchlorid-Lösung ($\text{MgCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$, Nr. 2189.0); Roth, Karlsruhe, Deutschland
- Mat. 28 Methylendiphosphonsäure > 98 % (MHDP); Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Deutschland
- Mat. 29 Methyl-4-hydroxybenzoat; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
- Mat. 30 Metrohm-Bezugselektrode Nr. 6.0750.100; Metrohm, Filderstadt, Deutschland
- Mat. 31 Motion Picture safety film Fuji fine grain positive film 71337; FUJIFILM Deutschland, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 32 Nagellack L'oréal Paris Jet-Set Shine; L'oréal Paris, Asnières Cedex, Frankreich
- Mat. 33 Natriumchlorid (NaCl); Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Seelze, Deutschland
- Mat. 34 Natriumfluorid (NaF); Omikron GmbH Abt. Feinchemikalien, Neckarwestheim, Deutschland
- Mat. 35 Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3); Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 36 Natronlauge (NaOH); Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 37 Plexiglas-Objektträger; dia-plus, Oststeinbek, Deutschland
- Mat. 38 Präzisionswaage Sartorius IC 821; Sartorius, Göttingen, Deutschland
- Mat. 39 Propyl-4-hydroxybenzoat; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 40 Röntgenstrahlengenerator PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande
- Mat. 41 Rührgerät IKA-Combimag RCT; Janke&Kunkel, Staufen, Deutschland
- Mat. 42 Salzsäure (HCl); Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 43 Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland

-
- Mat. 44 Schleifpapier Körnung 1200, 2500, 4000; EXAKT Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 45 Sekundenkleber; Henkel, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 46 Skalpell; Feather, Osaka, Japan
- Mat. 47 Sorbit; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 48 SPSS (Statistical Package for Social Sciences), Version 11.5.1; SPSS, München, Deutschland
- Mat. 49 Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland
- Mat. 50 Titrationssoftware Tiamo 1.1; Metrohm, Filderstadt, Deutschland
- Mat. 51 TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland
- Mat. 52 Transversal Microradiography (TMR) für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research, Amsterdam, Niederlande
- Mat. 53 Venticell 404; MMM GmbH, Planegg, Deutschland
- Mat. 54 Zentrifugenröhrchen mit Stehrand, 50 ml; VWR, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 55 Zitronensäuremonohydrat ($C_6H_8O_7 \times H_2O$); Merck, Darmstadt, Deutschland

11.3 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Barbara Izabela Sochaczewski, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Untersuchung zum Einfluss von Magnesium und Karbonat auf die demineralisierenden Eigenschaften niedrig- und hochvisköser Lösungen auf demineralisierten Schmelz *in vitro* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s. o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§ 156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Berlin, den 13. Mai 2013

Unterschrift

11.4 Lebenslauf

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

11.5 Danksagung

Mein sehr herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Andrej M. Kielbassa für die Überlassung des interessanten Themas und seine freundliche Unterstützung und wertvolle Hilfe bei der Erstellung der Arbeit.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Peter Tschoppe danke ich herzlichst für seine freundliche und sehr hilfreiche Unterstützung und seinen großen Einsatz während der Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Außerdem danke ich Herrn Prof. Dr. Peter Martus (Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie) für die Beratung bei der statistischen Auswertung der erhobenen Daten.

Herrn Prof. Dr. Helmut Cölfen und Herrn Dr. Andreas Verch (Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Golm) danke ich für die hilfreiche Unterstützung bei der Bestimmung einiger Konzentrationen der untersuchten Lösungen sowie bei der Klärung chemischer Fragestellungen.

Mein Dank gilt auch Herrn Rainer Toll (Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie) für seine freundliche Unterstützung und Hilfsbereitschaft bei der technischen Durchführung dieser Studie.