

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

DISSERTATION

**Speichelersatzmittel in Kombination mit Fluoridierung und  
Putzen: Auswirkungen auf künstliche Schmelzläsionen *in  
vitro***

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Anne Aufderheide, geb. Siegel  
aus Potsdam – Babelsberg

Gutachter:           1. Priv.-Doz. Dr. H. Meyer-Lückel  
                          2. Prof. Dr. U. Schiffner  
                          3. Priv.-Doz. Dr. med. dent. K. Bitter

Datum der Promotion:   09.09.2011

**Die Ergebnisse der vorliegenden Studie wurden publiziert:**

Tschoppe P, Siegel A, Meyer-Lueckel H

**Saliva substitutes in combination with highly concentrated fluorides and brushing. *In vitro* effects on enamel subsurface lesions.**

Caries Res 2010; 44:571-578

Meinen Eltern

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Literaturübersicht</b> .....	<b>2</b>
2.1. Struktur von gesundem Zahnschmelz .....	2
2.2. Karies .....	2
2.2.1. Entstehung der Schmelzkaries .....	3
2.2.2. Histologie der Schmelzkaries.....	4
2.3. Speichel.....	4
2.4. Hyposalivation .....	6
2.4.1. Hyposalivation als Folge der Bestrahlungstherapie .....	7
2.4.2. Strahlenkaries .....	8
2.5. Therapiemöglichkeiten der Hyposalivation .....	9
2.6. Speichelersatzmittel .....	9
2.7. Fluoride .....	11
2.8. Sättigung von Lösungen mit Kalziumphosphaten.....	14
<b>3. Fragestellung</b> .....	<b>17</b>
<b>4. Material und Methode</b> .....	<b>18</b>
4.1. Herstellung der Schmelzproben .....	18
4.2. Demineralisation der Schmelzproben.....	20
4.3. Verwendete Produkte .....	21
4.4. Durchführung der Versuche .....	23
4.5. Vorbereitung der Proben für die transversale Mikroradiografie .....	25
4.6. Transversale Mikroradiografie .....	26
4.7. Mikroradiografische Untersuchung.....	27
4.8. Mikroradiografische Auswertung .....	28
4.9. Statistische Auswertung .....	28

---

<b>5. Ergebnisse</b> .....	<b>30</b>
5.1. Quantitative Auswertung .....	30
5.1.1. Auswertung des Mineralverlustes .....	30
5.1.2. Veränderung des Mineralverlustes .....	32
5.1.3. Auswertung der Läsionstiefe.....	33
5.1.4. Veränderung der Läsionstiefe .....	34
5.2. Qualitative Auswertung.....	36
5.2.1. Mittelwertgrafien .....	36
<b>6. Diskussion</b> .....	<b>40</b>
6.1. Diskussion von Material und Methode.....	40
6.1.1. Probenmaterial.....	40
6.1.2. Demineralisation .....	41
6.1.3. Durchführung .....	41
6.1.4. Messmethode/TMR.....	45
6.2. Diskussion der Ergebnisse .....	45
<b>7. Schlussfolgerung und klinische Relevanz</b> .....	<b>49</b>
<b>8. Zusammenfassung</b> .....	<b>50</b>
<b>9. Abstract</b> .....	<b>51</b>
<b>10. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>52</b>
<b>11. Anhang</b> .....	<b>60</b>
11.1. Abkürzungsverzeichnis .....	60
11.2. Liste der verwendeten Materialien .....	62
11.3. Vergleich zwischen Human- und Rinderzahnschmelz .....	64
11.4. Danksagung .....	65
11.5. Lebenslauf.....	66
11.6. Eidesstattliche Erklärung.....	67

## 1. Einleitung

Patienten, die als Folge der Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich an Hyposalivation leiden, weisen eine hohe Kariesaktivität auf [Atkinson et al. 2005; Kielbassa et al. 2006]. Zur Kariesprävention wird die tägliche Applikation von Fluoridprodukten in Kombination mit gründlicher Mundhygiene und Einhaltung einer kohlenhydratarmen Diät empfohlen [Epstein et al. 1996; Vissink et al. 2003]. Speichelersatzmittel werden hauptsächlich verwendet, um die Symptome des trockenen Mundes zu mildern und sollten keinesfalls die Zahnhartsubstanz schädigen. Einige kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel zeigen demineralisierende Eigenschaften, während andere eine remineralisierende oder neutrale Wirkung auf Schmelz und Dentin ausüben [Joyston-Bechal & Kidd 1987; Meyer-Lueckel et al. 2002; Smith et al. 2001]. Um die remineralisierenden Eigenschaften zu erhöhen, werden den Speichelersatzmitteln Fluorid, Kalzium und Phosphat zugefügt. Dadurch entstehen übersättigte Lösungen bezüglich relevanter Kalziumphosphate, wie zum Beispiel Oktakalziumphosphat (OKP), Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD) und Hydroxylapatit (HA). Solche übersättigten experimentellen Speichelersatzmittel konnten *in vitro* eine Remineralisation des Dentins wie auch des Schmelzes bewirken [Meyer-Lueckel & Kielbassa 2006; Tschoppe et al. 2009b].

Zur Kariesprävention werden Patienten während und nach der Bestrahlungstherapie im Kopf-Hals-Bereich zusätzlich zu der Anwendung von fluoridhaltiger Zahnpasta hochkonzentrierte Fluoridprodukte, wie Gele oder Zahnpasten, empfohlen [Nieuw Amerongen & Veerman 2003]. Hochkonzentrierte Fluoridzahnpasten scheinen einen vorteilhaften Effekt bezüglich der Remineralisation von Wurzelkaries zu besitzen [Lynch & Baysan 2001]. Allerdings zeigen einige Patienten nach der Bestrahlungstherapie im Kopf-Hals-Bereich eine mangelhafte Compliance bei der Anwendung dieser Mittel [Epstein et al. 1996; Horiot et al. 1983]. Deshalb könnte ein remineralisierendes Speichelersatzmittel beide Folgen (Karies und Hyposalivation) der Bestrahlung derart beeinflussen, dass die zusätzliche Verwendung von hochkonzentrierten Fluoridpräparaten wie Gel oder Zahnpasta nicht notwendig wäre.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Struktur von gesundem Zahnschmelz

Ausgereifter Zahnschmelz ist das am stärksten mineralisierte und härteste Zellprodukt im menschlichen Körper. Er besteht zu 95 Gewichtsprozent (Gew.%) aus anorganischen Verbindungen, zu 4 Gew.% aus Wasser und zu 1 Gew.% aus organischen Bestandteilen. Der anorganische Teil besteht neben über vierzig nachgewiesenen Spurenelementen vorwiegend aus Kalzium und Phosphor, mit geringen Anteilen von Karbonat, Natrium, Magnesium, Chlor und Kalium. Kalzium und Phosphor liegen als Apatitverbindung in Form kleiner Kristalle vor. Röntgendiffraktionsanalysen zeigen, dass das Schmelzmineral im allgemeinen als Hydroxylapatit ( $Ca_{10}[PO_4]_6[OH]_2$ ) vorliegt, dessen Hydroxylgruppen durch Fluor oder Chlor substituiert werden können. Fluorapatit besitzt eine stabilere Kristallstruktur als Hydroxylapatit und damit eine geringere Säurelöslichkeit [Hellwig et al. 2007]. Die organische Matrix besteht hauptsächlich aus löslichen und unlöslichen Proteinen und wenig Kohlenhydrat- und Lipidanteilen. Der größte Teil des Wassers ist an Apatitkristalle gebunden (Hydratationsschale) und nur etwa ein Viertel des Wassergehaltes ist frei in der organischen Substanz verfügbar [Schroeder 1992]. Die Schmelzzusammensetzung ist an unterschiedlichen Stellen des Zahnes variabel. So nimmt die Konzentration von Fluorid, Eisen und Kalzium von der Schmelzoberfläche bis zur Schmelz-Dentin-Grenze ab, wobei die Konzentrationen von Wasser, Karbonat, Magnesium und Natrium auf dieser Strecke zunehmen [Hellwig et al. 2007]. Die Schmelzoberfläche ist aufgrund seiner Mineraldichte härter als tiefere Schmelzschichten [Schroeder 1992].

### 2.2. Karies

Karies ist die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanzen. Zu ihrer Entstehung gibt es viele Theorien wobei die chemoparasitäre Theorie Millers (1898) als heute allgemein akzeptiertes Modell angesehen wird. Sie besagt, dass kariogene Mikroorganismen der Mundhöhle bei einem Überangebot an kariogenem Substrat organische Säuren produzieren, die bei langer Einwirkung auf die Zahnhartsubstanzen zur Demineralisation führen [Hellwig et al. 2007]. Folgend ergibt sich aus dem



Zusammenwirken von Substrat, Plaque, Zeit und dem Wirt Karies, wobei aber viele Nebenfaktoren die Entstehung mit beeinflussen.

### **2.2.1. Entstehung der Schmelzkaries**

Die Anfangszeichen der Demineralisation zeigen sich als weißlich opake Flächen (white spot) des Schmelzes. Die Oberfläche der Initialläsion ist leicht angeraut aber noch intakt. Unter dieser pseudointakten Oberfläche befindet sich aber schon ein Läsionskörper. Zustande kommt dieser durch Diffusion und Präzipitation.

Auf dem Zahnschmelz befindet sich das Schmelzoberhäutchen, welches aus adsorbierten Proteinen besteht. An diese lagern sich Mikroorganismen an und bilden über mehrere Stunden einen Biofilm aus. Durch die Verstoffwechslung niedermolekularer Kohlenhydrate produzieren einige Mikroorganismen organische Säuren. Ein geringer Teil der Säuren dissoziiert und führt zu interprismatischen Auflösungserscheinungen an der Schmelzoberfläche. Dadurch entsteht ein Konzentrationsgradient, wodurch schwache organische Säuren über die interprismatischen Bereiche in den Zahnschmelz diffundieren können. Die Säuren dissoziieren langsam ins Schmelzinnere und geben dabei kontinuierlich  $H^+$ -Ionen ab. Diese Wasserstoffionen greifen die Schmelzkristalle an und lösen dabei aus dem Kristallgitter Kalzium-, Hydroxyl-, Phosphat-, Fluorid-, Karbonat-, Natrium- und Magnesiumionen. Diese diffundieren entsprechend dem Konzentrationsgradienten in der wässrigen Phase um die Kristalle und gelangen durch die erweiterten Schmelzporen zur Schmelzoberfläche in die Plaque. Die Demineralisation hält so lange an, wie genügend Säuren durch die Mikroorganismen im Biofilm produziert werden. Zur Schmelzoberfläche nimmt die Diffusionsgeschwindigkeit ab, da der Diffusionsgradient zur Plaque und zum Speichel gering ist. Somit repräzipitieren Kalzium und Phosphat und bilden entweder neue Kristalle oder lagern sich an der Oberfläche der bereits geschädigten Kristalle an. Es entsteht eine pseudointakte Oberfläche. Diese Oberfläche gibt Kalzium- und Phosphationen in die Umgebung ab, wird aber ständig durch Repräzipitation erneuert [Hellwig et al. 2007].

### 2.2.2. Histologie der Schmelzkaries

Man kann vier verschiedene Zonen der Initialläsion beobachten. Von außen nach innen folgt der pseudointakten Oberflächenschicht der Läsionskörper, welcher in die dunkle Zone übergeht und hiernach in die transluzente Zone. Der größte Mineralverlust ist im Läsionskörper (bis zu 70 %) zu verzeichnen, wobei der Mineralverlust der pseudointakten Oberfläche nur 1-10 % beträgt. Das Porenvolumen nimmt von der transluzenten Zone bis zum Läsionskörper zu und zur Oberfläche wieder ab. Die Kristalle sind in der dunklen Zone und an der Oberfläche größer und im Läsionskörper und der transluzenten Zone kleiner als im gesunden Schmelz [Hellwig et al. 2007].

### 2.3. Speichel

Eine wichtige Rolle als Nebenfaktor im Zusammenhang mit der Kariesentstehung nimmt der Speichel ein. Er wird von den drei großen paarigen Speicheldrüsen (Glandula (Gl.) parotis, Gl. submandibularis und Gl. sublingualis) und den kleinen Speicheldrüsen (in der labialen, bukkalen, lingualen und palatinalen Mundschleimhaut) sezerniert. Er ist meist wasserklar, geruchlos, geschmacklos und viskös. Der Gesamtspeichel besteht aus 99 % Wasser und 1 % anorganischen sowie organischen Substanzen (Tab. I).

**Tabelle I:** Wichtige anorganische und organische Bestandteile des Speichels nach [Schultze-Mosgau 2002]

<b>anorganische Bestandteile</b>	<b>organische Bestandteile (Enzyme, Proteine, Glykoproteine)</b>
Natrium	$\alpha$ -Amylase
Kalium	Lysozym
Kalzium	Laktoferrin
Phosphat	Muzin
Chlorid	Statherin
Magnesium	prolinreiche Proteine
Hydrogenkarbonat	Agglutinine
Fluorid	histidinreiche Proteine
	Cystatine
	Defensine
	Immunglobuline
	Harnstoff

Die Konzentration der einzelnen Bestandteile variiert, da sie durch die Sekretionsrate, dem Stimulationsgrad, der Stimulationsart und -dauer, der vorherrschenden Drüse und diätetischen Einflüssen beeinflusst wird. Die Zusammensetzung erlaubt es dem Speichel bestimmte Funktionen einzunehmen (Tab. II).

**Tabelle II:** Funktionen des Speichels nach [Schultze-Mosgau 2002]

Beteiligte Speichelbestandteile	Funktion
Gesamtflüssigkeit	➤ Spülfunktion
Bikarbonat, Phosphat, Proteine	➤ Pufferung von Säuren
Fluorid, Phosphat, Kalzium, Statherin	➤ (Re-) Mineralisation
Glykoproteine, Muzin	➤ Beschichtung der Zahnflächen und der Mundschleimhaut ➤ Viskosität des Speichels ➤ Bestandteil des Schmelzoberhäutchens
Antikörper, Lysozym, Laktoferrin, Laktoperoxidase	➤ antibakterielle Aktivität
Amylase, Proteasen	➤ Andauung von Nahrung

Es besteht eine ständige „Ruheseekretion“ von Speichel in der Mundhöhle. Dieser Speichelfluss kann beeinflusst werden durch emotionale, psychische und Umweltfaktoren. Die Angaben über seine tägliche Gesamtmenge variieren stark zwischen 0,5 - 0,6 l [Mason & Chisholm 1975] und 1 - 1,5 l [Rauch 1959]. Die Gll. parotides sezernieren vorwiegend „Reizspeichel“, während die kleinen Speicheldrüsen und die Gll. submandibulares und sublinguales für die Ruheseekretion verantwortlich sind [Deetjen & Speckmann 1996]. Außerdem unterscheidet sich der Speichel der einzelnen Speicheldrüsen in seiner Viskosität und Zusammensetzung. So sezernieren die Gll. parotides dünnflüssigen, serösen, amylasehaltigen, die Gll. submandibulares seromukösen und die Gll. sublinguales zähflüssigen, mukösen, muzinhaltigen Speichel [Lüllmann-Rauch 2003]. Bezüglich dem quantitativen Anteil der Speichelproduktion am Gesamtspeichel stehen die Gll. submandibulares an erster Stelle, es folgen die Gll. parotides, Gll. sublinguales und die kleinen submukösen Speicheldrüsen [Lüllmann-Rauch 2003].

Die Speichelzusammensetzung und -menge ist von entscheidender Bedeutung. So kann zum Beispiel bei einem physiologischen pH-Wert das Puffersystem optimal

funktionieren und die Säuren in der Mundhöhle neutralisieren. Als weiteres Beispiel führt eine erhöhte Speichelmenge zu einer Verdünnung und einem verbesserten Abtransport der Nahrung und wirkt so der Entstehung von Plaque entgegen.

Eine verminderte Speichelproduktion oder sogar ein totales Ausfallen derselben kann durch unterschiedliche Faktoren ausgelöst werden. Dies führt aber auch zu einem Ausfall der Funktionen des Speichels. Wodurch erhebliche Schwierigkeiten folgen, die die Rolle des Speichels als ein wichtiges physiologisches Schutzsystem verdeutlichen [Atkinson et al. 2005; Horiot et al. 1983; Kielbassa 2004].

#### **2.4. Hyposalivation**

Die Hyposalivation wird als objektiv messbare Trockenheit der Mundhöhle definiert. Der Begriff Xerostomie hingegen bezeichnet die subjektiv empfundene Mundtrockenheit. Patienten klagen meist erst dann über einen trockenen Mund, wenn ihre individuelle Ruhespeichelfließrate um mehr als die Hälfte verringert ist [Dawes 1987]. Die Folgen der Salivationsverminderung können anhand der Speichelfunktionen abgeleitet werden (Tab. II). Primär zeigt sich eine trockene, matte, atrophische, eventuell hypersensible Schleimhaut mit Desquamationen und Fissurenbildungen auf der Zunge. Die Verminderung der Schleimhautbenetzung führt zu Problemen beim Kauen, Schlucken und Sprechen [Imfeld 1984]. Prothesen fehlt die Haftfähigkeit und es treten vermehrt Druckstellen auf. Durch die fehlende Funktion als Lösungsmittel für Speisen treten Veränderungen der Geschmacksempfindungen auf [Henkin et al. 1972]. Verdauungsprobleme kommen hinzu. Durch die starke Einschränkung der oralen Selbstreinigung und Spülwirkung verbleiben weiche Beläge aus Nahrungsrückständen vor allem in den Retentionsnischen der Schleimhaut- oder Zahnoberflächen und auf Zahnersatzmaterialien. Viele Patienten entwickeln einen Foetor ex ore. Aufgrund der stark reduzierten antibakteriellen Eigenschaften des Speichels steigt die Infektionsanfälligkeit. Die Mundflora verändert sich und weist mehr kariogene Keime auf. Durch die verminderte Speichelqualität ist die Fähigkeit der Pufferung von Säuren und der Remineralisation eingeschränkt. Dies führt gerade bei vermehrter Plaquepräsenz und verstärkter Säurebildung zur Demineralisation der Zahnhartgewebe. Die Kariesinzidenz ist erhöht [Kielbassa 2004].

In Tabelle III sind die zahlreichen Ursachen der Hyposalivation aufgeführt. Wobei als häufigste Ursache der Hyposalivation die unerwünschten Arzneimittelwirkungen zu nennen sind. Es gibt über 400 Medikamente, die diese auslösen [Sreebny & Schwartz 1986; Sreebny & Schwartz 1997].

**Tabelle III:** Ursachen der Hyposalivation

<b>Ursache</b>	<b>Beispiele</b>
Medikamenteneinnahme	z.B. Psychopharmaka, Appetitzügler, blutdrucksenkende Mittel, Antihistaminika, Diuretika, Zytostatika
Systemische Erkrankungen	Sjögren-Syndrom, Diabetes mellitus, Sklerodermie, Sarkoidose, Lupus, Alzheimer, Mumps
Erkrankungen der Speicheldrüsen	Akute und chronische Parotitis, Speichelsteine, Speicheldrüsen-Mukozelen, partielle oder komplette Obstruktion des Ausführungsganges, Tumore
Psychische Erkrankungen	Depression, Angstzustände, Stress
Flüssigkeitsverlust	Schwitzen, Erbrechen, Diarrhöen, Fieber
Verminderte Kauaktivität	
Altersregression	
Bestrahlungstherapie von Tumoren im Kopf-Hals-Bereich	

#### **2.4.1. Hyposalivation als Folge der Bestrahlungstherapie**

Bei der Bestrahlungstherapie von Tumoren im Kopf-Hals-Bereich liegen oft die Kopfspeicheldrüsen im Strahlungsfeld. Dadurch kommt es in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis und der Fraktionierung zu einer irreversiblen radiogenen Schädigung des Speicheldrüsenparenchyms [Le et al. 1999]. Bei dieser sogenannten Strahlensialadenitis folgt aus der initialen Schädigung der serösen Drüsenazini schließlich die Apoptose und eine Fibrosierung des Gewebes. Der Prozess bedingt einen Enzymverlust und Elektrolytverschiebungen. Klinisch findet sich als Frühreaktion eine Woche nach Beginn der Radiotherapie eine Reduktion der Speichelfliessrate von normalerweise 1 - 3 ml/min auf unter 0,5 ml/min und kann bis auf 5 % des Ausgangswertes abfallen. Im Endzustand kommt es zu einem strahleninduzierten Sicca-Syndrom. Es ändert sich nicht nur die Speichelquantität, sondern auch seine Qualität. So nimmt die Viskosität des Speichels zu, die Enzymaktivität nimmt ab, es tritt eine Störung der Proteinsekretion und Minderdurchblutung des Drüsenparenchyms auf [Schultze-Mosgau 2002]. Die Speichelfarbe variiert zwischen weißlich bis bräunlich. Sein pH-Wert sinkt von ursprünglichen 6,8 auf bis zu unter 5,0. Damit ergibt sich eine

verringerte Pufferkapazität gegenüber Säuren, die letztendlich durch die geringe Konzentration von Bikarbonat im Speichel verursacht wird [Dreizen et al. 1976]. Es verändert sich die natürliche orale Flora durch den Verlust der Selbstreinigung der Mundhöhle sowie die immunologischen Mechanismen, welche der Wirtsabwehr dienen [Brown et al. 1975]. Die Anzahl kariogener Mikroorganismen steigt an. Die auftretenden Geschmacksveränderungen gehen nicht selten der Mukositis und der Hyposalivation voraus [Rubin & Doku 1976]. Der Verlust der Geschmacksempfindungen verursacht starke Veränderungen des Ernährungsstatus und ist mit vermindertem Appetit und Gewichtsverlust verbunden [Mossman & Henkin 1978]. Die Ernährungsumstellung hin zu einer meist weichen, klebrigen, kohlenhydratreichen Kost, die oft mit hoher Frequenz aufgenommen wird, verstärkt das individuelle Kariesrisiko.

Abgesehen von der Hyposalivation hat die Bestrahlung noch andere Nebeneffekte. So führt diese an der Mundschleimhaut zur Mukositis, an den Zahnhartsubstanzen zu Strahlenläsionen bis hin zur Strahlenkaries und am Knochen zur Osteoradionekrose. Diese Effekte können in ihrem Auftreten sehr stark variieren, sodass das Ausmaß der jeweiligen Schädigung nicht bei allen Patienten mit gleicher Intensität ausgeprägt sein muss [Kielbassa 2004]

#### **2.4.2. Strahlenkaries**

Bezüglich der Zahnhartsubstanzen kommt es als Folge einer Bestrahlungstherapie im Kopf-Hals-Bereich und den damit im Zusammenhang stehenden Nebenwirkungen zu einer Strahlenkaries. Zunächst verlieren die Zähne ihren Glanz und es treten opake Farbveränderungen auf. Breitflächige Demineralisationen sind auch an den sonst weitgehend kariesresistenten Glattflächen zu beobachten. Zusätzlich verliert der Schmelz seine biomechanischen Eigenschaften und wird spröde, es können Spontanfrakturen der Krone entstehen. Eine schnelle Abrasion des okklusalen Reliefs und der Inzisalkanten kann teilweise bereits erweichtes Dentin freilegen. Letztendlich kommt es ohne adäquate Therapie zur vollständigen Zerstörung der Zähne [Pióch 2004].

## **2.5. Therapiemöglichkeiten der Hyposalivation**

Die Therapie der Mundtrockenheit bei Radiatiopatienten beschränkt sich auf die symptomatische Behandlung mangels fehlender kausaler Therapiemöglichkeiten. Hierfür werden Mundspüllösungen und Speichelersatzmittel sowie gustatorisch-mechanische und systemische Stimulierungen der Speicheldrüsen eingesetzt.

Als Speichelstimulanz wird bei verbliebener Restaktivität der Speicheldrüsen deren Anregung durch eine verstärkte Kautätigkeit empfohlen. Einerseits durch den Verzehr von fester, faserreicher, kauzwingender Nahrung, andererseits durch den Gebrauch von Kaugummis. Viele Patienten mit ausgeprägter Hyposalivation und/oder schmerzhafter Mukositis sowie Patienten mit vorangeschrittenen Allgemeinerkrankungen können dieser Empfehlung jedoch häufig kaum nachkommen [Sreebny 1989]. Fälschlicherweise wird diesen Patienten oft noch der Verzehr von sauren Bonbons oder Zitronensäure empfohlen, um den Speichelfluss anzuregen. Davon ist aber abzuraten, da einerseits Erosionen und Demineralisationen der Zahnhartsubstanzen verstärkt auftreten und andererseits dieser Verzehr Schmerzen verursacht, die an der sehr verletzlichen Mundschleimhaut auftreten [Van der Reijden et al. 1999].

Von den systemisch wirkenden Speichelstimulantien ist Pilocarpin das am häufigsten untersuchte Medikament [Fox et al. 1991; Niedermeier et al. 1998; Rhodus & Schuh 1991]. Dies kann seine Wirkung aber nur, wie die lokalen Stimulantien, bei einer verbliebenen Restaktivität der Speicheldrüsen ausüben und hat einige unangenehme Nebenwirkungen, wie Blutdrucksenkung, Schwindel, Bronchokonstriktion, Tonussteigerung des Darmes mit Diarrhöe und Anregung der Magensäureproduktion zur Folge. Die damit verbundenen Kontraindikationen (Herzinsuffizienz, Hyperthyreose, Asthma bronchiale, Ulcus-Leiden) sind umfangreich und limitieren den klinischen Einsatz erheblich [Wolpert et al. 1980].

## **2.6. Speichelersatzmittel**

Eine andere lokale Therapiemöglichkeit stellen Speichelersatzmittel dar. Im Idealfall sollten diese lange die Schleimhaut und die Zahnhartsubstanzen benetzen, die Schleimhaut vor Austrocknung schützen, eine antimikrobielle Wirkung gegenüber kariogenen und pathogenen Keimen ausüben, remineralisierende Wirkung gegenüber

den Zahnhartsubstanzen zeigen und keinen Schaden im Organismus hervorrufen [Imfeld 1984; Levine et al. 1987]. Im Hinblick auf Radiatiopatienten sollten wegen der dünnen, atrophischen Mukosa alle irritierenden Substanzen mit scharfem Geschmack und solche, die Alkohol enthalten, vermieden werden [Remick et al. 1983].

Vorgänger der heute erwerblichen Speichelersatzmittel stellen reizlose Mundwasser, natriumkarbonathaltige Lösungen, Olivenöl, Salzwasser oder Chlorhexidin, glyzerinhaltige und fluoridhaltige Mundspüllösungen, Tee und Milch dar. Aufgrund ihrer geringen Substantivität müssen diese Lösungen jedoch sehr oft angewendet werden [Vissink et al. 1988]. Daher suchte man nach besseren Möglichkeiten. So wurde als Basisstoff Carboxymethylcellulose (CMC) mit Zusätzen von Kalzium und Phosphat verwendet. Nachfolgend wurde zur Verbesserung der Oberflächenaktivität Sorbitol zugesetzt, was aber in Verbindung mit CMC zu einer höheren Viskosität im Vergleich zum natürlichen Speichel führte [Levine et al. 1987]. In den folgenden Jahren kamen andere Basisstoffe hinzu: Natrium-Carboxymethylcellulose, Carboxyethylcellulose, Hydroxyethylcellulose, tierisches Muzin, Leinsamenöl, Sorbitol oder Polyethylenoxid. Unterschiede zwischen den Speichelersatzmitteln sind in der Art der Verdickungsmittel, im pH-Wert, der Zusammensetzung der Elektrolyte und der Zugabe von Enzymen zu finden. Es gibt Untersuchungen bezüglich ihrer viskoelastischen Eigenschaften [Christersson et al. 2000; Mellema et al. 1992; Vissink et al. 1984], der subjektiven Verbesserung der Symptome der Hyposalivation [Frost et al. 1997; Sweeney et al. 1997; Vissink et al. 1986] und ihrer De- und Remineralisationsfähigkeit von Zahnhartsubstanzen [Kielbassa et al. 2001; Meyer-Lueckel et al. 2002; Smith et al. 2001]. Idealerweise sollte ein Speichelersatzmittel remineralisierende Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen besitzen oder zumindest neutral sein, also nicht demineralisieren. Der menschliche Speichel besitzt einen annähernd neutralen pH-Wert und stellt eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung dar. Somit kann er Kalzium- und Phosphationen, die während der Demineralisation aus der Zahnoberfläche verloren gehen, während der Remineralisationsphase wieder einlagern [Lagerlof & Oliveby 1994]. Die Zugabe von Kalzium-, Phosphat- und/oder Fluoridionen zu einer Lösung mit niedrigem pH-Wert beziehungsweise hohem Gehalt an titrierbarer Säure kann eine demineralisierende Wirkung durch die Veränderung des Lösungsgleichgewichtes von Apatit reduzieren [Brudevold et al. 1965]. Es zeigte sich jedoch, dass es trotz eines relativ hohen



Fluoridgehalt einer Mundspüllösung mit niedrigem pH-Wert (Meridol, pH = 3,9) zu einer voranschreitenden Demineralisation an künstlich erzeugten Dentinläsionen kam [Meyer-Lueckel et al. 2002]. Daher kann eine Zugabe der Elektrolyte bei Lösungen mit einem relativ hohen Gehalt an titrierbaren Säuren und einem pH-Wert unterhalb der kritischen Grenze nicht zu einer protektiven Wirkung gegenüber den Zahnhartsubstanzen führen.

Glandosane, ein immer noch sehr weit verbreitetes Produkt, zeigt einen relativ hohen Gehalt an titrierbarer Säure, gleichzeitig ist die Konzentration von Kalzium und Phosphat verhältnismäßig niedrig, so dass die in mehreren Studien beobachteten Demineralisationen der Zahnhartsubstanz nicht überraschend erscheinen [Joyston-Bechal & Kidd 1987; Kielbassa et al. 2001].

Ein weiteres, neueres Speichelersatzmittel auf pflanzlicher Basis (Saliva natura), wurde hinsichtlich der mineralisierenden Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen mit Glandosane verglichen. Für Glandosane konnte die demineralisierende Wirkung auf Schmelz und Dentin bestätigt werden, während, Saliva natura gegenüber Dentin demineralisierende, aber gegenüber Schmelz neutrale Eigenschaften aufwies [Tschoppe et al. 2007]. Daraufhin wurde untersucht, wie Saliva natura durch die Zugabe von Kalzium, Phosphat und Fluorid so modifiziert werden könnte, dass dieses remineralisierende Eigenschaften auf beide Zahnhartsubstanzen besitzt [Tschoppe et al. 2009a; Tschoppe et al. 2009b; Tschoppe et al. 2010].

## 2.7. Fluoride

Fluoride sind Salze der Fluorwasserstoffsäure. Sie kommen im Trinkwasser, Erdboden, in der Luft und in Nahrungsmitteln in unterschiedlich hoher Konzentration vor. Sie werden in der Zahnmedizin als Kariostatika eingesetzt und stellen damit einen wichtigen Pfeiler der non-invasiven Kariesbehandlung dar. Ihre Anwendung kann lokal oder systemisch erfolgen. So zählen die Verwendung von fluoridiertem Speisesalz, die Trinkwasserfluoridierung und die Einnahme fluoridhaltiger Tabletten zur systemischen Fluoridanwendung. Lokal können Fluoride in Form von Zahnpasten, Gelen, Lacken und Lösungen auf die Zahnhartsubstanzen aufgebracht werden [Hellwig et al. 2007].

Die applizierten Fluoride können mit dem Zahnschmelz unterschiedlich reagieren. So werden vier grundsätzliche Reaktionsmechanismen unterschieden: 1. Es kommt zu

einer initialen Auflösung des Hydroxylapatites an der Oberfläche und zur Repräzipitation eines kalziumfluoridhaltigen Niederschlages, 2. Nach initialer Auflösung des oberflächlichen Schmelzes kommt es zur Repräzipitation von fluoridiertem Hydroxylapatit und Fluorapatit, 3. Fluoridionen diffundieren in den Zahnschmelz und adsorbieren spezifisch an freien Bindungsstellen der Kristalloberfläche, 4. Diffusion und unspezifische Bindung, zum Beispiel in der wässrigen Hülle um die Kristalle.

Die kariesprotektive Wirkung basiert hauptsächlich auf der Förderung der Remineralisation und der Hemmung der Demineralisation [Hellwig et al. 1993; Levy 2003]. So führt die lokale Applikation hoher Fluoriddosen bei Präparaten mit leicht saurem pH-Wert zu einer oberflächlichen Auflösung des Hydroxylapatits. Die dabei freiwerdenden Kalziumionen verbinden sich mit den Fluoridionen zu einem kalziumfluoridhaltigen ( $\text{CaF}_2$ ) Niederschlag. Dieser dient als pH-abhängiges Fluoriddepot, der bei einem niedrigen pH-Wert Fluoridionen freisetzt und bei einem neutralem pH-Wert relativ stabil bleibt [Rolla 1988]. Die freigesetzten Fluoridionen bei einem niedrigen pH-Wert akkumulieren entweder mit Kalzium- und Phosphationen in tieferen Schichten im demineralisierten Schmelz oder reichern sich in der Plaque an [ten Cate et al. 1981]. Steigt der pH-Wert wieder an, fördern die Fluoridionen die Remineralisation des Zahnschmelzes. Die Kalzium-, Fluorid- und Phosphationen präzipitieren mit den Mineralien, die sich bei dem Säureangriff aus der Tiefe gelöst haben, im äußeren Bereich des Läsionskörpers. So bildet sich fluoridierter Hydroxylapatit und Fluorapatit neu. Für den Schutz vor Karies hat sich gezeigt, dass die in der Zahnumgebung gelöst vorliegenden Fluoridionen entscheidender sind als im Schmelz fest eingebaute [Fischer et al. 1995]. Somit stellt das  $\text{CaF}_2$ -Depot auf der Schmelzoberfläche eine wichtige Fluoridquelle dar.

Außerdem wird die kariesprotektive Wirkung der Fluoride durch verschiedene Mechanismen gekennzeichnet. So verringert sich die Säurelöslichkeit des Schmelzes durch den Einbau des Fluorids in das Kristallgitter des Schmelzes. Der mikrobielle Kohlenhydratstoffwechsel wird durch die Fluoride gehemmt, was zu einer Hemmung der Säurebildung und Einschränkung der Polysaccharidsynthese der Mikroorganismen führt. Die Fluoride führen zu einer Herabsetzung der Oberflächenenergie des Schmelzes und zur Verhinderung der Adhärenz von Proteinen und/oder Bakterien [Hellwig et al. 2007].

Bei demineralisiertem Schmelz verläuft die Fluoridwirkung grundsätzlich ähnlich wie bei gesundem Schmelz, jedoch kommt es durch die erhöhte Oberflächenporosität und die vermehrte Anzahl spezifischer und unspezifischer Bindungsstellen für Fluoridionen vermutlich zu einer tieferen Penetration und vermehrten Bindung der Fluoridionen [Hellwig & Klimek 1984; Koulourides et al. 1974].

Zu den gebräuchlichen Fluoridverbindungen bei der lokalen Fluoridierung zählen Natriumfluorid (NaF), Natriummonofluorophosphat, Aminfluorid und Zinnfluorid. Bezüglich der relativen kariespräventiven Wirkung der unterschiedlichen Fluoridverbindungen gibt es unterschiedliche Ansichten, wobei man jedoch davon ausgehen muss, dass für den kariespräventiven Effekt die Verfügbarkeit freier Fluoridionen der wichtigste Parameter ist [Gülzow et al. 2006; Mellberg 1991].

Die durchschnittliche kariesreduzierende Wirkung bei Verwendung fluoridhaltiger Zahnpasten beträgt ca. 25 % gegenüber einer Placebo-Zahnpasta [Twetman et al. 2003]. Die Fluoridkonzentration in Zahnpasten beträgt üblicherweise zwischen 0,025 % und 0,15 % (250 - 1500 µg F<sup>-</sup>/g). Bei den niedrig fluoridierten Zahnpasten (≤ 0,05 % Fluorid) handelt es sich um Kinderzahnpasten. Erwachsenenzahnpasten enthalten zwischen 0,1 bis 0,15 % Fluorid. Mit erhöhter Fluoridkonzentration nimmt der karieshemmende Effekt zu [Mellberg 1991]. Zahnpasten mit einem Fluoridgehalt von 1500 µg F<sup>-</sup>/g haben eine höhere kariespräventive Effektivität verglichen mit Zahnpasten, die 1000 µg F<sup>-</sup>/g enthalten [Twetman et al. 2003]. Die Dosis-Wirkungs-Relation konnte auch im Bereich von 1000 - 2800 µg F<sup>-</sup>/g [Stephen 1993] und 0 - 5000 µg F<sup>-</sup>/g [Tavss et al. 2003; ten Cate et al. 2008] festgestellt werden. Die kariespräventive Wirksamkeit hängt auch von der Häufigkeit der Anwendung fluoridhaltiger Zahnpasten ab. Unter stark kariogenen Bedingungen und hoher Kariesaktivität nimmt die kariespräventive Wirksamkeit fluoridhaltiger Zahnpasten ab. Hier müssen zusätzlich kariesprotektive Massnahmen zum Einsatz kommen. Die Duraphat Zahnpasta mit 5000 µg F<sup>-</sup>/g wurde dafür entwickelt. Bisher gibt es hierzu nur wenige Studien. Diese zeigen aber eine stärkere Remineralisation und verringerte Demineralisation beim Gebrauch einer Zahnpasta mit 5000 µg F<sup>-</sup>/g im Vergleich zu Zahnpasten mit geringerer Fluoridkonzentration [Bizhang et al. 2009; Pulido et al. 2008; Schirrmeyer et al. 2007; Tavss et al. 2003; ten Cate et al. 2008].

Fluoridgele werden zur Kariesprävention bei mittlerer bis erhöhter Kariesaktivität eingesetzt. Ihre durchschnittliche kariesreduzierende Wirkung beträgt 28 % [Marinho et

al. 2003]. Dabei ist deren protektiver Effekt nicht von der Art der Applikationsmethode abhängig (zahnärztliche Applikation vs. häusliche Applikation; Trayapplikation vs. Einbürsten). Bei kariesaktiven Patienten sollte eine wöchentliche Applikation erfolgen, da der kariespräventive Effekt mit der Applikationsfrequenz und der Fluoridkonzentration korreliert [Gülzow et al. 2006]. So wird für Patienten mit Hyposalivation sogar die tägliche Verwendung eines Fluoridgels empfohlen [Wei & Yiu 1993]. In einer vorangegangenen Untersuchung zum Effekt von Fluoridprodukten in Kombination mit Speichelersatzmitteln konnte gezeigt werden, dass die zusätzliche Anwendung von ProSchmelz Fluorid Gel im Vergleich zu Elmex gelee und in Kombination mit Speichelersatzmitteln zu einer signifikant höheren Remineralisation führte [Meyer-Lueckel & Tschoppe 2010].

## **2.8. Sättigung von Lösungen hinsichtlich Kalziumphosphaten**

Eine gesättigte Lösung liegt vor, wenn die höchstmögliche Menge eines Stoffes in einer Flüssigkeit, dem Lösungsmittel, gelöst ist. Die entsprechende Konzentration des Stoffes ist die Sättigungsmenge oder Sättigungskonzentration. Diese ist abhängig von der Art des Lösungsmittels und der Temperatur. Normalerweise kann die Sättigungskonzentration nicht überschritten werden. So würde eine zusätzliche Stoffzugabe nicht gelöst werden und sich als Bodenkörper absetzen. Die Überschreitung dieser Grenze ist jedoch möglich und resultiert in einer übersättigten Lösung. Hier befindet sich die Konzentration des Stoffes über dem Sättigungspunkt und wird auch noch in der Lösung gelöst, obwohl der eigentliche Gleichgewichtszustand schon erreicht ist. Normalerweise würde die Überschreitung des Gleichgewichtszustandes durch eine Phasenumwandlung verhindert werden. Bei übersättigten Systemen tritt diese jedoch nicht am erwarteten Gleichgewichtspunkt des Phasendiagramms auf. Eine Flüssigkeit oder Lösung in diesem Bereich ist thermodynamisch metastabil und kristallisiert durch Hinzugabe von Impfkristallen [Falbe & Regitz 1999].

Der Speichel ist eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung [Hellwig et al. 2007]. Eine seiner Funktionen stellt die Remineralisation dar (Tab. II). Hierbei können die während der Demineralisation herausgelösten Kalzium- und Phosphationen wieder während der Remineralisationsphase repräzipitieren. So konnte gezeigt werden, dass

eine Remineralisation in kalzium- und phosphatübersättigten wässrigen Lösungen stattfindet [Larsen & Pearce 2003]. Die treibende Kraft für die De- und Remineralisationsvorgänge ist der Sättigungsgrad in Bezug auf Kalzium und Phosphat [Chow 2001]. Mithilfe der Software gestützten Kalkulation von Shellis kann somit der Sättigungsgrad (S) einer wässrigen Lösung bestimmt werden, wenn deren Kalzium- und Phosphatkonzentration sowie der pH-Wert bekannt ist. Ergibt sich hierbei ein Wert von eins, ist die Lösung gesättigt. Ist der Wert größer als eins, entspricht dies einer übersättigten Lösung und eine Remineralisation ist prinzipiell möglich. Eine untersättigte Lösung, die zur Demineralisation tendiert, würde mit einem Sättigungsgrad unter eins gekennzeichnet sein. So lässt sich der Sättigungsgrad von Kalziumphosphaten bestimmen [Shellis 1988].

Die reinen Kalziumphosphate können in drei Hauptgruppen je nach ihrer Struktur unterteilt werden. So gehören zur Apatitgruppe  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2]$  Derivate des Hydroxylapatites (HA) und Fluorapatites wie auch das Oktakalziumphosphat [OKP;  $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ]. Eine weitere Gruppe enthält alle polymorphen Verbindungen von Trikalziumphosphaten ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) und die letzte Gruppe enthält Kalziumphosphatverbindungen  $[\text{Ca}(\text{PO}_4)]$  wie Dikalziumphosphatdihydrat [DKPD;  $\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ]. Amorphes Kalziumphosphat (AKP), eine mögliche Vorstufe (precursor) des Bioapatites, kann möglicherweise einem oder mehreren der Strukturtypen von oben zugeordnet werden [Mathew & Takagi 2001].

Amorphes Kalziumphosphat nimmt wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der Übergangsphase der Biomineralisation ein, obwohl bisher keine Belege vorliegen, dass AKP ein wesentlicher Bestandteil der Hartgewebe darstellt. In einer Lösung liegt AKP als relativ stabile kristalline Phase vor wie auch OKP oder Apatitprodukte [Mathew & Takagi 2001]. Nicht stabil liegt es als unsubstituiertes AKP in Lösungen vor. Die Substitution kann durch Karbonat oder Magnesium erfolgen. Im elektronenmikroskopischen Bild ist AKP durch kugelförmige Aggregate gekennzeichnet [Eanes 1975].

Apatite sind im Allgemeinen fähig eine große Bandbreite an Modifikationen und Kombinationen von Ionen- und Gruppensubstitutionen im Kristallgitter aufzunehmen, wie Fluor- oder Hydroxylapatit. Durch diese große Variabilität werden sie selten in der rein stöchiometrischen Form gefunden. Sie sind unter den Kalziumphosphaten die thermodynamisch stabilste Form und können somit als mögliches Endprodukt vieler

Reaktionen angesehen werden. Hydroxylapatite sind die anorganische Komponente von Knochen und Zähnen [Mathew & Takagi 2001].

Oktakalziumphosphat ist die wichtigste mögliche Vorstufe für die Bildung von Apatit [Eanes 1985]. Es hat eine ähnliche Struktur wie Hydroxylapatit. Diese Ähnlichkeit wird herangezogen, um das epitaxische Wachstum und die Bildung einer ununterbrochenen Schicht dieser beiden Komponenten zu erklären [Brown et al. 1962]. Das Vorhandensein dieser Schicht von OKP und HA bietet Einblicke in die Prozesse der Biomineralisation, wie Eigenschaften und Nichtstöchiometrie von biologischen Apatiten, und bietet ein mögliches Strukturmodell für Amorphes Kalziumphosphat [Mathew & Takagi 2001]. In der elektronenmikroskopischen Darstellung zeigt sich OKP in verschiedenen Morphologietypen und Größen. Abhängig von verschiedenen Einflussfaktoren wie zum Beispiel  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{F}^-$ , dem Kalzium/Phosphat-Verhältnis in der Lösung, dem pH-Wert, Karbonat und anderen Faktoren, treten nadel- oder bandförmige Kristalle sowie kurze Plättchen auf [Iijima 2001].

Dikalziumphosphatdihydrat wird auch Brushit genannt [Mathew & Takagi 2001]. Es stellt auch eine Vorstufe für Apatit dar [Boskey 1985]. Seine Kristalle sind in der elektronenmikroskopischen Darstellung dünn, dreieckig und plattenförmig [LeGeros 1991].

Die Bildung von Apatit aus Kalziumphosphaten, sowie dessen Rückreaktion, kann durch Lösungseigenschaften beschleunigt, gehemmt oder unterdrückt werden. Zu diesen Eigenschaften gehören der pH-Wert, die Temperatur, die Zusammensetzung und die Konzentration der Ionen [Nancollas & Tomazic 1974].

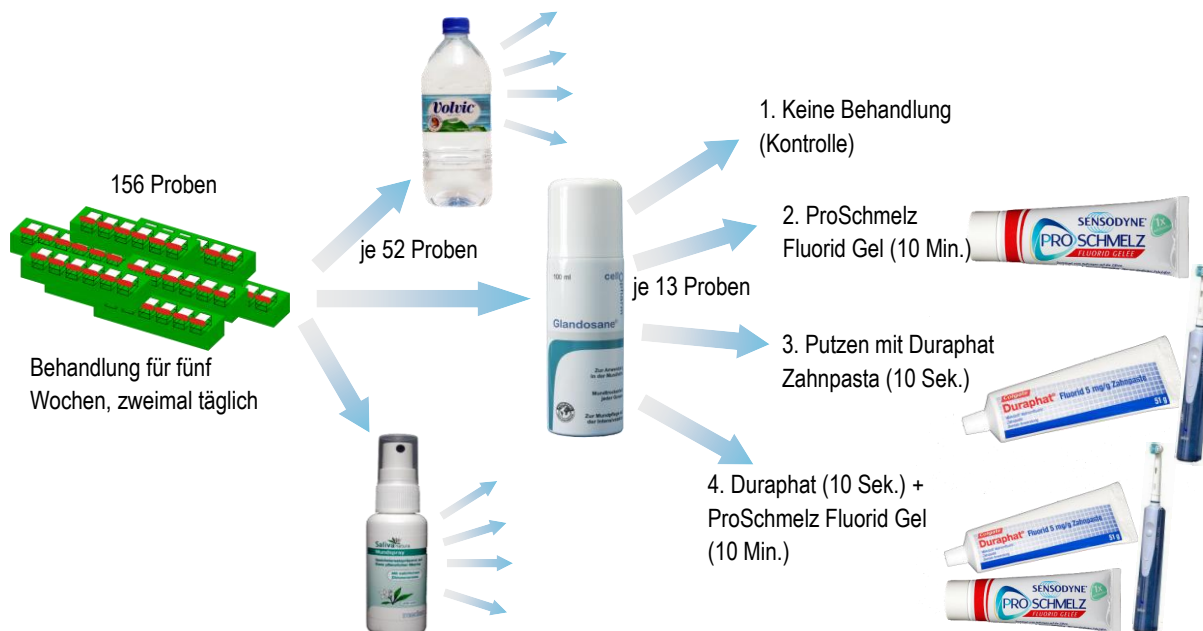
### 3. Fragestellung

Das Ziel dieser In-vitro-Studie war es, die Effekte der täglichen Anwendung von Fluoridgele und/oder Putzen mit einer fluoridhaltigen Zahnpasta (mit einem hohen Fluoridgehalt von 5000  $\mu\text{g F}^-/\text{g}$ ) auf demineralisierten bovinen Schmelz (Oberflächenläsion) in Kombination mit zwei Speichelersatzmitteln mit Hilfe eines „Remineralisationsmodells“ zu untersuchen. Weil ein käuflich erwerbliches künstliches Speichelersatzmittel (Glandosane) mit demineralisierenden Effekten auf Zahnhartsubstanzen immer noch im Gebrauch ist, wurde dieses Produkt mit einem potentiell remineralisierendem Produkt (Saliva natura modifiziert bezüglich wichtiger Kalziumphosphate,  $S_{\text{OKP}} = 1,9$ ) verglichen. Stilles Mineralwasser (Volvic) wurde als Kontrolle benutzt.

Als Alternativhypothese wurde angenommen, dass der zusätzliche Gebrauch von Fluoridprodukten (als Gel oder Zahnpasta) in Kombination mit dem demineralisierendem Speichelersatzmittel (Glandosane) zu einer signifikant geringeren Demineralisation führen würde und mit dem remineralisierendem Speichelersatzmittel (modifiziertes Saliva natura) zu einer signifikant stärkeren Remineralisation. Als Nullhypothese folgte die Annahme, dass durch die zusätzliche Fluoridierung, sei es als Gel oder Zahnpasta, keine signifikanten Einflüsse auf den alleinigen Effekt des jeweiligen Mittels (Demineralisation bei Glandosane, Remineralisation bei modifiziertem Saliva natura) der Speichelersatzmittel nachweisbar sind.

## 4. Material und Methode

Aus bovinen Frontzähnen wurden 156 Schmelzproben hergestellt, die in drei Gruppen aufgeteilt wurden: Volvic, Glandosane und Saliva natura. Diese Gruppen wurden in vier Untergruppen aufgeteilt und über fünf Wochen wie folgt behandelt: 1. Untergruppe wurde nur in der jeweiligen Lösung gelagert, 2. Untergruppe wurde mit ProSchmelz Fluorid Gel zweimal täglich 10 Minuten fluoridiert, 3. Untergruppe wurde mit Duraphat Zahnpasta zweimal täglich 10 Sekunden geputzt, 4. Untergruppe wurde zweimal täglich geputzt und fluoridiert (Abb. 1). Es erfolgte die Verblindung der Proben, die Vorbereitung für die transversale Mikroradiografie (TMR), deren Durchführung, computergestützte Auswertung und abschliessend die statistische Auswertung.



**Abbildung 1:** Übersicht der Probenaufteilung

### 4.1. Herstellung der Schmelzproben

Es wurden 80 Zähne von frisch geschlachteten Rindern extrahiert. Dabei wurden nur bleibende, klinisch gesunde, nicht beschädigte Frontzähne ausgesucht. Bis zur weiteren Bearbeitung wurden die Zähne bei Raumtemperatur in physiologischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) gelagert.

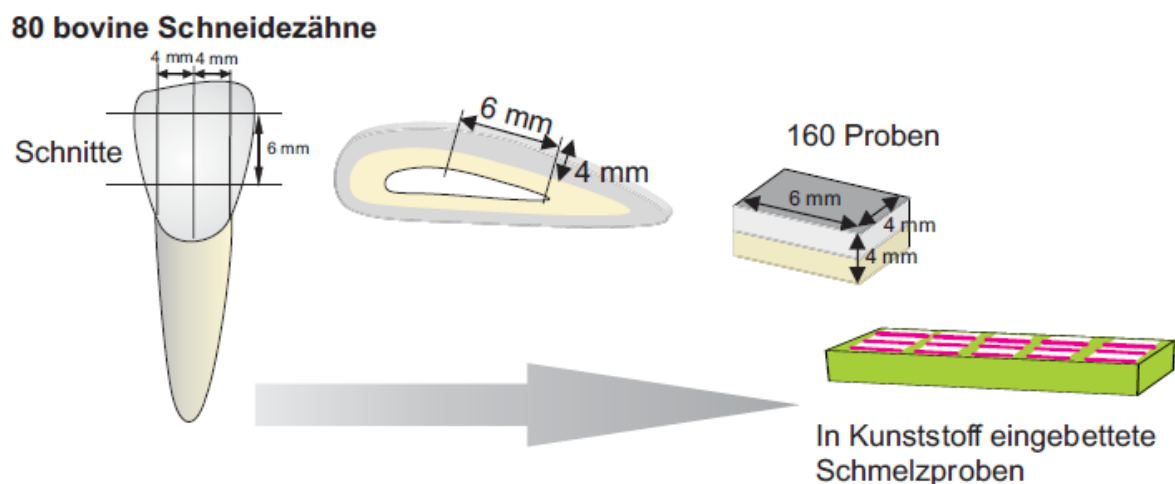
Aus der Labialfläche der Zähne wurden 160 Proben in einer Größe von  $6 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$  (H  $\times$  B  $\times$  T) unter ständiger Wasserkühlung gesägt (Bandsäge Exakt 300 CL;



EXAKT Apperatebau, Norderstedt, Deutschland), wobei zwei Rechtecke pro Zahn hergestellt werden konnten (Abb. 2). Die Rechtecke wurden von den Seiten und der Unterseite mit 600er Körnung und von der Schmelzoberfläche mit 1200er Körnung Schleifpapier (Siliziumcarbid, P 600, P 1200, Buehler, Düsseldorf Deutschland) beschliffen.

Zweimal fünf und einmal drei Schmelzproben wurden mittels Silikonförmchen mit Kunststoff (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) zu je einem Block à 1 × 5 cm vereint, wobei die Schmelzoberfläche auch die Oberfläche des Blockes darstellte und frei vom Kunststoff blieb. Diese Oberfläche wurde mit einer Poliermaschine (Schleifgerät Labo Pol 25; Struers, Ballerup, Dänemark/Willich, Deutschland) und Schleifpapier aufsteigender Körnung (Siliziumcarbid, P 2400, P 4000, Buehler) beschliffen. Die Umdrehungszahl betrug 300 U/min. Dabei wurden ungefähr 200 µm der Schmelzoberfläche entfernt.

Um die unbehandelte Schmelzoberfläche als Vergleichswert zu bewahren (Kontrolle Gesund), wurden drei schmale Bereiche der Oberfläche jeder Probe mit säurefestem Nagellack (Lycra Flex + Silk; Astor, Paris, Frankreich) abgedeckt (Abb. 4).



**Abbildung 2:** Übersicht der Probenherstellung aus einem Rinderzahn

## 4.2. Demineralisation der Schmelzproben

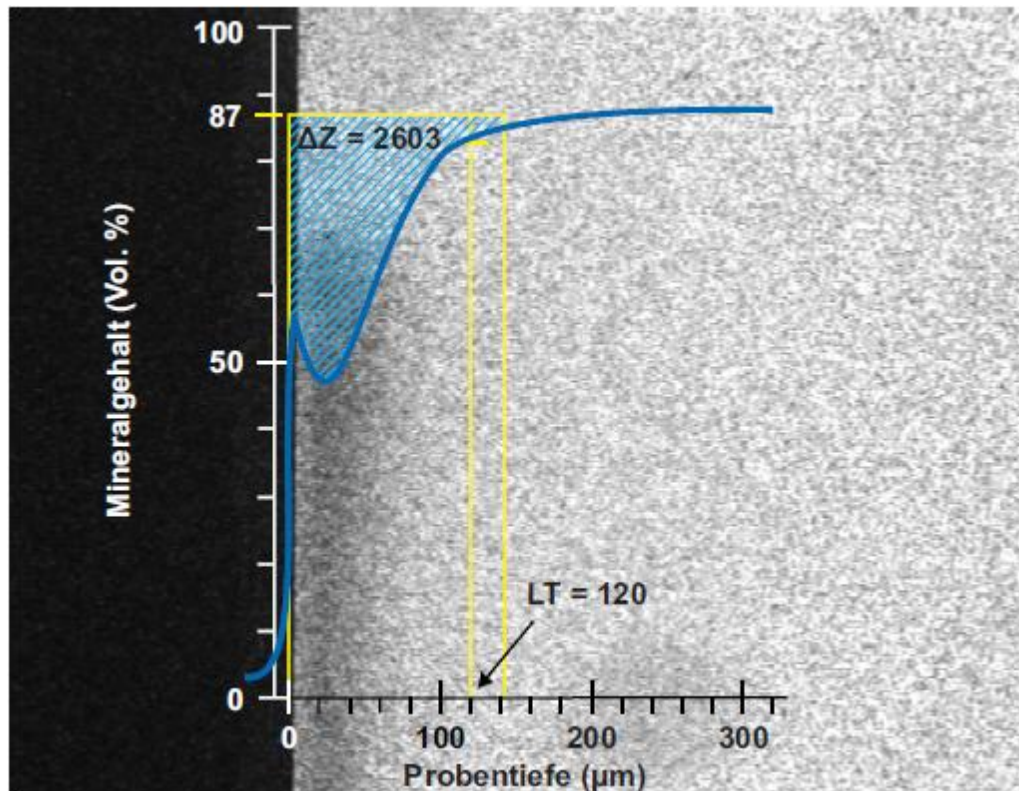
Zur Demineralisation wurde eine Lösung nach Buskes angesetzt (Tab. IV) und die Probenblöcke wurden in fünf Liter dieser Lösung bei pH 4,95 für 15 Tage bei 37 °C im Wärmeschrank (Venticell 404, MMM Medcenter, Planegg, Deutschland) gelagert.

**Tabelle IV:** Zusammensetzung der Demineralisationslösung [Buskes et al. 1985]

<b>Stoff</b>	<b>Ansatz (l)</b>	<b>Konzentration (mmol/l)</b>	<b>Molare Masse (g/mol)</b>	<b>Menge</b>
<b>CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O</b>	5	3	147,02	2,205 g
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	5	3	136,09	2,041 g
<b>MHDP</b>	5	0,006	176,00	5,28 mg
<b>CH<sub>3</sub>COOH</b>	5	50	60,05	14,30 ml
<b>KOH 10M</b>	5	(ad pH 4,95)	56,11	ca. 23 ml
<b>Aqua dest.</b>	5		18,00	ad 5 l

Der pH wurde täglich mittels pH-Meter (pH-Elektrode GE 100 BNC mit pH-Meter GMH 3510; Greisinger, Regenstauf, Deutschland) kontrolliert. Bei Abweichungen wurde der pH-Wert so korrigiert, dass er in dem Bereich von 4,92 bis 4,98 während der Demineralisationsdauer konstant war. War der pH-Wert reduziert wurde unter manuellem Rühren Kaliumhydroxid (10 M; Merck, Darmstadt, Deutschland), bei erhöhtem pH-Wert wurde Salzsäure (0,1 M; Merck) tropfenweise hinzu pipettiert (Falcon, 1 ml; Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, New Jersey, USA). Standardisierte Pufferlösungen (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) mit dem festen pH-Wert von 4,0 und 7,0 sowie einer Genauigkeit von 0,01 Einheiten, wurden zur Kalibrierung des pH-Meters benutzt. Nach 15 Tagen Demineralisation wurde mittels TMR (Abb. 3) anhand von vier Proben der Erfolg der Demineralisation (die Ausbildung einer Oberflächenläsion) überprüft. Eine Läsionstiefe von ca. 100 µm war angestrebt.

Nach erfolgter Demineralisation wurde ein freier Bereich auf der Schmelzoberfläche mit Nagellack (Lycra Flex + Silk; Astor) abgedeckt (Kontrolle Demineralisation). Zwei Bereiche blieben frei (Abb. 4).



**Abbildung 3:** Aufnahme einer repräsentativen Schmelzprobe zur Kontrolle der Demineralisation nach 15 Tagen Lagerung in der Demineralisationslösung. Darstellung des Mineralverlustes ( $\Delta Z$ ) und der Läsionstiefe (LT) mit Hilfe des TMR-Programmes.

### 4.3. Verwendete Produkte

Die bei diesem Versuch verwendeten Lösungen waren zwei Speichelersatzmittel und eine Kontrolllösung. Letztere stellte handelsübliches stilles Mineralwasser mit einem pH-Wert von 7,16 (W; Volvic naturelle; Danone-Waters, Frankfurt, Deutschland) als Kontrolle dar. Glandosane (G; basierend auf Carboxymethylcellulose (CMC); cell pharm, Hannover, Deutschland) repräsentiert ein demineralisierendes Speichelersatzmittel [Joyston-Bechal & Kidd 1987; Meyer-Lueckel et al. 2002] ( $S_{OKP} = 0,3$ ;  $S_{DKPD} = 0,2$ ). Saliva natura (SN; polysaccharidbasierend; medac, Hamburg, Deutschland) wurde vor dem Versuch durch die Zugabe von Elektrolyten, einem Phosphatpuffer und Fluorid modifiziert (Tab. V). Das Verhältnis von Kalzium und Phosphat, welches Saliva natura zugesetzt wurde, betrug 1:1,6 [Tschoppe et al. 2009a]. Ursprüngliches Kalzium und Phosphat der unmodifizierten Saliva natura Lösung [Tschoppe et al. 2009a] sowie das zugefügte Kalzium (als  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) und Phosphat (als  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ergeben eine übersättigte Lösung bezogen auf die wichtigen

Kalziumphosphate ( $S_{OKP} = 1,9$ ;  $S_{DKPD} = 1,3$ ) bei einem pH-Wert von 5,95. Vorrausgehende Untersuchungen zeigten, dass ein Verhältnis von 1:2 bezüglich  $K_2HPO_4/KH_2PO_4$  (Phosphatpuffer) zur Aufrechterhaltung eines konstanten pH-Wertes als optimal anzusehen ist. Zusätzlich wurde 0,1 mmol/l Natriumfluorid (Fisher Scientific, Ulm, Deutschland) zugesetzt. Nach der Modifikation von Saliva natura tendiert die Lösung leicht zur Präzipitation.

**Tabelle V:** Zusammensetzung der modifizierten Saliva natura Lösung bezogen auf 1 Liter

Produkt	$CaCl_2 \cdot 2 H_2O$	$KH_2PO_4$	$K_2HPO_4$	Fluorid
Menge in mmol/l	3,15	3,36	1,68	0,1

Für wässrige Lösungen kann der Sättigungsgrad (S) bezüglich der kariesrelevanten Bestandteile, wie Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD), Oktakalziumphosphat (OKP), Hydroxylapatit (HA), Kalziumfluorid ( $CaF_2$ ) und Fluorapatit (FA), berechnet werden sofern der pH-Wert und die Konzentration der Ionen der Lösung bekannt ist [Shellis 1988] (Tab. VI).

**Tabelle VI:** Zusammensetzung der Kontrolllösung (Wasser) und der Speichelersatzmittel und berechnete Sättigung bezogen auf Kalziumphosphate,  $CaF_2$  und Fluorapatit

Lösung	Berechnete Sättigung einer wässrigen Lösung bezüglich:					pH	Ionenkonzentration (mmol/l)						
	DKPD	OKP	HA	$CaF_2$	FA		Ca	$PO_4$	F	K	Cl	Na	Mg
<b>Wasser (Volvic; W)</b>	0,2	0,8	4,9	-	-	7,16	0,3	0,2	0	0,2	0,4	0,5	0,3
<b>Glandosane (G)</b>	0,2	0,3	1,0	-	-	5,35	1,0	2,6	0	19,0	33,8	14,8	0,3
<b>mod. Saliva natura (SN)</b>	1,3	1,9	7,1	0,6	28,5	5,95	3,2	5,0	0,1	6,7	6,3	0	0

DKPD = Dikalziumphosphatdihydrat; OKP = Oktakalziumphosphat; HA = Hydroxylapatit;  $CaF_2$  = Kalziumfluorid; FA = Fluorapatit

Es wurden zwei Fluoridprodukte in dem Versuch verwendet (Tab. VII): ProSchmelz Fluorid Gel (ProSchmelz Fluorid Gel; GlaxoSmithKline, Bühl, Deutschland) und Duraphat Zahnpasta (Duraphat; Colgate-Palmolive, Hamburg, Deutschland).

**Tabelle VII:** Fluoridprodukte und ihr Behandlungsablauf

Produkt	Fluoridkonzentration ( $\mu\text{g F}^-/\text{g}$ )	Fluoridverbindung	pH	Behandlung
keines (0)	-	-	-	keine Behandlung, nur Lagerung
ProSchmelz Fluorid Gel* (PS)	12 500	Natriumfluorid	6,03	Kontakt mit Gel für 10 Minuten, morgens und abends
Duraphat Zahnpasta (D)	5 000	Natriumfluorid	Duraphat/W (1:3) – 8,15 Duraphat/G (1:3) – 7,54 Duraphat/SN (1:3) – 7,61	Putzen für 10 Sekunden mit einem Slurry aus Zahnpasta und der jeweiligen Grundlösung (1:3), gesamte Kontaktzeit beträgt 130 Sekunden, morgens und abends
Duraphat Zahnpasta + ProSchmelz Fluorid Gel (D+PS)	siehe D und PS		siehe D und PS	wie Gruppe D und zusätzlicher Kontakt mit Gel für 10 Minuten morgens und abends nach dem Putzen mit dem Zahnpastaslurry

Nach jeder Behandlung wurden die Proben für 20 Sekunden mit ca. 20 ml destilliertem Wasser abgespült ( $n = 11 - 13/\text{pro Untergruppe}$ ). Ein Teil Duraphat Zahnpasta wurde mit drei Teilen der jeweiligen Grundlösung gemischt (1:3) um einen homogenen Slurry (EN ISO 11609) zu erhalten, der zum Putzen der Proben diente. Die Proben wurden drucklos mit einer elektrischen Zahnbürste geputzt (Oral B Professional Care 7500 und Bürstenkopf Oral B Flexisoft). Der pH-Wert wurde nach der Slurryherstellung gemessen.

\*enthält 0,256 mol/l Phosphat, ermittelt in einer vorhergehenden Studie [Meyer-Lueckel & Tschoppe 2010]

#### 4.4. Durchführung der Versuche

Die übrigen 156 Proben wurden randomisiert zu gleichen Teilen auf drei Gruppen verteilt. Diese Gruppen gaben die Grundlösung an, in der die Proben außerhalb ihrer

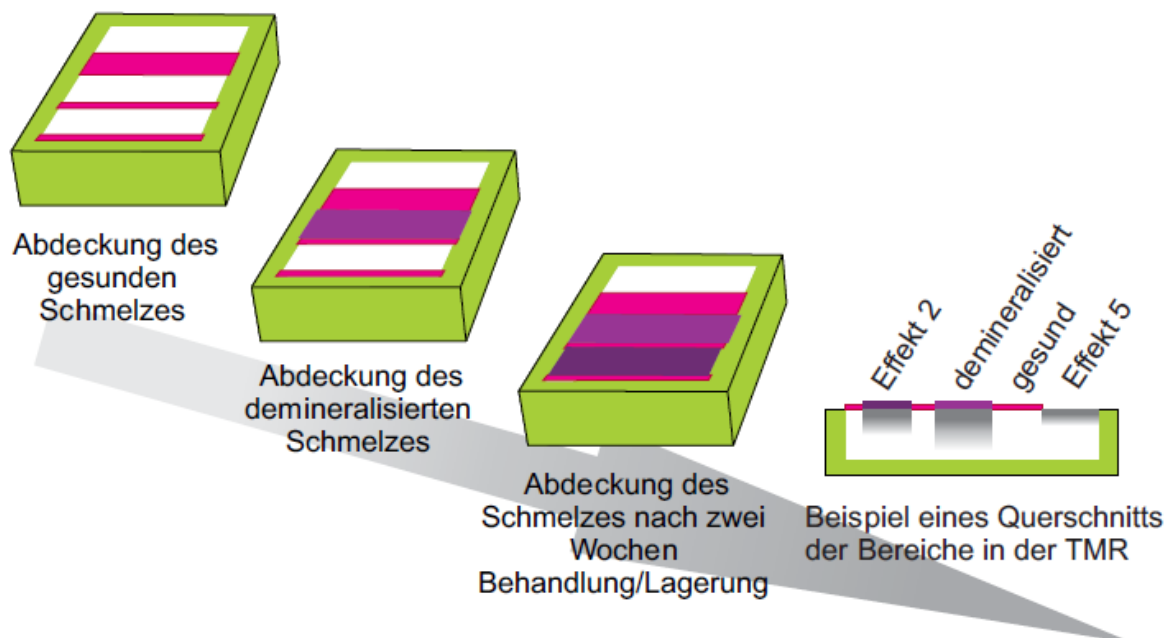
Behandlung gelagert wurden. So wurden je 52 Proben in Volvic (Volvic naturelle; Danone-Waters), Glandosane (Glandosane; cell pharm) und Saliva natura modifiziert (Saliva natura; medac) gelagert (Abb. 1).

Innerhalb der drei Gruppen wurden die Proben wiederum randomisiert zu gleichen Teilen auf vier Untergruppen verteilt, sodass in jeder Gruppe nun dreizehn Proben à drei Probenblöcke waren. Diese drei Probenblöcke wurden zusammen in ein verschliessbares Röhrchen (Zentrifugenröhrchen mit Stehrand, 50ml; VWR, Darmstadt, Deutschland) gebracht und dieses mit 24 ml der jeweiligen Grundlösung aufgefüllt. Die jeweiligen Grundlösungen wurden jeden zweiten Tag in allen Röhrchen erneuert. Der pH-Wert der Grundlösungen wurde gemessen (pH-Elektrode GE 100 BNC mit pH-Meter GMH 3510; Greisinger) und blieb während des gesamten Experimentes von fünf Wochen stabil. Die Proben wurden während der fünf Wochen bei konstanten 37 °C im Wärmeschrank (Venticell 404, MMM Medcenter) gelagert und nur während der jeweiligen Behandlung aus diesem herausgenommen.

Die dreizehn Proben der ersten Untergruppe wurden nur gelagert (0; Tab. VII). Die Proben der zweiten Untergruppe wurden zweimal täglich fluoridiert indem die Proben dem Röhrchen entnommen und mit der Probenoberfläche nach oben abgelegt wurden. Auf die Probenoberfläche wurde ProSchmelz Fluorid Gel (PS; ProSchmelz Fluorid Gel; GlaxoSmithKline) deckend und drucklos mittels Zahnstocher (Wenco, Essen, Deutschland) aufgetragen. Das Fluoridgel wirkte zehn Minuten ein. Danach wurde es mit ca. 20 ml destilliertem Wassers (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) für zwanzig Sekunden abgespült. Die Proben wurden wieder in die Röhrchen zurückgebracht. Die Proben der dritten Gruppe wurden zweimal täglich geputzt. Wobei täglich ein Slurry aus einem Teil Duraphat Zahnpasta (D; Duraphat; Colgate-Palmolive) und drei Teilen der jeweiligen Grundlösung unter manuellem Rühren hergestellt wurde. Der pH-Wert der Slurries wurde gemessen (pH-Elektrode GE 100 BNC mit pH-Meter GMH 3510; Greisinger). Die Proben wurden den Röhrchen entnommen und mit der Probenoberfläche nach oben abgelegt. Jede Probe wurde mit dem Slurry benetzt und anschließend zehn Sekunden mit dem Slurry und einer elektrischen Zahnbürste (Oral B Professional Care 7500; Braun, Kronberg, Deutschland) drucklos geputzt. Somit wurde jede Probe dem Slurry einer Kontaktzeit von 130 Sekunden ausgesetzt (13 Proben à 10 Sekunden). Jede Grundlösung hatte ihren eigenen Zahnbürstenansatz (Oral B Flexisoft; Braun, Kronberg, Deutschland). Der Slurry wurde mit ca. 20 ml destilliertem Wassers

(Fresenius Kabi) für zwanzig Sekunden abgespült. Die Proben wurden wieder in die Röhren zurückgebracht. Die Proben der vierten Untergruppe wurden zuerst zehn Sekunden mit dem Duraphat/Grundlösungs-Slurry geputzt, mit destilliertem Wasser (Fresenius Kabi) abgespült und danach zehn Minuten mit ProSchmelz Fluorid Gel fluoridiert wie oben beschrieben (D+PS).

Nach zwei Wochen wurde auf jeder Probe ein schmaler Bereich mit Nagellack (Lycra Flex + Silk; Astor) abgedeckt (Effekt nach zwei Wochen). So war nur noch ein Bereich frei, der nach dem Ende des Versuches den Effekt nach fünf Wochen darstellte (Abb. 4).



**Abbildung 4:** Übersicht über die Abdeckung der zu untersuchenden Bereiche mit Nagellack und exemplarische Darstellung eines Dünnschliffes in der TMR

#### 4.5. Vorbereitung der Proben für die transversale Mikroradiografie

Am Ende der fünföchigen Behandlung wurden alle Proben den Behältern entnommen, abgespült und in neue Behälter mit destilliertem Wasser (Fresenius Kabi) gefüllt. Die Verblindung der Proben erfolgte durch eine neutrale Person. Anschließend erfolgte das Heraustrennen der Proben aus den Probenblöcken mittels Bandsäge (Exakt 300 CL; EXAKT Apparatebau) unter ständiger Wasserkühlung. Die Proben wurden mit der Bandsäge in Längsrichtung, d. h. senkrecht zu Oberfläche, halbiert und beschriftet. Eine Hälfte der Probe wurde zurück in die Röhren gesteckt und

aufbewahrt, die andere Hälfte wurde weiter bearbeitet für die transversale Mikroradiografie.

Die Schnittfläche der halbierten Probe wurde mit der Poliermaschine (Labo Pol 25; Struers) und Schleifpapier aufsteigender Körnung (Siliziumcarbid, P 2400, P 4000, Buehler) poliert. Vier Probenhälften wurden nebeneinander mit der polierten Schnittfläche auf einem Objektträger aus Plexiglas (Plexiglas-Objektträger, 25 × 75 × 2 mm; dia-plus, Oststeinbek, Deutschland) mit Sekundenkleber (Omnident, Rodgau, Deutschland) befestigt. Der Sekundenkleber wurde dazu mittels Skalpell (Einmalskalpell steril; Martin, Tuttlingen, Deutschland) auf die Kunststoffbereiche der Probenschnittfläche aufgetragen und anschließend die Probe mit der Schnittfläche zum Objektträger auf diesen geklebt. Mit der Bandsäge (Exakt 300 CL; EXAKT Apparatebau) wurden die Proben auf dem Objektträger parallel abgetrennt. Es verblieb ein planparalleler Probenschliff auf dem Objektträger. Angestrebt war ein Breite von 200 µm. Die Proben auf den Objektträgern wurden mit der Poliermaschine (EXAKT Mikroschleifsystem 400 CS; EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) und Schleifpapier aufsteigender Körnung (WS flex 18 C, Siliziumcarbid, P 1200 - 4000, Hermes Schleifmittel, Hamburg, Deutschland) bis zu einer angestrebten Dicke von 100 - 110 µm poliert. Die Dicke der Probenschliffe wurde mittels Mikrometerschraube (Bügel-Messschraube, Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan) gemessen. Der Zahnschliff wurde vom Objektträger mit dem Skalpell herausgetrennt, indem der Kunststoff weggeschnitten wurde. Die so erhaltenen Zahnschliffe wurden mittels Leukofix (BSN medical, Hamburg, Deutschland) auf die TMR-Probenhalter (Charité Facility Management, Mechanische Werkstätten, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland) geklebt und beschriftet. Bis zur transversalen Mikroradiografie wurden die Proben in destilliertem Wasser (Fresenius Kabi) bei Raumtemperatur gelagert.

#### **4.6. Transversale Mikroradiografie**

Mit Hilfe der transversalen Mikroradiografie kann der Mineralverlust ( $\Delta Z$ ; ausgedrückt in Vol. % × µm) und die Läsionstiefen (LT; in µm) einer Probe bestimmt werden.

Dazu wurden Aufnahmen der vorbereiteten Proben in einem speziellen Kameragehäuse vorgenommen, das mit der „Objektivseite“ am Röntgentubus des



Röntgengenerators gekoppelt war. In dem Kameragehäuse ist auf Filmhöhe eine Aluminium-Eichtreppe für transversale Mikroradiogramme montiert, rechts daneben befand sich ein Aluminiumschlitten zur Aufnahme der TMR-Probenhalter. Dieser hält die Probe in Beziehung zur Aluminiumeichtreppe während der mikroradiografischen Aufnahmen in einer exakten Position. Der Aluminiumschlitten wurde bei geschlossenem Kameragehäuse mit eingelegtem Film entnommen und eine Probe eingelegt oder anschließend gewechselt. Die Aluminiumeichtreppe diente zur Kalibrierung des Computers für die Auswertung der mikroradiografischen Filme. Die Probe auf dem TMR-Probenhalter wird zusammen mit dieser Aluminiumeichtreppe durch Röntgenstrahlung auf einen hochauflösenden Film projiziert. Dabei werden die Röntgenstrahlen in einer vertikal montierten Röntgenröhre (Feinstruktur-Feinfokus-Röntgenröhre (FF), Type: PW 2213/20; Panalytical, Kassel, Deutschland) von einer Kupferanode mit Nickelfilterung emittiert.

Nach der Entwicklung des Filmes konnte man auf der Aufnahme die Proben mit ihren vier unterschiedliche Bereichen erkennen: den Kontrollbereich (gesunder Bereich), die demineralisierte Oberfläche und die beiden den Lösungen und Behandlungen ausgesetzten Oberflächen (Effekt nach zwei/fünf Wochen). Der Kontrollbereich gab den Mineralgehalt der intakten, unbehandelten Probenfläche („gesund“) wieder und diente als Grundlage für die Berechnung des Mineralverlustes und der Läsionstiefe. Die drei weiteren mikroradiografischen Bereiche (demineralisiert, Effekt nach zwei Wochen, Effekt nach fünf Wochen) wurden bei jeder Probe erfasst, um den jeweiligen Mineralverlust und die Läsionstiefe für ebendiese festzuhalten (Abb. 4).

#### **4.7. Mikroradiografische Untersuchung**

Die vorbereiteten Probenhalter wurden einzeln mit den getrockneten Schmelzproben in die Röntgenröhre eines speziellen Röntgenstrahlengenerators (PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande) montiert. Die mikroradiografische Untersuchung der Schmelzproben erfolgte bei einer Röhrenspannung von 20 kV und einem Röhrenstrom von 20 mA und einer Belichtungszeit von 5 Sekunden. In Vorversuchen waren diese Einstellungsparameter evaluiert worden. Zur Erstellung der Mikroradiogramme diente ein spezieller hochempfindlicher, hochauflösender Spezialfilm (Motion Picture Fuji fine grain positive film 71337; FUJIFILM Corporation, Tokyo,

Japan), der in einer lichtundurchlässigen Kassette auf eine handelsübliche Filmrolle manuell aufgespult wurde. Diese Filmrolle mit dem unbelichteten Film wurde dann in das Kameragehäuse, eingelegt; die Kamera wurde daraufhin geschlossen. Der Probenhalter mit der darin befindlichen Probe wurde in den Probenträgerhalter des Aluminiumschlittens eingelegt und in das Kameragehäuse bis zum Anschlag eingeschoben. Die Probenoberfläche war somit zum Film parallel ausgerichtet.

Nach jeder Aufnahme wurde der Film bei geschlossenem Kameragehäuse weitergedreht und die belichtete Probe gegen eine neue ausgetauscht. Die belichteten Proben wurden nach dem Röntgen wieder in destilliertem Wasser (Fresenius Kabi) aufbewahrt, um ein Austrocknen zu vermeiden.

#### **4.8. Mikroradiografische Auswertung**

Nach der Entwicklung wurden die mikroradiografischen Einzelaufnahmen mit einem Durchlichtmikroskop (Axioskop 2; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an dem eine Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77 CE; Sony, Tokyo, Japan) angeschlossen war, untersucht. Die Berechnung der Läsionstiefe und des Mineralverlustes erfolgte mit dem Program Transversal Microradiography (TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research, Amsterdam, Niederlande). Bei jeder Aufnahme wurden nach der Kalibrierung die vier Bereiche untersucht (gesund, demineralisiert, Effekt 2 nach zwei Wochen, Effekt 5 nach fünf Wochen). Die Mineralverluste ( $\Delta Z_{\text{Gesund}}$ ) und die Läsionstiefen ( $LT_{\text{Gesund}}$ ) der gesunden Bereiche wurden von den demineralisierten ( $\Delta Z_{\text{Demin}}$ ,  $LT_{\text{Demin}}$ ) und den Effektbereichen von zwei ( $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$ ,  $LT_{\text{Effekt 2}}$ ) und fünf Wochen ( $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$ ,  $LT_{\text{Effekt 5}}$ ) subtrahiert. Diese korrigierten Werte wurden dann analysiert. Veränderungen des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z_2 = \Delta Z_{\text{Demin}} - \Delta Z_{\text{Effekt 2}}$ ,  $\Delta\Delta Z_5 = \Delta Z_{\text{Demin}} - \Delta Z_{\text{Effekt 5}}$ ) und der Läsionstiefe ( $\Delta LT_2 = LT_{\text{Demin}} - LT_{\text{Effekt 2}}$ ,  $\Delta LT_5 = LT_{\text{Demin}} - LT_{\text{Effekt 5}}$ ) wurden berechnet. Positive Werte von  $\Delta\Delta Z$  oder  $\Delta LT$  wurden als Remineralisation angesehen und negative Werte als Demineralisation.

#### **4.9. Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der SPSS-Software (PASW für Windows, Version 18.0; SPSS, München, Deutschland).

Die  $\Delta\Delta Z$  und  $\Delta LT$  Werte wurden im Hinblick auf die Variablen „Lösung“ und „Behandlung“ mit einer zweifaktoriellen ANOVA untersucht. Die einfaktorielle ANOVA wurde angewandt, um die signifikanten Unterschiede für  $\Delta\Delta Z$  und  $\Delta LT$  innerhalb der Gruppen zu untersuchen. Die Varianzanalyse folgte mittels dem Tukey *post-hoc* Test. Unterschiede des Mineralverlustes und der Läsionstiefe vor und nach der Lagerung/des Versuches wurden mit dem t-Test paarweise verglichen. Das Signifikanzniveau wurde auf 5 % festgelegt. Nach Abschluss der statistischen Auswertung erfolgte die Entblindung der Gruppen durch die oben erwähnte neutrale Person.

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Quantitative Auswertung

Alle *in vitro* demineralisierten Proben zeigten einen Läsionskörper mit einer pseudointakten Oberflächenschicht. Diese war stärker mineralisiert als der Läsionskörper und zeigte keine Anzeichen von Erosionen. Nach der Demineralisation unterschieden sich die Mineralverluste ( $\Delta Z_{\text{Demin}}$ ) sowie die Läsionstiefen ( $LT_{\text{Demin}}$ ) aller Schmelzproben nicht signifikant ( $p = 0,421$  und  $p = 0,175$ ; ANOVA) zwischen den einzelnen Gruppen. Zwei Proben gingen bei der Dünnschliffherstellung verloren, so dass die Untergruppe SN-D nur noch aus 11 auswertbaren Proben bestand. In allen anderen Untergruppen blieb es bei je 13 Proben. Die Mineralverluste ( $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$  und  $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$ ) und die Läsionstiefen ( $LT_{\text{Effekt 2}}$  und  $LT_{\text{Effekt 5}}$ ) wurden signifikant von den Variablen „Lösung“ und „Behandlung“ beeinflusst ( $p < 0,006$ ; zweifaktorielle ANOVA). Außerdem konnte eine signifikante Interaktion bei  $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$ ,  $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$  und  $LT_{\text{Effekt 5}}$  ( $p < 0,001$ ), jedoch nicht für  $LT_{\text{Effekt 2}}$  ( $p = 0,575$ ) beobachtet werden.

#### 5.1.1. Auswertung des Mineralverlustes

Tabelle VIII zeigt die mittleren Mineralverluste sowie die dazugehörigen Standardabweichungen der jeweiligen Gruppen. Dargestellt sind die Messergebnisse der demineralisierten ( $\Delta Z_{\text{Demin}}$ ; Ausgangswerte) sowie der Effektbereiche der Proben nach einem Zeitraum von zwei ( $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$ ) und fünf Wochen ( $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$ ).

Nach zwei wie auch nach fünf Wochen Lagerung der Schmelzproben in Wasser unterschieden sich die Werte des Mineralverlustes ( $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$  und  $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$ ) nicht signifikant von dem  $\Delta Z_{\text{Demin}}$  Wert ( $p > 0,05$ ; gepaarter t-Test). Dagegen konnte ein signifikanter Unterschied zu dem entsprechenden  $\Delta Z_{\text{Demin}}$  Wert für Wasser in Kombination mit allen Fluoridprodukt-Behandlungen nach zwei und fünf Wochen beobachtet werden ( $p < 0,05$ ). Verglichen mit dem jeweiligen  $\Delta Z_{\text{Demin}}$  Wert imponierte in den Gruppen W-PS, W-D und W-D+PS eine signifikante Abnahme von  $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$  und  $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$  ( $p < 0,05$ ).

In den Glandosane Untergruppen induzierte nur die Lagerung (G-0) für zwei wie auch für fünf Wochen einen signifikante Erhöhung des Mineralverlustes im Vergleich zu  $\Delta Z_{\text{Demin}}$  ( $p < 0,05$ ; gepaarter t-Test). Die zusätzlichen Behandlungen mit Fluoriden

(G-PS, G-D und G-D+PS) ergaben keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den Ausgangswerten nach Demineralisation ( $p > 0,05$ ; gepaarter t-Test).

Bei den Saliva natura Untergruppen konnte eine signifikanter Verringerung (Remineralisation) der  $\Delta Z_{\text{Effekt}}$  Werte nach zwei und fünf Wochen im Vergleich zu  $\Delta Z_{\text{Demin}}$  nur für SN-D beobachtet werden ( $p < 0,05$ ; gepaarter t-Test). Nach fünf Wochen konnten jedoch auch signifikant geringere  $\Delta Z_{\text{Effekt } 5}$  Werte für SN-0 und SN-PS festgestellt werden ( $p < 0,05$ ).

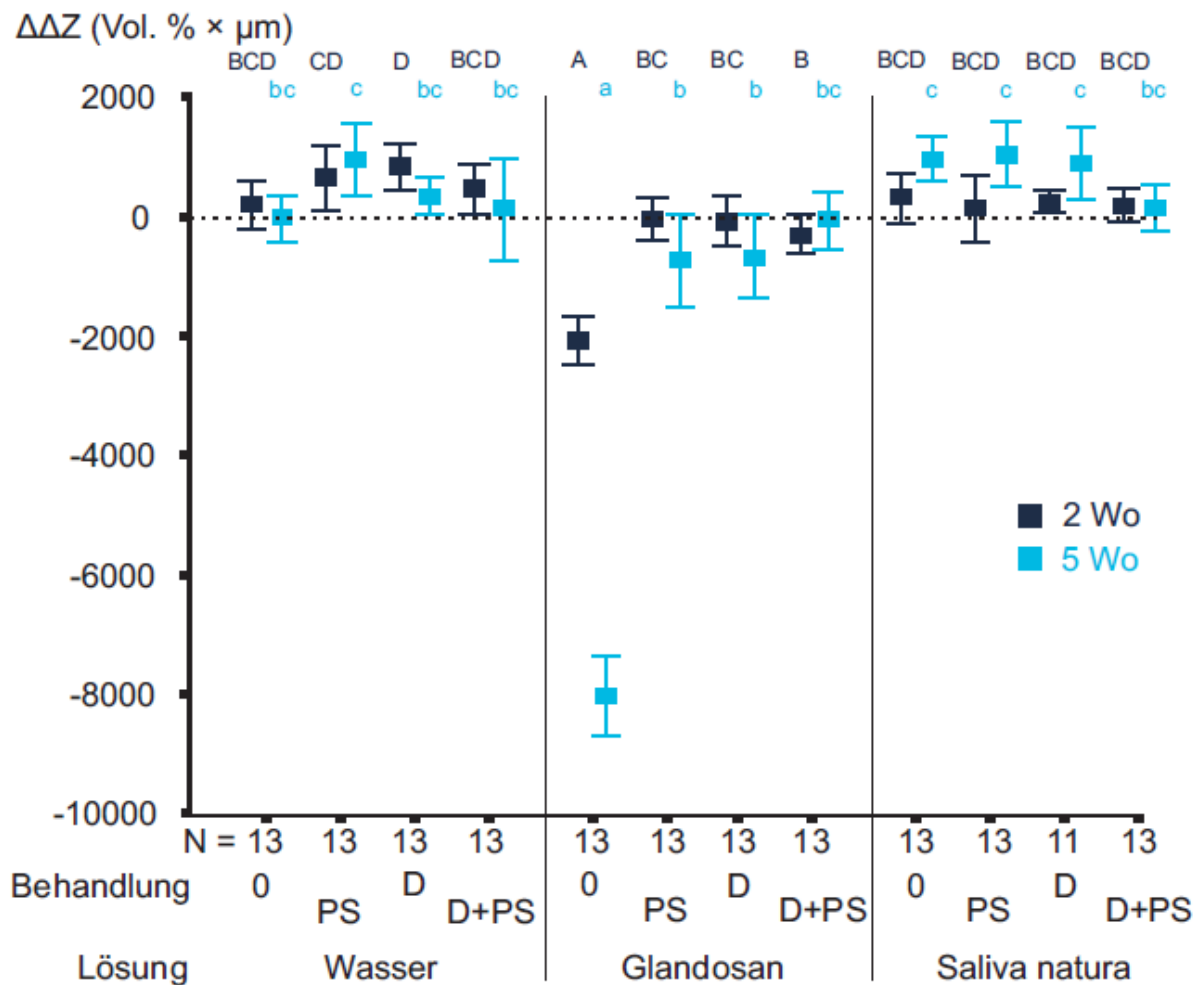
**Tabelle VIII:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (Stabw.) des Mineralverlustes ( $\Delta Z$ ; Vol. %  $\times \mu\text{m}$ ) nach In-vitro-Demineralisation ( $\Delta Z_{\text{Demin}}$ ) und Lagerung in den verschiedenen Lösungen mit und ohne zusätzliche Behandlung mit Fluoridprodukten für zwei ( $\Delta Z_{\text{Effekt } 2}$ ) sowie fünf Wochen ( $\Delta Z_{\text{Effekt } 5}$ )

Lösung	B	$\Delta Z_{\text{Demin}}$		$\Delta Z_{\text{Effekt } 2}$		Demin-Effekt <sub>2</sub> p	$\Delta Z_{\text{Effekt } 5}$		Demin-Effekt <sub>5</sub> p
		MW	Stabw.	MW	Stabw.		MW	Stabw.	
Wasser (W)	0	2824	806	2633	864	0,319	2846	874	0,907
	PS	3224	1127	2582	825	<b>0,024</b>	2280	949	<b>0,005</b>
	D	3250	932	2419	638	<b>0,001</b>	2917	962	<b>0,045</b>
	D+PS	2561	510	2012	734	<b>0,002</b>	2020	991	<b>0,008</b>
Glandosane (G)	0	2853	861	4933	659	<b>&lt; 0,001</b>	10868	1536	<b>&lt; 0,001</b>
	PS	3284	646	3326	853	0,801	4028	1176	0,056
	D	2930	1176	3009	861	0,689	3605	1236	0,051
	D+PS	2935	1235	3247	1330	0,057	2997	1397	0,773
modifiziertes Saliva natura (SN)	0	3464	835	3158	649	0,148	2495	911	<b>&lt; 0,001</b>
	PS	2992	969	2862	1320	0,616	1954	597	<b>0,002</b>
	D	3158	1224	2898	1233	<b>0,010</b>	2275	925	<b>0,007</b>
	D+PS	2678	775	2497	704	0,202	2535	703	0,448

Signifikante Unterschiede zwischen den Werten nach Demineralisation ( $\Delta Z_{\text{Demin}}$ ) und Lagerung/Behandlung für zwei ( $\Delta Z_{\text{Effekt } 2}$ ) oder fünf ( $\Delta Z_{\text{Effekt } 5}$ ) Wochen innerhalb jeder Gruppe ( $n = 11$  in Gruppe SN-D und  $n = 13$  in allen anderen Gruppen), analysiert mit gepaarten t-Tests. Signifikant unterschiedliche p-Werte sind kursiv und fett hervorgehoben. Verminderte Werte (Remineralisation) im Vergleich zum jeweiligen Ausgangswert ( $\Delta Z_{\text{Demin}}$ ) sind grün hervorgehoben und erhöhte Werte (Demineralisation) sind rot mit weißer Schrift dargestellt. Abkürzungen: B = Behandlung (0 = Lagerung, PS = ProSchmelz Fluorid Gel, D = Duraphat Zahnpasta, D+PS = Kombination von D und PS)

### 5.1.2. Veränderung des Mineralverlustes

In diesem Abschnitt wurde der absolute Mineralverlust ( $\Delta\Delta Z_{\text{Effekt}}$ ; in Vol. %  $\times$   $\mu\text{m}$ ) der demineralisierten Schmelzproben ( $n = 11$  für SN-D,  $n = 13$  für alle anderen Gruppen) nach der Lagerung/Behandlung mit Fluoridprodukten für zwei ( $\Delta\Delta Z_{\text{Effekt } 2}$ ) und fünf Wochen ( $\Delta\Delta Z_{\text{Effekt } 5}$ ) miteinander verglichen (Abb. 5).



**Abbildung 5:** Mittelwerte und Konfidenzintervalle (95 %) der Mineralverlustsveränderungen ( $\Delta\Delta Z$ ; Vol.%  $\times$   $\mu\text{m}$ ) nach zwei (dunkelblau) und fünf (hellblau) Wochen Lagerung in den verschiedenen Lösungen (Wasser, Glandosane und modifiziertes Saliva natura). In jeder Hauptgruppe (Lösung) wurden die Proben zusätzlich wie folgt behandelt: keine Behandlung, nur Lagerung (0), ProSchmelz Fluorid Gel (PS), Duraphat Zahnpasta (D), Kombination von D und PS (D+PS). Unterschiedliche Buchstaben zeigen die signifikanten Unterschiede zwischen den Untergruppen innerhalb jeder Lagerungsperiode an ( $p < 0,05$ ; ANOVA, Tukey *post-hoc* Test).

Die in Glandosane gelagerten (G-0) Proben zeigten nach zwei wie auch für fünf Wochen Lagerung signifikant niedrigere  $\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$  und  $\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$  Werte im Vergleich zu allen anderen Lösungen ( $p < 0,05$ ; ANOVA, Tukey *post-hoc* Test). Innerhalb der Gruppen W und SN konnten zwischen alleiniger Lagerung und Lagerung in Kombination mit den verschiedenen Behandlungen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der  $\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$  und  $\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$  Werte beobachtet werden ( $p > 0,05$ ).

### 5.1.3. Auswertung der Läsionstiefe

Tabelle IX zeigt die mittleren Läsionstiefen sowie die dazugehörigen Standardabweichungen der jeweiligen Gruppen. Dargestellt sind die Messergebnisse der demineralisierten ( $LT_{\text{Demin}}$ ; Ausgangswerte) sowie der Effektbereiche der Proben nach einem Zeitraum von zwei ( $LT_{\text{Effekt 2}}$ ) und fünf Wochen ( $LT_{\text{Effekt 5}}$ ).

Im Vergleich zu  $LT_{\text{Demin}}$  zeigten die Proben der Gruppe W-0 keine signifikante Veränderung nach zwei ( $LT_{\text{Effekt 2}}$ ) und fünf Wochen ( $LT_{\text{Effekt 5}}$ ) ( $p > 0,05$ ; gepaarter t-Test). Jedoch konnten signifikante Unterschiede zum jeweiligen  $LT_{\text{Demin}}$  Wert in den Gruppen W mit Fluoridprodukt-Behandlung (W-PS, W-D und W-D+PS) nach zwei und nach fünf Wochen beobachtet werden ( $p < 0,05$ ). Diese Unterschiede entsprachen jeweils einer signifikanten Abnahme der  $LT_{\text{Effekt 2}}$  und  $LT_{\text{Effekt 5}}$  Werte gegenüber dem entsprechenden  $LT_{\text{Demin}}$  Wert ( $p < 0,05$ ).

Signifikante Unterschiede zum entsprechenden  $LT_{\text{Demin}}$  Wert konnten in der Gruppe G nur bei der Lagerung (G-0) von zwei und fünf Wochen festgestellt werden ( $p < 0,05$ ; gepaarter t-Test). Hierbei wurde eine signifikante Zunahme von  $LT_{\text{Effekt 2}}$  und  $LT_{\text{Effekt 5}}$  zu  $LT_{\text{Demin}}$  beobachtet ( $p < 0,05$ ). Keine signifikanten Unterschiede konnten durch die zusätzliche Behandlung mit Fluoriden festgestellt werden (G-PS, G-D und G-D+PS;  $p > 0,05$ ; gepaarter t-Test).

Verglichen mit dem  $LT_{\text{Demin}}$  Wert konnte in der Gruppe SN nur nach fünf Wochen in Kombination mit D ein signifikanter Unterschied festgestellt werden (SN-D;  $p < 0,05$ ; gepaarter t-Test). Der Unterschied des  $LT_{\text{Effekt 5}}$  Wertes entsprach einer signifikanten Abnahme gegenüber dem entsprechenden  $LT_{\text{Demin}}$  Wert ( $p < 0,05$ ). Für die anderen Untergruppen von SN konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

**Tabelle IX:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (Stabw.) der Läsionstiefe (LT;  $\mu\text{m}$ ) nach In-vitro-Demineralisation ( $LT_{\text{Demin}}$ ) und Lagerung in den verschiedenen Lösungen mit und ohne zusätzliche Behandlung mit Fluoridprodukten für zwei ( $LT_{\text{Effekt 2}}$ ) sowie für fünf Wochen ( $LT_{\text{Effekt 5}}$ )

Lösung	B	$LT_{\text{Demin}}$		$LT_{\text{Effekt 2}}$		Demin-Effekt <sub>2</sub>	$LT_{\text{Effekt 5}}$		Demin-Effekt <sub>5</sub>
		MW	Stabw.	MW	Stabw.	p	MW	Stabw.	p
Wasser (W)	0	102	22	101	23	0,810	110	20	0,224
	PS	118	25	99	28	<b>0,027</b>	92	32	<b>0,001</b>
	D	113	24	94	16	<b>0,009</b>	102	19	<b>0,020</b>
	D+PS	100	25	85	19	<b>0,048</b>	83	27	<b>0,043</b>
Glandosane (G)	0	106	21	126	22	<b>0,041</b>	189	21	<b>&lt; 0,001</b>
	PS	120	18	113	27	0,220	122	35	0,851
	D	118	29	116	17	0,756	118	26	0,998
	D+PS	112	22	123	19	0,057	111	32	0,915
modifiziertes Saliva natura (SN)	0	121	17	115	13	0,265	113	26	0,305
	PS	111	25	109	27	0,637	99	28	0,287
	D	122	23	114	37	0,311	98	26	<b>0,008</b>
	D+PS	121	28	119	21	0,747	118	22	0,760

Signifikante Unterschiede zwischen den Werten nach Demineralisation ( $LT_{\text{Demin}}$ ) und Lagerung/Behandlung für zwei ( $LT_{\text{Effekt 2}}$ ) oder fünf ( $LT_{\text{Effekt 5}}$ ) Wochen innerhalb jeder Gruppe ( $n = 11$  in Gruppe SN-D und  $n = 13$  in allen anderen Gruppen), analysiert mit gepaarten t-Tests. Signifikant unterschiedliche p-Werte sind kursiv und fett hervorgehoben. Verminderte Werte (Remineralisation) im Vergleich zum Ausgangswert sind grün hervorgehoben und erhöhte Werte (Demineralisation) sind rot mit weißer Schrift dargestellt. Abkürzungen: B = Behandlung (0 = Lagerung, PS = ProSchmelz Fluorid Gel, D = Duraphat Zahnpasta, D+PS = Kombination von D und PS)

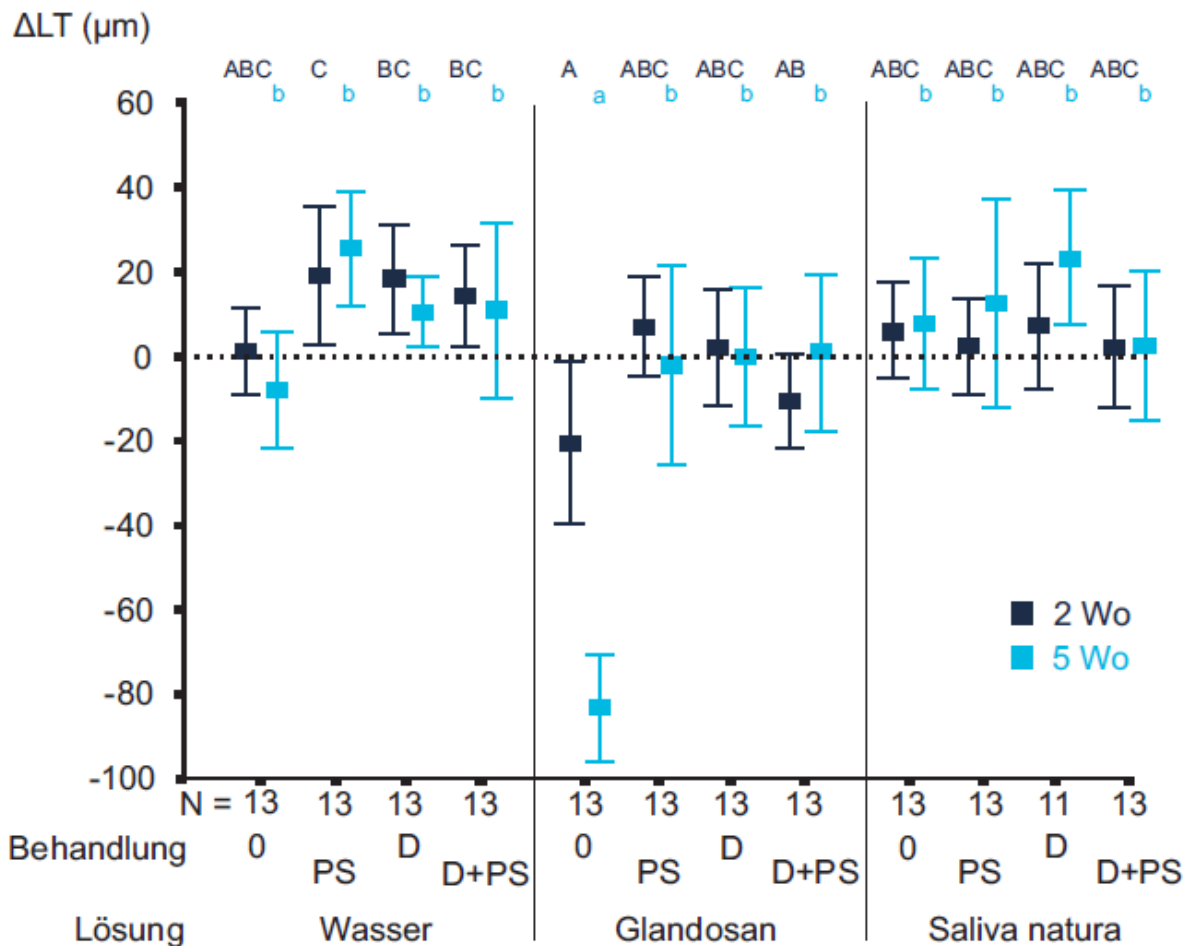
#### 5.1.4. Veränderung der Läsionstiefe

Die absolute Läsionstiefe ( $\Delta LT$ ; in  $\mu\text{m}$ ) der demineralisierten Schmelzproben ( $n = 11$  für SN-D,  $n = 13$  für alle anderen Gruppen) nach der Lagerung/Behandlung mit Fluoridprodukten für zwei ( $\Delta LT_{\text{Effekt 2}}$ ) und fünf Wochen ( $\Delta LT_{\text{Effekt 5}}$ ) wurde miteinander verglichen (Abb. 6).

Die in Glandosane gelagerten Proben (G-0) zeigten nach fünf Wochen Lagerung signifikant niedrigere  $\Delta LT_{\text{Effekt 5}}$  Werte im Vergleich zu allen anderen Lösungen ( $p < 0,05$ ; ANOVA, Tukey *post-hoc* Test). Die  $\Delta LT_{\text{Effekt 2}}$  Werte der Proben, die in Glandosane gelagert wurden (G-0), waren signifikant niedriger im Vergleich zu W-PS, W-D und W-D+PS ( $p < 0,05$ ), zeigten aber keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den anderen Gruppen ( $p > 0,05$ ). Keine signifikanten Unterschiede



konnten zwischen alleiniger Lagerung und Lagerung in Kombination mit den verschiedenen Behandlungen mit W und SN bezüglich der  $\Delta LT_{\text{Effekt 2}}$  und  $\Delta LT_{\text{Effekt 5}}$  Werte beobachtet werden ( $p > 0,05$ ).



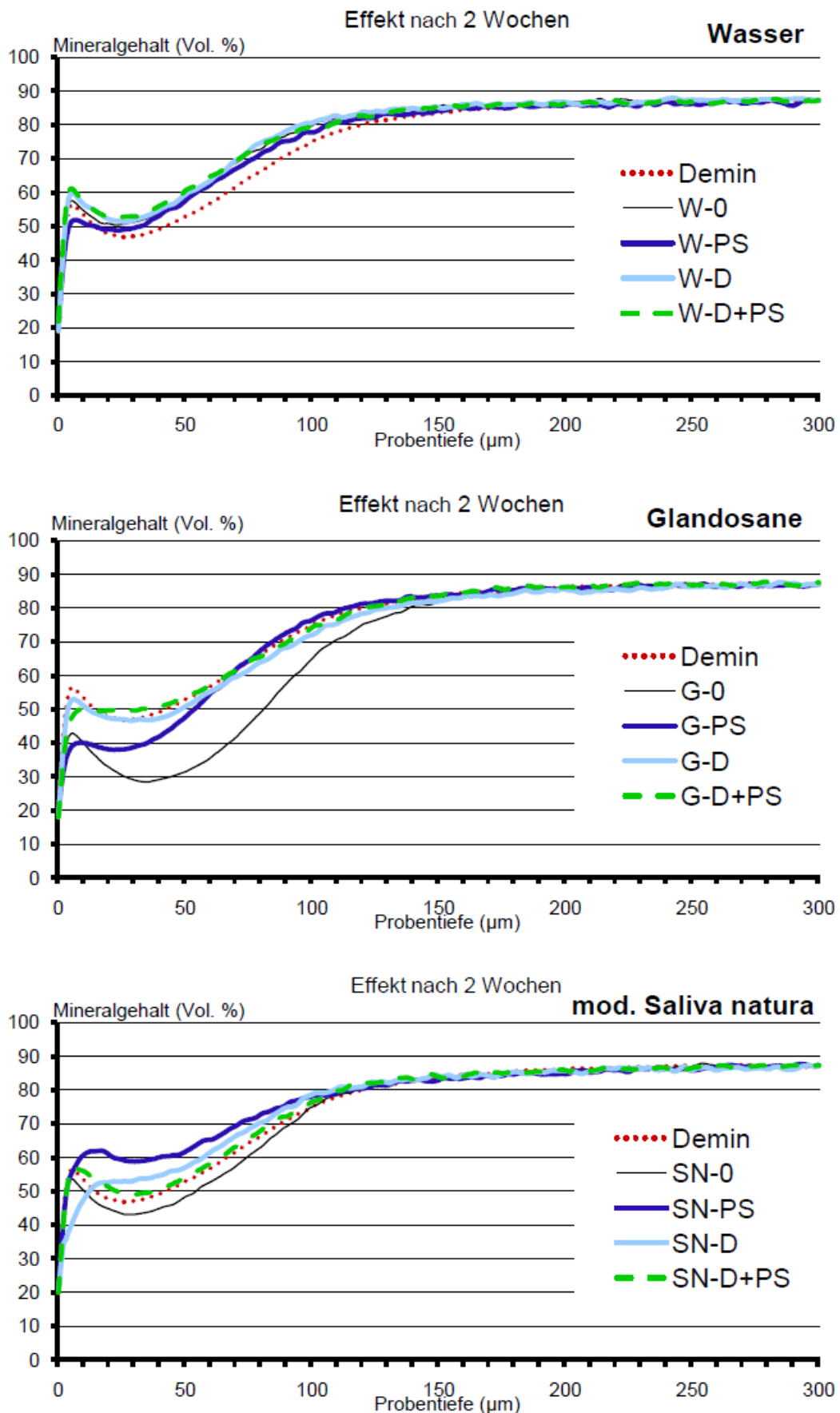
**Abbildung 6:** Mittelwerte und Konfidenzintervalle (95 %) der Läsionstiefenveränderung ( $\Delta LT$ ;  $\mu\text{m}$ ) nach zwei (dunkelblau) und fünf (hellblau) Wochen Lagerung in den verschiedenen Lösungen (Wasser, Glandosane und modifiziertes Saliva natura). In jeder Hauptgruppe (Lösung) wurden die Proben zusätzlich wie folgt behandelt: keine Behandlung, nur Lagerung (0), ProSchmelz Fluorid Gel (PS), Duraphat Zahnpasta (D), Kombination von D und PS (D+PS). Unterschiedliche Buchstaben zeigen die signifikanten Unterschiede zwischen den Untergruppen innerhalb jeder Lagerungsperiode an ( $p < 0,05$ ; ANOVA, Tukey *post-hoc* Test).

## 5.2. Qualitative Auswertung

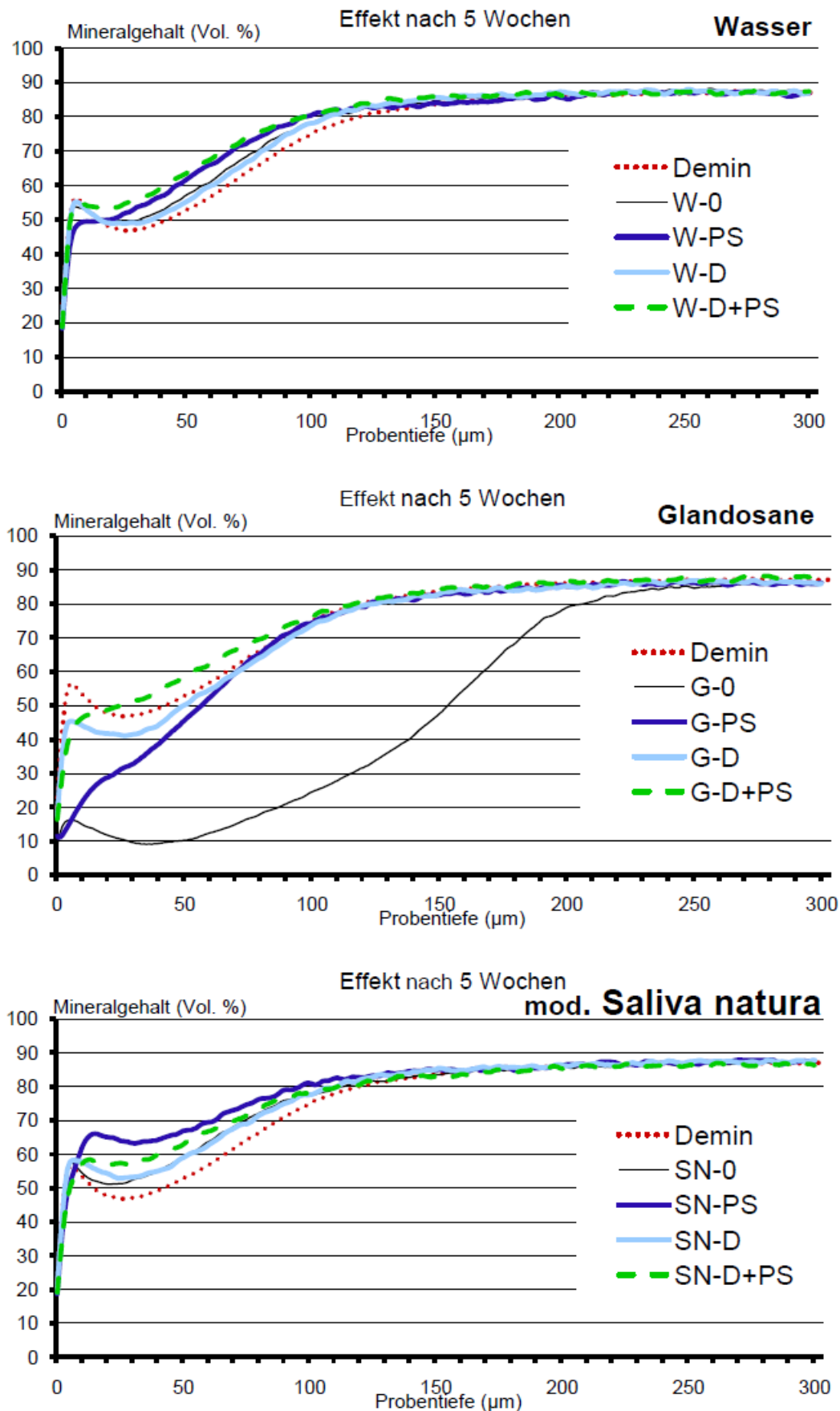
### 5.2.1. Mittelwertgraf

In Abbildung 7 sind die Mittelwerte des Mineralverlustes nach zwei und in Abbildung 8 nach fünf Wochen Lagerung in den verschiedenen Lösungen (Wasser, Glandosane und modifiziertes Saliva natura) sowie in Kombination mit den Behandlungen mit den Fluoridprodukten dargestellt. In diesen Abbildungen sind die Mittelwerte aller Probenbereiche nach der 15-tägigen Demineralisation als rotgepunktete Linie zu erkennen (Demin). Dieser Mittelwertgraf zeigt das typische Bild einer initialen Läsion mit pseudointakter Oberflächenschicht und Läsionskörper. So steigt der Mineralgehalt der Läsion von der Schmelzoberfläche bis zu seinem Maximum innerhalb der Oberflächenschicht an und fällt mit zunehmender Läsionstiefe bis zu seinem Minimum innerhalb des Läsionskörpers. Danach steigt der Mineralgehalt bis zum gesunden Schmelzbereich wieder an.

Die Mittelwertgraf, die von den Messwerten aller Probenbereiche nach zwei Wochen erstellt wurden, zeigten, dass in dieser Zeit strukturelle Veränderungen in den demineralisierten Läsionen stattgefunden haben. In der Gruppe W fand in allen Untergruppen eine Zunahme des Mineralgehaltes der demineralisierten Läsion statt. Jedoch konnte in W-PS eine Abnahme des Mineralgehaltes der Oberflächenschicht beobachtet werden. Die Mittelwertgraf der Gruppe G zeigten für alle Untergruppen eine Abnahme des Mineralgehaltes der Oberflächenschicht. In den Gruppen G-0 und G-PS vertiefte sich der Läsionskörper durch einen verstärkten Mineralverlust. Die Läsionstiefe nahm in der Gruppe G-0 zu. Jedoch konnte in dem tiefen Läsionsanteil bei G-PS eine Hemmung der Demineralisation beobachtet werden. Einzig bei G-D+PS fand gegenüber der demineralisierten Läsion kein weiter Mineralverlust im Läsionskörper statt. Für SN-0 konnte ein weiterer Mineralverlust festgestellt werden. Alle anderen Untergruppen von SN zeigten eine Mineralanlagerung, die bei SN-PS am stärksten war.



**Abbildung 7:** Mittelwertgrafiken ( $\Delta Z$ ) nach zwei Wochen Lagerung der Schmelzproben in Wasser, Glandosane und modifiziertem Saliva natura sowie in Kombination mit der jeweiligen Behandlung mit Fluoridprodukten. Für jede Lösung sind die Untergruppen dargestellt: Lagerung (0), ProSchmelz Fluorid Gel (PS), Duraphat Zahnpasta (D), Kombination von D und PS (D+PS). Dargestellt sind auch die Mittelwerte nach 15-tägiger Demineralisation (Demin).



**Abbildung 8:** Mittelwertgrafiken ( $\Delta Z$ ) nach fünf Wochen Lagerung der Schmelzproben in Wasser, Glandosane und modifiziertem Saliva natura sowie in Kombination mit der jeweiligen Behandlung mit Fluoridprodukten. Für jede Lösung sind die Untergruppen dargestellt: Lagerung (0), ProSchmelz Fluorid Gel (PS), Duraphat Zahnpasta (D), Kombination von D und PS (D+PS). Dargestellt sind auch die Mittelwerte nach 15-tägiger Demineralisation (Demin).

Weitere strukturelle Veränderungen konnten in den Mittelwertgrafiken nach fünf Wochen Lagerung/Behandlung festgestellt werden. So fand in der Gruppe W eine weitere Mineralanlagerung statt, die verstärkt bei W-D+PS und W-PS zu verzeichnen ist. Die Grundform der Läsion veränderte sich jedoch nicht. W-PS zeigte an der Oberflächenschicht im Vergleich zu den zwei Wochen immer noch einen Mineralverlust. Die Gruppe G zeigt die deutlichsten Veränderungen. So sind in G-0 und G-PS die Oberflächenschichten vollständig verloren gegangen. In beiden Gruppen nahm auch der Mineralgehalt im Läsionskörper ab. Jedoch konnte in tieferen Anteilen der Läsion die Demineralisation bei G-PS gehemmt werden, wobei bei G-0 eine Vertiefung der Läsion zu verzeichnen ist, die stärker als nach zwei Wochen ist. Zwar nahm der Mineralverlust in G-D gegenüber den zwei Wochen an der Oberfläche und im Läsionskörper etwas zu, jedoch konnte auch hier eine Hemmung der Demineralisation der tieferen Läsionsanteile beobachtet werden. Einzig die Proben der Gruppe G-D+PS zeigten eine fast vollständige Hemmung der Demineralisation der Oberflächenschicht. Außerdem konnte eine Mineralanlagerung im Läsionskörper verzeichnet werden. Für SN konnte in allen Untergruppen ein Mineralgewinn gegenüber der demineralisierten Läsion beobachtet werden. Dabei ist die Mineralanlagerung bei SN-PS am stärksten.

## **6. Diskussion**

### **6.1. Diskussion von Material und Methode**

#### **6.1.1. Probenmaterial**

In der vorliegenden Studie wurden Rinderzähne als Probenmaterial verwendet. Diese werden oft in In-vitro-Studien als Ersatz für menschliche Zähne verwendet [Esser et al. 1998], weil sie sich für De- und Remineralisationsmodelle in der Kariesforschung sehr gut eignen [Hara et al. 2003]. Grund dafür ist die weitgehend gleiche chemische Zusammensetzung des bovinen Schmelzes und auch weiterer Parameter, wie der Härte oder Dichte im Vergleich zum humanen Zahnschmelz (Tab. X im Anhang). Allerdings weist der Rinderschmelz größere Kristallstrukturen mit mehr Kristalldefekten als beim menschlichen Schmelz auf, da sich Rinderzähne sehr viel schneller entwickeln [Moriwaki et al. 1968]. Somit ist dieser auch geringfügig weicher und poröser als humaner Zahnschmelz [Arends & Jongebloed 1978]. Dies hat zur Folge, dass es bei einer Säureexposition zu einer rascheren Läsionsbildung durch eine höhere Diffusionsrate kommt [Featherstone & Mellberg 1981].

Als Versuchsmaterial sind Rinderzähne auch deshalb geeignet, weil sie leichter und in größeren Mengen beschafft werden können als menschliche Zähne. Außerdem sind sie rein morphologisch größer und erleichtern mit ihrer flachen Oberfläche auch die Herstellung der Proben. Darüber hinaus weisen sie selten kariöse Läsionen auf und sind keinen unterschiedlichen Fluoridexpositionen ausgesetzt gewesen [Mellberg 1992].

Die Aufbewahrung der extrahierten Zähne erfolgte bis zum Versuchsbeginn in physiologischer Kochsalzlösung um ein Austrocknen der Zähne zu vermeiden. Hierdurch wurden die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Zähne nicht verändert [Haller et al. 1993], so dass dies keinen Einfluss auf die Ergebnisse gehabt haben sollte.

Vor Versuchsbeginn wurden die Proben plangeschliffen und poliert um eine standardisierte Probenoberfläche mit homogener Mineralzusammensetzung und homogener Oberfläche zu erlangen. Dieser Schritt ist notwendig, da in der oberflächlichen Schicht einerseits die größten Fluoridschwankungen und andererseits die größten Kristalle zu finden sind. Durch das Entfernen dieser Schicht verringern sich interindividuelle Unterschiede, wie Schwankungen der Schmelzlöslichkeit, des

Fluoridgehaltes, des Mineralgehaltes und der Oberflächenbeschaffenheit [Featherstone & Mellberg 1981].

### 6.1.2. Demineralisation

In der vorliegenden Studie sollten Re- und Demineralisationsvorgänge nachgewiesen werden, speziell eine geringere Demineralisation bzw. eine verstärkte Remineralisation. Um die Ergebnisse nach Versuchsdurchführung beurteilen zu können, bedurfte es einer künstlichen Kariesläsion als Ausgangspunkt, an der eine Re- und Demineralisation nachgewiesen werden konnte. Dementsprechend wurden die Schmelzproben für 15 Tage einer Demineralisationslösung [Buskes et al. 1985] ausgesetzt, die eine angestrebte Läsionstiefe von ca. 100 µm erzeugte. Diese künstliche Läsion wies alle typischen Merkmale einer *in vivo* entstandenen initialen Schmelzläsion auf (pseudointakte Oberfläche, Läsionskörper, transluzente Zone) [Hellwig et al. 2007]. Die Verifikation erfolgte anhand einiger Proben nach der Demineralisation mittels transversaler Mikroradiografie. Bei der Untersuchung der Proben nach Versuchsende durch die TMR konnte die pseudointakte Oberflächenschicht im demineralisierten Bereich bei allen Proben nachgewiesen werden.

### 6.1.3. Durchführung

Die demineralisierten Proben wurden in der vorliegenden Studie für eine Zeit von fünf Wochen in unterschiedlichen Lösungen gelagert. Dies entspricht einem äußerst intensivem Kontakt mit künstlichem Speichel. Jedoch ist es wichtig zu berücksichtigen, dass Patienten, die an Hyposalivation leiden, im allgemeinen Speichelersatzmittel oder stilles Wasser nach Bedarf verwenden [Atkinson et al. 2005; Kielbassa et al. 2006]. Somit könnten ähnliche Beobachtungen *in vivo* erst nach längeren Zeiträumen erwartet werden. Eine periodisch sich abwechselnde De- und Remineralisation wie sie *in vivo* vorhanden ist und per pH-cycling Modell nachgeahmt werden könnte, wurde nicht gewählt um die potentiellen remineralisierenden Effekte der Fluoridprodukte effektiver beurteilen zu können. Jedoch sollte dies bei der Interpretation der Daten beachtet werden.

In vorherigen Studien konnte nachgewiesen werden, dass eine Steigerung des Mineralgehaltes der Proben nur durch einen entsprechenden Gehalt an Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen in den Speichelersatzmitteln bewirkt werden konnte [Kielbassa & Shohadai 1999]. Daher wurde Saliva natura vor dessen Verwendung modifiziert. Durch Zugabe von Kalzium und Phosphat erzielte man eine übersättigte Lösung bezüglich DKPD, OKP und HA. Die Sättigung wurde mit dem Programm nach Shellis errechnet [Shellis 1988]. Oktakalziumphosphat ist von diesen die wichtigste mögliche Vorstufe für die Bildung von Hydroxylapatit [Eanes 1985]. Bei einer an OKP übersättigten Lösung wird das Lösungsgleichgewicht in Richtung des stabileren Hydroxylapatites verschoben. Dementsprechend ist eine Remineralisation tendenziell eher wahrscheinlich [Nancollas & Tomazic 1974]. Somit war Saliva natura modifiziert bezüglich der wichtigen Kalziumphosphate und zeigte auch in dieser Studie remineralisierende Eigenschaften, was die Ergebnisse vorangegangener Studien bestätigt [Tschoppe et al. 2009a; Tschoppe et al. 2009b].

Für Patienten während oder nach Radiotherapie wird das Zähneputzen mit einer hochkonzentrierten Fluoridzahnpaste und die Applikation von Fluoridgel mit einer individuellen Schiene in häufigerer Frequenz empfohlen als dies für Patienten mit normaler Speichelflussrate üblich ist [Wei & Yiu 1993]. Dementsprechend wurden die Proben entweder mit einem Zahnpasta/Speichelersatzmittel-Gemisch beziehungsweise einem Zahnpasta/Wasser-Gemisch für zehn Sekunden zweimal täglich (komplette Kontaktzeit von 130 Sekunden) geputzt oder das Fluoridgel wurde auf der Oberfläche der Proben für zehn Minuten zweimal täglich aufgetragen oder beide Anwendungen wurden kombiniert. Bei einem Patienten ohne Probleme des Speichelflusses ergibt sich normalerweise eine Vermischung des natürlichen Speichels mit der Zahnpasta, welche alle Zähne im Mund benetzt. Daher kann davon ausgegangen werden, dass Patienten mit verminderter Hyposalivation vor dem Putzen ihre Mundschleimhäute benetzen, mit Speichelersatzmittel oder Wasser, um Irritationen mit der Zahnbürste zu minimieren. Deshalb wurden Zahnpasta/Grundlösungsgemische hergestellt. Das Zahnpasta/Speichelgemisch eines Patienten ohne Hyposalivation benetzt von Beginn an alle Zähne während des Putzvorganges. Dies nachahmend wurden alle Proben vor Beginn des Putzens mit dem Zahnpasta/Grundlösungsgemisch benetzt bevor jede Probe zehn Sekunden geputzt wurde. Somit ergibt sich eine vollständige Kontaktzeit von 130 Sekunden pro Putzvorgang. Die empfohlene Putzdauer der gesamten Dentition



(32 Zähne) wird mit drei Minuten angegeben. Daher ergibt sich eine vollständige Kontaktzeit des Zahnpasta/Speichelgemisches auf die Zähne von 180 Sekunden. Die Putzdauer pro Fläche beträgt demzufolge bei einem vollbezahnten Patienten (32 Zähne) zwei Sekunden. Somit liegt die in dieser Studie verwendete Putzdauer je Probe mit zehn Sekunden etwa fünffach so hoch. Auch hier wurde die längere Putzdauer gewählt um in der kurzen Zeit der Studie Effekte zu beobachten, die *in vivo* erst nach längeren Zeiträumen zu erwarten sind. Zum Putzen wurde eine elektrische Zahnbürste verwendet. Außerdem hatte jede Grundlösung ihren eigenen Zahnbürstenansatz um eine mögliche Vermischung der Grundlösungen und somit eine Kontamination mit den Bestandteilen der anderen Lösungen zu vermeiden und dadurch deren Effekte auf die Zahnhartsubstanz auszuschließen. Obwohl das Putzen mit einer elektrischen Zahnbürste nicht standardisiert wurde (z. B. Benutzung einer Putzmaschine), sollte der ausgewählte Putzvorgang nicht die Ergebnisse beeinflusst haben (Vergleich zwischen den Gruppen), weil ein veränderter Druck der Zahnbürste während der 35 Tage der Studie sich gemittelt hätte. Außerdem zeigte die Auswertung der Probenoberfläche durch die TMR-Untersuchung keine sichtbaren Abrasionen derselben, die durch den Putzvorgang hervorgerufen sein könnte.

Die Fluoridgelapplikation kann per Einbürsten oder Trayapplikation erfolgen. Bei Radiatiopatienten wird die Trayapplikation empfohlen [Kielbassa 2004; Ripa 1989], deshalb wurde auch in der vorliegenden Studie das Fluoridgel nur aufgetragen und nicht eingebürstet. Die Applikation sollte nach dem abendlichen Zähneputzen für fünf bis zehn Minuten erfolgen [Jansma et al. 1989]. Damit ist die verwendete Applikationsdauer von zweimal täglich zehn Minuten in dieser Studie doppelt so hoch wie üblicherweise empfohlen. Auch hier wurde die längere Applikationsdauer gewählt um in der kurzen Zeit der Studie Effekte zu beobachten, die *in vivo* erst nach längeren Zeiträumen zu erwarten sind.

Aus toxikologischer Sicht ist die Fluoridkonzentration der modifizierten Saliva natura Lösung mit 1,89 mg F<sup>-</sup> pro Liter unbedenklich. Für Erwachsene wird eine sichere toxische Dosis (CTD = certainly toxic dose) von 32 - 64 mg Fluorid/kg Körpergewicht angegeben [Hellwig et al. 2007]. Somit wären bei einem Erwachsenen von angenommen 60 kg Körpergewicht 1920 - 3840 mg Fluorid notwendig um die CTD zu erreichen. Das würde bedeuten, dass ca. 1000 Liter modifizierter Saliva natura Lösung geschluckt werden müssten. Das ist sehr unwahrscheinlich. Für die Duraphat

Zahnpasta wird laut Beipackzettel dreimal tägliches dreiminütiges Putzen empfohlen. Dazu soll ein zwei Zentimeter langer Strang auf die Zahnbürste aufgebracht werden. Dieser Strang enthält 3 - 5 mg Fluorid. Somit würde täglich mit 9 - 15 mg Fluorid geputzt werden. Selbst wenn der Patient die Zahnpasta komplett schlucken würde, läge dies immer noch unter der CTD. In dieser In-vitro-Studie wurde aber nur zweimal täglich geputzt und somit liegt die aufgenommene Menge Fluorid bei angenommenem Verschlucken bei 6 - 10 mg F<sup>-</sup> und ist somit unbedenklich. Für ProSchmelz Fluorid Gel wird einmal wöchentliches Einbürsten empfohlen. Dabei sollte eine Stranglänge von 2,5 cm, was 0,5 g Gel und somit 6,25 mg Fluorid entspricht, appliziert werden. Somit würde die CTD des Fluorids laut Anwendungsbeschreibung nicht erreicht werden. In dieser In-vitro-Studie jedoch, wurde zweimal täglich ProSchmelz Fluorid Gel aufgetragen. Dementsprechend würde man pro Tag 12,5 mg F<sup>-</sup> bei komplettem Verschlucken aufnehmen. Selbst dieser Wert liegt unter der CTD. Bei Kombination beider Fluoridprodukte würde bei angenommenem Verschlucken eine tägliche Fluoridmenge von 18,5 - 22,5 mg aufgenommen werden. Eine akute Toxizität würde nicht eintreffen. Jedoch kann von einer latenten (chronischen) Toxizität ausgegangen werden, wenn bei der Anwendung beider Fluoridprodukte über Jahre diese komplett verschluckt werden. So wurden erste Anzeichen einer Skelettveränderung schon ab 4 mg F<sup>-</sup>/l Trinkwasser festgestellt. Skelettfluorose als Folge chronischer Fluoridintoxikation konnte in Gebieten mit einem Trinkwasserfluoridgehalt von über 8 mg/l nachgewiesen werden [Hellwig et al. 2007]. Da man aber davon ausgehen kann, dass bei der Anwendung nur geringste Mengen von Fluorid verschluckt werden, ist das Problem der chronischen Fluoridintoxikation hier nicht maßgeblich.

Die Aufbewahrung der Proben während der Versuchsdauer erfolgte in einem Wärmeschrank, der mit 37 °C auf die normale Körpertemperatur eines Menschen eingestellt war. Die Proben wurden nur während der Behandlung entnommen, was zweimal täglich durchschnittlich je 57 Minuten ergab. Der pH-Wert der Lösungen sowie der Zahnpasta/Grundlösungsgemische wurde regelmäßig gemessen und blieb über die Zeit von fünf Wochen stabil.

#### **6.1.4. Messmethode/TMR**

Die Mikroradiografie ermöglicht die Darstellung der Mineralisierungsgrade von Zahnhartgeweben. So können unterschiedliche Mineralverluste innerhalb einer Läsion und die Läsionstiefe von gesundem, demineralisiertem und remineralisiertem Schmelz innerhalb einer Probe quantitativ und qualitativ ermittelt werden [Featherstone et al. 1983]. Die Untersuchung mittels TMR ist nicht destruktiv und erlaubt mehrmalige Messungen einer Probe. Daher stellt sie den Goldstandard in der Kariologie dar [Arends & ten Bosch 1992]. Jedoch entstehen projektionsbedingte Unschärfen an der Oberfläche der Schmelzproben, die in der Auswertung der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen. Somit wurden die Werte für die Demineralisation und den Effektbereich nach zwei und fünf Wochen je um den Fehlerwert im gesunden Schmelzbereich korrigiert [Kielbassa et al. 2005].

#### **6.2. Diskussion der Ergebnisse**

Die vorliegende In-vitro-Studie zeigt, dass Fluoridgel (ProSchmelz) wie auch Zahnpasta (Duraphat) den schädigenden Effekt von Glandosane reduziert. Dieser wurde in vorhergehenden Studien nachgewiesen [Joyston-Bechal & Kidd 1987; Meyer-Lueckel et al. 2002; Smith et al. 2001]. Das modifizierte Saliva natura ( $S_{OKP} = 1,9$ ) allein und in Kombination mit Fluoridgel oder Zahnpasta ergab remineralisierende Effekte nach fünf Wochen. Deshalb kann die erste Hypothese, dass der zusätzliche Gebrauch von Fluoridprodukten zu einer weniger starken Demineralisation führt, wenn die Proben in Glandosane gelagert werden, nicht abgelehnt werden. Die zweite Hypothese, die besagt, dass der zusätzliche Gebrauch von Fluoriden in Kombination mit modifiziertem Saliva natura zu einer verstärkten Remineralisation führt muss hingegen abgelehnt werden.

Speichelersatzmittel für Patienten mit verminderter Speichelproduktion wurden erstmals entwickelt, um die Symptome beim Kauen, Schlucken und Sprechen zu mildern [Atkinson et al. 2005]. In Bezug auf diese Faktoren zeigten Speichelersatzmittel, dass sie in vielen Aspekten Erleichterung bringen, nicht nur bei radiogener Hyposalivation [Nieuw Amerongen & Veerman 2003]. Trotzdem lindern Patienten mit Hyposalivation ihre Beschwerden indem sie Wasser trinken, weil dieses bequem zu beschaffen und billig ist. Aufgrund dessen wurde stilles, fluoridfreies Mineralwasser als

Kontrolle in dieser Studie verwendet. Nach beiden Perioden der Lagerung in Wasser zeigten sich keine Veränderungen bezüglich der Mineralisation, was durch die errechnete Sättigung der wichtigen Kalziumphosphate ( $S_{HA} = 4,9$ ;  $S_{OKP} = 0,8$ ) zu erklären sein könnte [Iijima 2001].

Das kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel Glandosane zeigt eine starke Demineralisation zusätzlich zu der Erosion der Oberfläche. Ähnliche Effekte auf Schmelz konnten schon früher beobachtet werden [Joyston-Bechal & Kidd 1987; Meyer-Lueckel et al. 2002]. Dies kann durch den niedrigen pH-Wert erklärt werden. Die unspezifische Menge an titrierbaren Säuren (Sorbinsäure, Salzsäure) kann zu einer geringen Sättigung bezüglich Hydroxylapatit ( $S_{HA} = 1,0$ ) geführt haben (Tab. VI). Im Gegensatz dazu remineralisierte das modifizierte Saliva natura die Proben. Dies kann durch die Übersättigung bezüglich HA, OKP und DKPD erklärt werden [Tschoppe et al. 2009b].

Zwei unterschiedliche fluoridenthaltende Produkte wurden in dieser Studie verwendet: Ein Fluoridgeel ( $12\,500\ \mu\text{g F}^-/\text{g}$ ) und eine hochkonzentrierte Fluoridzahnpaste ( $5\,000\ \mu\text{g F}^-/\text{g}$ ). Alle Fluoridbehandlungen verhinderten eine weitere Demineralisation der Proben, die in Glandosane gelagert wurden. Aufgrund dieser Fluoridbehandlungen konnte sich möglicherweise eine Kalziumfluoriddeckschicht auf der Oberfläche der Proben entwickeln [Christoffersen et al. 1988; Ogaard 2001], welche sich wahrscheinlich über die Zeit durch Glandosane aufgelöst hat. Der Kontakt der Proben mit neutralem Mineralwasser ( $S_{HA} = 4,9$ ;  $S_{OKP} = 0,8$ ;  $S_{DKPD} = 0,2$ ) beeinflusste die oben erwähnte Deckschicht nicht. Sie blieb über die Zeit erhalten. Folglich remineralisierten frei verfügbare Fluoride der Deckschicht die Proben [Ogaard 2001], wodurch es zu einer stärkeren Remineralisation im Vergleich zur alleinigen Lagerung in Mineralwasser kommen konnte. Somit konnte der alleinige Gebrauch von Wasser durch die Verwendung von Fluoridgeel und/oder Zahnpaste verbessert werden.

ProSchmelz Fluorid Gel, welches erhebliche Mengen von Phosphat enthält [Meyer-Lueckel & Tschoppe 2010], zeigte statistisch signifikante remineralisierende Effekte in Kombination mit SN und W, ohne eine Erosion zu erzeugen. Ähnliche Ergebnisse konnten in vorhergegangenen Studien beobachtet werden, in welchen sogar saure Fluoridgele einer Erosion vorbeugen konnten [Lagerweij et al. 2006]. Ein möglicher Grund könnte der pH-Wert von ProSchmelz sein ( $\text{pH} = 6,03$ ), der weit über dem kritischen pH-Wert von 5,5 für die Demineralisation von Schmelz liegt

[Featherstone 2004]. Die erhöhte Phosphatkonzentration könnte ebenso den Mineralisationsprozess beeinflusst haben. Wenn Phosphat während der Bildung der Kalziumfluoriddeckschicht anwesend ist, wird dieses vermehrt in das Kristallgitter eingebaut. Von diesem „phosphat-haltigem-Kalziumfluorid“ wird angenommen, dass es löslicher ist als reines Kalziumfluorid [Christoffersen et al. 1988] und es somit zu einer verstärkten Umwandlung der Deckschicht zu Fluorapatit kommt [Chander et al. 1982]. Aus diesem Grund konnte bei dem Gebrauch von PS in Kombination mit W oder SN die Remineralisation der tieferen Anteile der Läsion und der Oberfläche beobachtet werden.

Die Applikation von Duraphat Zahnpasta ergab remineralisierende Effekte in Kombination mit SN oder W. Dieser Effekt kann für beide Lösungen mit der Bildung einer kalziumfluoridähnlichen Deckschicht auf der Oberfläche der Proben erklärt werden. Das Putzen mit dem Slurry könnte eine geringe Abrasion der äußersten Oberfläche bewirkt haben, wodurch dieses mit Kalzium angereichert wurde. Aufgrund der beim Gebrauch von Duraphat höheren Fluoridkonzentration, verglichen mit der alleinigen Lagerung in W oder SN, wurde die Bildung der kalziumfluoridähnlichen Deckschicht wahrscheinlich verstärkt [Christoffersen et al. 1988; Cruz et al. 1992; Ogaard 2001]. Somit wurde ein remineralisierender Effekt beim Gebrauch von Duraphat in Kombination mit W hervorgerufen. Hingegen wurden die relativ starken remineralisierenden Effekte, die beim Gebrauch von SN allein beobachtet werden konnten, nicht noch zusätzlich verstärkt.

SN wurde durch die Zugaben von Fluorid, Kalzium und Phosphat derart modifiziert, dass eine übersättigte Lösung bezüglich relevanter Kalziumphosphate und Kalziumfluorid entstand [Tschoppe et al. 2009b]. Ausgehend davon, dass SN  $2 \mu\text{g F}^-/\text{g}$  enthält, ist es nicht überraschend, dass ein Präzipitat in der modifizierten SN-Lösung beobachtet wurde. Wahrscheinlich war dieser Niederschlag fluoridsubstituiertes Apatit, aber auch andere Phasen sind möglich (z. B. DKPD), wodurch das Potenzial zur Remineralisation des modifizierten SN geringfügig abnahm. Bei der Herstellung des Slurrys durch das Zufügen von Fluorid in der hochkonzentrierten Fluoridzahnpasta zu SN wurde der Sättigungsgrad noch erhöht. Hierdurch sollten sich bevorzugt Kalziumfluoridpräzipitate des Slurrys (Duraphat wurde mit SN gemischt) gebildet haben [Larsen & Jensen 1994]. Diese Präzipitate führten zusammen mit der oben erwähnten kalziumfluoridähnlichen Deckschicht zu einer Blockierung der Probenoberfläche. Dies verhinderte somit den Ionentransport in tiefere Anteile der Läsion. Dementsprechend

konnte die durch SN alleinig hervorgerufene Remineralisation nicht durch den Gebrauch von Duraphat Zahnpasta verstärkt werden. Die Kombination von SN-D+PS ergab keine signifikante Remineralisation. Höchstwahrscheinlich wurde die Kalziumfluoriddeckschicht, die sich nach dem Putzen entwickelte durch die Applikation des Fluoridgels verstärkt. Dies führte zu einer stärker mineralisierten oberflächlichen Schicht, die die Ionendiffusion in tiefere Anteile der Läsion während der folgenden Lagerung in SN blockierte [Preston et al. 2008].

## 7. Schlussfolgerung und klinische Relevanz

Bei Patienten mit Hyposalivation, die durch eine Bestrahlung in Kopf- und Hals-Region verursacht wurde, ist die Compliance mehrere Produkte zur Kariesprophylaxe anzuwenden relativ schlecht [Epstein et al. 1996; Horiot et al. 1983]. Deshalb könnte die alleinige Anwendung eines remineralisierenden Speichersatzmittels für bezahnte Patienten mit Hyposalivation vielversprechend sein, um die Folgen der Bestrahlung (Karies und Hyposalivation) zu minimieren.

Unter Maßgabe der vorliegenden Ergebnisse auf Grundlage eines „Remineralisationsmodells“ scheint ein modifiziertes Speichersatzmittel (Saliva natura), welches bezüglich relevanter Kalziumphosphate übersättigt ist, dieses Potential zu haben. Innerhalb der Grenzen dieser In-vitro-Studie, kann man schlussfolgern, dass der Gebrauch von Fluoridprodukten, sei es Fluoridgelee oder hochkonzentrierte Fluoridzahnpaste, die demineralisierenden Effekte von Glandosane reduziert, aber nicht die remineralisierenden Effekte eines remineralisierenden Speichersatzmittels verstärkt.

Zukünftige klinische Studien sollten die Optimierung der Wirkungsweise eines remineralisierenden Speichersatzmittels untersuchen, damit gegebenenfalls Patienten zusätzliche zeit- und kostenintensive Fluoridierungsmaßnahmen nicht anwenden müssen.

## 8. Zusammenfassung

**Problemstellung:** Die Hyposalivation ist oftmals assoziiert mit einer hohen Kariesaktivität, insbesondere bei Patienten, die im Kopf-Hals-Bereich bestrahlt werden. Neben dem Gebrauch von Speichelersatzmitteln zur Verbesserung der Symptome ist die tägliche Anwendung von Fluoridgel oder -zahnpaste (5000  $\mu\text{g F}^-/\text{g}$ ) zur Kariesprävention zu empfehlen. **Zielsetzung:** Das Ziel dieser Studie war es, potenziell remineralisierende Effekte dieser Fluoridprodukte in Kombination mit de-/remineralisierenden Speichelersatzmitteln auf Schmelzläsionen zu untersuchen. **Material & Methoden:** Demineralisierte bovine Proben wurden in Mineralwasser [Kontrolle, W; Oktakalziumphosphatsättigung ( $S_{\text{OKP}}$ ): 0,8], einem demineralisierenden Speichelersatzmittel [Glandosane, G;  $S_{\text{OKP}}$ : 0,3] oder in einem modifizierten (bezüglich  $S_{\text{OKP}}$ ) Speichelersatzmittel [Saliva natura, SN;  $S_{\text{OKP}}$ : 1,9] für fünf Wochen gelagert (37°C). Die folgende Behandlung wurde zweimal täglich durchgeführt ( $n = 11 - 13/\text{Gruppe}$ ): keine Behandlung (0), ProSchmelz Fluorid Gel (PS; Applikation für 10 min), Duraphat Zahnpasta (D; 10 sek putzen mit Zahnpasta/Lagerungslösungsslurry), Kombination von D+PS. Mineralverlustveränderungen aufgrund der Lagerung wurden mittels Mikroradiografie ausgewertet. **Ergebnisse:** Die Lagerung in G führte zu einer signifikanten Demineralisation ( $p < 0,05$ ; gepaarter t-Test), wohingegen die zusätzliche Anwendung der Fluoridprodukte die demineralisierenden Effekte neutralisierte ( $p > 0,05$ ). Die alleinige Lagerung in W ergab keine Veränderungen der Mineralwerte ( $p > 0,05$ ), wohingegen in Kombination mit Fluoriden eine Remineralisation eintrat ( $p < 0,05$ ). Für die alleinige Verwendung von SN konnte eine Remineralisation beobachtet werden ( $p < 0,05$ ), aber die Fluoridprodukte konnten die Remineralisation nicht zusätzlich fördern. **Schlussfolgerungen:** Unter den gegebenen Studienbedingungen reduzieren die Fluoridprodukte die Demineralisation von Glandosane und fördern die Remineralisation der in Wasser gelagerten Proben. Remineralisierende Effekte von Saliva natura konnten nicht durch die Fluoride gesteigert werden.

**Schlagwörter:** Schmelz, Oberflächenläsion, Demineralisation, Remineralisation, Mikroradiografie, Fluoridgel, Zahnpasta, Oktakalziumphosphat, Speichelersatzmittel



## 9. Abstract

**Statement of problem:** Hyposalivation is often associated with high caries activity in particular in patients undergoing irradiation in the head/neck area. Besides the use of saliva substitutes to relieve the oral symptoms, daily application of fluoride gels or toothpaste (5000  $\mu\text{g F}^-/\text{g}$ ) is recommended for caries prevention. **Objectives:** The aim of this study was to evaluate potentially remineralising effects of these fluoride agents in combination with saliva substitutes on enamel subsurface lesions. **Materials & methods:** Demineralised bovine specimens were either stored in mineral water [control, W; saturation with respect to octacalcium phosphate ( $S_{\text{OCP}}$ ): 0.8], a demineralising saliva substitute [Glandosane (G);  $S_{\text{OCP}}$ : 0.3], or in a modified (with respect to  $S_{\text{OCP}}$ ) saliva substitute [Saliva natura (SN);  $S_{\text{OCP}}$ : 1.9] for five weeks (37 °C). The following treatments were applied twice daily (11-13/group): no treatment (0), ProSchmelz fluoride gel (PS; 10 min application), Duraphat toothpaste (D; 10 s; brushing with toothpaste/storage solution slurry), combination of D+PS. Mineral parameters before/after storage were evaluated from microradiographs. **Results:** Storage in G led to significant demineralisation ( $p < 0.05$ ; paired t test), whereas additional use of the fluoride agents neutralised the demineralising effect ( $p > 0.05$ ). Storage in W alone resulted in no changes in mineral parameters ( $p > 0.05$ ), whereas in combination with fluorides remineralisation could be shown ( $p < 0.05$ ). For SN alone, remineralisation was observed ( $p < 0.05$ ), but no additional beneficial effects of fluorides were detected. **Conclusions:** Under the conditions chosen the fluoride agents reduce the demineralising effects of Glandosane and promote the remineralisation of specimens stored in water. Remineralising effects of Saliva natura could not be enhanced by the fluorides.

**Keywords:** enamel, subsurface lesion, demineralisation, remineralisation, microradiography, fluoride gel, toothpaste, octacalciumphosphat, saliva substitute

## 10. Literaturverzeichnis

- Arends J, Jongebloed WL. Crystallites dimensions of enamel. *J Biol Buccale* 1978;6:161-171.
- Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 1992;71 Spec No:924-928.
- Atkinson JC, Grisius M, Massey W. Salivary hypofunction and xerostomia: diagnosis and treatment. *Dent Clin North Am* 2005;49:309-326.
- Bizhang M, Chun YH, Winterfeld MT, Altenburger MJ, Raab WH, Zimmer S. Effect of a 5000 ppm fluoride toothpaste and a 250 ppm fluoride mouth rinse on the demineralisation of dentin surfaces. *BMC Res Notes* 2009;2:147.
- Boskey AL. Overview of cellular elements and macromolecules implicated in the initiation of mineralization. In Butler WT (ed). *The Chemistry and Biology of Mineralized Tissues*. Ebsco Media, Birmingham 1985, 335-343.
- Braden M. Heat Conduction in Normal Human Teeth. *Arch Oral Biol* 1964;9:479-486.
- Brown LR, Dreizen S, Handler S, Johnston DA. Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. *J Dent Res* 1975;54:740-750.
- Brown WE, Smith JP, Lehr JR, Frazier AW. Octacalciumphosphate and Hydroxyapatite. *Nature* 1962;196:1048-1054.
- Brudevold F, Gron P, McCann H. Physico-Chemical Aspects of the Enamel-Saliva System. *Adv Fluorine Res* 1965;21:63-78.
- Buskes JAKM, Christofferson J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with application. *Caries Res* 1985;19:490-496.
- Chander S, Chiao CC, Fuerstenau DW. Transformation of calcium fluoride for caries prevention. *J Dent Res* 1982;61:403-407.
- Chow LC. Solubility of calcium phosphates. In. Octacalcium phosphate. *Monographs in oral science*. Karger, Basel 2001, 94-111.
- Christersson CE, Lindh L, Arnebrant T. Film-forming properties and viscosities of saliva substitutes and human whole saliva. *Eur J Oral Sci* 2000;108:418-425.
- Christoffersen J, Christoffersen MR, Kibalczyk W, Perdok WG. Kinetics of dissolution and growth of calcium fluoride and effects of phosphate. *Acta Odontol Scand* 1988;46:325-336.
- Combe EC. *Zahnärztliche Werkstoffe, Zusammensetzung, Verarbeitung, Anwendung*. Hanser, München 1984.

- Cruz R, Ogaard B, Rolla G. Uptake of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in sound human enamel after topical application of a fluoride varnish (Duraphat) or a neutral 2% NaF solution in vitro. *Scand J Dent Res* 1992;100:154-158.
- Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. *J Dent Res* 1987;66:648-653.
- Deetjen P, Speckmann E. *Physiologie*. Urban&Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore 1996.
- Dreizen S, Brown LR, Handler S, Levy BM. Radiation-induced xerostomia in cancer patients. Effect on salivary and serum electrolytes. *Cancer* 1976;38:273-278.
- Eanes ED. The interaction of supersaturated calcium phosphate solutions with apatitic substrates. *Calcif Tissue Res* 1975;20:75-89.
- Eanes ED. Dynamic aspects of apatite phases of mineralized tissues. Model studies. In Butler WT (ed). *The Chemistry and Biology of Mineralized Tissues*. Ebsco Media, Birmingham 1985, 213-220.
- Epstein JB, van der Meij EH, Lunn R, Stevenson-Moore P. Effects of compliance with fluoride gel application on caries and caries risk in patients after radiation therapy for head and neck cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;82:268-275.
- Esser M, Tinschert J, Marx R. Materialkennwert der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1998;53:7.
- Falbe J, Regitz M (eds). *Chemie*. Thieme, Stuttgart 1999.
- Featherstone JD. The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004;83 Spec No C:C39-42.
- Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981;15:109-114.
- Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 1983;17:385-391.
- Fischer C, Lussi A, Hotz P. Kariostatische Wirkungsmechanismen der Fluoride. Eine Übersicht. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1995;105:311-317.
- Fox PC, Atkinson JC, Macynski AA, Wolff A, Kung DS, Valdez IH, Jackson W, Delapenha RA, Shiroky J, Baum BJ. Pilocarpine treatment of salivary gland hypofunction and dry mouth (xerostomia). *Arch Intern Med* 1991;151:1149-1152.
- Frost PM, Gardner RM, Price AR, Sinclair GF. A preliminary assessment of intra-oral lubricating systems for dry mouth patients. *Gerodontology* 1997;14:54-58.

- Gente M, Sondermann U, Lehmann KM. Linearer thermischer Ausdehnungskoeffizient von Rinderschmelz und Rinderdentin. *Dtsch Zahnärztl Z* 1985;40:488-490.
- Gülzow HJ, Hellwig E, Hetzer G. Leitlinie "Fluoridierungsmaßnahmen". ZZQ, Köln 2006.
- Haller B, Hofmann N, Klaiber B, Bloching U. Effect of storage media on microleakage of five dentin bonding agents. *Dent Mater* 1993;9:191-197.
- Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 2003;37:339-344.
- Hellwig E, Attin T, Metke W. Beeinflusst eine Fluoridlackapplikation die De- und Remineralisation von kariösen Initialläsionen in vitro? *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1993;103:150-155.
- Hellwig E, Klimek J. Fluoridverlust aus demineralisiertem Schmelz nach Applikation verschieden konzentrierter NaF- und Na-MFP-Lösungen im künstlichen Mund. *Dtsch Zahnärztl Z* 1984;39:892-898.
- Hellwig E, Klimek J, Attin R. Einführung in die Zahnerhaltung. Urban & Fischer, München 2007.
- Henkin RI, Talal N, Larson AL, Mattern CF. Abnormalities of taste and smell in Sjogren's syndrome. *Ann Intern Med* 1972;76:375-383.
- Horiot JC, Schraub S, Bone MC, Bain Y, Ramadier J, Chaplain G, Nabid N, Thevenot B, Bransfield D. Dental preservation in patients irradiated for head and neck tumours: A 10-year experience with topical fluoride and a randomized trial between two fluoridation methods. *Radiother Oncol* 1983;1:77-82.
- Iijima M. Formation of octacalcium phosphate in vitro. In Chow LC, Eanes ED (eds). Octacalcium phosphate. Monographs in oral science. Karger, Basel 2001: vol 18, 17-49.
- Imfeld T. Oligosialie und Xerostomie II: Diagnose, Prophylaxe und Behandlung. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984;94:1083-1096.
- Jansma J, Vissink A, Gravenmade EJ, Visch LL, Fidler V, Retief DH. In vivo study on the prevention of postradiation caries. *Caries Res* 1989;23:172-178.
- Joyston-Bechal S, Kidd EA. The effect of three commercially available saliva substitutes on enamel in vitro. *Br Dent J* 1987;163:187-190.
- Kielbassa AM. Strahlentherapie im Kopf-Halsbereich. Schlütersche, Hannover 2004.
- Kielbassa AM, Hinkelbein W, Hellwig E, Meyer-Lueckel H. Radiation-related damage to dentition. *Lancet Oncol* 2006;7:326-335.

- Kielbassa AM, Oeschger U, Schulte-Monting J, Meyer-Lueckel H. Microradiographic study on the effects of salivary proteins on in vitro demineralization of bovine enamel. *J Oral Rehabil* 2005;32:90-96.
- Kielbassa AM, Shohadai SP. Die Auswirkungen von Speichelersatzmitteln auf die Läsionstiefe von demineralisiertem Schmelz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1999;54:757-763.
- Kielbassa AM, Shohadai SP, Schulte-Monting J. Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel. *Support Care Cancer* 2001;9:40-47.
- Koulourides T, Phantumvanit P, Munksgaard EC, Housch T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. *J Oral Pathol* 1974;3:185-196.
- Lagerlof F, Oliveby A. Caries-protective factors in saliva. *Adv Dent Res* 1994;8:229-238.
- Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM, Attin T. Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. *Caries Res* 2006;40:148-153.
- Larsen MJ, Jensen SJ. Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arch Oral Biol* 1994;39:23-27.
- Larsen MJ, Pearce EI. Saturation of human saliva with respect to calcium salts. *Arch Oral Biol* 2003;48:317-322.
- Le QT, Birdwell S, Terris DJ, Gabalski EC, Varghese A, Fee W, Jr., Goffinet DR. Postoperative irradiation of minor salivary gland malignancies of the head and neck. *Radiother Oncol* 1999;52:165-171.
- LeGeros RZ. Calcium phosphates in oral biology and medicine. In Myers H (ed). *Monogr Oral Sci*. Karger, Basel 1991: vol 15, 1-201.
- Levine MJ, Aguirre A, Hatton MN, Tabak LA. Artificial salivas: present and future. *J Dent Res* 1987;66:693-698.
- Levy SM. An update on fluorides and fluorosis. *J Can Dent Assoc* 2003;69:286-291.
- Lüllmann-Rauch R. *Histologie*. Thieme, Stuttgart 2003.
- Lynch E, Baysan A. Reversal of primary root caries using a dentifrice with a high fluoride content. *Caries Res* 2001;35 Suppl 1:60-64.
- Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CD002278.
- Mason D, Chisholm D. *Salivary glands in health and disease*. Saunders, London 1975.

- Mathew M, Takagi S. Crystal structures of calcium orthophosphates. In Chow LC, Eanes ED (eds). Octacalcium phosphate. Monographs in oral science. Karger, Basel 2001: vol 18, 1-16.
- Mellberg JR. Fluoride dentifrices: current status and prospects. *Int Dent J* 1991;41:9-16.
- Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 1992;71:913-919.
- Mellema J, Holtermann HJ, Waterman HA, Blom C, s'Gravenmade EJ. Rheological aspects of mucin-containing solutions and saliva substitutes. *Biorheology* 1992;29:231-249.
- 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, Schulte-Monting J, Kielbassa AM. The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 2002;8:192-198.
- Meyer-Lueckel H, Tschoppe P. Effect of fluoride gels and mouthrinses in combination with saliva substitutes on demineralised bovine enamel in vitro. *J Dent* 2010;38:641-647.
- Moriwaki Y, Kani T, Kozatani T, Tsutsumi S, Shimode N, Yamaga R. The cristallinity change of bovine enamel during maturation. *Jpn J Dent Mat* 1968;9:78-85.
- Mossman KL, Henkin RI. Radiation-induced changes in taste acuity in cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1978;4:663-670.
- Nancollas GH, Tomazic B. Growth of calcium phosphate on hydroxyapatite crystals. Effect of supersaturation and ionic medium. *J Phys Chem* 1974;78:2218-2225.
- Niedermeier W, Matthaeus C, Meyer C, Staar S, Muller RP, Schulze HJ. Radiation-induced hyposalivation and its treatment with oral pilocarpine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;86:541-549.
- Nieuw Amerongen AV, Veerman EC. Current therapies for xerostomia and salivary gland hypofunction associated with cancer therapies. *Support Care Cancer* 2003;11:226-231.
- Ogaard B. CaF<sub>2</sub> formation: Cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res* 2001;35:40-44.
- Pioch T. Veränderungen der Zahnhartsubstanzen. In Kielbassa AM (ed). *Strahlentherapie im Kopf- und Halsbereich*. Schlütersche, Hannover 2004, 71-79.

- Preston KP, Smith PW, Higham SM. The influence of varying fluoride concentrations on in vitro remineralisation of artificial dentinal lesions with differing lesion morphologies. *Arch Oral Biol* 2008;53:20-26.
- Pulido MT, Wefel JS, Hernandez MM, Denehy GE, Guzman-Armstrong S, Chalmers JM, Qian F. The inhibitory effect of MI paste, fluoride and a combination of both on the progression of artificial caries-like lesions in enamel. *Oper Dent* 2008;33:550-555.
- Rauch S. Die Speicheldrüsen des Menschen. Anatomie, Physiologie und klinische Pathologie. Thieme, Stuttgart 1959.
- Remick R, Blasberg B, Patterson B, Carmichael R, Miles J. Clinical aspects of xerostomia. *J Clin Psychiatry* 1983;44:63-65.
- Rhodus NL, Schuh MJ. Effects of pilocarpine on salivary flow in patients with Sjogren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991;72:545-549.
- Ripa LW. Review of the anticaries effectiveness of professionally applied and self-applied topical fluoride gels. *J Public Health Dent* 1989;49:297-309.
- Rolla G. On the role of calcium fluoride in the cariostatic mechanism of fluoride. *Acta Odontol Scand* 1988;46:341-345.
- Roulet JF. Werkstoffkundliche Parameter und ihre Auswirkungen auf die Klinik. *Dtsch Zahnärztl Z* 1988;43:887-892.
- Rubin RL, Doku HC. Therapeutic radiology--the modalities and their effects on oral tissues. *J Am Dent Assoc* 1976;92:731-739.
- Schirrmeister JF, Gebrande JP, Altenburger MJ, Monting JS, Hellwig E. Effect of dentifrice containing 5000 ppm fluoride on non-cavitated fissure carious lesions in vivo after 2 weeks. *Am J Dent* 2007;20:212-216.
- Schroeder HE. Orale Strukturbiologie. Thieme, Stuttgart -New York 1992.
- Schultze-Mosgau S. Speicheldrüsenerkrankungen. In Reichart P, Hausamen J, Becker J, Neukam F, Schliephake H, Schmelzeisen R (eds). Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin 2002, 299-334.
- Schumacher GH, Schmitt H. Anatomie und Biochemie der Zähne. Fischer, Berlin 1976.
- Shellis RP. A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. *Comput Appl Biol Sci* 1988;4:373-379.
- Smith G, Smith AJ, Shaw L, Shaw MJ. Artificial saliva substitutes and mineral dissolution. *J Oral Rehabil* 2001;28:728-731.
- Sreebny LM. Recognition and treatment of salivary induced conditions. *Int Dent J* 1989;39:197-204.

- Sreebny LM, Schwartz SS. A reference guide to drugs and dry mouth. *Gerodontology* 1986;5:75-99.
- Sreebny LM, Schwartz SS. A reference guide to drugs and dry mouth--2nd edition. *Gerodontology* 1997;14:33-47.
- Stephen KW. Dentifrices: recent clinical findings and implications for use. *Int Dent J* 1993;43:549-553.
- Sweeney MP, Bagg J, Baxter WP, Aitchison TC. Clinical trial of a mucin-containing oral spray for treatment of xerostomia in hospice patients. *Palliat Med* 1997;11:225-232.
- Tavss EA, Mellberg JR, Joziak M, Gambogi RJ, Fisher SW. Relationship between dentifrice fluoride concentration and clinical caries reduction. *Am J Dent* 2003;16:369-374.
- ten Cate JM, Buijs MJ, Miller CC, Exterkate RA. Elevated fluoride products enhance remineralization of advanced enamel lesions. *J Dent Res* 2008;87:943-947.
- ten Cate JM, Jongebloed WL, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. IV. Influence of fluorides and diphosphonates on short- and long-term remineralization. *Caries Res* 1981;15:60-69.
- Tschoppe P, Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H. Evaluation of the mineralizing capacities of a saliva substitute modified with respect to the degree of saturation of calcium phosphates in vitro. *Arch Oral Biol* 2009a.
- 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-rhinotologie* 2009b;88:717-722.
- Tschoppe P, Meyer-Lueckel H, Toll R, Kielbassa AM. [In vitro analysis of an new saliva substitute (Saliva natura) on enamel and dentin]. *Laryngo-Rhino-Otol* 2007;86:723-727.
- Tschoppe P, Zandim DL, Sampaio JE, Kielbassa AM. Saliva substitute in combination with high-concentrated fluoride toothpaste: effects on demineralised dentin in vitro. *J Dent* 2010;38:207-213.
- Twetman S, Axelsson S, Dahlgren H, Holm AK, Kallestal C, Lagerlof F, Lingstrom P, Mejare I, Nordenram G, Norlund A, Petersson LG, Soder B. Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: a systematic review. *Acta Odontol Scand* 2003;61:347-355.
- Van der Reijden WA, Vissink A, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV. Treatment of oral dryness related complaints (xerostomia) in Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 1999;58:465-474.



- Vissink A, 's-Gravenmade EJ, Panders AK, Vermey A. Treatment of hyposalivation. *Ear Nose Throat J* 1988;67:179-185.
- Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, Jansma J, Coppes RP. Prevention and treatment of the consequences of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14:213-225.
- Vissink A, Huisman MC, s'Gravenmade EJ. Construction of an artificial saliva reservoir in an existing maxillary denture. *J Prosthet Dent* 1986;56:70-74.
- Vissink A, Waterman HA, s'Gravenmade EJ, Panders AK, Vermey A. Rheological properties of saliva substitutes containing mucin, carboxymethylcellulose or polyethylenoxide. *J Oral Pathol* 1984;13:22-28.
- Wei SH, Yiu CK. Evaluation of the use of topical fluoride gel. *Caries Research* 1993;27:29-34.
- Wolpert E, Jung F, Middelhoff HD, Piegler T. Zur Behandlung medikamentös bedingter Mundtrockenheit bei psychiatrischen Patienten - Eine kontrollierte Vergleichsstudie. *Fortschritte der Neurologie, Psychiatrie und ihrer Grenzgebiete* 1980;48:224-233.

## 11. Anhang

### 11.1. Abkürzungsverzeichnis

$\mu\text{m}$	Mikrometer
AKP	Amorphes Kalziumphosphat
bzgl.	Bezüglich
bzw.	Beziehungsweise
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Kalziumchlorid-Dihydrat
$\text{CaF}_2$	Kalziumfluorid
$\text{CH}_3\text{COOH}$	Essigsäure
CMC	Carboxymethylcellulose
CTD	certainly toxic dose
D	Duraphat Zahnpasta
DKPD	Dikalziumphosphatdihydrat
FA	Fluorapatit
G	Glandosane
Gew. %	Gewichtsprozent
Gl.	Glandula
$\text{H}^+$	Protonen
HA	Hydroxylapatit
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Dikaliumhydrogenphosphat
KOH	Kaliumhydroxid
kV	Kilovolt
LT	Läsionstiefe
M	Molare Masse
mA	Milliampere
MHDP	Methylendiphosphonsäure
mM	Millimolar
MW	Mittelwert
NaF	Natriumfluorid

---

OKP	Oktakalziumphosphat
p	Signifikanz
PS	ProSchmelz Fluorid Gel
S	Sättigungsgrad
Stabw.	Standardabweichung
SN	Saliva natura
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
Tab.	Tabelle
TMR	Transversale Mikroradiografie
Vol. %	Volumenprozent
W	Wasser
z. B.	zum Beispiel
$\Delta$ LT	Veränderung der Läsionstiefe
$\Delta$ Z	Mineralisationsverlust
$\Delta\Delta$ Z	Veränderung des Mineralisationsverlustes

**11.2. Liste der verwendeten Materialien**

- Mat. 1 Aqua dest.; „Ampuwa<sup>®</sup>“ Spüllösung, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
- Mat. 2 Bandsäge Exakt 300 CL; EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 3 Bügel-Messschraube Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan
- Mat. 4 CCD-Videokamera Modul XC 77 CE ; Sony, Tokyo, Japan
- Mat. 5 Duraphat Zahnpasta; Colgate-Palmolive, Hamburg, Deutschland
- Mat. 6 Durchlichtmikroskop Axioskop 2; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat. 7 Einmalskalpell steril; Martin, Tuttlingen, Deutschland
- Mat. 8 EXAKT Mikroschleifsystem 400 CS; EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 9 Feinstruktur-Feinfokus-Röntgenröhre (FF), Type: PW 2213/20; Panalytical, Kassel, Deutschland
- Mat. 10 Glandosane; cell pharm, Hannover, Deutschland
- Mat. 11 Kaliumhydroxid 10 M; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 12 Kunststoff Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland
- Mat. 13 Leukofix, 1,25 cm × 5 m; BSN medical, Hamburg, Deutschland
- Mat. 14 Motion Picture safety film Fuji fine grain positive film 71337; FUJIFILM Corporation, Tokyo, Japan
- Mat. 15 Nagellack Lycra Flex + Silk; Astor, Paris, Frankreich
- Mat. 16 Natriumfluorid 0,1 mM; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
- Mat. 17 Oral B Flexisoft; Braun, Kronberg, Deutschland
- Mat. 18 Oral B Professional Care 7500; Braun, Kronberg, Deutschland
- Mat. 19 pH-Elektrode GE 100 BNC mit pH-Meter GMH 3510; Greisinger, Regenstauf, Deutschland
- Mat. 20 Physiologische Kochsalzlösung, NaCl 0,9 %, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
- Mat. 21 Pipette Falcon, 1 ml; Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, New Jersey, USA

- Mat. 22 Plexiglas-Objektträger, 25 × 75 × 2mm; dia-plus, Oststeinbek, Deutschland
- Mat. 23 Program Transversal Microradiography, TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research, Amsterdam, Niederlande
- Mat. 24 ProSchmelz Fluorid Gel; GlaxoSmithKline, Bühl, Deutschland
- Mat. 25 Pufferlösungen pH 4,0 und pH 7,0; Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
- Mat. 26 Röntgenstrahlengenerator PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande
- Mat. 27 Saliva natura; medac, Hamburg, Deutschland
- Mat. 28 Salzsäure 0,1 M; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 29 Schleifgerät Labo Pol 25; Struers, Ballerup, Dänemark/Willich, Deutschland
- Mat. 30 Schleifpapier (Dünnschliffe), WS flex 18 C, Siliziumcarbid, P 1200 - 4000, Hermes Schleifmittel, Hamburg, Deutschland
- Mat. 31 Schleifpapier, Siliziumcarbid, P 600 - 4000, Buehler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 32 Sekundenkleber; Omnident, Rodgau, Deutschland
- Mat. 33 SPSS-Software, PASW für Windows, Version 18.0; SPSS, München, Deutschland
- Mat. 34 TMR-Probenhalter; Charité Facility Management, Mechanische Werkstätten (Campus Benjamin Franklin), Berlin, Deutschland
- Mat. 35 Volvic naturelle; Danone-Waters, Frankfurt, Deutschland
- Mat. 36 Wärmeschrank; Venticell 404, MMM Medcenter, Planegg, Deutschland
- Mat. 37 Zahnstocher; Wenco, Essen, Deutschland
- Mat. 38 Zentrifugenröhrchen mit Stehrand, 50ml; VWR, Darmstadt, Deutschland

### 11.3. Vergleich zwischen Human- und Rinderzahnschmelz

**Tabelle X:** Chemische, mechanische und physikalische Eigenschaften von Human- und Rinderschmelz [Braden 1964; Combe 1984; Esser et al. 1998; Gente et al. 1985; Roulet 1988; Schumacher & Schmitt 1976]

	Humanschmelz	Rinderschmelz
<b>Kalzium [%]</b>	34,9	31,8
<b>Phosphor [%]</b>	16,8	15,5
<b>Magnesium [%]</b>	0,2	0,4
<b>Vickershärte [HV]</b>	169,3	221,1
<b>Wärmekapazität [J/g×K]</b>	0,8	0,8
<b>Thermischer Ausdehnungskoeffizient [1/K]</b>	11,4	11,2
<b>Dichte [g/cm<sup>3</sup>]</b>	2,2	2,9

#### **11.4. Danksagung**

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. Hendrik Meyer-Lückel, für die Überlassung des Themas.

Herrn Oberarzt Dr. Peter Tschoppe danke ich sehr für seine immer schnellen Antworten auf jegliche Fragen, seine konstruktive Kritik und fachliche Unterstützung.

Bei der Deutschen Krebshilfe bedanke ich mich für die Förderung der durchgeführten Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. Andrej M. Kielbassa bin ich sehr dankbar für die Möglichkeit der Arbeit in den Laboratorien und Nutzung der Geräte der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie.

Außerdem gilt mein Dank Herrn Rainer Toll für die Hilfeleistung bei den experimentellen Versuchen.

Zum Schluss möchte ich meinem Mann und meinen Eltern von ganzem Herzen für die unermüdliche Unterstützung und Geduld danken.

## **11.5. Lebenslauf**

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



### 11.6. Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Anne Aufderheide, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

**Speichelersatzmittel in Kombination mit Fluoridierung und Putzen:  
Auswirkungen auf künstliche Schmelzläsionen *in vitro***

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum: 14. Dezember 2010

---

Unterschrift