

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

DISSERTATION

**In-vitro-Studie eines Speichelersatzmittels (Saliva natura) und
mehrerer Modifikationen auf den Mineralgehalt und die
Läsionstiefe von bovinem Schmelz und Dentin nach Putzen mit
oder Lagerung in fluoridhaltiger Zahnpasta (Duraphat)**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Anke Martina Czarnietzki

aus Essen

Gutachter: 1. Prof. Dr. Andrej M. Kielbassa
2. Prof. Dr. Chr. Splieth
3. Priv.-Doz. Dr. C. Gernhardt

Datum der Promotion: 19.11.2010

Anzeige einer Publikation

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie wurden publiziert:

Tschoppe P^a, Zandim DL^{a,b}, Sampaio JEC^b, Kielbassa AM^a. Saliva substitute in combination with high-concentrated fluoride toothpaste. Effects on demineralised dentin in vitro. J Dent 2010,38: 207-213

^a Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie, CharitéCentrum 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Deutschland

^b Department of Oral Diagnosis and Surgery, São Paulo State University, School of Dentistry at Araraquara, São Paulo, Brasilien

Urs gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	2
	2.1 Bildung und Struktur der Zahnhartsubstanzen	2
	2.1.1 Schmelz.....	2
	2.1.2 Dentin.....	2
	2.1.3 Mineralisationsvorgänge und kinetische Aspekte.....	4
	2.1.4 Bovine Zahnhartsubstanzen.....	5
	2.2 Kariesentstehung und kariesrelevante Vorgänge	5
	2.2.1 Strahlenkaries	7
	2.2.2 Bisherige Präventionsansätze	9
	2.3 Fluoride	10
	2.3.1 Vorkommen	10
	2.3.2 Anwendung als Kariesprophylaxe	10
	2.3.3 Wirkungen auf die Zahnhartsubstanzen.....	10
	2.4 Speichel	13
	2.4.1 Aufbau und Funktion	13
	2.4.2 Speichelsekretionsstörungen	14
	2.4.3 Ursachen und klinische Bedeutung der Hyposalivation.....	15
	2.4.4 Therapiemöglichkeiten	19
	2.5 Speichelersatzmittel	20
	2.5.1 Entwicklungsweg.....	21
	2.5.2 Auswirkungen von Speichelersatzmitteln auf die Zahnhartsubstanzen.....	23
	2.5.3 Einflüsse durch die Verwendung von hinsichtlich Oktakalziumphosphat übersättigten Lösungen und Fluoriden.....	26
	2.6 Wirkung von Putzen und Zahnpasta auf die Zahnhartsubstanzen	28
3	Ziel der Arbeit und Nullhypothese	32
4	Material und Methoden	33
	4.1 Schematische Versuchsdarstellung	33
	4.2 Versuchsvorbereitung	34
	4.2.1 Herstellung und Vorbereitung der Proben.....	34
	4.2.2 Untersuchungsabfolge.....	36
	4.2.3 Demineralisation.....	36

4.2.4	Herstellung und Zusammensetzung der Versuchslösungen	37
4.2.5	Herstellung des Zahnpasta-Slurrys	39
4.3	Versuchsdurchführung	40
4.4	Transversale Mikroradiographie.....	41
4.4.1	Bearbeiten der Proben für die Mikroradiographie.....	41
4.4.2	Herstellung der Mikroradiogramme	43
4.4.3	Auswertung der Mikroradiogramme	44
4.5	Statistische Auswertung	44
5	Ergebnisse.....	45
5.1	Quantitative Auswertung.....	45
5.1.1	Schmelz.....	45
5.1.2	Dentin.....	49
5.2	Qualitative Auswertung	53
5.2.1	Struktureller Aufbau der Schmelz- und Dentinproben	53
6	Diskussion	60
6.1	Diskussion von Material und Methoden.....	60
6.2	Diskussion der Ergebnisse.....	64
6.3	Diskussion des Versuchsdesigns	70
7	Schlussfolgerungen.....	73
8	Zusammenfassung.....	74
9	Abstract.....	75
10	Literaturverzeichnis	76
11	Anhang.....	86
11.1	Abkürzungsverzeichnis	86
11.2	Liste der verwendeten Materialien	88
11.3	Danksagung.....	90
11.4	Lebenslauf.....	91
11.5	Eidesstattliche Erklärung.....	92

1 Einleitung

Die Mundhöhle als Schnittstelle im offenen System Organismus und Umwelt ist ein wichtiger Pfeiler für die Gesundheit des Menschen. Eine eingeschränkte oder ausbleibende Salivation kann das Milieu der Mundhöhle empfindlich stören und alle Regulationsvorgänge in ihren Abläufen ändern. Die Mundtrockenheit (Hyposalivation: objektiv messbar; Xerostomie: subjektiv empfunden) entsteht bei einer Funktionseinschränkung oder Zerstörung des Drüsenparenchyms. Ursachen können eine tumortherapeutische Bestrahlung im Kopf-/Halsbereich, Speicheldrüsenerkrankungen oder Nebenwirkungen von Medikamenten sein (TSCHOPPE *et al.* 2009b). Sie manifestiert sich auch als Begleiterscheinung einer Reihe allgemeinmedizinischer Erkrankungen und des Älterwerdens. Die Hyposalivation reduziert biophysikalisch die antibakterielle Funktion und Säurepufferung der Mundhöhle. Folgen sind eine eingeschränkte Selbstreinigung der Zahnoberflächen, vermehrte Plaqueanreicherung, Weichgewebsschädigungen, gestörte Nahrungsaufnahme sowie Schluckbeschwerden und Schmerzen bei der Mundpflege (BROWN *et al.* 1975, RATH *et al.* 2008). Schmerzen können zur Vernachlässigung der Zahnpflege führen, was zusammen mit Demineralisationsvorgängen in einen sukzessiven und irreversiblen Zerstörungsprozess der gesamten Dentition münden kann (KIELBASSA 2004).

Aus zahnärztlicher Sicht gehen die Anforderungen der Therapie einer Mundtrockenheit über die Wiederherstellung des subjektiven Wohlbefindens hinaus. Die zum Befeuchten der Mundschleimhaut verwendeten Speichelersatzmittel bewiesen *in vitro* ein demineralisierendes Potential (KIELBASSA *et al.* 2000, KIELBASSA *et al.* 2001). Eine präventive Wirkung auf die durch Mundtrockenheit gefährdete Dentition kann zur Zeit nur durch ein breit verankertes Therapiekonzept erreicht werden (KIELBASSA *et al.* 1997d). Um die demineralisierende Wirkung kommerzieller Speichelersatzmittel zu verringern oder sogar einen remineralisierenden Effekt zu erzeugen, wurden experimentelle (Über-)Sättigungen mit Kalzium-Phosphatkomplexen, die bei Remineralisationsvorgängen als Vorstufen von Hydroxylapatit relevant sind, untersucht (MEYER-LUECKEL *et al.* 2006d).

Auf bestrahltem Schmelz konnten *in vitro* demineralisationshemmende Wirkungen von Fluoriden gezeigt und *in vivo* bestätigt werden (TEPEL *et al.* 1992, KIELBASSA 2004). Daher wurde hier ein regelmäßiges Putzen mit fluoridierten Zahncremes als potentiell wirkungsfördernd erachtet (MEYER-LUECKEL *et al.* 2004) und als Ergänzung zum Spülen mit Speichelersatzmitteln mituntersucht.

Ziel der vorliegenden In-vitro-Studie war die Untersuchung des Einflusses mehrerer hinsichtlich Oktakalziumphosphat gesättigter Speichelersatzmittel bei gleichzeitiger Anwendung einer hochfluoridhaltigen Zahnpasta auf die Re- und Demineralisation und die Läsionstiefe demineralisierter boviner Zahnhartsubstanzen.

2 Literaturübersicht

2.1 Bildung und Struktur der Zahnhartsubstanzen

2.1.1 Schmelz

Schmelz ist das am stärksten mineralisierte Gewebe des Körpers. Er besteht zu 97 % aus anorganischen Bestandteilen, vor allem aus Kalzium (Ca), Phosphorsalzen und Karbonat, und zu 3 % aus organischem Material, wie löslichen und unlöslichen Proteinen, geringen Mengen Kohlenhydraten, Lipiden und Wasser (SCHROEDER 1987). Die Zusammensetzung von Schmelz unterscheidet sich von den übrigen festen Zahnbestandteilen Dentin und Wurzelzement und von der Knochensubstanz (Abb. 1; ANGMAR 1970). Zahnschmelz ist der sprödeste und auch härteste Bestandteil (5 in der Mohsschen Härteskala; 260-360 Knoop Härtenummern; Vickers-Härte: 402 kp/mm² bei 25 p Belastung) des menschlichen Körpers (SCHEMEL *et al.* 1984, SCHROEDER 1987).

Im reifen Schmelz sind 75 % des Wassers an Apatitkristallite gebunden und 25 % in der organischen Substanz verfügbar. Die Schmelzprismen, die den kristallinen Anteil des Schmelzes ausmachen, liegen vor allem als Hydroxylapatit (Ca₁₀ [PO₄]₆ [OH]₂) vor, wobei Fluor oder Chlor (in Ionenform) die Hydroxylgruppen ersetzen können (SCHROEDER 1987). Zu den anorganischen Anteilen addieren sich Natrium-, Magnesium-, Chlor- und Kaliumionen. Das Kalzium-Phosphat-Verhältnis beträgt 1:1,65 in Form kleiner Apatitkristallitverbindungen. Gebundene Kalzium-Phosphat (Ca/P)-Verbindungen finden sich zum Beispiel als Oktakalziumphosphat (DOROZHUKIN *et al.* 2002).

Infolge der rhythmisch erfolgenden Embryonalentwicklung ordnen sich die Mineralien zu Schmelzprismen mit unterschiedlicher Verteilung der organischen und der mineralischen Bestandteile an. Es entstehen spezifische Schmelz- und Dentinmuster. In Läsionen von Zahnhartgeweben wird eine zuzuordnende Beziehung zwischen dem anfänglichen Mineralverteilungsprofil und dem resultierenden spezifischen Muster nach einer erfolgten Remineralisation beschrieben. Hierbei spielen auch anwesende Fluoridkonzentrationen eine wesentliche Rolle (KAWASAKI *et al.* 2000) (s. auch 2.3.3).

2.1.2 Dentin

Im Vergleich zu Schmelz ist Dentin weniger dicht mineralisiert und ein vitales Hartgewebe, das funktionell und gemäß seiner ektomesenchymalen Herkunft dem Knochen und der Pulpa nahestehend ist. Dentin setzt sich aus Dentinkanälchen samt periodontoblastischem Raum, den Odontoblasten mit ihren Fortsätzen, dem peritubulären Dentin, dem intertubulären Dentin und dem Manteldentin zusammen

(SCHROEDER 1987). Anzahl und Durchmesser der das gesamte Dentin durchsetzenden Dentinkanälchen verringern sich von der Pulpa zur Schmelz-Dentin-Grenze (HELLWIG *et al.* 1999).

Die chemische Zusammensetzung ist dem Wurzelzement und der Knochensubstanz vergleichbar, deutliche Unterschiede zeigen sich zum Schmelz (Abb. 1; ANGMAR 1970). Der quantitativ größte Teil des Zahnes entfällt auf das Dentin, das somit dessen Morphologie bestimmt. Das die Pulpa umschließende Dentin ist sowohl im Bereich der Zahnkrone als auch im Bereich der Zahnwurzel ausgebildet, dort aber in dünnerer Schichtung. Die Hauptstrukturen sind die Dentinkanälchen und die sich darin befindlichen Odontoblasten. Hinzu kommen die zellfreien Dentinanteile, die zu 70 % anorganischer und zu 20 % organischer Natur sind; der Rest ist Wasser. Der Mineraliengehalt setzt sich in erster Linie aus Kalzium und Phosphorsalzen in Form von Kalziumphosphaten wie Hydroxylapatit und aus geringen Mengen Magnesium und Fluorid zusammen (WALDEYER *et al.* 1986). Die mit einem Anteil von 90 % größte Komponente der organischen Matrix bilden die zugfesten Kollagenfasern Typ I, 10 % entfallen auf die Grund- oder Kittsubstanzen Muko- und Sialoproteine, Chondroitinsulfat, Lipide, Zitrat und Laktat (JONES *et al.* 1974). Die periodisch ablaufende Schichtung des Dentins in der Entwicklungsphase verursacht eine Unregelmäßigkeit des Faserverlaufs, die die Stabilität des Dentins erhöht (WALDEYER *et al.* 1986).

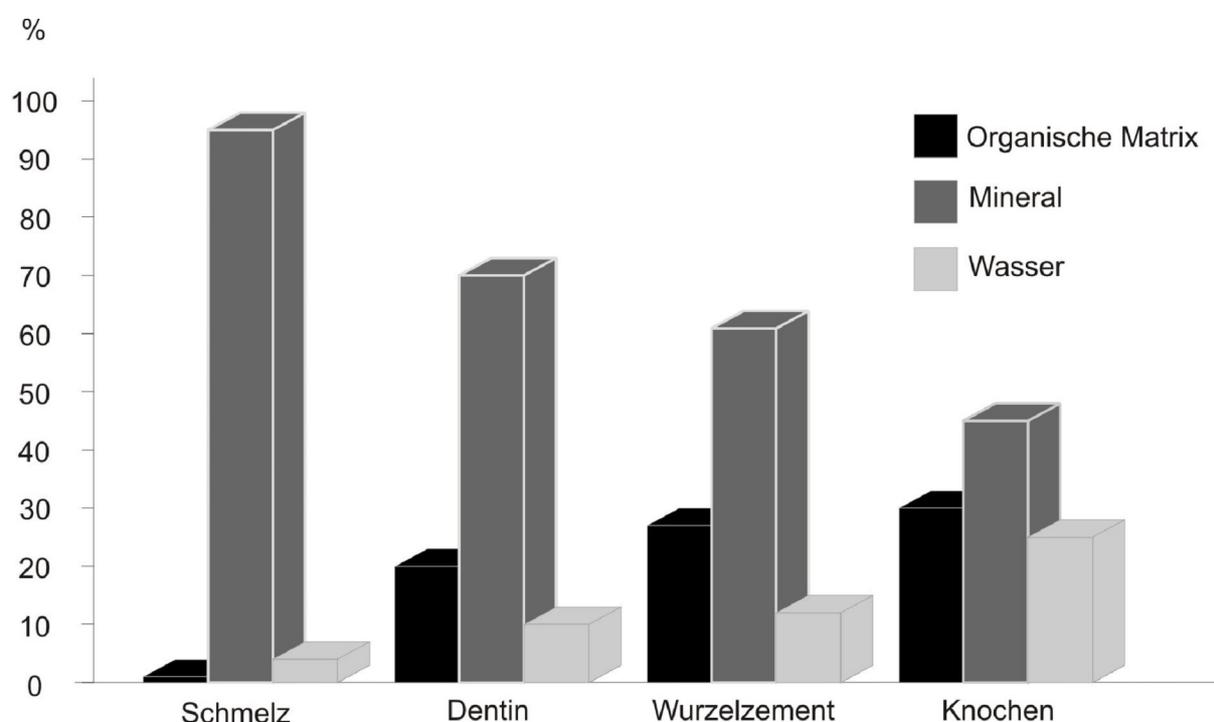


Abb. 1: Prozentuale Gewichtsverteilung der Gewebekomponenten (nach Angmar 1970).

2.1.3 Mineralisationsvorgänge und kinetische Aspekte

Schmelz und Dentin gehen aus komplexen Biomineralisationsvorgängen hervor. Deren Produkte sind verschiedene Kalziumphosphate wie Hydroxylapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ als Hauptbestandteil von Schmelz und Dentin. Kalziumphosphate bilden sich unter physiologischen Temperaturen und pH-Bedingungen und normalem atmosphärischen Druck aus und sind in einem leicht sauren Milieu gut löslich. Dadurch kommt ihnen eine besondere biologische Bedeutung zu, da sie im Organismus einem ständigen Stoffwechsel mit Abbauprozessen und Wiederaufbau unterworfen sind. Bei einer Störung des Ionengleichgewichts zwischen De- und Remineralisation kommt es zu pathologischen Prozessen wie der Karies. Diese ist als Veränderung der Löslichkeit des Hydroxylapatits und abhängig vom Milieu an der Schmelz- und Dentinoberfläche zu verstehen (GÄNGLER *et al.* 2005).

In der Literatur wird das den Schmelz und das Dentin bildende anorganische Mineral zumeist als Hydroxylapatit (HA) bezeichnet, es ist aber eigentlich nur deren Hauptbestandteil. In reiner Form liegt Hydroxylapatit weder im Schmelz noch im Dentin vor, vielmehr handelt es sich um einen Mischkristall aus verschiedenen Kalziumphosphaten oder deren Vorstufen. Diese variieren in ihrem Kalzium/Phosphat (Ca/P)-Verhältnis, ihrer Kristallstruktur und Säurelöslichkeit. Diese nimmt mit der Zunahme des Ca/P-Verhältnisses ab (DOROZHKIN *et al.* 2002). Dikalziumphosphat-Dihydrat (DKPD, Brushit) ist Bestandteil des Zahnsteins und eine intermediäre Phase in der Mineralbildung (LEGEROS 1991), was auch auf Oktakalziumphosphat (OKP) als ein ebenso wichtiges Zwischenprodukt bei der Biomineralisation zutrifft (IJIMA *et al.* 1996). Darüberhinaus wird OKP in wässrigen Lösungen als Katalysator des Remineralisationsvorganges zu dem am wenigsten löslichen HA angesehen (NANCOLLAS *et al.* 1974). Lösungseigenschaften wie Temperatur, pH-Wert, Zusammensetzung und Konzentration der Ionen hemmen oder beschleunigen die Dynamik dieser Umwandlung von OKP zu Apatit (NANCOLLAS *et al.* 1970, FEAGIN *et al.* 1972, MEYER *et al.* 1972).

Da Schmelz einen mineralischen Aufbau aufweist, sind Wechselwirkungen zwischen der Schmelzoberfläche und dem Milieu der Mundhöhle vor allem physikalisch-chemischer Natur (ROBINSON *et al.* 2000). Die Reaktionsmöglichkeiten von Dentin sind komplexer und stellen immer eine Kombination aus chemischen und biologischen Reaktionen des mineralisierten Dentins und der Odontoblasten dar (ARNOLD 2006).

Ausschlaggebend für die Kinetik der De- und Remineralisation war in In-vitro-Studien der Sättigungsgrad mit verschiedenen Kalziumphosphatverbindungen (Chow 2001). Remineralisationen von Schmelz oder Dentin traten ein, wenn wässrige

Lösungen hinsichtlich Apatit übersättigt waren. Hierfür muss die Konzentration der Kalzium- und Phosphationen im Speichel höher sein als die Konzentration, die für eine Sättigung der Lösung bezüglich der Bildung von Hydroxylapatit, Oktakalziumphosphat, Dikalziumphosphatdihydrat oder anderen Formen von unlöslichem Kalziumphosphat nötig ist. In normalem menschlichen Speichel und bei pH-Werten über etwa 6,4 werden diese Anforderungen durch die im Mund anwesenden Mengen von Kalzium und Phosphat erfüllt (LARSEN *et al.* 2003).

2.1.4 Bovine Zahnhartsubstanzen

Die chemische Zusammensetzung der menschlichen Zahnhartgewebe gleicht im Wesentlichen der von Rindern. Trotz der Unterschiede in der zugeführten Nahrung ähneln sich die Mikrostrukturen sowie die mengenmäßigen Anteile der chemischen Hauptbestandteile Kalzium, Phosphat und Magnesium stark (DAVIDSON *et al.* 1973). So ist auch die Läsionsbildung in bovinen Zahnhartsubstanzen *in vitro* den Demineralisationsprozessen im menschlichen Zahnhartgewebe ziemlich ähnlich. Zahlreiche vorangegangene Studien, in denen Rinderzähne verwendet worden sind, arbeiten auf der Grundlage der hohen Ähnlichkeit und guten Vergleichbarkeit (IMFELD 2001, KIELBASSA *et al.* 2005, MARSCHALL 2006, CHATZIDAKIS 2007, TSCHOPPE *et al.* 2008). Die Oberflächen der Rinderzähne sind fast frei von äußeren Einflüssen; es finden zudem keine Fluoridierungsmaßnahmen statt. Der Fluoridgehalt boviner Zähne ist mit 30 ppM im Vergleich zu menschlichem Schmelz mit 280 ppM eher niedrig (BORSBOOM *et al.* 1985). Durch die gute Verfügbarkeit von Rinderzähnen in fast unbegrenzter Zahl kann altersmäßig auf gleiche Populationen zurückgegriffen werden. Alle genannten Voraussetzungen gewährleisten eine uniforme Reaktionsfähigkeit. Abweichungen wie die etwas geringere Härte, leicht größere Kristallite und leicht erhöhte Porosität (ARENDS *et al.* 1979), die zu einer höheren Diffusionsrate und einem schnelleren Voranschreiten kariöser Läsionen bei bovinen Zähnen führen können (AMAECHI *et al.* 1998), werden mittels Planschleifen und Polieren der Oberflächen abgemildert. Diese Bearbeitung führt zu einer Homogenität der Oberfläche und der Mineralzusammensetzung. Insgesamt sind Rinderzähne insbesondere für Untersuchungen von Demineralisationseffekten als Modelle für menschliches Gewebe gut geeignet (ESSER *et al.* 1998).

2.2 Kariesentstehung und kariesrelevante Vorgänge

Karies ist ein multifaktorieller Prozess. Primärer Faktor ist eine Wechselwirkung kariogener Mikroorganismen (Plaque) auf dem Zahn als Wirt mit kariesbegünstigenden niedermolekularen Kohlenhydraten in definierten Zeiträumen. Im weitesten Sinne geht diese Theorie auf die Kariestheorie von Miller aus dem Jahr

1898 zurück. Sekundäre Faktoren sind Speichelfluss, Speichelmenge, pH-Wert und Pufferkapazität des Speichels, Häufigkeit der Substratzufuhr und anatomisch-funktionelle Bedingungen in der Mundhöhle (LEHMANN *et al.* 1993).

Weitere wichtige Einflussfaktoren sind Qualität und Quantität der Nahrung. Die Wirkungsweise der Nahrungsbestandteile ist während der Zahnentwicklung systemisch; nach dem Durchbruch der Zähne kommt ihnen eher ein lokal wirksamer Effekt zu. Ein Bestandteil der Nahrung, der eine besondere Rolle spielt, ist das nachfolgend näher beschriebene Fluorid (HELLWIG *et al.* 1999).

Abwechselnde Phasen von De- und Remineralisation führen bei Überwiegen der Demineralisation an der Oberfläche des Zahnes dazu, dass sich eine initiale Kariesläsion ausbilden kann. Die wesentlichen Einflussgrößen sind dabei die Art und Menge der Plaquebakterien, deren Stoffwechselprodukte und Säureproduktionsraten. Innerhalb definierter Zeiträume werden im Bakterienstoffwechsel nach Substratzufuhr organische Säuren wie Milchsäure, Essigsäure, Propionsäure oder Ameisensäure produziert. Diese Säuren verursachen eine pH-Wert-Absenkung unter die „kritischen Werte“ pH 5,4-5,7 für Schmelz und pH 6,0-6,4 für Wurzeldentin (DISTLER *et al.* 1979, REICH 1995, NOACK *et al.* 1997, KIELBASSA 1997b).

Die Stephan-Kurve beschreibt den Abfall des pH-Wertes in der Plaque nach Glukose-Aufnahme bis zu einem kritischen Wert von pH 5,4. Erst dieser pH-Abfall macht bis zu seinem Wiederanstieg nach 30-60 Minuten einen Mineralverlust aus der Zahnoberfläche möglich. Die ablaufende Demineralisation der Zahnhartsubstanz führt zu einer erst teilweisen, dann vollständigen Auflösung der Apatitkristalle (KLIMEK 1997), wobei freiwerdende Kalzium- und Phosphationen zur Schmelzoberfläche und in die Plaque diffundieren. Durch den Speichel werden die organischen Säuren und somit der pH-Wert zügig neutralisiert, die Plaqueschicht befindet sich in einem Zustand der Übersättigung mit Kalzium und Phosphat, und es findet eine gegenläufige Ionenbewegung zurück in den Schmelz statt. Diese „Ionenwippe“ ist ein dynamischer Prozess des ständigen Wechsels zwischen De- und Remineralisation (SCHROEDER 1987).

Bei Anwesenheit von Fluorid, das bei diesem Prozess als regelrechter Katalysator fungiert, wird stabiles Fluorapatit ausgebildet. Eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung in Form einer Flüssigkeit spielt somit für den Ausgleich des kariogenen Säureabfalls im Mund eine wichtige Rolle (Abb.2; HELLWIG *et al.* 1999), was im Gesunden durch den Speichel mit zwei wichtigen Puffern, dem Phosphat- und dem Bikarbonatpuffer, unterstützt wird (ARENDS *et al.* 1990). Nach einer Vermehrung des „Reizspeichels“ (siehe 2.5.1) folgt eine Abnahme der Nahrungszuckerkonzentration im Mund, der Speichelfluß wird dünner und die Spülfunktion und die Stoffwechselrate der schützenden Proteine und Puffersysteme

erhöhen sich. Mit Abnahme der Speichelmenge erhöhen sich die Viskosität und das alkalische Milieu.

Im Dentin wirken zusätzlich aufgrund der höheren organischen Anteile Proteolysevorgänge an der Kariesentstehung mit. Enzyme wie Protease und Kollagenase zerstören die demineralisierte Kollagenmatrix und können zu ihrem Verlust führen (ARENDS *et al.* 1989, WEFEL *et al.* 1995).

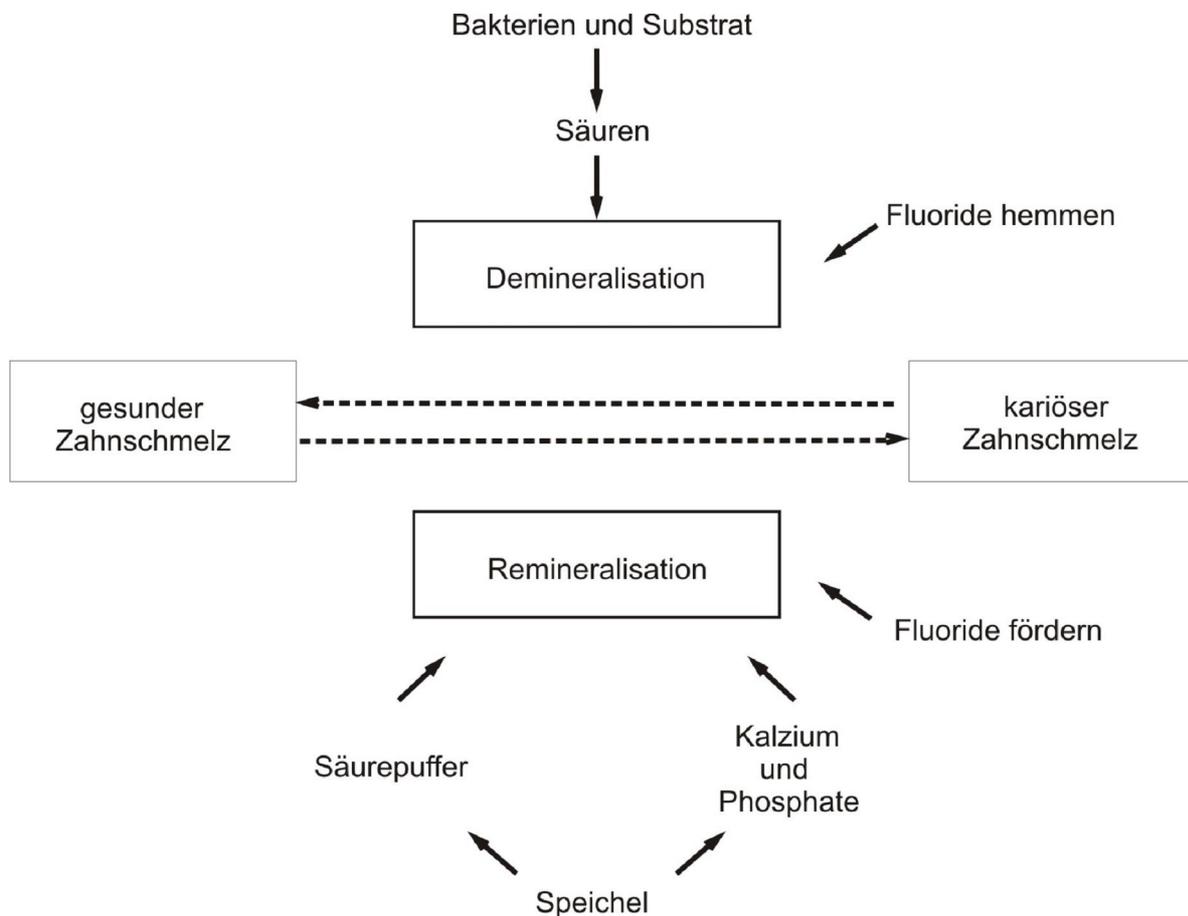


Abb. 2: Schematische Darstellung der wichtigsten ätiologischen Faktoren, die für die Entstehung einer Karies verantwortlich sind. Erst das Zusammenwirken der Hauptfaktoren führt zur Zerstörung der Zahnhartgewebe (HELLWIG *et al.* 1999).

2.2.1 Strahlenkaries

Der Begriff der „Strahlenkaries“ bezeichnet den komplexen Vorgang der Zerstörung der Dentition, der als Komplikation zwei bis drei Monate post radiationem einsetzt. Auch dieser Prozess ist als multifaktoriell einzuordnen und wird als Kombinationsschaden angesehen (WANNENMACHER 1976, KIELBASSA 2004). Als Synonyme werden radiogene Karies, strahleninduzierte Karies, Röntgenkaries oder caries rapida generalisata verwandt.

Diskutiert wird ein direkter Ursachenkomplex, der die radiogen bedingten Veränderungen der Hartsubstanzen selbst beschreibt, in Kombination mit einem indirekten Ursachenkomplex, der die Änderung des Mundhöhlenmilieus aufgrund der radiogenen Hyposalivation erfasst (RUBIN *et al.* 1976, RAHN *et al.* 1989, THIEL 1989, COOPER *et al.* 1995, GRÖTZ *et al.* 1997, KIELBASSA *et al.* 1997a). Beim Letzteren führt die drastisch verminderte Speichelproduktion nach Bestrahlung zum Absinken des pH-Wertes, verminderter Pufferwirkung und vermehrter Plaqueanhaftung. Infolgedessen kann sich eine Karies innerhalb kürzester Zeit ausbreiten. Es kann zur vollständigen Zerstörung der Dentition kommen (IMFELD 1984a, GUCHELAAR *et al.* 1997). Eine direkt verursachte Schädigung der Zahnhartsubstanzen durch die Strahlen wird vermutet, da ein stärkerer Kariesbefall an eben den Zähnen zu verzeichnen ist, die sich im direkten Strahlenfeld befanden (WILLICH *et al.* 1988). In-Vitro-Untersuchungen stützen diese Vermutung, indem sie eine Reduktion der Knoop-Härte humanen und bovinen Dentins nach fraktionierter Bestrahlung mit 60 Gy aufzeigten, was sich mit Veränderungen des Kristallgefüges und vermehrtem Auftreten von Radikalen erklären lassen kann (KIELBASSA *et al.* 1997a, KIELBASSA *et al.* 1997c). Eine andere In-vitro-Untersuchung fand keine Veränderung nach Bestrahlung von humanem Dentin in Bezug auf das Remineralisationsverhalten unter Anwendung verschiedener Fluoridpräparate und konnte keine Hinweise auf den direkten Ursachenkomplex liefern (KLAPPROTH 2003).

Ein Schlüssel zum Verständnis sind die mikrostrukturellen Vorgänge an der Schmelz-Dentin-Grenze. Es wurden signifikante Reduktionen der Scherfestigkeit an der Schmelz-Dentin-Grenze (PIOCH *et al.* 1992) und Kollagenbrüche (FISCHER *et al.* 1971) beschrieben. Fast 90 % des Gesamtproteingehalts von Wurzeldentin entfällt auf Kollagen (KAWASAKI *et al.* 1997), das wiederum ein Drittel der Zugfestigkeit des Dentins ausmacht (KIELBASSA *et al.* 1999a). Als Folge sind im Gegensatz zur konventionellen Karies untypische Schäden in Form von trümmerartigen Frakturen, Abplatzungen, Sprödigkeiten und Opazitäten zu beobachten. Die aufgefundenen Stellen weichen von den bekannten Kariesprädispositionsstellen ab. Zusammenfassend wurden bereits 1936 die Vorgänge als eine strahlenbedingte Denaturierung der organischen Matrix des Schmelzes und des Dentins beschrieben, die eine Auflösung der Mineralbestandteile und des Mineralgerüsts zur Folge haben kann (LÜDIN *et al.* 1936).

Die rasche Progredienz (KIELBASSA 2004) und die für konventionelle Karies untypischen Befallstellen führten zur Bezeichnung als eine eigene Krankheitsentität (GRÖTZ *et al.* 1997). Klinisch werden die spezifischen Läsionsformen in vier Klassen unterteilt: Die kariöse Zerstörung der Zahnhäule mit möglicher Amputation der Krone; braun-schwarze, sich als vestibulär darstellende Verfärbungen vor allem über die Molarenoberflächen; breitflächige Demineralisationen der Glattflächen des Zahnes;

und schnell erfolgendes Wegschmelzen von Schneidekanten und Okklusalfächen mit zunehmender Abrasion (THIEL 1989). Die Glattflächen sind in einer nicht bestrahlten Dentition, sogar relativ unabhängig von der Mundhygiene, normalerweise sehr kariesresistent (BACKER DIRKS 1966). Auch das gehäufte Auftreten lakunärer Defekte an der Schmelz-Dentin-Grenze nahe den kariösen Läsionen führte zu der Annahme einer direkten Strahlenschädigung der Zahnhartsubstanzen, da diese Defekte ohne Radiatio nicht aufzeigbar waren (RAAB *et al.* 1990). Die Karieszunahme bei gesundem Schmelz unterhalb des approximalen Kontaktpunktes ist eher selten und kommt meist im späteren Verlauf vor. Bei älteren Patienten mit durch Rezessionen bereits exponierten Zahnhälsen, auch Dentinoberflächen, verstärkten sich diese Läsionen nach Bestrahlung auffallend schnell (IMFELD *et al.* 1995b).

Zusammenfassend sind die Forschungsergebnisse sehr schwer auf einen Nenner zu bringen. Unterschiede bezüglich direkter Schädigungen der Zahnhartgewebe durch ionisierende Strahlen sind jedoch *in vitro* und *in vivo* zu erkennen: *In vivo* und nach Ganzkörperbestrahlung finden sich direkte Zahngewebsschäden, *in vitro* ist in fast keiner Studie dieser Nachweis gelungen.

2.2.2 Bisherige Präventionsansätze

Aufgrund der komplexen Vorgänge und des rapiden Verlaufs wird die Verankerung einer systematisch betriebenen Individualprophylaxe bereits vor der Radiatio empfohlen. Hierzu gehören die Aufklärung, Instruktion, Übung, Kontrolle und Remotivation der individuell herausgearbeiteten Mundhygieneerfordernisse mit einem strengem Recall, eine Ernährungslenkung und eine abgestimmte Medikation der desinfizierenden, antibakteriellen, mechanisch-funktionellen und kariesprophylaktischen Wirkstoffe (KIELBASSA 2004). Darunter fallen Mundspüllösungen, Chlorhexidinpräparate und hochdosierte Fluoridgele, diese bevorzugt mittels Schienenapplikation (THIEL 1989).

Verschiedene Kombinationen von individuell angepasster Mundpflege, Chlorhexidinpräparaten und hochdosierten Fluoridgelen respektive fluoridhaltigen Mundspüllösungen führten so zu geringeren Anstiegen der Kariesinzidenz. Bei einer Hyposalivation sollten zusätzlich kalzium- und phosphathaltige Lösungen hinzugenommen werden (KATZ 1982, JANSMA *et al.* 1989). Fluorid übte auf bestrahltem Schmelz, dessen Säurelösungsrate gegenüber unbestrahltem Schmelz leicht erhöht ist (PIOCH *et al.* 1991), *in vitro* einen demineralisationshemmenden Effekt aus. Dieser Effekt konnte *in vivo* bei bestrahlten Patienten bestätigt werden (TEPEL *et al.* 1992). In einer klinischen Doppelblindstudie erwies sich eine remineralisierende Fluoridzahnpaste zur Kariesprävention bei Wurzelkaries und Hochrisikopatienten *post radiationem* einer konventionellen Fluoridzahnpaste

gegenüber als überlegen. Die remineralisierende Wirkung gelang durch die Zusätze von Kalzium- und Phosphationen (PAPAS *et al.* 1999).

2.3 Fluoride

2.3.1 Vorkommen

Fluor ist ein reaktionsfreudiges Spurenelement aus der Halogengruppe, das in der Erdkruste vor allem in seiner gebundener Form als Flußspat und Kalziumfluorid (CaF_2) oder als Fluorapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2]$ vorkommt. Die Salze des Fluors, die Fluoride, werden über den Speichel und passiv über den Magen-Darm-Trakt durch Trinkwasser und Nahrung (beispielsweise Meerestiere, Gemüse, grüner Tee) resorbiert (WHITFORD 1990) oder aktiv über Zahncremes, Fluoridlacke, -gele und Mundspülungen (HEINTZE *et al.* 1979, NAYLOR *et al.* 1983).

2.3.2 Anwendung als Kariesprophylaxe

Langzeitstudien, wie die 7-Jahres-Studie von König, zeigten, dass weder Aufklärung, Putzübungen noch Erziehungsmaßnahmen, sondern allein die zusätzliche Gabe von Fluoriden in verschiedener Darreichungsform eine Reduzierung des Kariesbefalls brachte. Auch die über die Nahrung zugeführte Menge an Fluorid erreichte die optimale Dosis von 1 mg/d nicht (KÖNIG 1987). Differenziert und diskutiert wurde in der Literatur ausführlich, in welcher Form, Verabreichungsart, Dosierung und Häufigkeit Fluoride wirksam sind. Die Bedeutung von Fluoriden als Mittel zur Kariesprophylaxe kann nach systematischer Auswertung zahlreicher Studien, in der zusätzlich historische und geographische Aspekte betrachtet wurden, als belegt gelten (ROLLA *et al.* 1991). Eine Auswertung umfangreicher Forschungsdatenbanken der letzten Jahre, die unter anderen auch die Kriterien Anleitung, zweimalig tägliches Putzen und eine Zahnpastafluoridkonzentration von 1500 ppM selektierte, bezeugte einen signifikanten kariespräventiven Effekt (TWETMAN 2009).

2.3.3 Wirkungen auf die Zahnhartsubstanzen

Fluoride lagern sich kristallin in die Hartsubstanzen des Körpers ein. Die Dosis des eingebrachten Fluorids, beziehungsweise seine Konzentration und Einwirkdauer, führen zu protektiven Effekten an den Hartsubstanzen des Körpers oder auch zu übermäßigen oder schädlichen Anreicherungen. Als Kariesprotektion für Erwachsene wird eine Zahnpasta mit mindestens 1000 ppM (0,10-0,15 %) Fluoridkonzentration zweimal pro Tag empfohlen. Für Kinder bis zum Durchbruch des Sechs-Jahres-Molaren gilt die Konzentration 500 ppM oder 0,05 % einmal täglich als unbedenklich, aber bereits wirksam (GÜLZOW *et al.* 2005).

Es werden verschiedene Wirkkomponenten der Fluoride beschrieben:

Fluoride hemmen einige enzymatische Vorgänge in der Plaque. Dadurch wird die Fermenttätigkeit der Mundmikroorganismen und der Plaquestoffwechsel vermindert. Fluoride beeinflussen die Bildung von intrazellulären Polysacchariden, vermindern die Adsorption von Mukoproteinen auf den Zahnoberflächen und damit die Anbindung der Plaque. Für diese Form der therapeutischen Beeinflussung des bakteriellen Plaquestoffwechsels sind jedoch sehr viel höhere Fluoridkonzentrationen als für Remineralisationsvorgänge notwendig und daher aus toxikologischer Sicht nicht zu empfehlen (SCHNEIDER 1992).

Es wird die Bildung von säureresistentem Fluorapatit beobachtet: Schon Spuren des reaktionsfreudigen Fluorids ermöglichen im Schmelz den Umbau von Hydroxylapatit zu dem stabileren Fluorapatit (KÖNIG 1987). Dies führt zu einer Erhöhung der Säureresistenz des Schmelzes. Die Tatsache, dass allein die Touchierung von oberflächlichem Schmelz nicht konsequent zu einer Reduktion der Karies führt, weist auf weitere Faktoren hin. Im Gingivalsulkus präsente Fluoridpräparate mit niedrig dosierten Fluoridionen zeigten, dass deren Anwesenheit eine Initialläsion im Sinne einer Remineralisation positiv beeinflussten (MELLBERG 1992). In einer späteren Studie wurde hochfluoridhaltige Zahnpasta als ideale Form der Protektion empfohlen, da die kontinuierliche und wiederkehrende Anwesenheit von Hochfluorid-Konzentrationen einen signifikant höheren protektiven Effekt erzeugte (MELLBERG 1997). Das konzentrierte und kontinuierliche Vorliegen von Fluoriden in den wässrigen Milieus wie im Gingivalsulkus, um die Zahnoberflächen herum oder im Plaqueliquid respektive Plaquefluid scheint eine entscheidende Rolle bei den Einbauvorgängen zu spielen (MARTENS *et al.* 1998, VOGEL *et al.* 2001).

Unterschieden werden die Inkorporation des Fluorids als fest gebundenes Depot im Schmelz und ergänzend dazu das sogenannte „loosely bound fluoride“, das nur locker in die Schmelzoberfläche gebunden ist und sich in dynamischem Austausch mit dem in der Mundhöhlenflüssigkeit oder der Plaque gelösten Fluorid befindet (AHRENS 1983, ARENDS *et al.* 1990). Bei starker Plaqueanhäufung im oberflächlichen Schmelz kann sich die Kariesrate erhöhen, was auch durch die Steigerung der Fluoridkonzentration nicht begrenzt werden kann (MELLBERG 1992). Eine Erhöhung der Säureresistenz wird nicht durch geringeres Säurelöslichkeitsverhalten von Fluorapatit gegenüber Hydroxylapatit verursacht. Vielmehr werden größere Kristalle mit reduziertem Porenvolumen ausgebildet und der Kohlenstoffgehalt im Schmelz gesenkt. Dies geschieht durch Fluoridionen, die die Hydroxylgruppen bei der Apatitbildung ersetzen (KÖNIG 1987).

Fluoride wirken zudem wie Katalysatoren auf der Schmelzoberfläche, die eine Steigerung der Remineralisationsvorgänge auslösen (TEN CATE 1997). Der Katalysatormechanismus verbessert die Remineralisationsdynamik durch eine positive Wirkung der Fluoride auf die Mineralisationstendenz. Bei einer Übersättigung

mit Phosphat-, Kalzium- und Hydroxylionen bildet sich während der Wiederanstiegsphase des pH-Wertes im ablaufenden Plaquestoffwechsel Apatit. Beim Überschreiten des „kritischen“ pH-Wertes von 5,4 liegen die Hydroxylionen in noch so geringer Konzentration vor, dass sich bereits bei der physiologischen Konzentration von Fluoridionen, die 1000-fach höher ist als die von Hydroxylionen, tendenziell eher Fluorapatit ausbildet (KÖNIG 1987). Steigt die Fluoridkonzentration noch weiter an, so wie bei der Anwendung hochkonzentrierter Fluoride, wirkt sie wie ein Katalysator zur Kristallbildung: In initialen Kariesläsionen und Plaque führen hochkonzentrierte Fluoridgaben zur Kügelchenbildung aus Kalziumfluorid (CaF_2)-ähnlichem Material. Diese CaF_2 -Kügelchen sind so gut wie unlöslich, da sie mit Phosphaten oder Proteinen bedeckt sind (OGAARD 1999). Diese Ausfällung eines CaF_2 -Niederschlags bewirkt zwar keine oberflächliche Resistenzerhöhung, bildet jedoch in den Poren der Schmelzoberfläche ein kontinuierlich verfügbares regelrechtes Fluoridreservoir zur mittelfristigen Verfügbarkeit (AHRENS 1983, KÖNIG 1987, MARTENS *et al.* 1998).

In manifesten Dentinläsionen beeinflusst die Höhe des Mineralanteils in den ersten 50 μm der Läsion das gesamte Mineralverteilungsprofil nach einer Remineralisation mit Fluoriden. Dabei wird von zwei grundsätzlichen Typen der Mineralverteilung in Dentinkariesläsionen ausgegangen: Dem insgesamt erweichten Dentin und der oberflächennahen Läsion. Demineralisierte Dentinproben wurden mit unterschiedlichen Fluoridkonzentrationen von 0,2 und 10 ppM F^- remineralisiert. Auf Basis der unterschiedlichen Ausgangsprofile vollzog sich eine prinzipiell immer gleiche nachfolgende Mineralverteilung oder Geometrie der Läsion. War die Oberflächenschicht gut mineralisiert, verhielt sie sich wie eine Transportbarriere für die Fluoridionen, die nicht mehr in die tieferen Schichten des Gewebes diffundierten. Die angelagerten Mineralien blieben auf die ersten 50 μm begrenzt. War die Oberfläche insgesamt erweicht, aber zumindest ein geringgradiges Mineralrestgefüge vorhanden, vollzog sich die beste Remineralisationsleistung auch hinein in die tieferen Läsionsschichten. Das Originalmineral verhielt sich wie ein Ursprungskern für das Nachwachsen der Kristalle, sofern es locker zwischenliegend verteilt war. Auch bei mittels Transversaler Mikroradiographie (TMR) nicht mehr nachweisbarem, nur noch minimal auf der Kollagenmatrix vorhandenem, durch Spektroskop-Analyse sichtbar gemachtem Restmineral trat dieser Effekt ein. Er wuchs mit der Höhe der Fluoridkonzentration, was wiederum mit der erwähnten höheren Kristallbildungaffinität zu Fluorapatit als zu Hydroxylapatit zu tun hat. Die hohen Fluoridkonzentrationen führten demnach zu ausgeprägten Remineralisationseffekten in schwach mineralisierten Läsionen, erzeugten aber Hyperremineralisationen bei gut mineralisierten Läsionen unterhalb der Oberfläche und dadurch keine Remineralisation in den tiefen Schichten. Die genannten Vorgänge belegten die Bedeutung der Ionentransportmechanismen und den Einfluss

der Höhe der Fluoridionenkonzentration auf die Geometrie der Läsion (KAWASAKI *et al.* 2000).

Etwas allgemeingültiger formuliert gibt es bei den Beziehungen zwischen Karies und Fluoriden drei anerkannte Grundübereinstimmungen (WHITE 1995):

- Fluoride in der Mineralisationsphase zeigen nur geringe Säureschutz- und Remineralisationseffekte.
- Eine Fluoridanreicherung in Form der einfachen Applikation auf den Schmelz und in die Läsion ist für die Beschreibung der Kariesprotektion durch Fluoride notwendig, aber nicht hinreichend.
- Das Einbringen von sich in Lösung befindlichem Fluorid in die Gewebe führt zu signifikanten Verbesserungen der Remineralisationsraten und Reduzierung der Demineralisationsraten (KAWASAKI *et al.* 2000).

2.4 Speichel

2.4.1 Aufbau und Funktion

Der Speichel wird als Produkt der drei großen paarigen Mundspeicheldrüsen, der Glandulae parotis, submandibularis und sublingualis, in die Mundhöhle sezerniert. Im serösen, dünnflüssigen Anteil findet sich das Enzym Amylase, das den Abbau von Glykogen bereits in der Mundhöhle initiiert. Der muköse, zähflüssige Anteil dient mit Hilfe der Muzine als Gleitmittel (DEETJEN *et al.* 1996) (Tab. 1).

Die produzierte Menge beträgt zwischen 0,5-1,5 Liter pro Tag, wobei das Produktionsvolumen auch bei gesunden und nicht medikamentenpflichtigen Patienten aufgrund physischer und psychischer Faktoren sowie altersabhängig in seiner Beschaffenheit und Menge erheblich variiert (BAUM 1989, NAVAZESH *et al.* 1996, IKEBE *et al.* 2002). Der pH-Bereich schwankt zwischen 5,8 und 7,1 mit einer Tendenz zu einem leicht sauren Mittelwert von ungefähr 6,5 (BASTING 1987).

Speichel ist zumeist klar, geschmack- und geruchlos und viskös. Zu 99 % besteht er aus Wasser; den Rest bilden anorganische und organische Substanzen individueller Konzentrationen. Die wichtigsten anorganischen Bestandteile sind Natrium-, Kalium- und Magnesiumchloride, Phosphationen, Kalziumionen, Hydrogenkarbonat und Fluorid. Die drei großen paarigen Speicheldrüsen sezernieren Speichel von unterschiedlicher Elektrolytkonzentration. Die organischen Bestandteile des Speichels sind Glykoproteine (Muzine), Enzyme und Proteine. Die kationischen und anionischen makromolekularen Glykoproteine sind für die Viskosität des Speichels verantwortlich und für die Virenabwehr wichtig, und die

Enzyme spielen bei den im Mund beginnenden Verdauungsvorgängen und bei bakteriellen Vorgängen eine Rolle. Immunglobuline sind für antigene Wirkungen zuständig. Phosphorhaltige Proteine beteiligen sich an der Bildung des Schmelzoberhäutchens (Pellicel) (HELLWIG *et al.* 1999). Lysozyme und Histatine gehören zum Repertoire gegen Candida-assoziierte Phänomene (NAVAZESH *et al.* 1996).

Der sogenannte „Ruhespeichel“, der Hauptteil der täglichen Speichelmenge, wird vor allem durch die Glandulae submandibulares sezerniert (MÜNZEL 1981). Er wird ständig produziert. Über den Grundbedarf des Ruhespeichels hinaus wird zusätzlicher „Reizspeichel“ sezerniert. Dieser Reizspeichel entspringt vorwiegend der Glandula parotis (DEETJEN *et al.* 1996). Die Reizung der Rezeptoren kann durch cholinerge und adrenerge Substanzen erfolgen, wobei die Impulssetzung zentral über das mastikatorische System, Geschmackssensationen, Geruchsempfindungen oder psychische Faktoren ausgelöst werden kann. Das Sekret der großen und kleinen Kopfspeicheldrüsen stellt sich als Mischspeichel dar (SEIFERT *et al.* 1984).

Tab. I: Wesentliche Speichelkomponenten und deren Funktion

Anorganisch	Bikarbonat Phosphat Kalzium, Fluorid	Säurepufferung Säurepufferung (Re-) Mineralisation (Re-) Mineralisation	
Organisch	Statherin		(Re-) Mineralisation
	Glycoproteine	Säurepufferung	Viskosität Virenschutz Beschichtung
	Muzin	Antibiose	Beschichtung Virenschutz
	Enzyme		Nahrungsandauung
	Lysozym	Antibiose	Candidaschutz
	Laktoferin	Antibiose	

2.4.2 Speichelsekretionsstörungen

Eine uneingeschränkte Funktion der Speicheldrüsen mit gut funktionierendem Speichelfluss ist maßgeblich daran beteiligt, dass alle Vorgänge des stomatognathen Systems erfolgreich ablaufen können. Bei krankheitsbedingter Einschränkung, durch operative Entfernung oder Bestrahlung der Speicheldrüsen und infolgedessen fehlender Speichelproduktion fällt somit ein wichtiges physiologisches Schutzsystem aus (IMFELD 1995a, HELLWIG *et al.* 1999). Patienten, die an den Folgen der

Hyposalivation leiden, fühlen sich oft erheblich in ihrer Lebensqualität eingeschränkt. Die Symptome reichen von Kau-, Sprech- und Schluckbeschwerden über Geschmackseinbußen bis hin zu Zahnfleischbluten und Zungenbrennen. Mechanisch-funktionelle Folgeerscheinungen findet man in Form von Unverträglichkeiten von Prothesen und Druckstellen (GUCHELAAR *et al.* 1997). Was den Einfluß der Hyposalivation auf die Zahnhartsubstanzen angeht, konnte eine eindeutige Beziehung zwischen einer verminderten Speichelflussrate und dem Anstieg von Karies (KITAMURA *et al.* 1986, PAPAS *et al.* 1993) und zwischen dem Speichelvolumen und der Häufung von Karies (LEONE 2001) nachgewiesen werden.

Die Messung der Speichelfließrate erfolgt über eine sialometrische Bestimmung, die Volumenwerte pro Zeit liefert (ml/min). Da Schwankungen, unterschiedliche Standardisierungen und die Berücksichtigung der unterschiedlichen Einflussgrößen wie Alter, Geschlecht, psychische Faktoren und Drüsengröße Einfluss nehmen und die internationalen Meßergebnisse breit fächern, werden Referenzbereiche für eine aussagekräftige Erfassung empfohlen. Referenzwerte erfassen sowohl den Ruhe- als auch den Reizspeichel und unterscheiden die Hyper-, die Norm- und die Hyposalivation (HUBER *et al.* 2007) (Tab.II).

Tab. II: Referenzbereiche für Ruhespeichel und stimulierten Speichel (nach Huber *et al.* 2007)

Ruhespeichel		Stimulierter Speichel	
Hypersalivation	> 1 ml/min	Hypersalivation	> 3,5 ml/min
Normalsalivation	0,25 - 1 ml/min	Normalsalivation	1 – 3,5 ml/min
Hyposalivation	0,1 - 0,25 ml/min	Hyposalivation	0,5 - 1 ml/min

2.4.3 Ursachen und klinische Bedeutung der Hyposalivation

Die klinische Manifestation der funktionellen Beeinträchtigung oder Zerstörung der Mundspeicheldrüsen ist in Form einer unterschiedlich ausgeprägten Mundtrockenheit zu beobachten (GELHARD *et al.* 1983). Die Funktionalität des Drüsenparenchyms kann durch Tumore, Radiotherapie, Parotitiden, narbige Stenosen, chronische Infektionen, parenchymatöse Fibrosierung nach Virusinfekten oder Traumata beeinträchtigt oder zerstört sein (Tab. III).

Tab. III: Ursachen der Xerostomie (BORK *et al.* 1996)

Temporäre Xerostomie	Permanente Xerostomie
Medikation: oral / transdermal	Radiotherapie im Kopf- Halsbereich
Psychopharmaka, Opioide	Hypo-/ Aplasie der Speicheldrüsen
Analgetika	Senium
Anticholinergika	primäre Sialadenopathien
Sympathomimetika	Tumoren
Retinoide	Stoffwechselerkrankungen
Antihistaminika	Autoimmunerkrankungen
Sialadenitiden	Mangelerkrankungen
Sialolithiasis	Postmenopause
Psychoqene Ursachen	Beteiligung bei Systemerkrankungen

Eine Hyposalivation kann therapiebedingt nach einer tumortherapeutischen Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich auftreten (KIELBASSA 2004). Diese führt zu einer Zerstörung der Speicheldrüsenfunktion. Eine Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich lässt praktisch sofort die stimulierte Speichelfließrate absinken. Innerhalb der ersten Behandlungswoche gibt es einen Abfall von 1-3 ml/min auf unter 0,5 ml/min mit bis zu 95 %iger Reduktion des Ausgangswertes. Dabei sinkt eine primär hohe Speichelfließrate weniger als eine, die bereits zuvor niedrig war (BEN-ARYEH *et al.* 1975, DREIZEN *et al.* 1976). Andere Untersuchungen beschreiben eine Restproduktivität der Speicheldrüsen von 10 % und ein Absinken der Fließrate auf unter 0,08 ml/ min (BROWN *et al.* 1976).

Auch qualitative Veränderungen des Speichels wurden gemessen. Bei einer binnen sechs Wochen erfolgten quantitativen Reduktion um 83,3 % der Speichelfließrate wurde ein Anstieg der Konzentrationen von Natrium (Na^+), Chlorid (Cl^-), Kalzium (Ca^{2+}), Magnesium (Mg^{2+}) und ein Abfall der Konzentrationen von Hydrogencarbonat (HCO_3^-) gemessen. Das Aussehen des Speichels veränderte sich von farblos zu weißlich-bräunlich; gleichzeitig fiel der pH-Wert von ursprünglich 6,8 auf bis zu unter 5,0 ab (BEN-ARYEH *et al.* 1975, DREIZEN *et al.* 1976). Gravierende Folgen dieser Speicheldickung sind die extrem gesenkte Pufferwirkung, ein mangelndes Remineralisationsvermögen und eine reduzierte antibakterielle, antivirale und antifungale Wirkung des Speichels (JONGEBLOED *et al.* 1988). Ein Kofaktor ist die kritische pH-Wert-Grenze von 6,0-6,5, unterhalb derer eine Demineralisation von Dentin eintritt.

Normal reagierender Speichel bleibt nur ungefähr zwei Minuten im sauren Bereich und neutralisiert ein säurehaltiges Getränk innerhalb von zehn Minuten (MEURMAN *et al.* 1987). Bei stark abgesenkter Speichelfließrate jedoch kann der pH-Wert bis zu 30 Minuten lang niedrig bleiben, wodurch der Kontakt der aufgenommenen Säure mit der Zahnoberfläche verlängert wird. Folge kann eine Demineralisation der Zahnhartsubstanz sein (TENOVUO *et al.* 1977). Das im Normalfall ausgeklügelte und auf die spezifischen Anforderungen in der Mundhöhle angepasste System der Selbstreinigung und Immunantwort bricht zusammen. Die natürliche Mundflora verliert ihr Gleichgewicht zugunsten einer verstärkten Besiedlung mit kariogenen Mikroorganismen, wie Streptokokkus mutans und Laktobazillen. Diese wachsen in ihrem Verhältnis zu den nichtkariogenen Keimen an. Es wurden eine wachsende Kariesinzidenz und ein unangenehmes Mundgefühl bei Speichelfließraten von unter 1 ml/min beschrieben (BROWN *et al.* 1975, WESCOTT *et al.* 1975, KEENE *et al.* 1981).

Auch die Pilzbesiedlung mit *Candida albicans* steigt an, was auf den Verlust der Lysozyme und Histatine zurückzuführen ist. Circa 30 % der Patienten entwickeln eine Candidiasis. Durch die Zerstörung der Geschmacksknospen beziehungsweise der sie innervierenden Nervenfasern aufgrund der Strahlentherapie kann ein teilweiser (Hypo-/ Dysgeusie) oder vollständiger Verlust des Geschmackssinns (Ageusie) eintreten. Diese Zellen regenerieren zumeist binnen vier Monate nach der Strahlentherapie (BORNSTEIN 2001). Das generelle Unwohlsein im gesamten Mund und die infolge der Bestrahlung auftretenden Symptome wie eine schmerzhaft entzündliche, erosive oder auch ulzerierende Mukositis oder Stomatitis des Mund- und Rachenraums führen beim Patienten oftmals zu einer Vernachlässigung seiner Mundhygiene und zur Änderung seiner Essgewohnheiten (GUCHELAAR *et al.* 1997). Die epithelialen Oberflächen verlieren ihre Geschmeidigkeit, es kann zu Fissuren und Rhagaden der Lippen und zu Foetor ex ore kommen. Häufig wird ein Globusgefühl beschrieben (MATHIS 1954). Weiche Kost ist demzufolge für den Patienten leichter zu essen und wird bevorzugt. Diese haftet jedoch klebrig an den Zahnoberflächen. Die Kariesprädispositionsstellen wie Approximalräume oder Zahnhälse sind die bevorzugten Haftstellen der klebrigen Beläge. Das Voranschreiten eines kariösen Befalls ist unter Hyposalivation fünfzehnmal schneller als in einer gesunden Kontrollgruppe. Auch der „Strahlenkaries“ (s. 2.2.1) ist damit der Weg geebnet (IMFELD 1984a, GUCHELAAR *et al.* 1997).

Autoimmunerkrankungen können ebenfalls eine Xerostomie erzeugen. Als bekanntestes Beispiel wird meist das Sjögren-Syndrom genannt (VITALI 2002). Das Sjögren-Syndrom ist eine systemische Autoimmunerkrankung exokriner Drüsen, bei der die klinische Diagnose über das Vorliegen von zwei der drei folgenden aufgeführten Symptome gestellt wird: Xerostomie, rheumatoide Arthritis oder andere

bindegewebige Erkrankungen und Keratokonjunktivitis sicca (ZIMMERMANN *et al.* 1998). Autoimmunglobuline richten sich gegen Speicheldrüsendrangepithelien, was zu chronischer Sialadentitis der Kopfspeichel- und der Tränendrüsen führt. Progredient kann durch Zerstörung der Gängepithelien kein Sekret mehr weitergeleitet werden. Eine oft beidseitige Schwellung der Parotiden (myoepitheliale Sialadenitis), die Vergrößerung der Tränendrüsen und eine Mund- und Augentrockenheit zeichnen das klinische Bild aus (SEIFERT *et al.* 1984).

Auch der Gebrauch von Medikamenten wie Psychopharmaka, Sympathomimetika, Anticholinergika, Antihistaminika und Schmerzmitteln erzeugen oder verstärken die Symptomatik des trockenen Mundes (ATKINSON *et al.* 2005). Mit zunehmendem Alter steigt dabei das Risiko, eine Hyposalivation zu entwickeln (SREEBNY *et al.* 1986, SREEBNY 1989).

Eine extreme Form der Mundtrockenheit wird bei hospitalisierten Patienten beobachtet, denen Morphin-Analgetika über Klebepflaster als Träger verabreicht werden. Die Verminderung der Sekretion bei dieser durch Medikamente verursachten Xerostomie basiert zumeist auf der Hemmung der Acetylcholinausschüttung an den parasymphatischen Synapsen der Azinuszellen. Dabei kommt es zu einer fehlenden Innervierung der Speicheldrüsen, und Speichel wird weniger und in qualitativ anderer Zusammensetzung produziert (SEIFERT *et al.* 1984).

Auch chronische Stoffwechselerkrankungen wie Diabetes mellitus oder Diabetes insipidus (CHAVEZ *et al.* 2000), degenerative Erkrankungen wie Morbus Alzheimer und endogene Depressionen (PALMAI *et al.* 1967, SHIP 1990) sind mit Hyposalivation vergesellschaftet. Die Hemmung an den parasymphatischen Synapsen wird auch bei Diabetes mellitus und Morbus Alzheimer als für die Mundtrockenheit mitverantwortlich benannt (SEIFERT *et al.* 1984).

Ein Alter höher als 65 Jahre und die Zugehörigkeit zum weiblichen Geschlecht wirken negativ verstärkend im Sinne eines Kofaktors (MIRA *et al.* 1981). Eine systematische Datenauswertung großer Patientengruppen mit Hyposalivation (wie aus Alten- und Pflegeheimen) wäre für die Weiterentwicklung von Therapien wichtig, da man aufgrund ihrer Kohorten diagnostische Verfahren und therapeutische Effekte klinisch und wissenschaftlich gut erfassen könnte (ATKINSON *et al.* 2005).

Den unterschiedlichen Befunden wird Einfluss auf die Wahl der Therapie beigemessen. Eine internationale Standardisierung von Werten und Klassifikation wird angestrebt (HUBER *et al.* 2007).

2.4.4 Therapiemöglichkeiten

Der Schwerpunkt der Behandlungskonzepte bei Xerostomie liegt im symptomatischen Bereich, da eine kausale Therapie schwer zu verwirklichen ist. Vor einem halben Jahrhundert bestand die Auffassung, dass eine Therapie überflüssig würde, wenn sich das Grundleiden beseitigen ließe, da sich nach einiger Zeit die Hemmung der Speichelproduktion wieder aufhebe. Die symptomatische Therapie blieb weitgehend aus oder wurde auf Pinselungen beschränkt (MATHIS 1954). Da aber Patienten eine Potenzierung ihres Grundleidens durch die Beeinträchtigung des gesamten Mundsystems und infolgedessen des Allgemeinbefindens erleben, sind Versuche der aktiven Verbesserung des trockenen und dysfunktionalen Mundmilieus (DAWES 1987, IMFELD 1995a, LLENA-PUY 2006) mit gezielten Maßnahmen in den Vordergrund gerückt (ATKINSON *et al.* 2005).

Die Behandlung kann systemisch oder lokal erfolgen. Ziel ist, in geeigneter Form die Bildung von Speichel anzuregen respektive dessen Funktion zu ersetzen oder nachzuahmen. So wurde versucht, systemisch durch Verabreichung von Arzneien die Speichelfließrate zu erhöhen, was aber nur begrenzt bei vorhandenem Drüsengewebe gelingt (RIEKE *et al.* 1995, DAVIES 1997, DAVIES 1997a). Lokal kann durch Stimulation von Drüsenrestgewebe mittels chemischen, mastikatorischen, gustatorischen oder mechanischen Reizen eine temporäre Erhöhung der Sekretionsmenge erreicht werden (IMFELD 1984a, GUCHELAAR *et al.* 1997). Die regelmäßige einfache Applikation von Flüssigkeit wie Wasser oder Tee ist eine weitere Möglichkeit. Diese Methode hat aber nur zeitgleich mit der Befeuchtung einen Effekt, muss ständig wiederholt werden und ist daher nachts kaum praktikabel (VISSINK *et al.* 1988). Bis zur Entwicklung von komplexeren Speichelersatzmitteln wurden Mundspüllösungen, Salzwasserlösungen und Öle zur Linderung der Beschwerden verwendet. Diese gingen mangels geeigneter Inhaltsstoffe nicht über die Wirksamkeit von einfachem Wasser hinaus (IMFELD 1984b).

Eine absichtlich durch mastikatorische Reize evozierte Stimulation mit vorzugsweise fester Nahrung oder ausgeprägte Kauvorgänge sind für die Patienten oft sehr schmerzhaft, da die Hyposalivation die Schleimhäute entzündlich verändert und atrophisch werden lässt. Auch die Verwendung von Zitronensäure (SREEBNY 1989) oder alkoholhaltigen Lösungen (REMICK *et al.* 1983) hat bei Mukositis schmerzhafte Folgen. Daher sind diese Methoden nicht als Dauerlösung zu betrachten. Darüberhinaus schädigen die Säuren bei bezahnten Patienten die Hartsubstanzen durch Erosionen und/oder Demineralisation (VAN DER REIJDEN *et al.* 1999).

Kaugummis hingegen wurden in einer kontrollierten Cross-over-Studie positiv angenommen. Ein klebriges Kaugummi wurde von 69 % der Patienten im Vergleich zu einem muzinhaltigen Speichelersatz favorisiert (DAVIES 2000). Zuckerfreie

Kaugummis werden als Träger für Substanzen wie Fluoride, Chlorhexidin oder Nikotin verwendet und dienen somit der Verbesserung der Zahn- und Mundgesundheit (ITTHAGARUN *et al.* 1997), vor allem bei Patienten mit relativ hohem verbliebenem Speichelfluss. Die Kaumassen haben sich zwischenzeitlich verbessert und kleben nicht mehr an vorhandenen Prothesen fest (VAN DER REIJDEN *et al.* 1999). Zum Vergleich zogen bei einer randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudie 60 % der befragten Patienten mit Sjögren-Syndrom ein Lutschbonbon auf Muzinbasis in seiner die Symptome lindernden Wirkung dem Placebo vor (S'GRAVENMADE *et al.* 1993).

Das systemische Eingreifen in den Speichelhaushalt geschieht über die Gabe von Medikamenten wie Pilocarpin und Nikotinamid (RIEKE *et al.* 1995, DAVIES 1997, DAVIES *et al.* 1998). Dies gelingt nur, wenn eine Restaktivität der Speicheldrüsen vorhanden ist. Pilocarpin wird dabei als die effektivste Substanz angesehen und ist international verbreitet. Die wirksame Dosis beträgt dreimal täglich 5-10 Milligramm Pilocarpin. Bei Anwendung von Pilocarpin schränkt eine gleichzeitige Wirkung auf den Gefäß- und Muskeltonus die Auswahl der Patientengruppen ein (IMFELD 1984a, GUCHELAAR *et al.* 1997). Auch die Gabe von aus der Pflanze *Pilocarpus jaborandi* gewonnenen (ATKINSON *et al.* 2005) *Folia Jaborandi* als Teeaufguss wird zur Anregung der Speichelsekretion beschrieben (MATHIS 1954).

Patienten mit Hyposalivation versuchen diese durch Benetzung der Mundschleimhaut in kurzen Intervallen zu lindern und somit das Austrocknen zu verzögern (ZIMMERMANN *et al.* 1998). Für Patienten, die nur noch eine geringe oder gar keine Aktivität der Speicheldrüsen aufweisen, und ebenso für diejenigen, die auf andere Therapieformen nicht ansprechen, sind künstliche Speichel Mittel der Wahl.

2.5 Speichelersatzmittel

Wünschenswert ist ein Speichelersatzmittel, das möglichst viele positive Eigenschaften in sich vereint und die mittlerweile erkannten ungünstigen Wirkmechanismen der bisher erhältlichen Speichelersatzmittel aufhebt. Es liegen vergleichende In-Vitro-Untersuchungen über Handhabung und Akzeptanz sowie Studien über die Wirkungen an Zahnhartsubstanzen der verschiedenen auf dem Markt erhältlichen Mittel vor. Diese belegen, dass bestimmte Zusammensetzungen künstlicher Speichel und auch andere Mundpflegeprodukte wie Spüllösungen ein demineralisierendes Potential auf den Zahnschmelz besitzen (JOYSTON-BECHAL *et al.* 1987, KIELBASSA *et al.* 1999b, KIELBASSA *et al.* 2000). Um beim bezahnten Patienten die Zahnhartsubstanzen zu schützen, ist auch die Verwendung solcher Mittel, die einen sauren pH-Wert und einem relativ hohen Gehalt an titrierbaren Säuren haben, zu vermeiden. Auch für diese Mittel konnte im In-vitro-Versuch eine potentiell schädigende Wirkung auf Dentin und Schmelz gezeigt werden (KIELBASSA *et al.*

2000). Ein Speichelersatzmittel sollte die physiologischen Erfordernisse des Speichels simulieren, die mechanisch-funktionellen Gegebenheiten des oralen Systems berücksichtigen und anwenderfreundlich sein. Es sollte idealerweise die Oberflächen sowohl der Mundschleimhäute als auch der Zähne lang anhaltend benetzen, dabei effektiv mit Inhaltsstoffen remineralisierender Natur angereichert sein und eine Wirkung gegen parodonto- und kariespathogene Keime besitzen. Ein Mittel von bequemer und leichter Handhabung würde die Akzeptanz seitens der Patienten erhöhen. Auch der Geschmacksaspekt sollte in die Entwicklung einfließen. Eine als ideal empfundene Viskoelastizität kann dem individuell empfundenen Unbehagen des trockenen Mundes abhelfen (IMFELD 1984b, LEVINE *et al.* 1987, GUIJARRO GUIJARRO *et al.* 2001).

2.5.1 Entwicklungsweg

Ein Speichelersatzmittel, das alle beschriebenen positiven Kriterien erfüllt, ist bisher nicht erhältlich. Es werden sehr unterschiedliche Produkte auf dem Markt angeboten. Betrachtet man ihren historischen Werdegang, erkennt man die Notwendigkeit, die Konzeption der Produktentwicklung von vorwiegend rheologischen und biochemischen Aspekten hin auf eine Berücksichtigung der physiologischen Prozesse und Ionentransportmechanismen des komplexen oralen Systems, vor allem einschließlich des Schutzes der Dentition, auszuweiten.

Die Anfänge der Entwicklung von Speichelersatzmitteln liegen in den 1970er Jahren, nachdem unbefriedigende Resultate mit den bis dahin verwendeten Mundspüllösungen Forschungen an echten Speichelersatzmitteln begründeten. Diese ersten Produkte bedienten vorwiegend Einzelaspekte wie mechanisch-funktionelle Verbesserungen, die durchaus erreicht wurden. Das erste Mittel auf der Basis von Carboxymethylcellulose (CMC) kam 1972 auf den Markt. Hinzugefügt waren Kalzium, Phosphat und zur Süßung Sorbitol, das gleichzeitig die Oberflächenaktivität verbesserte. CMC plus Sorbitol führte jedoch zu höherer Viskosität als bei natürlichem Speichel (MATZKER *et al.* 1972). In den letzten fünfundzwanzig Jahren wurden Speichelersatzmittel auf Basis der Stoffe Natrium-Carboxymethylcellulose (Na-CMC), Carboxyethylcellulose (CEC), Sorbitol, Hydroxyethylcellulose (HEC), tierischem Muzin, Leinsamenöl, Leinsamenextrakt oder Polyethylenoxid (POE) entwickelt. Als Zusatzstoffe wurden diverse anorganische Zusätze und Enzyme beigegeben. Unterschiede schlugen sich unter anderem auch im pH-Wert nieder.

In einem Vergleich der rheologischen Eigenschaften von Salinum (Leinsamenbasis), Saliva Orthana (Muzinbasis) und MAS 84 (CMC-Basis) mit denen des menschlichen Speichels zeigten die beiden Vergleichsprodukte auf Leinsamen-

und Muzinbasis - im Gegensatz zu dem auf CMC basierenden künstlichen Speichel - eine dem menschlichen Speichel ähnliche Ausbildung von Filmen an den Grenzschichten zwischen Zahn und Flüssigkeit und Luft und Flüssigkeit (CHRISTERSSON *et al.* 2000). Eine Flüssigkeit, die sich gleichmäßig verteilt, gut haftet und sich dabei an unterschiedliche Oberflächenstrukturen bindet, muss auf hydrophoben und hydrophilen Oberflächen einen Film bilden können. Diese Fähigkeit stellt ein wichtiges Kriterium für den klinischen Erfolg eines Speichelersatzmittels dar. Eine Anhaftung ohne Verkleben geschieht im natürlichen Speichel durch die darin enthaltenen Muzine. Da sie die Oberflächenspannung herabsetzen, bildet sich ein idealer Feuchtigkeitsfilm auf der Mundschleimhaut (NIEUW AMERONGEN *et al.* 1987). So finden sich befeuchtende Eigenschaften auf poliertem Schmelz und auf oraler Mukosa bei auf Muzinbasis hergestellten Speichelmitteln, im Gegensatz zu denen auf CMC-Basis (VISSINK *et al.* 1986). Auch scheint sich gegen eine Attrition des Zahnschmelzes aufgrund der guten Benetzungseigenschaften ein Schutz zu bilden (HATTON *et al.* 1987).

Eine weitere Studie verglich verschiedene Speichelersatzmittel und die darin enthaltenen Polysaccharide bezüglich Benetzungsfähigkeit, Tendenz zur Bildung von Oberflächenfilmen und Viskosität mit humanem Speichel (VAN DER REIJDEN *et al.* 1994, REEH *et al.* 1996, CHRISTERSSON *et al.* 2000). Dabei ergab sich keine Korrelation von Viskosität und Benetzungsfähigkeit (HATTON *et al.* 1987, LEVINE *et al.* 1987).

POE fiel bereits Ende der Siebzigerjahre des zurückliegenden Jahrhunderts durch natürlichem Speichel ähnliche viskoelastische Eigenschaften auf. Dabei handelt es sich um hochmolekulares POE in wässriger Lösung, das rheologisch dem menschlichen Speichel ähnelt (ROBERTS 1977). Klinisch war das Präparat auf POE-Basis erfolgreicher als das Vergleichspräparat auf CMC-Basis (MARKS *et al.* 1983). Durch die hohe Viskosität jedoch wurde das Produkt auf Muzinbasis gegenüber demjenigen auf POE-Basis bevorzugt (VISSINK *et al.* 1984).

Die kommerziellen Mittel waren in ihren jeweiligen Vermarktungsgebieten weit verbreitet. Beispiele sind Saliva medac (Muzinbasis) und Glandosane (CMC-Basis), die bevorzugt in Mitteleuropa und Großbritannien benutzt wurden, sowie Oralube (CMC), das in Australien, und Artisial (CMC), das in Frankreich Verbreitung fand (Glandosane, cellpharm, Hannover, Deutschland; Artisial, Jouveinal Laboratoires, Fresnes, France; Saliva medac, medac, Wedel, Germany; Oralube, Orion Laboratories, Welshpool, Australia).

Mit der Zeit stellte sich heraus, dass die Zusammensetzungen von Speichelersatzmitteln nicht nur nicht nützlich genug, sondern auch schädlich sein können. Aufgrund von pH-Instabilität und Bakterienwachstum sind verschiedene künstliche Speichel kürzlich vom Markt genommen worden (Saliva medac: Präparat

auf Muzinbasis; Ptyalin, TMP Tüshaus, Velen, Germany: Ptyalinbasis; Salinum, Sinclair, Surrey, United Kingdom: Leinsamenbasis) (TSCHOPPE *et al.* 2009a). Andere negative Folgen beziehen sich vor allem auf demineralisierende Angriffe der Zahnhartsubstanzen, was aus zahnärztlicher Sicht nicht akzeptabel ist. Die meisten Präparate waren bis in die 1990er Jahre wenig auf diesen Aspekt hin durch kontrollierte und randomisierte Studien untersucht (SHANNON *et al.* 1978a, GELHARD *et al.* 1983, VISSINK *et al.* 1985), so dass es nicht sehr viele Studien gibt, die Aussagekraft über die Anfeuchtung der Mundhöhle, das De- und Remineralisationspotential und die anti-/kariogene Wirkung diverser Speichelersatzmittel liefern. Insbesondere die Untersuchungen an demineralisiertem Zahngewebe sind noch rar (KIELBASSA *et al.* 1999b, KIELBASSA *et al.* 2000, MEYER-LUECKEL *et al.* 2002, MEYER-LUECKEL *et al.* 2006b). Das lediglich vereinzelte Beobachten von Remineralisationsvorgängen führte seit Mitte der 1980er Jahre über diesbezügliche Untersuchungen der bereits bekannten Produkte hin zu experimentellen Ansätzen der letzten Jahre, die durch Modifizieren und Versetzen mit remineralisierenden Inhaltsstoffen auf Basis der Originalprodukte gekennzeichnet sind.

2.5.2 Auswirkungen von Speichelersatzmitteln auf die Zahnhartsubstanzen

Aus zahnmedizinischer Sicht ist bei Hyposalivation nicht nur ein Verhindern der Demineralisation, sondern neben einem neutralen pH-Wert auch ein Remineralisationseffekt erforderlich (HATTON *et al.* 1987, HUBER *et al.* 2007). Wie bereits erwähnt, wirken sich die Zusammensetzungen der gängigen Produkte teilweise erheblich demineralisierend auf Schmelz und Dentin aus. Zu diesen Beobachtungen ist in den letzten Jahren eine wachsende Anzahl von Untersuchungen durchgeführt worden.

Da sich innerhalb des Schmelzes in den oberflächlichen Schichten großvolumigere Kristalle und höhere Fluoridkonzentrationen als in den innenliegenden Anteilen befinden (WEATHERELL *et al.* 1973), sind bei abradierten Oberflächen größere Demineralisationsvorgänge zu erwarten (DE GROOT *et al.* 1986, MACPHERSON *et al.* 1991). Eine Einebnung der abradierten Schmelzoberflächen gewährleistet, dass bei Messungen von Gewebedichte und -härte die Oberflächen keinen reliefbedingten Schwankungen unterliegen (MELLBERG 1992). Bei Hyposalivation fällt der pH-Wert von 6,8 auf bis zu unter 5,0 und der Speichel wird visköser. Für Schmelz liegt der kritische Wert bei pH 5,2-5,7, für Dentin bei 6,2-6,7. Der höhere Mineralgehalt von Schmelz gegenüber Dentin führt an der Oberfläche zu unterschiedlichem Säurewiderständen, aus denen wiederum abweichende kritische pH-Werte, also Bereiche verschiedener Angreifbarkeit, resultieren (HÖHLING 1966).

Eine Untersuchung der Basisstoffe CMC und Muzin erfolgte in Kombination mit den Zuckeralkoholen Xylitol und Sorbitol ohne Zusätze von Ionen. Es wurde ein

unübersehbares Demineralisationspotential der Substanzkombinationen auf Schmelz und Dentin bestätigt. CMC und Muzin als Basis von Speichelersatzmitteln können also ein Voranschreiten der Demineralisation nicht verhindern, solange keine kariesprotektiven Ionenzusätze wie Fluorid, Phosphate und Kalzium vorhanden sind. Muzin oder CMC hemmen das Remineralisationspotential aufgrund der Affinität der Polymere zu Kalzium. Xylitol verminderte das Remineralisationspotential weniger als Sorbitol (TSCHOPPE 2005, MEYER-LUECKEL *et al.* 2006c). Xylitol reduziert die Säurelöslichkeit von Schmelz, indem es den Diffusionskoeffizienten von Kalzium- und Phosphationen verringert, was die Ergebnisse früherer Studien bestätigte (ARENDS *et al.* 1984). Des Weiteren wurde Sorbitol eine höhere Affinität zu Kalziumionen als Xylitol zugeschrieben und somit ein höheres Potential der Komplexbildung.

Muzine zeigten eine stärkere Komplexbildung mit Kalziumionen bzw. Phosphaten als CMC. Dabei waren die Einflüsse der Verdickungsmittel derart, dass Muzin durch die höhere Affinität zu Kalziumionen als CMC eine Demineralisation in der ganzen Läsion erzeugte, wohingegen man bei CMC durch die höhere Viskosität und die höhere Wiedererhärtungskapazität eine Demineralisation nur in Läsionsanteilen vorfand. Die höhere Viskosität führte generell zu negativen Einflüssen der Speichelersatzmittel auf das Wiedererhärtungspotential der Zahnhartsubstanzen. Reduzierte Diffusionsvorgänge innerhalb der Lösung mit der Folge einer erniedrigten Übersättigung an der Grenzfläche Lösung/Zahnschmelz könnten dieses Phänomen erklären (VISSINK *et al.* 1985, LYNCH *et al.* 2007). Für CMC-basierte Speichelersatzmittel konnten diese Beobachtungen bestätigt werden (MEYER-LUECKEL *et al.* 2007, TSCHOPPE *et al.* 2008); ebenso belegen die Ergebnisse einer Vorgängerstudie diese Beobachtung für das muzinbasierende Saliva natura (TSCHOPPE *et al.* 2009b).

Ein Speichelersatzmittel, das sowohl Muzin als auch Xylitol enthält, ist derzeit nicht auf dem Markt. Der Zuckeraustauschstoff Xylitol konnte sich als gute Alternative darstellen, Sorbitol als Zusatz hingegen wirkte der Steigerung der Mikrohärte entgegen. Als Zusatz zur Süßung einiger CMC-basierenden Speichelersatzmitteln scheint Sorbitol daher nicht geeignet (VISSINK *et al.* 1985).

Untersuchungen von einzelnen isolierten Basisstoffen in ihrer Wirkung auf Zahnschmelz wie Carboxymethylcellulose, Muzin, Xanthan gum, Hydroxymethylcellulose und Carbopol 934P zeigten für Präparate auf CMC-Basis ein besseres Remineralisationsvermögen als für solche auf Muzinbasis (GELHARD *et al.* 1983). Die niedrig-viskösen Lösungen auf CMC- oder Muzinbasis werden als positiv in Bezug auf die Integrität des Zahnschmelzes angesehen (TSCHOPPE 2005).

Eine Studie zeigte einen Remineralisationseffekt bei einem pH-Wert von 7,2 durch die Zugabe von Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen. Mit wachsender

Konzentration der Ionen stieg das Remineralisationspotential an, beim Ausfällen der Salze jedoch nahm die Ionenstabilität wieder ab (VISSINK *et al.* 1985). Das Präparat Artisial, das bis auf das Fehlen von Fluorid dem unten genannten Präparat VA-Oralube ähnlich ist, hatte keinen weiteren demineralisierenden Effekt auf Schmelz- und Dentinproben; auch ließen sich keine größeren Läsionstiefen der Proben nach der In-vitro-Exposition feststellen (KIELBASSA *et al.* 2000). Ein optimierter Fluoridgehalt eines Speichelersatzmittels kann zu remineralisierenden Effekten auf die Zahnhartsubstanzen führen. Humane Schmelzproben, die in dem CMC- und fluoridhaltigen Speichelersatzmittel VA-Oralube für In-vitro-Studien gelagert wurden, ließen einen Anstieg der Mikrohärtigkeit beobachten (SHANNON *et al.* 1977), Kalzium- und Phosphatzugaben erhöhten diese noch (SHANNON *et al.* 1978b). Ein Fluoridgehalt von 2 ppM wurde dabei als optimal erachtet (SHANNON *et al.* 1978a).

Eine Studie untersuchte die Wirkungen von sechs verschiedenen handelsüblichen Speichelersatzmitteln (Glandosane, Fresenius, Bad Homburg, Deutschland sowie Artisial, Jouveinal Laboratoires, Fresnes, Frankreich: CMC-Basis; Saliva medac, medac, Wedel, Deutschland: Muzinbasis; Oralube, Orion Laboratories, Welshpool, Australien: Sorbitolbasis) und Mundspüllösungen (Biotène, Biomedica, Heinrichsthal, Deutschland; Meridol, Wybert, Lörrach, Deutschland) und einem Mineralwasser (Eptinger-Quelle, Deutschland) nach vierzehn Tagen auf demineralisierten Schmelz. Für bezahnte Patienten mit ernsthaft eingeschränkter Salivation konnten lediglich die Mittel empfohlen werden, die Kalzium, Fluoride und Phosphat enthielten. Die Anwesenheit von Kalzium, Phosphat und/oder Fluorid in den untersuchten Lösungen mit einem niedrigen pH-Wert und einem hohen Anteil an titrierbaren Säuren bewirkte eine Reduzierung der Demineralisation und somit eine stabilisierende Wirkung auf das Gewebe (Mundspülung Meridol: pH 3,88 und 250 ppM Fluorid). Ansonsten hatten die Mittel mit niedrigem pH-Wert und geringen Ionenzusätzen einen ausgeprägten demineralisierenden Effekt. Einen Mineralgewinn konnten das Mineralwasser und die Mundspülung Oralube, die Fluoride und Kalziumionen enthält, verzeichnen (KIELBASSA *et al.* 2000). Dieser Zusammensetzung wird eine Sättigung der Lösung zugesprochen und dementsprechend ein Remineralisationspotential bei bereits vorhandenen Läsionen (LARSEN *et al.* 1994). In Bezug auf den Mineralverlust und die Läsionstiefe konnten bei Schmelz keine großen Unterschiede innerhalb der verschiedenen Gruppen festgestellt werden, jedoch bei Dentin (MEYER-LUECKEL *et al.* 2002).

Eine ähnliche Studie mit einem weiteren Speichelersatzmittel (Oralbalance) untersuchte die Wirkungen der verschiedenen Mittel auf demineralisiertes Dentin. Auch hier wurden starke Demineralisationen bei den fluoridfreien Produkten mit niedrigem pH-Wert festgestellt. Ein bedeutender Unterschied zur vorher erörterten Studie zeigte sich bei der Bewertung von Meridol. Dieses rief trotz hoher

Fluoridmengen einen erheblichen Mineralverlust und eine erhöhte Läsionstiefe bei prädemineralisiertem Dentin hervor. Vorgeschädigtes Dentin respektive dessen strukturelle Veränderungen hinsichtlich der Versehrtheit von Apatitverbindungen reagierten bei einem niedrigen pH-Wert viel empfindlicher. So war ein hoher Fluoridgehalt allein nicht ausreichend für den Vorgang einer Remineralisierung, wie in früheren Studien respektive bei Untersuchungen an Schmelz beobachtet (KIELBASSA *et al.* 1999b, KIELBASSA *et al.* 2000). Die Ergebnisse wiesen einen Zusammenhang zwischen dem Inhalt an Kalzium, Phosphat und Fluorid und dem Remineralisationspotential der getesteten Mittel nach (MEYER-LUECKEL *et al.* 2002).

2.5.3 Einflüsse durch die Verwendung von hinsichtlich Oktakalziumphosphat übersättigten Lösungen und Fluoriden

In den letzten Jahren zeigte sich die Bedeutung einer Anreicherung oder Sättigung von Speichersatzmitteln mit Kalzium, Phosphat und/oder Fluoriden. Fluoride steigern erwiesenermaßen die Remineralisationsrate im Dentin (ARENDS *et al.* 1989). Es konnte nachgewiesen werden, dass die Höhe der Fluoridkonzentrationsrate die Remineralisationsrate im Dentin bestimmt, wobei hohe Fluoridkonzentrationen effektiver als niedrigere wirkten (ARENDS *et al.* 1989, BAYSAN *et al.* 2001). Kalzium und Phosphate werden im Hinblick auf die kinetischen Vorgänge als Grundbausteine bei den Remineralisationsvorgängen benötigt. Allgemein weichen die Kalzium/Phosphat (Ca/P)-Verhältnisse physiologischer Remineralisationsflüssigkeiten wie Speichel, Sulkusfluid oder Plaque erheblich von denen in Speichersatzmitteln ab (MARGOLIS *et al.* 1988, LARSEN *et al.* 2003).

Oktakalziumphosphat (OKP) gilt als eine der wichtigsten Vorstufen von Hydroxylapatit (HA). Abhängig von den Lösungseigenschaften ist die Dynamik der Hin- und Rückreaktion beschleunigt oder gehemmt. Der Sättigungsgrad hinsichtlich OKP, Dikalziumphosphatdihdrat (DKPD) und HA kann zwar für wässrige Lösungen bei bekanntem pH-Wert berechnet werden (SHELLIS 1988). Auf komplexere Lösungen wie Speichersatzmittel sind die Berechnungen jedoch nicht einfach übertragbar. Zudem werden genaue Berechnungen trotz intensiver Forschungen dadurch erschwert, dass die Kalziumphosphate in den verschiedenen Ca/P-Phasen wie OKP, DKPD und HAP vorliegen (NANCOLLAS *et al.* 1974). Das üblicherweise beschriebene Ca/P-Verhältnis menschlicher kalzifizierter Gewebe befindet sich zwischen 1:1,63 und 1:1,71 (DOROZHKIN *et al.* 2002). Das Wissen um die kinetischen Vorgänge des Apatitstoffwechsels mündete in Überlegungen, nicht nur Anreicherungen, sondern auch Übersättigungen mit Ca/P in die Funktionalität von Speichersatzmitteln zu integrieren (MEYER-LUECKEL *et al.* 2006a).

Eine Vorgängerstudie zu der hier vorliegenden Untersuchung mit modifizierten Speicheltersatzmitteln konnte remineralisierende Effekte auf Dentin durch leichte Übersättigungen mit Oktakalziumphosphat (OKP) belegen. Dabei wurden zur Erzielung der gewünschten Sättigungen zusätzliche Konzentrationen der genannten Ionen hinzugefügt. Die erforderlichen Konzentrationen wurden unter Berücksichtigung der zuvor gemessenen Ionenkonzentrationen der Originallösungen bis zur jeweils gewünschten Sättigung (ein-, zwei- oder dreifach) berechnet und addiert. Ebenso berücksichtigt wurden, auch in Bezug auf die Fluoridzugaben, die strengen gesetzlichen Kriterien für Änderungen von Medizinprodukten (TSCHOPPE *et al.* 2009a).

Davon ausgehend, dass die Ionen Komplexe mit Basisstoffen von Speicheltersatzmitteln bilden (VISSINK *et al.* 1985, MEYER-LUECKEL *et al.* 2006c) und einen gemittelten physiologischen Wert von 1:1,65 vorausgesetzt, wurden Speicheltersatzmittel in neueren Versuchsanordnungen hinsichtlich OKP, DKPD und HA übersättigt (MARSCHALL 2006, MEYER-LUECKEL *et al.* 2006a, MEYER-LUECKEL *et al.* 2006d, MEYER-LUECKEL *et al.* 2007). In einer Untersuchung potentieller CMC-haltiger Speicheltersatzmittel führten erst Ionenkonzentrationen mit einer Übersättigung bezüglich OKP zu signifikanten remineralisierenden Wirkungen. Bei einer Übersättigung wurde das Gleichgewicht in Richtung HA verschoben. Da die Löslichkeit von OKP und anderen Ca/P-Formen vom pH-Wert abhängig ist und die Unlöslichkeit mit dem pH-Wert steigt, wurden eine optimale Abstimmung von pH-Wert und Elektrolytzusammensetzung (LARSEN *et al.* 1994) als remineralisationsfördernd erachtet (CHATZIDAKIS 2007). Eine zu starke Zunahme der Kalzium- und Ionenkonzentrationen und gleichzeitig Übersättigung an OKP führte nicht zu weiteren Zunahmen des Mineralgehaltes der untersuchten Gewebe, was mit der spontanen Präzipitation von die Oberflächenschicht blockierenden Kalziumphosphaten zusammenzuhängen schien (SILVERSTONE *et al.* 1981). Die Untersuchungen von Auswahlen verschiedener Ca/P-Verhältnisse und unterschiedlicher Konzentrationen zeigten, dass die Lösungen mit unterschiedlichen Ionenverhältnissen, aber ähnlichen OKP-Sättigungen gleichartige Auswirkungen auf den Mineralgehalt des Schmelzes hatten (CHATZIDAKIS 2007, MEYER-LUECKEL *et al.* 2007). Dies bestätigte, dass nicht ein bestimmtes Ca/P-Verhältnis ausschlaggebend ist, sondern der Grad der Sättigung (TANAKA *et al.* 2000).

In einer Untersuchung der Wirkung eines Leinsamen-basierten Speicheltersatzmittels auf demineralisierte Gewebe (Schmelz und Dentin) wurden neutrale respektive remineralisierende Wirkungen erst nach Zugabe größerer Mengen an Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen erreicht. Dies zeigte, dass die natürlicherweise in Leinsamen enthaltenen Elektrolyte für remineralisierende Effekte nicht ausreichend sind und eine Komplexbildung der in Leinsamen enthaltenen

Polymere wahrscheinlich war. Auch hier wurde empfohlen, eine Übersättigung hinsichtlich OKP zum Erreichen ausreichend hoher Sättigungen von OKP und HA für eine Remineralisation einzubringen (MARSCHALL 2006). Der Variablen Kalzium wurde eine stärkere Bedeutung als Phosphat eingeräumt, da Kalzium einen höheren Sättigungsgrad hervorruft als eine gleichwertige Phosphatkonzentration (TANAKA *et al.* 2000).

Die Empfehlung von Muzinen als Zusatz zu Speichelersatzmitteln resultierte aus einer Untersuchung, die eine mit Muzin versetzte Remineralisationslösung und Putzen mit verschiedenen fluoridhaltigen Zahnpasten kombinierte. Es zeigte sich bei der Anwendung an Schmelz ein Remineralisationseffekt, eine muzinfreie Vergleichslösung konnte diesen Effekt nicht erzielen (MEYER-LUECKEL *et al.* 2004).

Eine weitere Studie untersuchte die Auswirkungen von zwei kommerziell erhältlichen Speichelersatzmitteln (Saliva natura und Glandosane) auf den Mineralverlust von Rinderschmelz und -dentin über 14 Tage. Während Saliva natura demineralisierende Effekte auf Dentin hatte, zeigten sich bei Glandosane erhöhte Mineralverluste und Läsionstiefen sowohl bei Schmelz und Dentin. Somit sollte Glandosane für bezahnte Patienten nicht weiter empfohlen werden. Für Saliva natura wurde eine weitere Untersuchung zur Remineralisierungskapazität als erforderlich angesehen (TSCHOPPE *et al.* 2007). Daher wurden nachfolgende Versuchsanordnungen konzipiert, in denen Modifizierungen von Saliva natura im Hinblick auf verschiedene OKP-Sättigungsgrade (Sättigungsgrad 1-3) zu an Schmelz und Dentin erwünschten Remineralisierungsvorgängen führen sollten. Der Untersuchungszeitraum wurde von zwei auf fünf Wochen ausgedehnt. Die Ergebnisse bestätigten sowohl in der Schmelz- als auch in der Dentinstudie einer experimentellen Lösung mit zweifacher OKP-Sättigung die höchste remineralisierende Wirkung, die durch höher oder niedriger gesättigte Lösungen nicht gesteigert werden konnte (TSCHOPPE *et al.* 2009a, TSCHOPPE *et al.* 2009b).

2.6 Wirkung von Putzen und Zahnpasta auf die Zahnhartsubstanzen

Das Putzen von Zahngewebe hat sowohl positive als auch negative Folgen. Dabei haben die unterschiedlichen Zusammensetzungen der verwendeten Zahnpasten oder -gele einen erheblichen Einfluss auf die erzielten Effekte (ADAMS *et al.* 1996). Die bearbeiteten Oberflächen zeigen unterschiedliche Reaktionen, je nachdem, ob es sich um das Putzen von Schmelz, Dentin, *in vitro* demineralisiertem (somit kariesähnlichem) Schmelz oder Dentin oder kariös geschädigten Zahnhartgewebe handelt (SLOP *et al.* 1983, MAIR 2000, BETKE *et al.* 2003, KIELBASSA *et al.* 2005).

Das Putzen selbst beinhaltet eine ganze Bandbreite von Variationen bezüglich Frequenz, Dauer, Putzdruck, verwendeter Bürste, Bürstechnik und

Borstenbeschaffenheit (VAN DER WEIJDEN *et al.* 1996, DYER *et al.* 2000, HUNTER *et al.* 2000). Um die Unterschiede miteinander zu vergleichen, wurden Versuchsaufbauten realisiert, die die Ergebnisse beispielsweise mit Hilfe einer automatischen Zahnputzmaschine ermittelten (ATTIN *et al.* 1997). In der hier vorliegenden Studie wurde keine Maschine verwendet, sondern von Hand geputzt. Dieses spiegelt die realen Verhältnisse und praktischen Gesichtspunkte in der kombinierten Anwendung Mundspülung/Putzen eher wider als ein Automat. Die hier angewandte Technik des horizontalen sanften Applizierens mit einer weichen Zahnbürste und der Putzdauer von fünf Sekunden pro Oberfläche entspricht auch bei schlecht instruierten Patienten einer ermittelten und zu erwartenden Vorgehensweise (DYER *et al.* 2000).

Bei der Betrachtung der biomechanischen Eigenschaften von Dentin zeigt sich, dass nahezu alle Zahncremes eine angreifende Wirkung auf Dentin haben; bei gesundem Schmelz kann auch bei lebenslangem Gebrauch von vernachlässigbaren Effekten ausgegangen werden (MANNERBERG 1960, ATTIN *et al.* 1997, KIELBASSA *et al.* 2005).

Mögliche Komponenten bei vergleichenden Tests mit Zahnpasten sind ihr RDA-Wert, der die Abrasivität kennzeichnet, ihr pH-Wert und die, falls vorhanden, jeweilige Fluoridkonzentration; diese Werte stehen teilweise von Herstellerseite zur Verfügung.

Bei einer initialen Karies ist die Schmelzoberfläche weniger mineralisiert als bei gesundem Schmelz (ARENDS *et al.* 1979). Daher ist der Widerstand der Läsion gegenüber Abrasivstoffen gesenkt, und so stellt sich die Frage nach dem Effekt des Zähneputzens auf initial geschädigten Oberflächen. Zudem verstärkt ein säurehaltiges Zahnpflegeprodukt den Abrasionseffekt des Putzens bei einer Initialkaries. In Versuchen wurden die Auswirkungen des Zähneputzens mit verschiedenen Zahnpasten und säurehaltigen Gelen auf gesunden Schmelz und unter der Oberfläche liegenden, kariesähnlichen Läsionen untersucht. Slurrys aus Fluoridgel (12500 ppM F⁻ bei pH 4,5-4,8, Abrasivwert RDA 20-50) und menschlichem Speichel respektive aus drei Fluoridzahnpasten (1000 ppM, pH 6,9, RDA 60; 1350 ppM, pH 7, RDA 60-70; 1100 ppM, pH 9,3, RDA 150) und Speichel (1:3) wurden mit 16000 Bürstenstrichen (mittlere Zahnbürste bei einem Belastungsdruck von 275 g) getestet. Die Abrasion bei gesundem Schmelz betrug 50 % weniger als bei demineralisiertem Schmelz. Die Kontrollgruppen, die nur mit Wasser bzw. mit fluoridfreiem Säuregel gebürstet wurden, wiesen kaum Abrasionen auf. Mit der mittelabrasiven Zahnpasta (Odol-Med-3) und Fluoridgel (Elmex-Gelee) wurden höhere Abrasionen erzeugt als mit wenig abrasiver Zahnpasta (Aronal). Ein kompletter Verlust der pseudointakten Oberfläche war nach Putzen mit der hochabrasiven Zahnpasta (Settima) nachweisbar. Die kariesähnlichen Läsionen (Synonyme: caries-like-lesions, artificial subsurface lesions, demineralisierte

Oberflächen) wurden im Vergleich zu gesundem Schmelz ganz leicht abgetragen. Deswegen sollen Initialläsionen und White spots in der Konsequenz mit säureneutralen, niedrig-abrasiven Produkten geputzt werden. Unverdünnte Zahncremes zeigen größere Abrasiveffekte als Zahncremes, die mit Wasser oder Speichel verdünnt sind. Bei Verdünnung oder Mischen mit Speichel (in Form des Slurrys) wird die Anhebung des pH-Wertes als Grund dafür in Betracht gezogen (KIELBASSA *et al.* 2005). Keine Abrasionen als Ergebnis der mit Wasser geputzten Proben bestätigten frühere Studien (ABSİ *et al.* 1992). Bei den mittelabrasiven Pasten wichen die Ergebnisse von früheren Studien (SLOP *et al.* 1983) insofern ab, als dass die Abrasionen beträchtlich höher ausfielen.

Durch die Kraft und die mechanische Reibungsenergie führt das Putzen auch mit abrasivstofffreien Fluoridgele zu Mineralverlusten (ATTIN *et al.* 1999, KIELBASSA *et al.* 2005). Diese Gele waren anfänglich aufgrund ihres Fehlens von Abrasivstoffen eher als nicht-schädigend eingestuft, eine kariespräventive Wirkung wird ihnen nicht abgesprochen. Die geringfügige Erosivität des Gels kommt erst durch zusätzliche physikalisch-mechanische Putzbewegungen zur nachteiligen Wirkung. Es resultieren den Abrasivstoffen ähnlich wirkende Abriebtrümmer, und biochemisch-mechanisch vergrößert eine Verstärkung der Säurelöslichkeit der freigelegten Schichten den Ermüdungsabrieb. Bei Fluoridgele ohne Abrasivstoffe hängt das Ausmaß der Abrasivität demzufolge mit der Pufferkapazität und dem Fluoridgehalt des jeweiligen Gels zusammen (BETKE *et al.* 2003). Die Ergebnisse der meisten zur Verfügung stehenden Studien beziehen sich auf Untersuchungen an Schmelz. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Dentin ist mäßig, denn die Abrasionswerte von Schmelz weichen von denen des Dentins erheblich ab (STOOKEY *et al.* 1968). Auch scheint eine lineare Übertragung von In-vitro-Studien auf klinische Situationen schwierig, da die klinische Situation nicht permanent den schlechtestmöglichen Ausgang hervorbringt, der denkbar ist.

Auch andere Mundpflegeprodukte wie Speichelersatzmittel haben einen potentiell schädigenden Effekt auf Zahnhartsubstanzen (RYTÖMAA *et al.* 1989, KIELBASSA *et al.* 1997d, LUSSI *et al.* 2001, PONTEFRACCT *et al.* 2001, MEYER-LUECKEL *et al.* 2002). Einen vorzeigbaren „Remineralisationseffekt“ erzielen oftmals Läsionen, bei denen die Oberfläche abgetragen war (ÅRTUN *et al.* 1986). Eine vielzitierte Untersuchung aus dem Jahre 1966 legt nahe, dass Putzen auch das Entfernen von Initialkaries zur Folge hat. Das Voranschreiten der Karies im unzugänglichen Zahnzwischenraum im Vergleich zum Rückgang der White-spot-Läsionen und die geringe Kariesaktivität bei Patienten mit Rezessionen und Abrasionen aufgrund starker Mundhygienemaßnahmen führten zu der Vermutung, dass Putzen zumindest das weitere Voranschreiten von Karies verhindert, indem es Initialläsionen abträgt (BACKER DIRKS 1966). Insgesamt ist eine durch Zähneputzen hervorgerufene

Abrasion möglich; ursächlich zu benennen sind Abrasivität und Azidität der Zahnpasten. Die Mechanismen des Zusammenspiels aller Komponenten sind noch nicht in allen Facetten verstanden. *In vivo* findet man sie nie unabhängig vom Einfluss von Mineralisationseffekten, wie sie durch Speichelersatzmittel, Speichel oder dem dadurch erworbenen Schmelzhäutchen erzeugt werden (IJIMA *et al.* 2000).

Die geringe Konzentration von frei verfügbarem Kalzium in oralen Flüssigkeiten begrenzt die Bildung der erwähnten kalziumvermittelten Fluoriddepots, in denen orale Fluoride nach topischer Anwendung eingebunden bleiben (MARTENS *et al.* 1998). Das Ziel einer *In-vivo*-Studie war, zu untersuchen, ob eine hohe Konzentration von Kalzium das Speichel-Fluorid erhöht, falls es vor einer Fluoridspülung/Fluoridzahnpaste eingebracht worden war. Es wurde herausgefunden, dass eine unmittelbar vorverabreichte Kalziumspülung (150 mmol/l Kalziumlaktat) oder Zahnpaste (0,084 g Ca/g) vor einer 60-sekündigen Fluoridspülung (228 ppM) eine 4,6 (Spülung) /3,6-fache (Zahnpaste) Erhöhung bezüglich der Ein-Stunden-Fluoridspeichelkonzentration gegenüber der ausschließlichen Fluoridspülung brachte. Auf eine reduzierte Spüldauer von zehn Sekunden bezogen, war der Anstieg 2,2-fach gegenüber einer 60-sekündigen ausschließlichen Fluoridspülung. Bei der Benutzung einer konventionellen Zahncreme (Crest; 1,1 µg/g Natriumfluorid) führte die zuvor gegebene Kalziumanwendung zu einer 2,3-fachen Erhöhung der Ein-Stunden-Fluoridspeichelkonzentration gegenüber der Fluoridzahnpaste allein. Umgekehrt führte eine Fluoridspülung, die vor der Kalziumspülung gegeben wurde, nicht zu einem Anstieg der Ein-Stunden-Fluoridspeichelkonzentration. Empfohlen wurden weitere diesbezügliche Studien, aber die Resultate deuteten bereits darauf, dass eine mäßig hohe Kalziumkonzentration, verabreicht unmittelbar vor einer Fluoridspülung oder Anwendung von Fluoridzahnpaste, den kariostatischen Effekt eines Fluoridproduktes steigert (VOGEL *et al.* 2006).

Die Akzeptanz und Verträglichkeit reiner Mundspülungen oder ausschließlich fluoridierter Zahncremes ist bei Hyposalivation eher gering (CARL 1993, EPSTEIN *et al.* 1996). Das legt nahe, zuerst Wohlbefinden und Befeuchtungsfunktion bereitzustellen. In der gewählten Mittelkombination sollten die gewünschten Wirkungen gegen Hyposalivation und Karies enthalten sein (TSCHOPPE *et al.* 2010).

3 Ziel der Arbeit und Nullhypothese

Für Patienten mit Hyposalivation ist eine Langzeitanwendung von Speichelersatzmitteln zur Wiederherstellung der Lebensqualität oft eine Notwendigkeit. Sowohl in durchschnittlichen als auch in tumorbestrahlten Dentitionen sind dabei die Zahnhartsubstanzen Schmelz und Dentin durchaus nebeneinander vorhanden und exponiert. Zur Abwehr des bekannten demineralisierenden Einflusses einiger kommerzieller Produkte und einer möglichen unzureichenden Mundhygiene ist eine individuelle Prophylaxe mit geeigneten Mitteln und eine remineralisierende Wirkung des verwendeten Speichelersatzmittels erstrebenswert. Daher wurden hier, zusammen mit einer Kombination Putzen/Fluoridierung, an Schmelz und Dentin bereits getrennt voneinander ermittelte De- und Remineralisationsvorgänge mit bisher vielversprechenden hinsichtlich Oktakalziumphosphat übersättigten Speichelersatzmitteln untersucht (TSCHOPPE *et al.* 2009a).

Zur Darstellung einer Initiaalläsion wurden Schmelz- und Dentinproben von Rinderzähnen demineralisiert und dem polysaccharidbasierenden Speichelersatzmittel Saliva natura und verschiedenen Modifikationen davon ausgesetzt. Diese unterschieden sich vom Ausgangsprodukt Saliva natura (Sättigung = S_{OKP} 0,3) hinsichtlich unterschiedlicher experimenteller Sättigungen (S_{OKP} 1-3) mit Oktakalziumphosphat (OKP), Dikalziumphosphatdihdrat (DKPD) und Hydroxylapatit (HA). Ergänzend wurde das regelmäßige Einwirken einer hochfluoridhaltigen Zahnpasta (Duraphat) mittels vorsichtigem Putzen von Hand (Schmelz) mit bzw. Einlegen in ein Duraphat-Speichelersatzmittel-Slurry (Dentin) untersucht. Somit spiegelten sich die eingangs erläuterten Mechanismen von Fluoridierungsmaßnahmen und Individualprophylaxe hier in Form einer regelmäßigen Applikation eines Fluorids, das sich in wässriger Lösung befand. Untersucht wurde die Wirksamkeit einer sehr hohen Fluoriddosis über einen hinsichtlich vorangegangener Demineralisationsuntersuchungen vergleichbar langen Anwendungszeitraum von insgesamt fünf Wochen. Die Dauer der Versuchsphase und die Unterteilung in Intervalle nach zwei und nach fünf Wochen sollten hierbei die Aussagekraft der Ergebnisse erhöhen. Ziel dieser In-vitro-Studie war, Modifikationen eines Speichelersatzmittels (Saliva natura) mit verschiedenen hohen Kalziumphosphat-Sättigungen in Kombination mit regelmäßig applizierten hohen Fluoriddosen auf ihren Einfluss auf die Remineralisation demineralisierter boviner Zahnhartsubstanzen (Schmelz und Dentin) zu untersuchen.

Die Nullhypothese besagte, dass sich unterschiedliche Modifikationen hinsichtlich S_{OKP} und S_{DKPD} von Saliva natura-Lösungen in Kombination mit einer hochkonzentrierten Fluoridzahnpasta nicht signifikant bezüglich ihrer remineralisierenden Eigenschaften auf bovinen Schmelz und Dentin über 2 und 5 Wochen unterscheiden.

4 Material und Methoden

4.1 Schematische Versuchsdarstellung

Für den Versuch wurden 100 Rinderschmelz- und 100 Rinderdentinproben demineralisiert (Bereich: d). Die Proben wurden über insgesamt zwei (Effektbereich: e2) bzw. fünf (Effektbereich: e5) Wochen in jeweils 5 unterschiedlichen Lösungen gelagert. Die Lösungen waren: ein Speichelersatzmittel (Saliva natura, SN 0), drei Saliva natura-Modifikationen (SN 1-3) sowie eine Remineralisationslösung (PK). Die Modifikationen SN 1-3 hatten unterschiedliche Sättigungen (1-3) hinsichtlich Oktakalziumphosphat, Dikalziumphosphatdihydrat und Hydroxylapatit (Tab. VII). Die Remineralisationslösung (nach Buskes) diente als Positivkontrolle (Lösung 1, Positivkontrolle) (BUSKES *et al.* 1985). Abbildung 3 zeigt die schematische Darstellung des Versuchsablaufes.

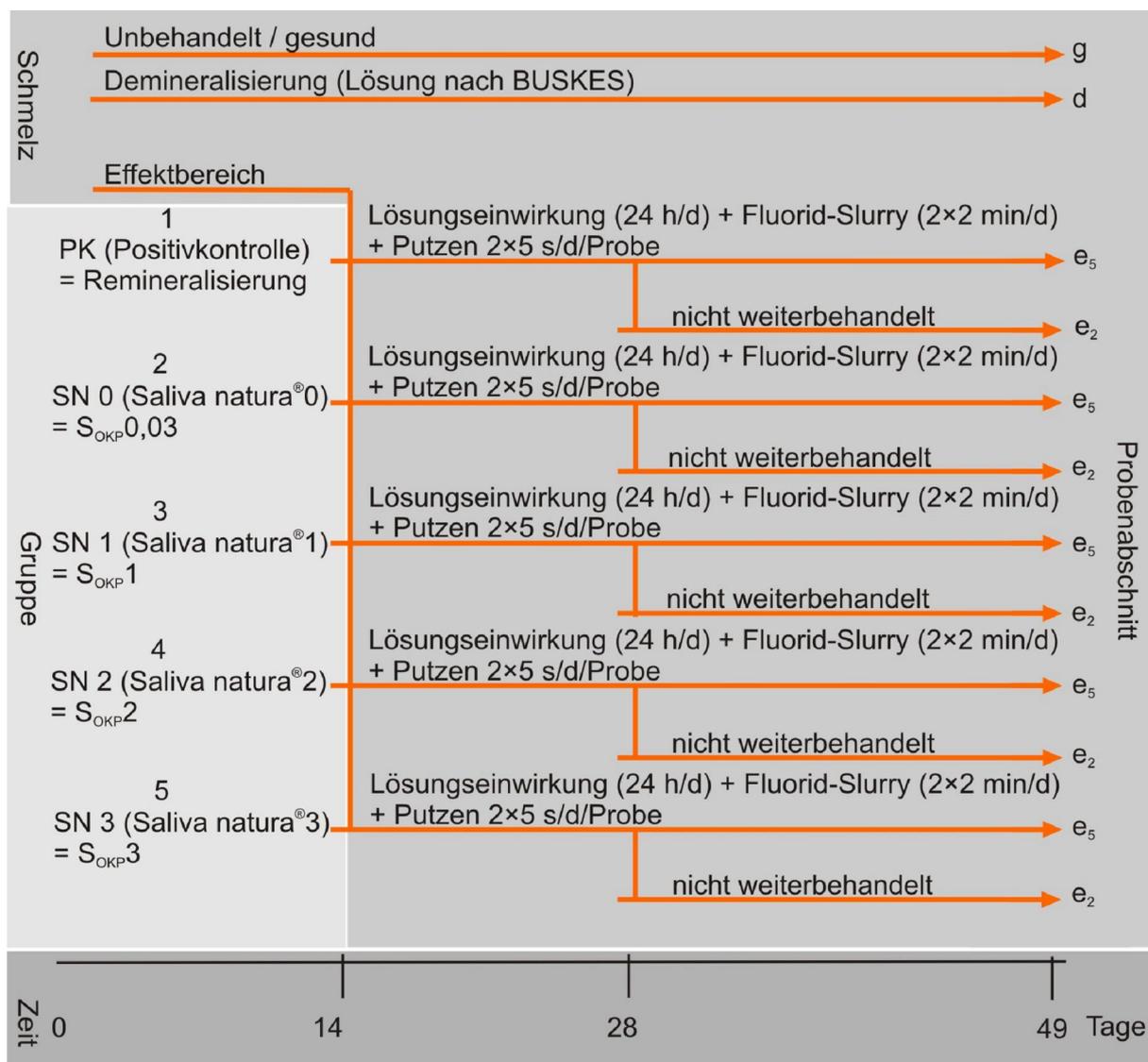


Abb. 3: Schematische Darstellung des Versuchsverlaufs der Schmelzproben.

Die Proben wurden über den jeweiligen Versuchszeitraum jeweils zweimal täglich zwei Minuten in ein Duraphatzahnpasta-Slurry eingelegt (Dentin) bzw. eingelegt und geputzt (Schmelz; Putzdauer je Probe 5 Sekunden, Gesamtputzdauer 2 Minuten). Das Slurry wurde als 1:3-Gemisch (EN ISO 11609) aus Duraphatzahnpasta und dem der Gruppe zugehörigen Speichelersatzmittel hergestellt (KIELBASSA *et al.* 2005). Als Kontrollbereich wurden je Probe zwei Abschnitte eines gesunden und nicht demineralisierten Bereichs (g) erhalten (s. Abb. 3 und 4).

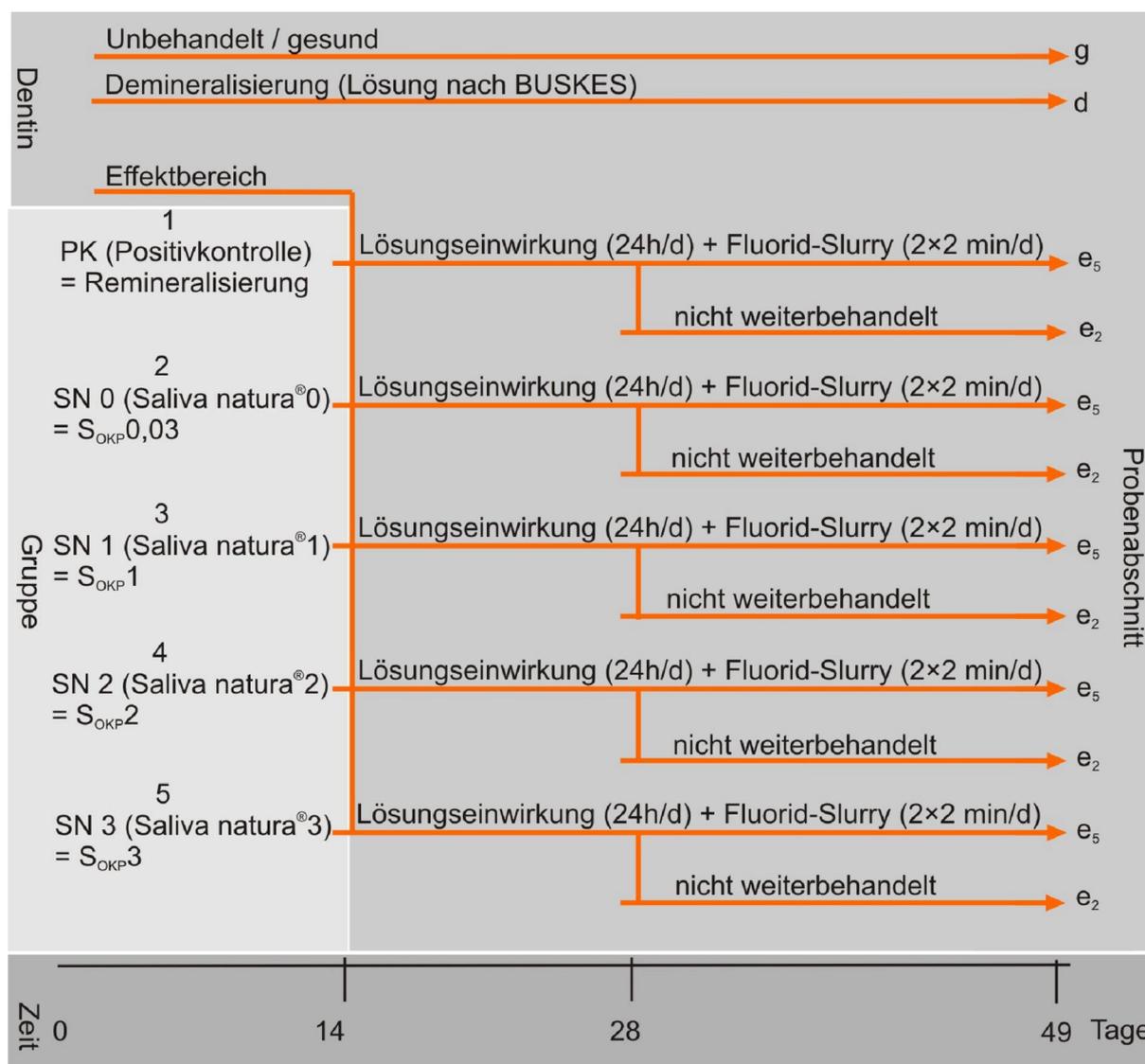


Abb. 4: Schematische Darstellung des Versuchsverlaufs der Dentinproben.

4.2 Versuchsvorbereitung

4.2.1 Herstellung und Vorbereitung der Proben

55 post mortem frisch extrahierte bovine Schneidezähne wurden vorsichtig gesäubert und bis zur weiteren Verarbeitung bei 37 °C (CRT Brutschrank Incubat;

Melag, Berlin, Deutschland) in 0,9 % Kochsalzlösung (NaCl-Lösung 0,9 %; DeltaSelect, Pfullingen, Deutschland) gelagert. Mit einer Bandsäge mit Wasserkühlung wurden jeweils vier Schmelzproben aus den Labialflächen und jeweils vier Dentinproben aus dem Zervikalbereich, Maße $4 \times 6 \text{ mm}^2$, Dicke circa 3 mm, herauspräpariert (Bandsäge Exact 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Für den Versuch wurden 100 Rinderschmelz- und 100 Rinderdentinproben erst mit 800er und dann mit 1200er Schleifpapier oberflächenbearbeitet und anschließend in Kunstharz (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) unter Zuhilfenahme von Silikonformen zu jeweils fünf Proben eingebettet. Die ausgebetteten Außenflächen des Technovit wurden mit 180er Schleifpapier, die Probenplättchenoberflächen mittels Poliermaschine (Umdrehungszahl 300 U/min Poliermaschine Phoenix Alpha; Buehler, Düsseldorf, Deutschland) und Schleifpapier (Schleifpapier: Körnung 1200, 2400, 4000; Exakt) aufsteigender Körnung unter geringem Substanzabtrag standardisiert und zur etablierten Oberfläche parallelisiert. Während sämtlicher Arbeitsschritte wurden die Proben ständig in Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) zwischengelagert. Im Anschluss an die Politur wurden zwei Bereiche der feinpolierten Probenoberflächen gemäß der Versuchsanordnung bereits vor der Demineralisation als gesunde Kontrollbereiche mit farbigem Nagellack (JetSet von Lóreal, Paris, Frankreich) und Pinselchen (123 A Sablon, Fa. Habico, Bechthofen, Deutschland) partiell abgedeckt. Die gesamte Reihenfolge beim Abdecken findet sich in der Abbildung 5.

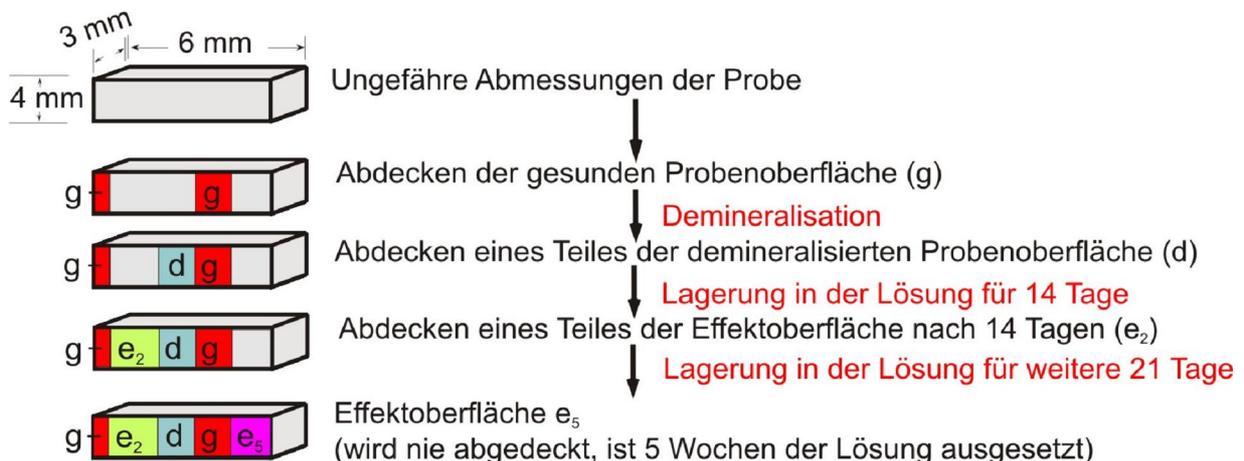


Abb.5: Herstellung der Schmelz- und Dentinproben.

4.2.2 Untersuchungsabfolge

Die Untersuchung umfasste folgende Parameter: Die Lagerung der durch Demineralisation vorbereiteten Proben in fünf nachfolgend beschriebenen Lösungen (Tab. VI) über fünf Wochen; parallel die Behandlung der eingelegten Proben zweimal täglich je zwei Minuten mit einem Fluoridzahnputza- Speichelersatzmittel-Slurry (Abb. 7) in- oder exklusive gleichzeitigem standardisierten Putzen (Schmelz: mit Putzen, 5s/ Probe; Dentin: ohne Putzen) mit einer weichen Zahnbürste (Meridol-Paro-Zahnbürste; Gaba, Lörrach, Deutschland) (Abb. 3 und 4); im Anschluss die Auswertung des Versuchs mittels Dünnschliffherstellung, Röntgen und Transversaler Mikroradiographie (TMR) der Schmelz- und Dentinproben.

4.2.3 Demineralisation

Es wurden zwei unterschiedliche Lösungen zur Demineralisation angesetzt: 5 l einer Demineralisationslösung nach Buskes für die Schmelzproben (Tab. IV), die als gesamte Gruppe eingelagert wurden (BUSKES *et al.* 1985), und 5 l einer Demineralisationslösung für das Dentin, modifiziert nach ten Cate (Tab. V), wobei immer zehn Proben auf 300 ml gerechnet und zusammen eingelegt wurden (TEN CATE *et al.* 1998). Begonnen wurde mit der Demineralisation für die Schmelzproben über vierzehn Tage. Nach sieben Tagen wurden auch die Dentinproben ebenfalls für sieben Tage in ihre jeweilige Lösung eingelegt. Alle Aufbewahrungsgefäße wurden während der Demineralisation bei 37 °C in einem Wärmeschrank (Wärmeschrank BR 6000; Heraeus, Hanau, Deutschland) gelagert.

Tab. IV: Zusammensetzung der Demineralisationslösung nach Buskes et al. (1985) für Schmelz

Stoff (Ansatz jeweils 5l)	Konzentration in mmol/l	Molare Masse in g/mol	Menge
CaCl ₂ 2H ₂ O	3	147,02	2,205 g
KH ₂ PO ₄	3	136,09	2,041 g
MHDP*	0,006	176,00	10 ml
Eisessig (CH ₃ COOH 100%)	50	60,05	15,012g = 14,30 ml
KOH 10M		56,11	ad pH 4,95 ca. 23ml
Aqua dest.		18	ad 5l

* MHDP (Methylendiphosphonsäure) Stammlösung: 52,8 mg MHDP auf 99,95g Aqua dest.

Tab. V: Zusammensetzung der modifizierten Demineralisationslösung für Dentin nach Ten Cate et al. (1998)

Lösung für 5 Liter mit 2 ppM auf pH 5,0	2 ppM / 0,0467 mM	
F ⁻	0,1 M Standardlsg.	0,53 ml
Ca ²⁺	2,2 mM CaCl ₂ ·2H ₂ O	1616,6 mg
PO ₄ ³⁻	2,2 mM KH ₂ PO ₄	1500 mg
CH ₃ COOH	50 mM Essigsäure	14,3 ml
KOH ad pH 5	10 M	ca. 23,5-24 ml

Der pH-Wert wurde täglich gemessen (pH-Meter CG 819; Schott, Hofheim, Deutschland). Für den Fall einer Abweichung vom pH-Wert 4,95 für Schmelz und vom pH-Wert 5,0 für Dentin wurde durch Zugabe von Milchsäure bei Erhöhung und KOH bei Erniedrigung korrigiert, um einen konstanten Wert beizubehalten. Nach der Entnahme aus der Buskes-Demineralisationslösung wurde ein weiterer Teil jeder Probenoberfläche erneut mit Nagellack abgedeckt (Kontrolle Demineralisation, siehe Abbildung 5) und dann über die mit Lack abgedeckten Bereiche aller Schmelzproben, die den gesunden, unbehandelten sowie den demineralisierten Teil darstellten, zusätzlich Tetric Flow (Ivoclar Vivadent, Ellwangen, Deutschland) aufgebracht und polymerisiert und bis zur weiteren Verwendung wieder in Kochsalzlösung gelagert. Die zusätzliche Abdeckung mit dem fließfähigen Kunststoff wurde als Abriebschutz der unberührten respektive demineralisierten gelackten Flächen während des Putzvorgangs vorgenommen. Von 16 eigens für diesen Zweck hinzugefügten Ausschussproben (Schmelz und Dentin) wurden zur Kontrolle des Demineralisationsvorgangs am vierzehnten Tag Dünnschliffe und Röntgenkontrollen angefertigt, die eine ausreichende Demineralisationstiefe von 95 - 100 µm zeigten.

4.2.4 Herstellung und Zusammensetzung der Versuchslösungen

Die Schmelz- und Dentinproben wurden in 5 Gruppen S1-S5 à 20 Proben (Schmelz) und 5 Gruppen D1-D5 à 20 Proben (Dentin) in Falcon-Röhrchen (Merck, Darmstadt) aufgeteilt. Fünf Lösungen wurden angesetzt, und zwar eine Remineralisationslösung, eine nicht-modifizierte Lösung Saliva natura-Speichelersatzmittel und drei Modifikationen von Saliva natura, und zwar mit ansteigenden Konzentrationen von CaCl₂ × 2H₂O, KH₂PO₄³ und K₂HPO₄³ (Tab. VI).

Tab. VI: Zusammensetzungen der verschiedenen Lösungen (g/l)

Lösungsnummer	Basis	AusgangspH-Wert	CaCl ₂ × H ₂ O	Phosphate		EndpH-Wert
				KH ₂ PO ₄	K ₂ PO ₄	
1	Saliva natura	5,8	---	---	---	5,8
2	Saliva natura 1	6,0	183,75 mg	180,88 mg	116,58 mg	6,0
3	Saliva natura 2	6,0	463,05 mg	456,96 mg	292,32 mg	
4	Saliva natura 3	6,0	837,90 mg	826,88 mg	528,96 mg	

Das Verhältnis der Phosphatpuffer (KH₂PO₄/K₂HPO₄) war nach Voruntersuchungen auf 1:2 berechnet und diente der Konstanthaltung der pH-Werte der experimentell modifizierten Lösungen auf 6,0. Das Ca/P-Verhältnis der Lösungen wurde auf 1:1,6 festgelegt und die Addition der entsprechenden Kalzium- und Phosphatkonzentrationen durch die Berechnung der Sättigungen (S_{OKP} 1-3) bei pH 6,0 bestimmt. Die gewünschten Sättigungen der einzelnen Lösungen bezüglich Dikalziumphosphatdihdrat (DKPD), Oktakalziumphosphat (OKP) und Hydroxylapatit (HA) wurden mit dem Programm nach Shellis berechnet (Tab. VII) (SHELLIS 1988). Eine weitere Beigabe war je 0,1 mM Fluorid zu allen experimentellen Lösungen (alle chemischen Präparate von Merck, Darmstadt, Deutschland). Die Proben lagerten in den einzelnen Lösungen bei 37 °C (CRT Brutschrank Incubat; Melag, Berlin, Deutschland), wobei die Lösungen alle sieben Tage neu angesetzt und erneuert wurden. Der pH-Wert der einzelnen Lösungen wurde alle zwei Tage kontrolliert.

Tab. VII: Berechnete Sättigungsgrade und Ionenkonzentrationen der einzelnen Lösungen

Lösung	Sättigung bezüglich einer wässrigen Lösung				pH-Wert	Ca/PO ₄ -Verhältnis	Konzentration der Ionen (mM)				
	DKPD	OKP	HAP	CaF ₂			Ca	PO ₄	F	K	Cl
Positivkontrolle	1,0	2,7	15,6	--	7,0	1/0,6	1,5	0,9	--	0,9	3
Saliva natura	0,01	0,03	0,09	0,2	5,8	1/0,7	0,03	0,02	0,003	--	--
Saliva natura 1	0,6	1	3,9	0,5	6	1/1,6	1,3	2,0	0,1	2,7	2,5
Saliva natura 2	1,4	2	7,7	0,7			3,2	5,1		6,7	6,3
Saliva natura 3	2,2	3	11,6	0,7			5,7	9,1		12,2	11,4

Wie in einer Vorgängerstudie wurden die Ionenkonzentrationen der originalen Saliva natura-Lösung ermittelt (TSCHOPPE *et al.* 2009a). Mittels einer ionenspezifischer Fluoridelektrode (Typ 96-09 BNC; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland) und einem automatischen Titrator (Orion Auto Chemistry System 960; Fisher Scientific) wurde der vorhandene Fluoridgehalt der Saliva natura-Originallösung bestimmt. 10 ml Saliva natura-Lösung wurden dazu mit TISAB II (Fisher Scientific) versetzt und ein Fluoridstandard (0,1 Molar; Fisher Scientific) verwendet. Für die Kalziumbestimmung mittels induktiv gekoppelter optischer Emissions-Spektrometrie (ICP OES) (Optima 2100 DV; Perkin-Elmer, Rodgau-Jügesheim) wurden jeweils 15 ml der Saliva natura-Lösung mit je 0,2 ml 65%iger Salpetersäure (Suprapur; Merck) angesäuert und filtriert (0,22 µm, Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland). Mittels der Anionen-Chromatographietechnik wurde die Phosphatkonzentrationen unter Verwendung eines Ionenchromatographen (761 Compact IC mit Autosampler; Metrohm, Filderstadt, Deutschland) gemessen. 15 ml der Saliva natura-Lösung wurden vor der Messung mit 0,3 ml Natriumcarbonat/Natriumhydrogenkarbonat Eluentkonzentrat (Merck) versetzt und filtriert (0,22 µm Filter; Carl Roth) (TSCHOPPE *et al.* 2009b).

Die gemessenen Konzentrationen an Kalzium, Phosphat und Fluorid der Originallösung Saliva waren wie folgt (TSCHOPPE *et al.* 2009a): Die Kalziumkonzentration belief sich auf 0,03 mM (0,01), die Phosphatkonzentration auf 0,02 mM (0,03) und die Fluoridkonzentration auf 0,003 mM (0,003; Tab. VII). Die modifizierten Lösungen mit den Sättigungen S_{OKP} 2 und 3 zeigten leichte Niederschläge; diese beeinträchtigten jedoch nicht die Applikation als Spray.

4.2.5 Herstellung des Zahnpasta-Slurrys

Für das Anmischen der fünf Slurrys wurden fünf 50 ml-Glasgefäße (Schott, Mainz, Deutschland) und für die Dosierung der Slurrykomponenten 5 ml- und 20 ml-Spritzen (Injekt Solo 5 ml/20 ml, Luer-Ansatz exzentrisch; B. Braun, Melsungen, Deutschland) benutzt. Für jede Schmelzgruppe wurde je eine Meridol-Paro-Zahnbürste (Gaba) zum Putzen verwendet. Alle Gefäße und benutzten Gegenstände wie Pinzetten und Behälter wurden nach jedem Gebrauch und bei jedem Flüssigkeitswechsel mittels Aqua destillata („Ampuwa“; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) und Einweghandtüchern gründlich gesäubert. Das Slurry wurde immer im Verhältnis 1:3 (5 ml Duraphat-Zahnpasta auf 15 ml Lösung) angemischt und homogen verrührt (Abb. 6.). Dieses Verhältnis ist in Übereinstimmung mit den Europäischen Standards zur Herstellung künstlicher Speichel/Zahnpasta-Slurrys (EN ISO 11609) (KIELBASSA *et al.* 2005).

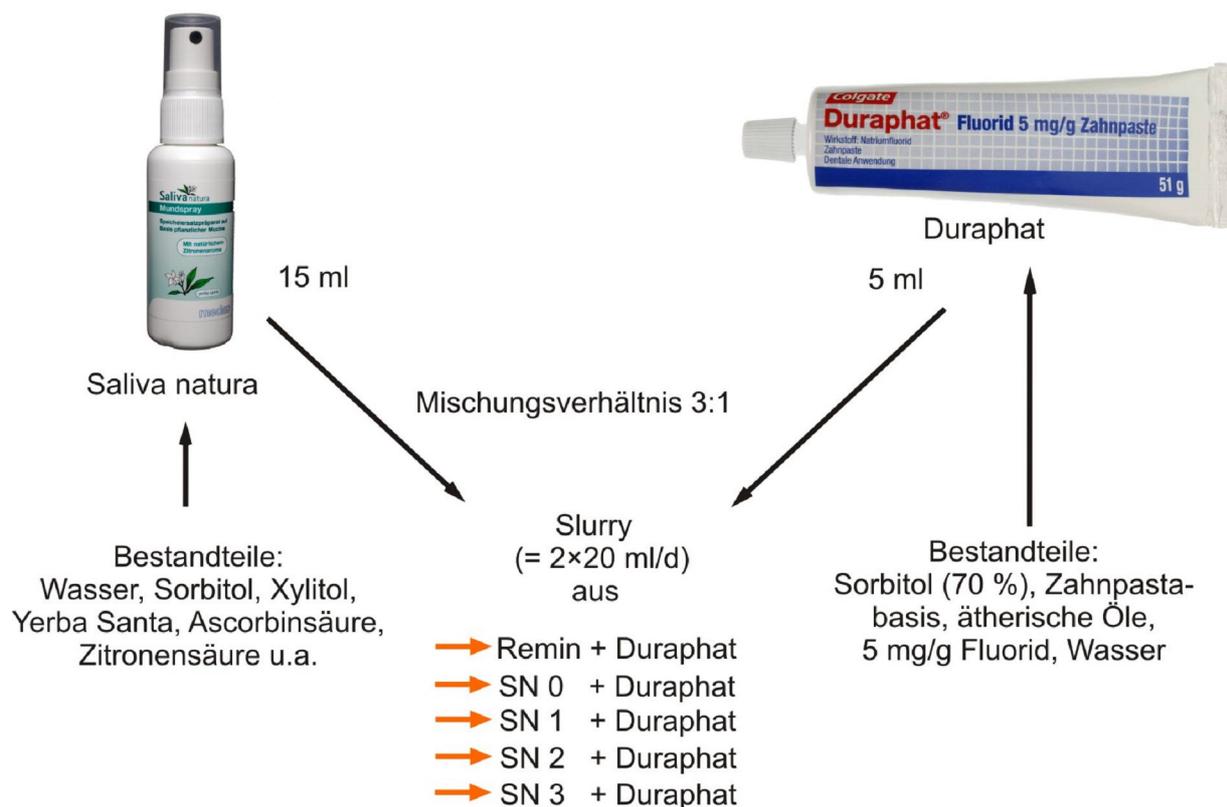


Abb. 6: Bestandteile und Zusammensetzung der Slurrys.

4.3 Versuchsdurchführung

Für die Durchführung des Versuchs wurden wöchentlich ca. 300 ml jeder einzelnen Lösung pro Schmelz- und pro Deningruppe benötigt; alle zwei Tage wurden die Flüssigkeiten der Falconröhrchen à 45 ml ausgetauscht und täglich zweimal 10 ml für das Slurry, das Gemisch aus der Duraphat-Zahnpasta und den Lösungen 1-5 (Abb. 6), verbraucht. Dazu wurden die Lösungen wöchentlich neu angesetzt, und in mit 1-5 gekennzeichneten lichtdichten Flaschen bei Raumtemperatur aufbewahrt. Die Proben in den zehn Falconröhrchen wurden immer nach dem gleichen Standard mit den Probenoberflächen nach außen und ohne Berührungskontakt der Oberflächen, bezeichnet mit S1, S2, S3, S4, S5, D1, D2, D3, D4, D5, konstant bei einer Temperatur von 37 °C im Brutschrank gelagert.

Für jede Gruppe je Reihe wurde ein gleich großes Rechteckbehältnis (Tupperware, Frankfurt a.M., Deutschland) zur Verwendung bereitgehalten, in das die fünf Riegel pro Reihe während der täglich zweimaligen Bearbeitung hineinpassten und dessen Höhe ausreichend war, um die eingelegten Probenblöcke mit Flüssigkeit zu benetzen und gleichzeitig alle Proben einzeln putzen zu können. Die Proben wurden dem Brutschrank und den Falconröhrchen entnommen, in das zugehörige Rechteckbehältnis eingelegt und mit Slurry bedeckt. Die Bearbeitung der Proben bestand darin, zweimal täglich regelmäßig alle 12 Stunden jede Reihe der

Schmelz- und Dentinproben für zwei Minuten in das mit dem jeweiligen Slurry befüllten Rechteckbehältnis einzulegen und zusätzlich dazu die sich in ihrem jeweiligen Slurry befindlichen Schmelzproben einzeln, Probe für Probe, jeweils fünf Sekunden manuell mit der Meridol-Paro-Zahnbürste, drucklos und benetzt mit Slurry, sanft zu putzen. Die Dentinproben wurden parallel dazu für zwei Minuten eingelegt, aber nicht geputzt. Auf diese Weise wurde der Effektbereich 2 (e2) nach 14 Versuchstagen erzielt. Nach diesen 14 Tagen unter dieser Behandlung wurden sämtliche Proben nun wiederum mit Nagellack und Tetric Flow (Ivoclar Vivadent) teilabgedeckt (Abb. 7). Anschließend wurde der Versuch nochmals 21 Tage so wie zuvor beschrieben fortgesetzt. Der den Versuchsbedingungen dadurch insgesamt 35 Tage exponierte Bereich bekam die Bezeichnung Effektbereich 5 (e5) und blieb die gesamte Zeit über unabgedeckt (Abb. 3 und 4).

4.4 Transversale Mikroradiographie

Mittels der transversalen Mikroradiografie kann zerstörungsfrei der Mineralverlust einer Probe (Mineralverlust, ausgedrückt in Vol.% \times μm) und die Läsionstiefe (Läsionstiefe, ausgedrückt in μm) bestimmt werden.

Die zu untersuchenden Proben unterteilten sich in fünf Bereiche: In den Kontrollbereich (gesunder Bereich, zweimal vorhanden), die demineralisierte Oberfläche und die zwei den Lösungen ausgesetzten Bereiche, die Effektbereiche 2 und 5. Die mikroradiographische Darstellung der Kontrollbereiche zeigte den Mineralgehalt der intakten, unbehandelten Probenoberfläche (gesund) und diente als Grundlage zur Berechnung von Mineralverlust und Läsionstiefe. Die drei weiteren mikroradiografischen Bereiche wurden ebenso bei jeder Probe erfasst, um den jeweiligen Mineralverlust und die Läsionstiefe für den gesunden und den demineralisierten Bereich und die Effektbereiche 2 und 5 miteinander zu vergleichen.

4.4.1 Bearbeiten der Proben für die Mikroradiographie

Die auf den Probenblöcken zu fünft angeordneten Proben wurden in Einzelproben zersägt, die einzelnen Proben für die TMR (Transversale Mikroradiographie)-Aufnahmen und deren anschließender Auswertung an Mikroskop und PC senkrecht in zwei prinzipiell spiegelgleiche Längshälften geteilt (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt). Die eine Hälfte wurde zur Auswertung weiterbearbeitet und die andere getrennt unbearbeitet aufbewahrt, um für eventuelle Nachschliffe zur Verfügung zu stehen. Die weiterzubearbeitende erste Hälfte der Proben wurde poliert (Körnung 4000), zu vier Proben nebeneinander mit der polierten Oberfläche nach unten auf einen Objektträger aus Plexiglas (Diaplust, Oststeinbeck, Deutschland) aufgeklebt (Sekundenklebers UHU; Bühl, Deutschland), in dieser Position auf ca. 500 μm abgesägt (Bandsäge Exakt 300 cl; Exakt) und anschließend unter ständiger Wasserkühlung per Dünnschliffverfahren auf 100 μm feingeschliffen. Die

Vorschubkraft des Probestisches war dabei auf 50 g, die Schnittgeschwindigkeit der Säge auf 200 m/min eingestellt. Somit erhielt man zwei planparallele hochglanzpolierte Seiten, die nach ihrer Ablösung vom Objektträger für die TMR-Aufnahme präpariert waren. Nach der Fixierung im dafür notwendigen TMR-Probenhalter erfolgte die TMR-Aufnahme jeder einzelnen Probe und anschließend ihre Auswertung an Mikroskop und PC.

In Anlehnung an frühere Studien wurde die definitive Parallelisierung und Glättung der Proben (KIELBASSA *et al.* 1999b) mit einem gewässerten Schleifpapier (Körnung 1200, 2400 und 4000) in einer Mikroschleifapparatur (Exakt Mikroschleifsystem; Exakt) vorgenommen. Die Dicke der Proben wurde mit einem digitalen Mikrometer bei einer Genauigkeit von 0,001 mm überprüft (Digimatic Bügelmessschraube; Mitutoyo, Kawasaki, Japan). Die definitive Schliffdicke der Probenschliffe betrug 100 μm (Abb. 7). Während der Herstellung der Dünnschliffe wurden jeweils Einzelproben mancher Reihen zerstört, so dass eine Festlegung auf 16 Proben pro Reihe für die nachfolgende Auswertung erfolgte.

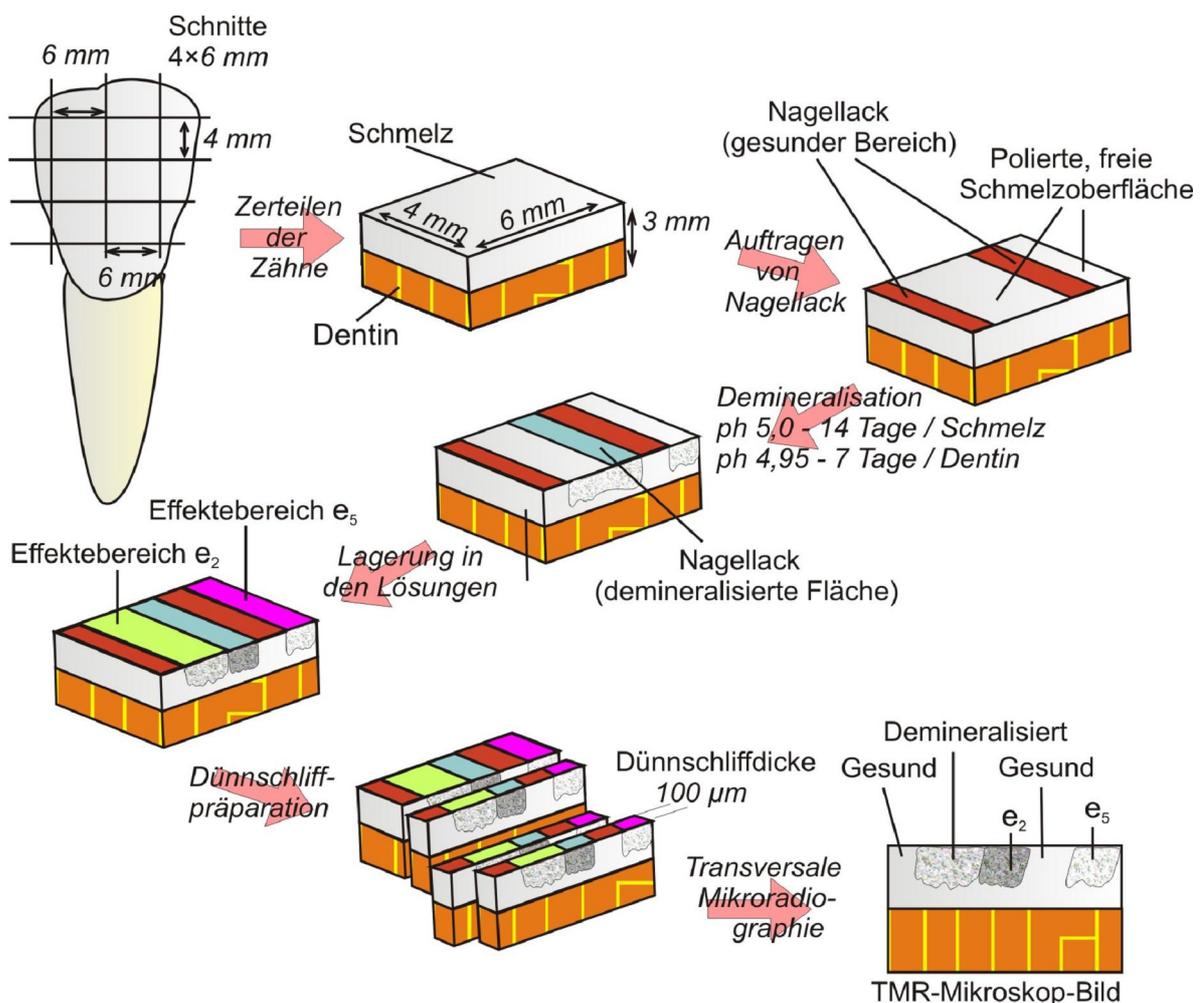


Abb.7: Schematische Darstellung der Dünnschliffherstellung.

4.4.2 Herstellung der Mikroradiogramme

Die vorbereiteten Dünnschliffe wurden von Kunstharzresten im Randbereich befreit und auf Probenhaltern (TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland) fixiert.

Die Schmelz- oder Dentinproben wurden anschließend auf einzelnen Probenhaltern in die Röntgenröhre eines speziellen Röntgenstrahlengenerators (PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande) montiert. Die sich in dem Probenhalter befindliche Probe wurde zunächst mit Druckluft vorsichtig getrocknet. Zum Schutz vor Austrocknung und zur Vermeidung einer Schrumpfung des Dentins wurden die Dentinproben vor dem Einlegen in den Probenträgerhalter mit Ethylenglycol (Ethylenglycol 99 %; Sigma, Steinheim, Deutschland) benetzt (RUBEN *et al.* 1993).

Für frühere Studien waren folgende Einstellungsparameter des Generators evaluiert worden: Die Schmelzproben wurden einem Röhrenstrom von 20 mA, die Dentinproben einem Röhrenstrom von 15 mA ausgesetzt, beides bei einer Röhrenspannung von 20 kV und einer Belichtungszeit von 10 Sekunden.

In Gehäuse der Kamera befand sich eine auf Filmhöhe montierte Aluminium-Eichtreppe für transversale Mikroradiogramme, rechts davon ein Aluminiumschlitten zur Aufnahme der TMR-Probenhalter. Ein spezieller hochempfindlicher, hochauflösender holografischer Spezialfilm (high speed holographic film; Kodak SO 253; Stuttgart, Deutschland) wurde für die Erstellung der Mikroradiographien verwendet; dieser wurde in einer lichtundurchlässigen Kassette auf eine handelsübliche Filmrolle manuell aufgespult. Der unbelichtete Film auf der Filmrolle wurde dann in das Kameragehäuse eingelegt, anschließend der Probenträgerhalter in den Aluminium (Al)-Schlitten eingelegt, bis zum Anschlag eingeschoben und die Kamera geschlossen. Die Probenoberfläche war zum Film parallel ausgerichtet. Der TMR-Probenhalter samt Probe wurde zusammen mit der Al-Eichtreppe durch Röntgenstrahlung auf den hochauflösenden Film projiziert. Die Röntgenstrahlen wurden dafür in einer vertikal montierten Röntgenröhre (PW 1730; Phillips, Kassel, Deutschland) von einer Kupferanode mit Nickelfilterung emittiert.

Für die Aufnahmen wurde ein spezielles Kameragehäuse verwendet, das an die „Objektivseite“ des Röntgentubus vom Röntgengenerator gekoppelt war. Die Probe war auf diese Weise während der mikroradiografischen Aufnahmen in Beziehung zur Aluminiumeichtreppe in einer exakten Position. Bei geschlossenem Kameragehäuse wurde der Al-Schlitten mit eingelegtem Film entnommen und die Probe anschließend gewechselt. Die Al-Eichtreppe hatte den Zweck der Kalibrierung des Computers für die Auswertung der mikroradiografischen Filme. Der Film wurde nach jeder Aufnahme bei geschlossenem Kameragehäuse weitergedreht. Die

Proben wurden nach dem Röntgen in Kochsalzlösung aufbewahrt, um sie vor dem Austrocknen zu schützen.

4.4.3 Auswertung der Mikroradiogramme

Die Auswertung der Mikroradiogramme erfolgte mit dem Programm Transversal Micro Radiography (TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande).

Nachdem die Spezialfilme entwickelt waren, wurden die Aufnahmen einzeln mit einem Durchlichtmikroskop (Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an das eine Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Japan) angeschlossen war, untersucht. Mittels des verwendeten TMR-Programmes können die Läsionstiefe und der Mineralverlust jedes Bereiches aus den mikroradiographischen Einzelaufnahmen berechnet werden.

4.5 Statistische Auswertung

Die Statistik wurde mittels der SPSS Software (Version 11.5.1.; SPSS, München, Deutschland) erstellt. Die Bezeichnungen der verschiedenen Probenabschnitte lauteten: gesund: ΔZ_G , Lt_G ; demineralisiert: ΔZ_{Demin} , Lt_{Demin} ; Lagerung für zwei und fünf Wochen: $\Delta Z_{Effekt2}$, $Lt_{Effekt2}$ bzw. $\Delta Z_{Effekt5}$, $Lt_{Effekt5}$. Die effektiven Mineralverluste und Läsionstiefen $\Delta\Delta Z_{Effekt2}$ und $\Delta\Delta Z_{Effekt5}$ bzw. $\Delta Lt_{Effekt2}$ und $\Delta Lt_{Effekt5}$ berechneten sich aus der Differenz der Mineralverluste respektive Läsionstiefen nach Demineralisation abzüglich der Mineralverluste respektive Läsionstiefen nach Lagerung in den einzelnen Lösungen. Die mikroradiographisch erfassten Mineralverluste und Läsionstiefen der demineralisierten Schmelz- und Dentinbereiche und der den unterschiedlichen Lösungen ausgesetzten Bereiche wurden um die Ausgangswerte der Mineralverluste und Läsionstiefen im Gesunden korrigiert. Danach erfolgte die Berechnung der effektiven Mineralverluste und Läsionstiefen ($\Delta\Delta Z_{Effekt2}$ und $\Delta\Delta Z_{Effekt5}$ bzw. $\Delta Lt_{Effekt2}$ und $\Delta Lt_{Effekt5}$). Ein positiver $\Delta\Delta Z$ - oder ΔLt -Wert bedeutete, dass in der entsprechenden Gruppe ein Mineralgewinn eingetreten ist. Negative Werte zeigten einen Mineralverlust an. Die Prüfung der Normalverteilung erfolgte mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test. Die Werte wurden der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen. Bei Auftreten einer Signifikanz erfolgten die Vergleiche der Gruppen untereinander mit dem post-hoc Test nach Tukey. Die Veränderungen der Mineralverluste und Läsionstiefen nach Demineralisation und die Mineralverluste/Läsionstiefen nach Lösungseinwirkung wurden im Falle einer ermittelten Signifikanz innerhalb einer Gruppe mit dem gepaarten t-Test (Bonferroni, Korrektur um den Faktor 5) verglichen. Die Festlegung des Signifikanzniveaus war jeweils 5 %.

5 Ergebnisse

5.1 Quantitative Auswertung

Die morphologische Analyse der Mikroradiogramme ergab, dass alle *in vitro* demineralisierten und remineralisierten Proben künstliche Läsionen mit einer pseudointakten Oberflächenschicht zeigten, die stärker mineralisiert war als der Läsionskörper selbst. Schrumpfungen der demineralisierten Dentinbereiche konnten bei der TMR-Auswertung nicht ermittelt werden.

Es wurden fünf Schmelzgruppen und fünf Dentingruppen zu je 16 Proben ausgewertet. Aufgeführt sind die Messergebnisse der demineralisierten und den verschiedenen Lösungen über die unterschiedlichen Zeiträume ausgesetzten Bereiche der Schmelz- und Dentinproben sowie die Mineralverluste und Läsionstiefen der einzelnen Gruppen. Für alle zehn Gruppen wurde die Anzahl der zusammengefassten Einzelmessungen auf je 16 Proben pro Gruppe festgelegt, da einzelne Proben bei der Dünnschliffherstellung in den Gruppen verlorengegangen waren. Die Resultate bei den Schmelzproben schlossen neben der Lagerung in der entsprechenden Lösung auch die Bearbeitung der Probenoberflächen mittels Putzen mit dem entsprechenden Duraphat-Lösungs-Slurry ein. Die Effektbereiche der Schmelzproben zeigten in der Folge in allen fünf Gruppen bei fast allen Proben Erosionen. Bei den Dentinproben wurden die Resultate nach Lagerung in den entsprechenden Lösungen und Einlegen in die daraus hergestellten Slurrys, hier jedoch ohne den Vorgang des Putzens, ermittelt.

5.1.1 Schmelz

Mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test wurde bei den untersuchten Gruppen eine normalverteilte Grundgesamtheit festgestellt ($p > 0,05$; Kolmogorov-Smirnov-Test). Alle den Läsionen direkt benachbarten Kontrollbereiche erwiesen sich als annähernd gesund [Mineralverlust (Mittelwert = MW; Standardabweichung = SD): MW (SD): 391 (131) Vol % \times μm ; Läsionstiefe: MW (SD): 15 (7) μm]. Der korrigierte mittlere Mineralverlust nach der Erzeugung kariesähnlicher Läsionen mit pseudointakter Oberflächenschicht (Demineralisation) $\Delta Z_{\text{Demin k}}$ betrug MW (SD): 3839 (929) Vol % \times μm ; die korrigierte mittlere Läsionstiefe L_{k} nach Demineralisation betrug 117 (23) μm . Die Unterschiede zwischen den Ausgangswerten nach Demineralisation waren zwischen den Gruppen der Schmelzproben nicht signifikant ($\Delta Z_{\text{Demin}} p = 0,807$; $L_{\text{Demin}} p = 0,304$; ANOVA).

Vergleich der Gruppen untereinander:

Beim Vergleich der Gruppen (verschiedene Oktakalziumphosphatsättigungen = SN 1-3, Originallösung = SN 0 und Positivkontrolle = PK) zeigten sich signifikante Unterschiede in Bezug auf Mineralgehalt und Läsionstiefen zwischen den Gruppen.

Mineralverluste:

Nach zwei Wochen bestanden hinsichtlich des Mineralverlustes keine signifikanten Unterschiede zwischen der PK und den Gruppen SN 0, SN 1 und SN 2 ($p > 0,05$; Tukey; Abb.8), jedoch führte PK zu einem signifikant größeren Mineralverlust als SN 3 nach zwei und fünf Wochen ($p < 0,001$; $p < 0,001$). SN 0 und SN 1 zeigten nach fünf Wochen signifikant höhere Mineralverluste im Vergleich zu SN 3 ($p < 0,05$). SN 2 und SN 3 unterschieden sich nach zwei Wochen nicht signifikant ($p > 0,05$). SN 3 verursachte im Vergleich zu allen anderen Lösungen signifikant niedrigere $\Delta\Delta Z_{\text{Effekt5}}$ -Werte ($p < 0,05$).

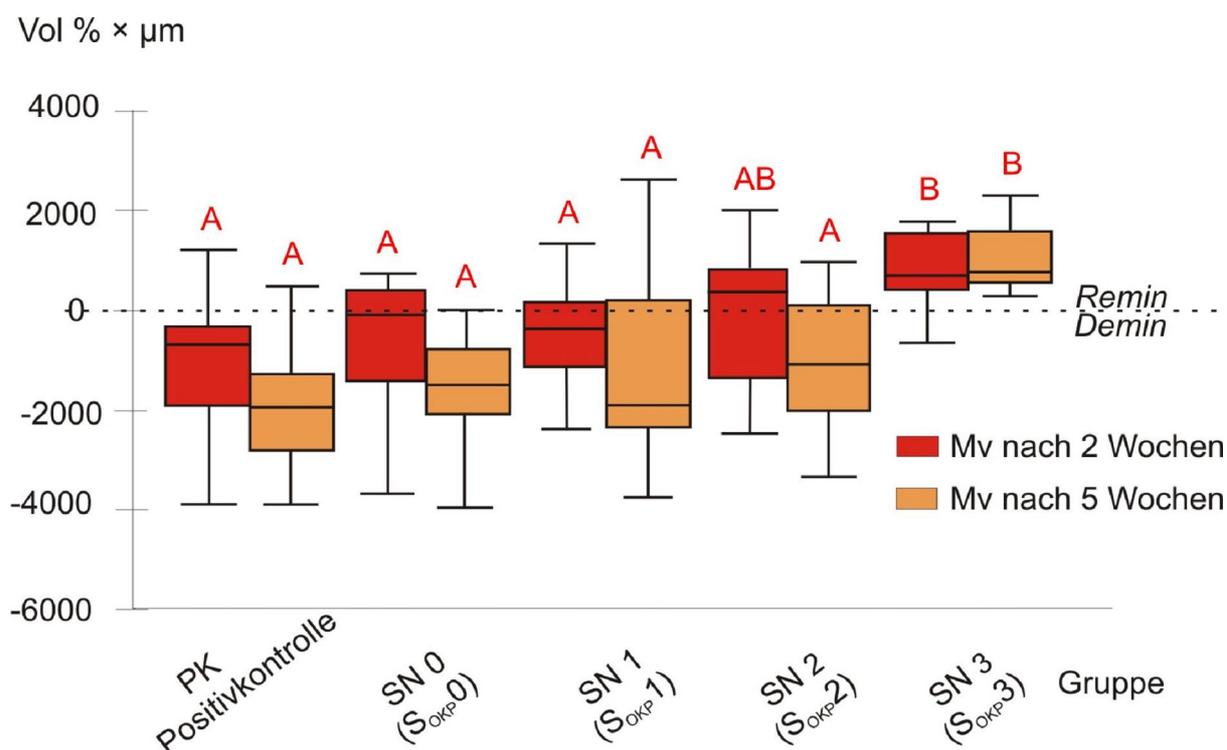


Abb. 8: Effektive Mineralverluste [$\Delta\Delta Z$, Vol. % \times μm] der demineralisierten Schmelzproben nach zwei (rot, Großbuchstaben) und fünf Wochen (orange, Kleinbuchstaben) Lagerung in den unterschiedlichen Lösungen [PK (Positivkontrolle), SN 0-3 (Saliva natura S_{OKP} 0-3); Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervalle]. Positive Werte bedeuten eine Reduktion des Mineralverlustes (entsprechend Remineralisation der Proben). Innerhalb der jeweiligen Lagerungszeit unterscheiden sich Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben signifikant voneinander ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey).

Läsionstiefen:

Nach zweiwöchiger Lagerung bestanden bezüglich der Läsionstiefe signifikante Unterschiede zwischen der Positivkontrolle und SN 3 ($p < 0,05$; Tukey): SN 3 zeigte signifikant geringere ΔL_t -Werte als die PK ($p < 0,009$). Keine signifikanten

Unterschiede bestanden zwischen SN 0, SN 1 und SN 2 ($p > 0,05$); alle Aussagen treffen auch für die fünfwöchige Lagerung zu (Abb. 9).

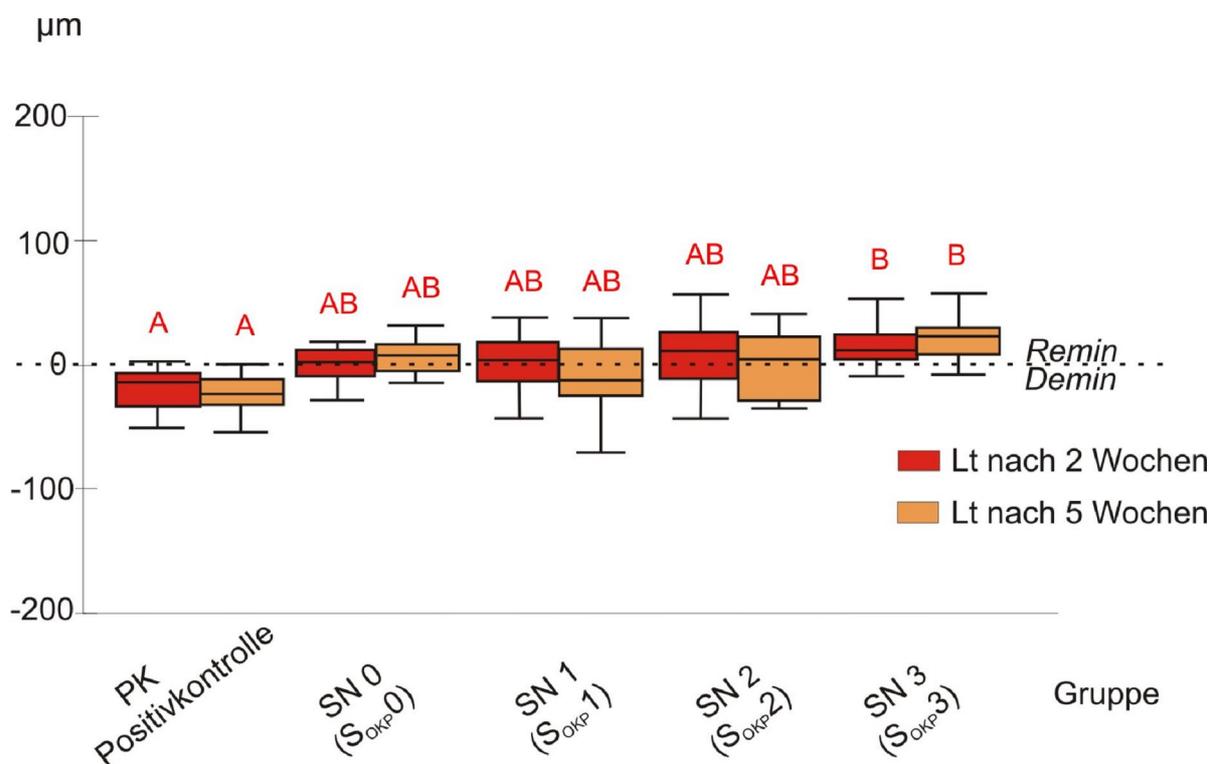


Abb. 9: Effektive Läsionstiefen [ΔLt , μm ; 2 Wochen (rot, Großbuchstaben) und 5 Wochen (orange, Kleinbuchstaben) Lagerung] der in den unterschiedlichen Lösungen [PK (Positivkontrolle), SN 0-3 (Saliva natura S_{OKP} 0-3); Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervalle] gelagerten demineralisierten Schmelzproben. Positive Werte bedeuten eine Reduktion der Läsionstiefe. Innerhalb der jeweiligen Lagerungszeit unterscheiden sich Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben signifikant voneinander ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey).

Vergleich innerhalb der Gruppen (gepaarter t-Test):

Mineralverluste:

Nach zweiwöchiger Lagerung ergaben sich innerhalb der Gruppen SN 0, SN 1 und SN 2 keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den Demineralisationswerten ($p > 0,05$; Bonferroni; Tab. VIII). SN 3 verzeichnete gegenüber den Werten nach der Demineralisation eine signifikante Abnahme des $\Delta Z_{\text{Effekt}2}$ -Wertes; die Positivkontrolle zeigte einen signifikanten Anstieg von $\Delta Z_{\text{Effekt}2}$ ($p < 0,05$).

Die Originallösung SN 0 zeigte nach fünf Wochen signifikant höhere $\Delta Z_{\text{Effekt}5}$ -Werte ($p < 0,025$). Bei der dreifach übersättigten SN 3 hat nach fünfwöchiger

Lagerung der $\Delta Z_{\text{Effekt5}}$ -Wert im Vergleich zu den $\Delta Z_{\text{Effekt2}}$ -Werten weiter signifikant abgenommen ($p < 0,005$); für die Positivkontrolle fanden sich signifikant erhöhte $\Delta Z_{\text{Effekt5}}$ -Werte ($p < 0,005$; Tab. VIII).

Tab. VIII: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Mineralverluste (Vol % \times μm) der Schmelzproben nach Demineralisation und Lagerung in den verschiedenen Lösungen. Signifikante Unterschiede zwischen den Mineralverlusten nach Demineralisation und denen nach Lagerung in den Lösungen sind rot schraffiert [$p < 0,05$, gepaarter t-Test (Bonferroni)]

Gruppe	Lösung	ΔZ demin MW (Stabw.)	$\Delta Z e_2$		$\Delta Z e_5$	
			MW (Stabw.)	p	MW (Stabw.)	p
1	PK	3974 (1207)	A 5196 (1804)	0,03	A 5828 (1820)	0,0005
2	SN 0 ($S_{\text{OKP}0}$)	3796 (746)	A 4415 (1628)	0,435	A 5238 (1890)	0,025
3	SN 1 ($S_{\text{OKP}1}$)	4026 (747)	A 4576 (1502)	0,69	A 5164 (2092)	0,185
4	SN 2 ($S_{\text{OKP}2}$)	3736 (979)	AB 3930 (924)	1	A 4808 (1255)	0,055
5	SN 3 ($S_{\text{OKP}3}$)	3666 (964)	B 2826 (1055)	0,0005	B 2683 (907)	0,0005

Läsionstiefen:

Nach zwei und fünf Wochen veränderten sich die Läsionstiefen im Vergleich zu den Werten nach der Demineralisation innerhalb der Gruppen SN 0, SN 1 und SN 2 nicht signifikant ($p > 0,05$; Bonferroni; Tab. IX). Auch in SN 3 veränderten sich $L_{\text{Effekt 2}}$ und $L_{\text{Effekt 5}}$ nicht signifikant ($p > 0,05$), erreichten aber die niedrigsten Werte aller Gruppen. Die Positivkontrolle zeigte eine signifikante Zunahme der Läsionstiefen ($p < 0,01$) $L_{\text{Effekt 2}}$ zu $L_{\text{Effekt 5}}$ (Tab. IX).

Tab.IX: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Läsionstiefen (μm) bei Schmelz nach Demineralisation und Lagerung in den verschiedenen Lösungen. Signifikante Unterschiede zwischen den Mineralverlusten nach Demineralisation und denen nach Lagerung in den Lösungen sind rot schraffiert [$p < 0,05$, gepaarter t-Test (Bonferroni)]

Gruppe	Lösung	Lt demin MW (Stabw.)	Lt e ₂		Lt e ₅	
			MW (Stabw.)	p	MW (Stabw.)	p
1	PK	110 (24)	A 132 (35)	0,01	A 135 (31)	0,01
2	SN 0 (S _{OKP0})	122 (21)	AB 128 (56)	1	AB 118 (41)	1
3	SN 1 (S _{OKP1})	126 (17)	AB 128 (30)	1	AB 137 (37)	1
4	SN 2 (S _{OKP2})	113 (26)	AB 107 (18)	1	AB 113 (20)	1
5	SN 3 (S _{OKP3})	115 (28)	B 100 (27)	0,2	B 94 (28)	0,08

5.1.2 Dentin

Die den Dentinläsionen benachbarten gesunden Kontrollbereiche wiesen im Mittel einen Mineralverlust (SD) von 276 (90) Vol % \times μm und eine Läsionstiefe (SD) von 36 (11) μm auf.

Der korrigierte mittlere Mineralverlust nach der Demineralisation $\Delta Z_{\text{Demin } k}$ betrug 2454 (MW) (532) (SD) Vol % \times μm und die korrigierte mittlere Läsionstiefe nach Demineralisation (Lt_k) betrug 123 (33) μm . Die Unterschiede zwischen diesen Ausgangswerten nach Demineralisation waren zwischen den Gruppen nicht signifikant ($\Delta Z_{\text{Demin } p} = 1,0$; Lt_{Demin} $p = 0,927$; ANOVA).

Vergleich der Gruppen untereinander:

Mineralverluste :

Beim Vergleich der Gruppen (verschiedene Oktakalziumphosphat-übersättigungen = SN 1-3, Originallösung = SN 0 und Positivkontrolle = PK) zeigten sich signifikante Unterschiede in Bezug auf Mineralgehalt und Läsionstiefen zwischen den Gruppen.

Nach zwei Wochen unterschied sich SN 0 signifikant von SN 2, SN 3 sowie der Positivkontrolle ($p < 0,05$; Tukey; Abb. 10), diese drei wiesen gegenüber SN 0 jeweils eine signifikante Abnahme des Mineralverlustes auf ($p < 0,001$); SN 2 und SN 3 unterschieden sich untereinander nicht signifikant ($p > 0,05$). PK und SN 3 unterschieden sich signifikant voneinander ($p < 0,05$); die PK verzeichnete eine signifikant höhere Abnahme des Mineralverlustes gegenüber SN 3 (signifikant niedrigere $\Delta\Delta z_{\text{Effekt2}}$ -Werte; $p < 0,001$). Die Unterschiede zwischen SN 0 und SN 1 waren nicht signifikant ($p > 0,05$; Tukey). SN 0 zeigte weder Zu- noch Abnahme des Mineralverlustes, SN 1 hingegen zeigte eine Abnahme des Mineralverlustes, die jedoch nicht signifikant war ($p > 0,525$). Nach fünf Wochen unterschieden sich SN 0 von SN 1 signifikant voneinander sowie SN 1 von SN 2 ($p < 0,05$). SN 0 unterschied sich signifikant von allen anderen Gruppen; dabei zeigte es die höchsten $\Delta\Delta z_{\text{Effekt5}}$ -Werte ($p < 0,001$). PK und SN 3 unterschieden sich nach fünf Wochen nicht mehr signifikant voneinander ($p > 0,05$), ebenso nicht SN 2 und SN 3 ($p > 0,05$).

Vol % \times μm

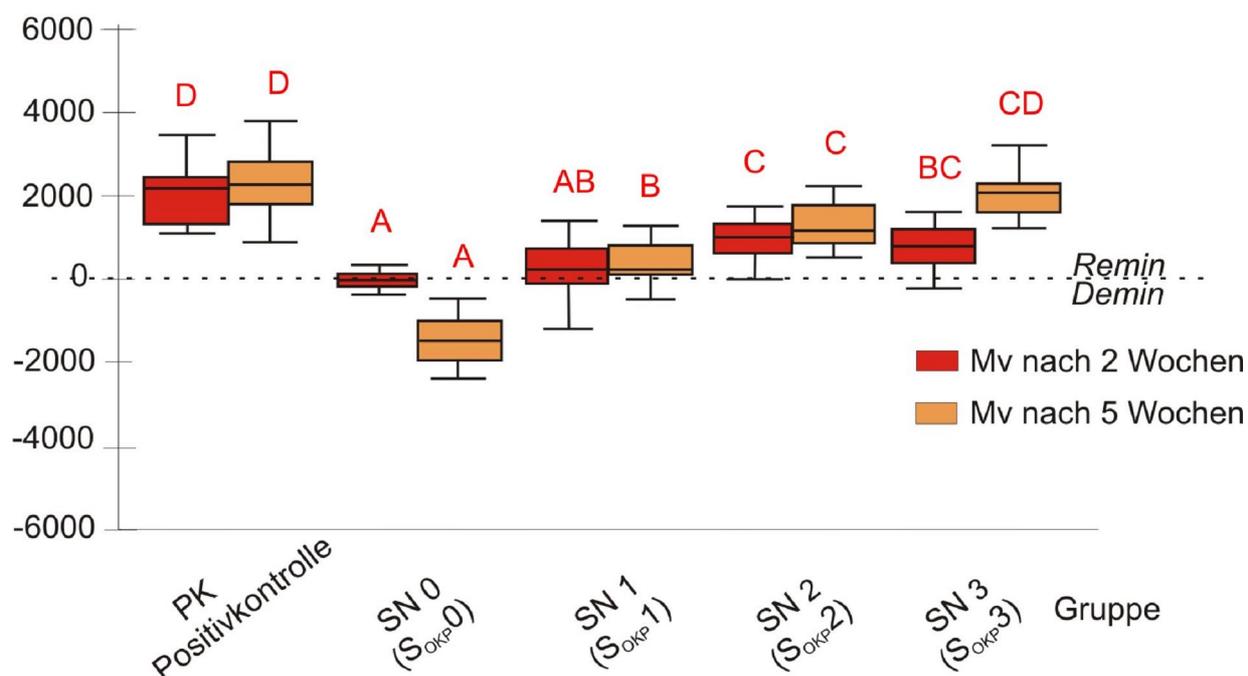


Abb. 10: Effektive Mineralverluste [$\Delta\Delta Z$, Vol. % \times μm] der demineralisierten Dentinproben nach zwei (rot, Großbuchstaben) und fünf Wochen (orange, Kleinbuchstaben) Lagerung in den unterschiedlichen Lösungen [PK (Positivkontrolle), SN 0-3 (Saliva natura S_{OKP} 0-3); Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervalle]. Positive Werte bedeuten eine Reduktion des Mineralverlustes (entsprechend Remineralisation der Proben). Innerhalb der jeweiligen Lagerungszeit unterscheiden sich Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben signifikant voneinander ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey).

Läsionstiefen:

In Bezug auf die Läsionstiefen bestanden nach zwei Wochen keine signifikanten Unterschiede zwischen SN 0, SN 1, SN 2 und SN 3 ($p > 0,05$; Tukey; Abb. 11). Die $\Delta Lt_{\text{Effekt2}}$ -Werte in der Positivkontrolle und SN 3 verringerten sich signifikant ($p < 0,001$). Nach fünf Wochen bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der PK und SN 3, ebenfalls kein signifikanter Unterschied bestand zwischen SN 1 und SN 2 sowie zwischen SN 2 und SN 3 ($p > 0,05$). SN 0 unterschied sich signifikant von allen anderen Gruppen ($p < 0,05$), SN 0 zeigte dabei signifikant höhere ΔLt -Werte als PK, SN 1, SN 2, SN 3 ($p < 0,001$; $p < 0,007$; $p < 0,001$; $p < 0,001$).

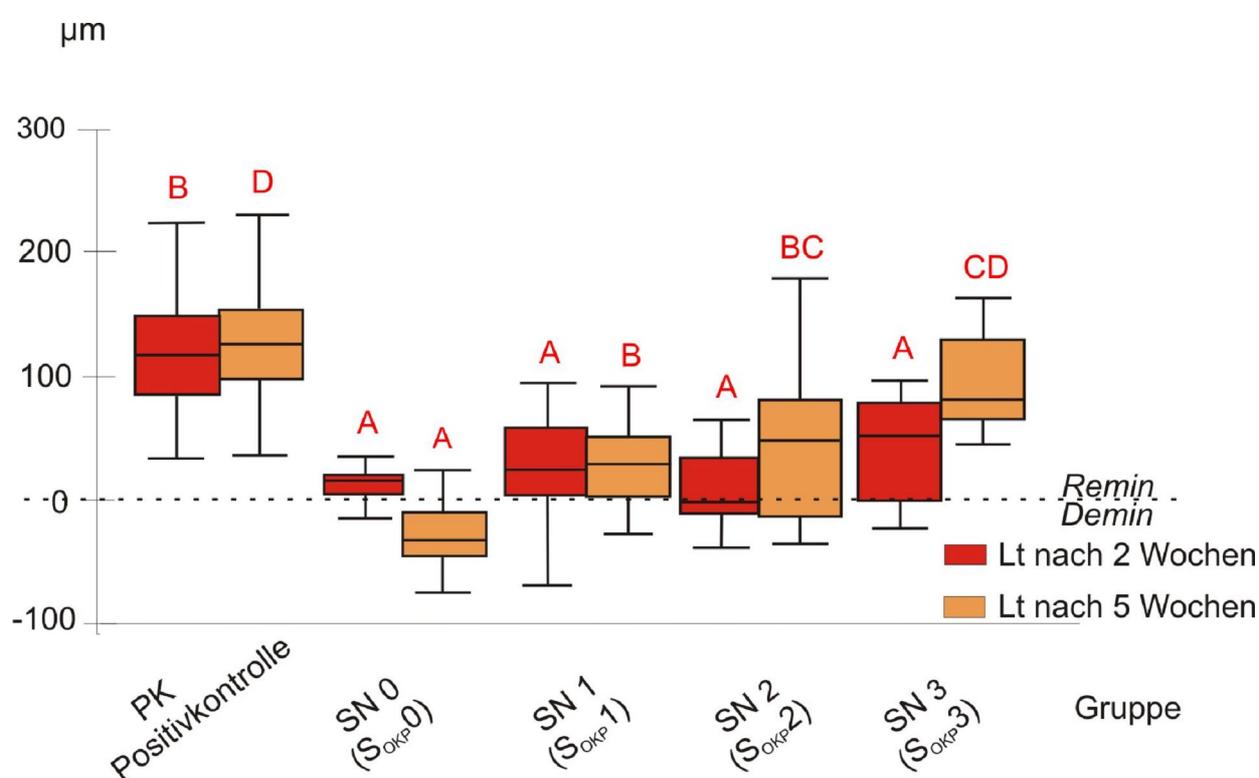


Abb. 11: Effektive Läsionstiefen [ΔLt , μm ; 2 Wochen (rot, Großbuchstaben) und 5 Wochen (orange, Kleinbuchstaben) Lagerung] der in den unterschiedlichen Lösungen [PK (Positivkontrolle), SN 0-3 (Saliva natura $S_{\text{OKP}0-3}$); Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervalle] gelagerten demineralisierten Dentinproben. Positive Werte bedeuten eine Reduktion der Läsionstiefe. Innerhalb der jeweiligen Lagerungszeit unterscheiden sich Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben signifikant voneinander ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey).

Vergleich innerhalb der Gruppen (gepaarter t-Test):

Mineralverluste:

Die in SN 0 gelagerten Dentinproben zeigten nach zwei Wochen im Vergleich zu den Demineralisationswerten keine signifikante Veränderung ($p > 0,05$; Bonferroni). Nach fünf Wochen war ein signifikanter Anstieg von $\Delta Z_{\text{Effekt5}}$ zu verzeichnen. Abgesehen von dem Intervall nach zwei Wochen von SN 1, in dem der Rückgang nicht signifikant war ($p > 0,05$), konnte in allen anderen Gruppen (SN 1, SN 2, SN 3) einschließlich der Positivkontrolle ein signifikanter Rückgang von ΔZ nach zwei und nach fünf Wochen Lagerung verzeichnet werden ($p < 0,05$). Die größte Reduzierung der Demineralisationswerte und somit der kleinste $\Delta Z_{\text{Effekt5}}$ fand sich nach fünf Wochen Lagerung in SN 3 ($p < 0,0005$; Tab. X).

Tab. X: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Mineralverluste (Vol % $\times \mu\text{m}$) der Dentinproben nach Demineralisation und Lagerung in den verschiedenen Lösungen. Signifikante Unterschiede zwischen den Mineralverlusten nach Demineralisation und denen nach Lagerung in den Lösungen sind rot schraffiert [$p < 0,05$, gepaarter t-Test (Bonferroni)]

Gruppe	Lösung	ΔZ demin MW (Stabw.)	$\Delta Z e_2$		$\Delta Z e_5$	
			MW (Stabw.)	p	MW (Stabw.)	p
1	PK	2455 (648)	D 392 (980)	0,0005	D 66 (709)	0,0005
2	SN 0 (S _{OKP0})	2452 (547)	A 2467 (614)	1	A 3837 (968)	0,0005
3	SN 1 (S _{OKP1})	2438 (561)	AB 2130 (663)	1	B 1983 (652)	0,02
4	SN 2 (S _{OKP2})	2462 (547)	C 1384 (352)	0,0005	C 1034 (584)	0,0005
5	SN 3 (S _{OKP3})	2462 (395)	BC 1633 (667)	0,0005	CD 305 (664)	0,0005

Läsionstiefen:

Nach zwei Wochen veränderten sich die Läsionstiefen im Vergleich zu den Werten nach der Demineralisation innerhalb der Gruppen SN 0, SN 1 und SN 2 nicht signifikant ($p > 0,05$; Bonferroni; Tab. XI). In SN 3 und der PK verringerten sich die $L_{\text{Effekt}2}$ im Vergleich zu den Werten nach der Demineralisation signifikant ($p < 0,05$), was auch nach fünf Wochen zutraf. Die Originallösung SN 0 zeigte nach fünf Wochen eine signifikante Zunahme der Läsionstiefen ($p < 0,015$; Tab. XI).

Tab. XI: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Läsionstiefen (μm) bei Dentin nach Demineralisation und Lagerung in den verschiedenen Lösungen. Signifikante Unterschiede zwischen den Mineralverlusten nach Demineralisation und denen nach Lagerung in den Lösungen sind rot schraffiert [$p < 0,05$, gepaarter t-Test (Bonferroni)]

Gruppe	Lösung	Lt demin MW (Stabw.)	Lt e ₂		Lt e ₅	
			MW (Stabw.)	p	MW (Stabw.)	p
1	PK	122 (50)	B 8 (43)	0,0005	D -8 (19)	0,0005
2	SN 0 (S _{OKP0})	120 (27)	A 108 (41)	0,465	A 145 (30)	0,015
3	SN 1 (S _{OKP1})	118 (30)	A 90 (27)	0,085	B 86 (24)	0,005
4	SN 2 (S _{OKP2})	127 (30)	A 113 (34)	0,955	BC 82 (55)	0,065
5	SN 3 (S _{OKP3})	127 (25)	A 84 (39)	0,005	CD 38 (48)	0,0005

5.2 Qualitative Auswertung

5.2.1 Struktureller Aufbau der Schmelz- und Dentinproben

Nach Demineralisation und Versuchsdurchführung erfolgte mit Hilfe der TMR-Software die Darstellung und Berechnung des Mineralverlustes und der Läsionstiefe.

Jeder abgespeicherte Bereich der Schmelz- und Dentinproben wurde dabei als Kurve in einem Diagramm dargestellt, indem im Grafen der Mineralgehalt (y-Achse, Vol %) gegen die Läsionstiefe (x-Achse, μm) aufgetragen wurde. Alle Koordinaten

der Kurven wurden im Anschluß in ein Textdokument sowie eine Tabellenkalkulationssoftware übertragen (Office Excel 2003; Microsoft Deutschland, Unterschleißheim, Deutschland) und die Daten zur Erstellung von Mittelwertgrafiken zusammengefasst.

In den beiden Mittelwertgrafiken von Schmelz und Dentin aller gesunden und demineralisierten Probenbereiche entsprach die jeweils dargestellte Fläche zwischen den gesunden und den demineralisierten Proben dem mittleren Mineralverlust über die Demineralisierungszeiträume. Die Mittelwertgrafiken aller unbehandelten gesunden Proben zeigten geringfügige oberflächliche Mineralverluste, die auf projektionsbedingte Artefakte zurückzuführen waren. Die Diagramme wiesen das nach einer Demineralisation der Proben typische Aussehen einer initialkariösen Läsion mit einer pseudointakten Oberflächenschicht (OS) und einem Läsionskörper (LK) auf: Zuerst steigt typischerweise der Mineralgehalt bis zu seinem Höchstwert innerhalb der OS an, danach sinkt der Mineralgehalt mit zunehmender Läsionstiefe zum im LK befindlichen tiefsten Wert ab; von dort nimmt der Mineralgehalt bis hin zum gesunden Schmelz-/Dentinbereich stetig zu (Abb.12 und 13).

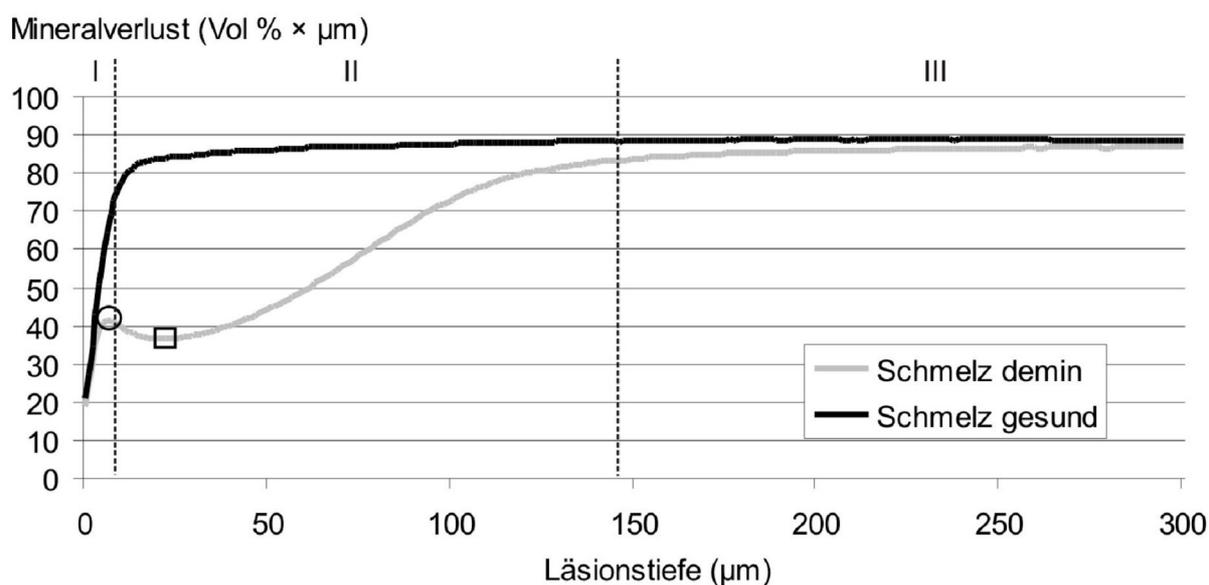


Abb. 12: Mittelwertgrafiken aller gesunden und demineralisierten Probenbereiche: Mineralgehaltkurven der gesunden (schwarz) und der demineralisierten (grau) Schmelzproben. Auftrag der Mittelwerte aller Proben ($n = 80$) der jeweiligen Gruppen (PK, SN 0-3) gegen die Probentiefe. OS = pseudointakte Oberflächenschicht, Kreis: höchster Mineralgehalt in der Läsion. LK = Läsionskörper, Quadrat: geringster Mineralgehalt im Läsionskörper. I = pseudointakte Oberflächenschicht, II = Läsionskörper, III = Zone der fortschreitenden Demineralisation.

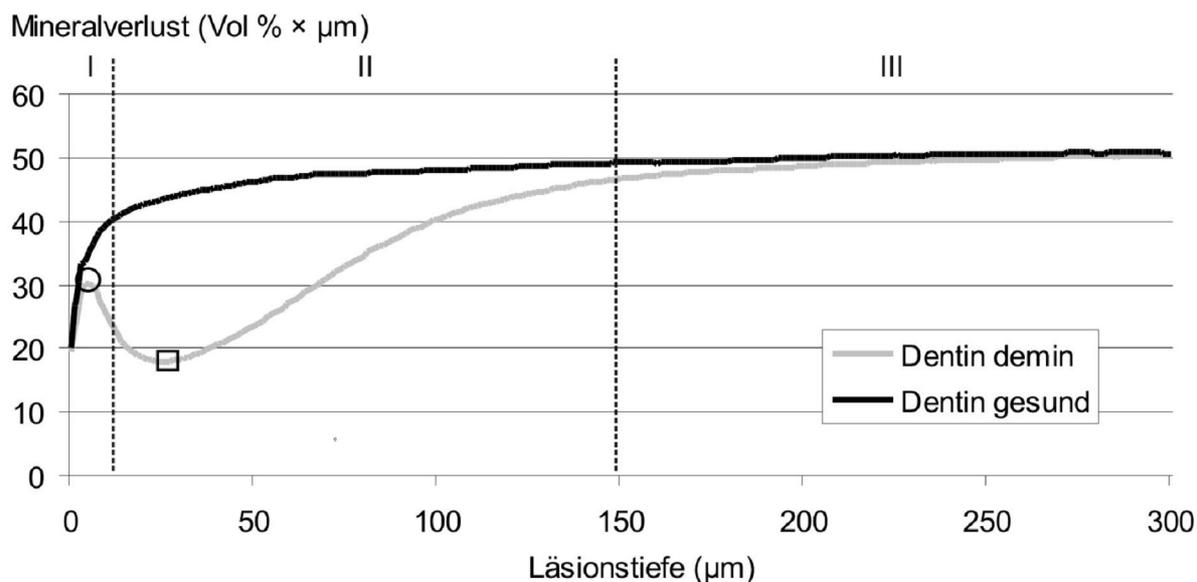


Abb. 13: Mittelwertgrafiken aller gesunden und demineralisierten Probenbereiche: Mineralgehaltkurven der gesunden (schwarz) und der demineralisierten (grau) Dentinproben. Auftrag der Mittelwerte aller Proben ($n = 80$) der jeweiligen Gruppen (PK, SN 0-3) gegen die Probtiefe. OS = pseudointakte Oberflächenschicht, Kreis: höchster Mineralgehalt in der Läsion. LK = Läsionskörper, Quadrat: geringster Mineralgehalt im Läsionskörper. I = pseudointakte Oberflächenschicht, II = Läsionskörper, III = Zone der fortschreitenden Demineralisation.

Ebenso wurden vier Mittelwertgrafiken anhand der TMR-Daten aller Schmelz- und aller Dentinproben nach den zwei- und fünföchigen Lagerungszeiträumen in den unterschiedlichen Lösungen (PK, SN 0–SN 3) erstellt. Die entsprechenden Werte wurden dafür in je zwei Mittelwertgrafiken Schmelz und je zwei Mittelwertgrafiken Dentin für die Versuchszeiträume 14 Tage (Effektbereich 2) und 21 Tage (Effektbereich 5) zusammengefasst; miteinander dargestellt wurden jeweils alle fünf Gruppen.

Die genauen Messwerte der ΔZ_{demin} , $\Delta Z_{\text{effekt 2/5}}$, L_{demin} sowie $L_{\text{effekt 2/5}}$ finden sich in Kapitel 5.1.

Abbildung 14 zeigt die Mittelwertgrafiken aller Werte des Effektbereichs 2 der Schmelzproben nach zweiwöchiger Lagerung in den modifizierten Lösungen SN 1-3, der Originallösung Saliva natura sowie der Positivkontrolle in Kombination mit Einlegen der Proben in/Putzen mit Fluoridslurry.

Nach Lagerung der Schmelzproben blieb es teilweise beim strukturellen Aufbau initialkariöser Läsionskurven, teilweise zeigten sich Veränderungen. SN 3 zeigte insgesamt einen höheren Mineralgehalt als der Mittelwertgraf der Demineralisation und eine Abnahme der Läsionstiefe; der Läsionskörper verkleinerte sich durch Mineralanlagerungen im Bereich des geringsten Mineralgehaltes. Eine leichte

Abflachung des Mittelwertgrafes verwies auf eine voranschreitende Remineralisation. SN 3 erreichte insgesamt den höchsten Mineralgehalt. Es gab eine Abnahme der Läsionstiefe und einen Gewinn an Höhe der OS. Der Mittelwertgraf verzeichnete nur bei den Proben der SN 3 einen Mineralgewinn. Bei der PK nahm die Läsionstiefe zu, die Kurve zeigte nicht das typische Aussehen einer initialkariösen Läsion, sondern insgesamt eine geringe Mineralisation in der Tiefe der Läsion mit einem nur langsamen Wiederanstieg des Mineralgehaltes zum Gesundheitsbereich. Der Mittelwertgraf zeigte eine fehlende pseudointakte Oberflächenschicht und einen fehlenden Läsionskörper. Von den Proben der Schmelzgruppen, in der die Effektbereiche neben der Lagerung auch mit Fluorid-Speichelersatzmittel-Slurry geputzt worden waren, waren bis auf wenige die meisten Effektbereiche von Erosionen betroffen, was an den geringen Mineralgehalten bei hoher Läsionstiefe sichtbar wurde. Auch die Lösungen SN 0, SN 1 und SN 2 verursachten einen Mineralverlust, der im Vergleich zur Demineralisationskurve jedoch geringer ausfiel. Bei SN 0 war das charakteristische Muster einer initialkariösen Läsion nur noch schwach erkennbar, der Mineralgehalt sehr verringert und die Läsionstiefe sehr vergrößert, was auf eine Zunahme der Demineralisation hinwies. Die Läsionstiefen bei den Gruppen SN 0, SN 1 SN 2 blieben weitgehend unverändert. Die Mineralanlagerungsmuster ähnelten sich bei den Gruppen SN 2 und SN 3, wobei der Mineralgehalt von SN 2 unterhalb dem der Demineralisationskurve lag, die Läsionstiefe jedoch verringerte sich in beiden Gruppen (Abb. 14).

Mineralverlust (Vol % \times μm)

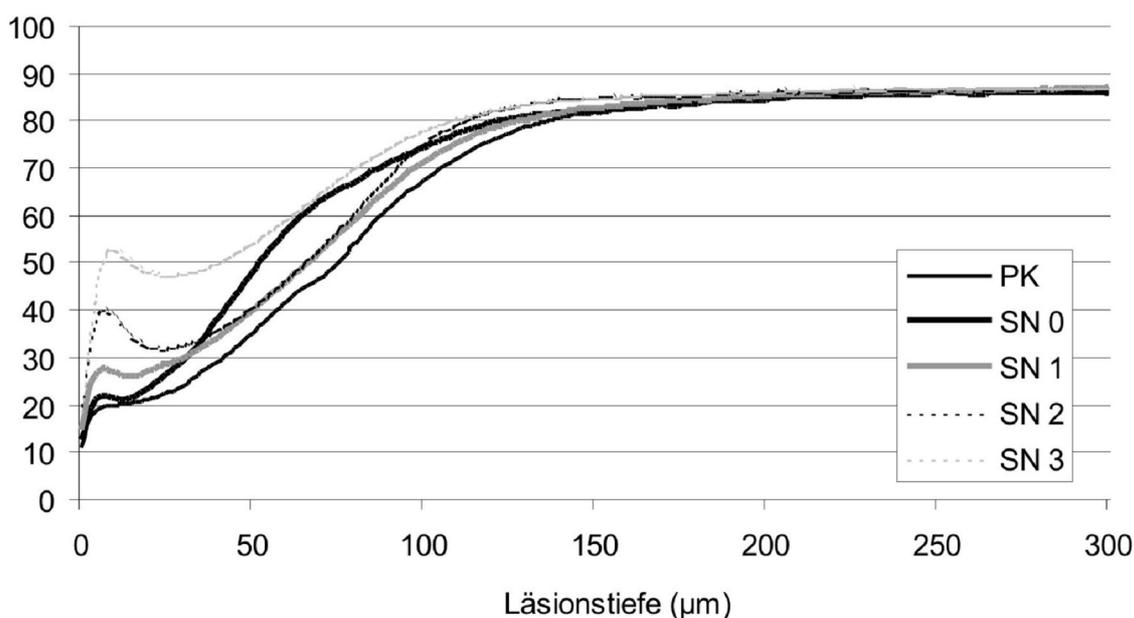


Abb. 14: Mittelwertgraf der Schmelzprobenbereiche (e2) aller fünf Gruppen nach zweiwöchiger Versuchsdauer. Auftrag der Mittelwerte aller Proben ($n = 80$) der jeweiligen Gruppen (PK, SN 0-3) gegen die Probentiefe.

Abbildung 15 zeigt den Mittelwertgraf aller Werte des Effektbereichs 5 der Schmelzproben nach fünfwöchiger Lagerung in SN 0, der PK und den modifizierten Lösungen in Kombination mit Einlegen der Proben in bzw. Putzen mit Fluoridslurry.

Hier setzte sich das strukturelle Bild von Abbildung 14 weiter fort. SN 3 erreichte die höchsten Werte aller Mittelwertgraf und zeigte gegenüber dem der Demineralisation einen höheren Mineralgehalt und eine geringere Läsionstiefe; die Verkleinerung des Läsionskörpers entsprach einer weiteren Zunahme der Remineralisation. Der strukturelle Aufbau einer initialkariösen Läsionskurve blieb bei SN 0-SN 3 erhalten. SN 0 ließ hierbei das schwächste Muster einer initialkariösen Läsionskurve erkennen. Diese Gruppe zeigte die größte Verringerung des Mineralgehaltes aller Mittelwertgraf im Sinne einer fortschreitenden Demineralisation. Der Mittelwertgraf der PK ließ das typische Aussehen einer initialkariösen Läsionskurve nicht mehr erkennen, es fehlten die pseudointakte Oberflächenschicht und der Läsionskörper. Die von den Erosionen betroffenen Schmelzproben der Gruppen SN 0-SN 3 durchliefen eine fortgesetzte Verringerung des Mineralgehaltes bei zunehmenden Läsionstiefen. Auch die Gruppen SN 1 und SN 2 verursachten einen Mineralverlust; die Darstellungen in Mittelwertgraf behielten jedoch das charakteristische Muster einer initialkariösen Läsion. SN 1 zeigte eine erhöhte Läsionstiefe, SN 2 behielt die Läsionstiefe bei, beide zeigten einen verringerten Mineralgehalt im Vergleich zur Demineralisationskurve (Abb. 15).

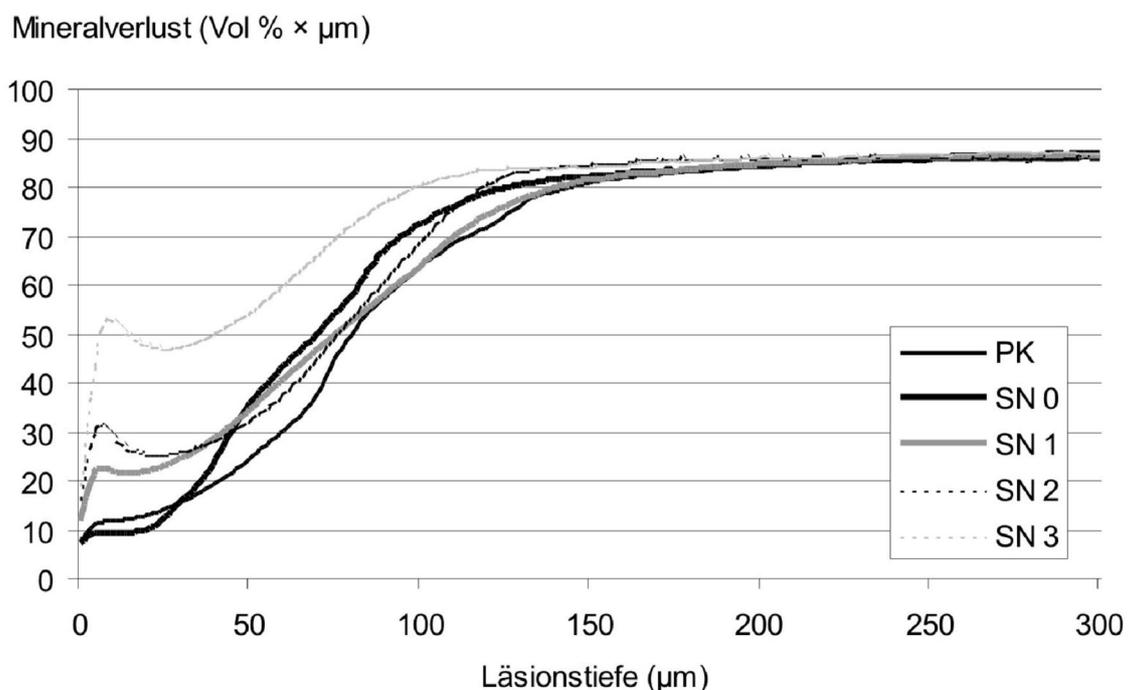


Abb. 15: Mittelwertgraf der Schmelzprobenbereiche (e5) aller fünf Gruppen nach fünfwöchiger Versuchsdauer. Auftrag der Mittelwerte aller Proben ($n = 80$) der jeweiligen Gruppen (PK, SN 0-3) gegen die Probertiefe.

Abbildung 16 zeigt den Mittelwertgraf aller Werte des Effektbereichs 2 der Dentinproben nach zweiwöchiger Lagerung in SN 0, der PK und den modifizierten Lösungen.

Die Beibehaltung des strukturellen Aufbaus einer initialkariösen Läsion mit einer pseudointakten Oberflächenschicht, einem Läsionskörper und einer Zone der fortschreitenden Demineralisation war in allen fünf Dentingruppen zu erkennen. Nach zwei Wochen zeigte der Mittelwertgraf von SN 0 eine leichte weitere Abnahme des Mineralgehaltes gegenüber dem Mittelwertgraf der Demineralisation, was eine Zunahme der Demineralisation bedeutete, wobei sich die Läsionstiefe zunächst nicht vergrößerte. Die PK und die Gruppen SN 1, SN 2 und SN 3 hingegen zeigten Mineralzunahmen im Bereich des Läsionskörpers und der Zone der fortschreitenden Demineralisation, was einer Remineralisation entsprach. Vor allem in SN 2 zeigte sich eine breitere pseudointakte Oberflächenschicht, die Kurve flachte ab und der Läsionskörper verkleinerte sich. Die Läsionstiefen verringerten sich am stärksten in SN 3 (Abb. 16).

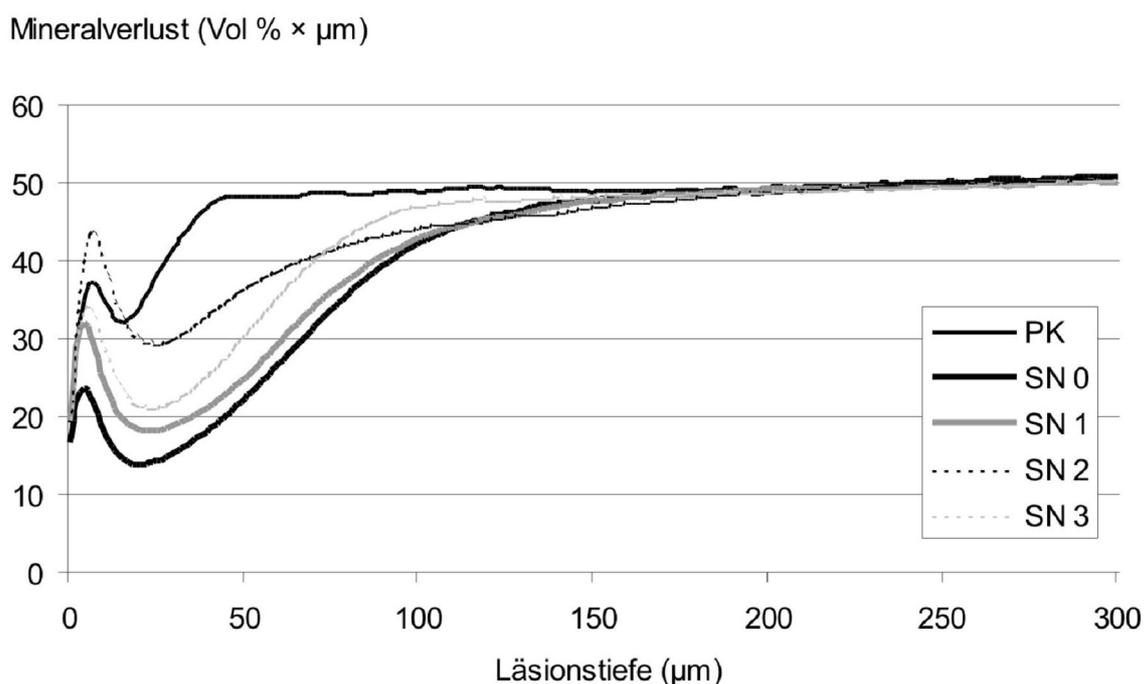


Abb. 16: Mittelwertgraf der Dentinprobenbereiche (e2) aller fünf Gruppen nach zweiwöchiger Versuchsdauer. Auftrag der Mittelwerte aller Proben ($n = 80$) der jeweiligen Gruppen (PK, SN 0-3) gegen die Probtiefe.

Abbildung 17 zeigt den Mittelwertgrafen aller Werte des Effektbereichs 5 der Dentinproben nach fünfwöchiger Lagerung in SN 0, der PK und den modifizierten Lösungen.

Der Mittelwertgraf von SN 0, der nach zwei Wochen zunächst einen nur geringen Mineralverlust gegenüber dem der Demineralisation aufgewiesen hatte, zeigte nach fünf Wochen nun einen stark verringerten Mineralgehalt in der Oberflächenschicht und im Läsionskörper und eine Zunahme der Läsionstiefe. Der Bereich des Läsionskörpers zeigte dabei im Vergleich aller fünf Gruppen eine sehr starke Vergrößerung. SN 1 behielt bei einem leicht erhöhten Mineralgehalt den charakteristischen Verlauf einer initialkariösen Läsion, blieb jedoch leicht über den Werten des Mittelwertgrafen der Demineralisation. SN 2, SN 3 und die Positivkontrolle zeigten eine Abnahme des Mineralverlustes im Sinne einer Remineralisation: die pseudointakte Oberflächenschicht war verbreitert und im Bereich des Läsionskörpers und der Zone der fortschreitenden Demineralisation zeigten sich nach Mineraleinlagerungen abgeflachte Mineralgehaltkurven und verkleinerte Läsionskörper. Die größte Abflachung der Kurve wurde dabei in SN 3 sichtbar (Abb. 17).

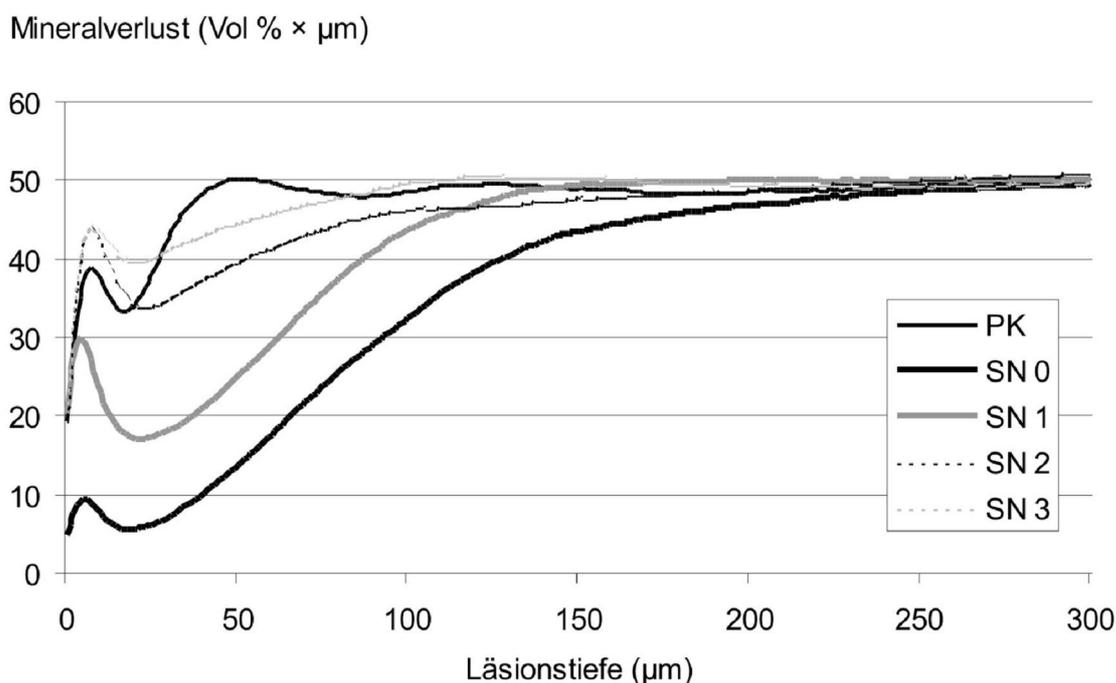


Abb. 17: Mittelwertgrafen der Dentinprobenbereiche (e5) aller fünf Gruppen nach fünfwöchiger Versuchsdauer. Auftrag der Mittelwerte aller Proben ($n = 80$) der jeweiligen Gruppen (PK, SN 0-3) gegen die Probtiefe.

6 Diskussion

6.1 Diskussion von Material und Methoden

Als Basisprodukt für die Untersuchungslösungen diene das hinsichtlich Oktakalziumphosphat/Dikalziumdihydrogenphosphat (OKP/DKPD) untersättigte Speichelersatzmittel Saliva natura (SN) mit einem pH von 5,8. Dem Versuchsablauf vorausgehende Ionenmessungen dieser Basislösung hatten eine Untersättigung im Hinblick auf Kalziumphosphate ($S_{OKP} = 0,03$ und $S_{DKPD} = 0,01$) gezeigt. Ausgangspunkt der hier vorliegenden Untersuchung war die bei der Verwendung von Saliva natura auftretende demineralisierende Wirkung auf Schmelz und auf Dentin, die in früheren Studien beschrieben wurde (TSCHOPPE *et al.* 2009a, TSCHOPPE *et al.* 2009b).

Die bisherigen Erfahrungen mit der hinsichtlich OKP/DKPD untersättigten Saliva natura-Lösung und den daraus resultierenden Demineralisationseffekten über die Gesamtdauer der Einwirkzeit führten dazu, modifizierte Versuchslösungen herzustellen. Dies erfolgte, indem Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen in zuvor berechneten Mengen zum Erreichen unterschiedlicher Sättigungen (OKP 1, 2, 3) hinzugefügt wurden. Die Additionen berücksichtigten den zuvor berechneten Gehalt an Kalzium, Phosphat und Fluorid der Basislösung. Die Addition eines K_2HPO_4/KH_2PO_4 -Puffers im Verhältnis 1:2 erhöhte den pH-Wert der modifizierten Lösungen auf 6,0.

Zum Erreichen der angestrebten Sättigungen mit Kalziumphosphaten wurden alle Modifikationen hinsichtlich OKP gesättigt respektive übersättigt; hinsichtlich der Vorstufe DKPD wurden leichte Untersättigungen berechnet. In vorangegangenen Studien konnte kein signifikanter Einfluss von unterschiedlichen Kalzium/Phosphat-Verhältnissen in Speichelersatzmitteln belegt werden (MEYER-LUECKEL *et al.* 2007). Daher fiel bei der Auswahl des Ca/P-Verhältnisses die Entscheidung zugunsten eines physiologischen Verhältnisses von 1:1,6.

In der vorliegenden Studie wurde die Möglichkeit herangezogen, eine weniger demineralisierende Wirkung und einen größeren Abstand zum „kritischen“ pH-Wert über die Erhöhung des pH-Wertes 5,8, beispielsweise mittels eines Kaliumphosphatpuffers (KÜSTER *et al.* 1972), zu erreichen. Patienten bevorzugen tendenziell wenig visköse, leicht handhabbare und tendenziell saure Produkte, selbst wenn deren Wirksamkeit geringer ist (MOMM *et al.* 2005). Die Erhöhung des pH-Wertes eines bereits zugelassenen Produktes ist gemäß der Vorgaben des Deutschen Medizinproduktegesetzes nur nach strenger Bemessung der Kriterien erlaubt (MEDIZINPRODUKTEGESETZ 2009). Um den Richtlinien zu entsprechen, wurde der pH-Wert daher in dieser Studie mittels des gewählten Kaliumphosphatpuffers bis zum Wert von pH 6,0, aber nicht darüber hinaus, angehoben.

Rinderzähne, die für diese Studie ausgewählt wurden, weisen durch die natürliche Nahrungszusammensetzung ohne künstliche Fluoridzufuhr ihrer Träger wenig bis keine endogenen und exogenen Einflussfaktoren auf. Somit stellen sie eine sehr homogene Gruppe dar. Ihre Struktur und chemische Zusammensetzung entspricht weitgehend der des menschlichen Zahnes. Sie sind gut zu verarbeiten, haben schon in diversen Studien ihre Vergleichbarkeit mit menschlichen Zähnen unter Beweis gestellt und sind nicht zuletzt leicht, in ausreichender Zahl und erwünschter Qualität zu beschaffen (ESSER *et al.* 1998, IMFELD 2001). Aufgrund der guten Verfügbarkeit und der Größe von Rinderzähnen eignen sie sich gut für die Herstellung ausreichend bemessener Schmelz- und Dentinproben, besonders hinsichtlich der für diese Studie konzipierten vier nebeneinanderliegenden Untersuchungsbereiche. Durch mögliche initiale Kariesläsionen, eine zu geringe Größe und den Mangel an Alters- und Ursprungsübereinstimmung wäre eine Vergleichbarkeit unter humanen Zähnen schwer zu erreichen gewesen.

Für das Einlegen und Putzen der Schmelz- und Dentinproben wurde ein Slurry verwendet, das aus den verschiedenen Saliva natura-Lösungen und Duraphat-Zahncreme hergestellt wurde. Die Herstellung des Slurrys erfolgte gemäß europäischer Standards (EN ISO 11609) (KIELBASSA *et al.* 2005). Als Basis für das Fluorid-Speichelersatzmittel-Slurry, mit dem alle Proben zusätzlich behandelt wurden, diente die hochfluoridhaltige Zahnpasta Duraphat (5000 ppM F⁻). 1 g Duraphat-Zahncreme beinhaltet 5 mg Fluorid (als Natriumfluorid), was einer Konzentration von 5000 ppM entspricht. Mit dieser Konzentration gehört die Duraphatzahnpaste zu den hochdosierten Fluoridpräparaten. Die Anwender dieses daher apotheken- und verschreibungspflichtigen Arzneimittels gehören zur Hochrisikokariesgruppe. Deren Remineralisationsrate im Dentin wird durch das Vorliegen von Fluoriden maßgeblich beeinflusst. Bei Anwendung hoher Fluoridkonzentrationen im Vergleich zu niedrigeren ist die Remineralisationsrate ansteigend (BAYSAN *et al.* 2001).

Bei hochdosierten Fluoridpräparaten ist, neben ihrer kariesprotektiven Wirkung, aufgrund ihrer potentiellen Toxizität bei Überdosierung, Verschlucken oder Falschanwendung, die strenge Instruktion und Kontrolle durch zahnärztlich geschultes Personal geboten (MEDIZINPRODUKTEGESETZ 2009). Die Fluoridverabreichung im Zahnputzmittel bietet in Bezug auf diesen Aspekt und übertragen auf klinische Verhältnisse Vorteile und größere Sicherheit gegenüber einer Verabreichungsform in einer Mundspüllösung, da die Überdosierung mit Zahnpasta selbst aus Versehen schwer möglich ist, das wiederholte Trinken oder Verschlucken von Spüllösungen, auch aus Versehen oder aufgrund von fehlender Kontrolle und Kenntnis, jedoch vorstellbar erscheint (GELHARD *et al.* 1983).

Die Aufteilung der Fluoride sowohl auf die Mundspülung (in niedriger Konzentration) als auch auf die Zahnpasta (in hoher Konzentration) wie in dieser In-vitro-Studie gewährleistet eine konstante Mindestfluoridmenge, auch beim beispielsweise theoretischen Weglassen einer Komponente *in vivo*, und ermöglicht die zielgerichtete Verteilung durch die Zahnpasta direkt auf dem Zahngewebe. Die ausschließliche Verabreichung über eine Mundspüllösung setzt zwar grundsätzlich das Kariesrisiko herab (NAYLOR *et al.* 1983), die Fluoriddiffusion ist aber langsam und die Verteilung nicht garantiert gleichmäßig (DAWES *et al.* 1990), so dass den speziellen mundhygienischen Erfordernissen bei Zahnschädigungen in bestrahlten Dentitionen nicht gerecht wird. Bestrahlte Dentitionen benötigen individualprophylaktische Maßnahmen (WESCOTT *et al.* 1975). Transport und Einbürsten von hochdosiertem Fluorid an benötigter Stelle könnten zu einer Maximierung der Wirksamkeit beitragen, während gleichzeitig ein hinsichtlich relevanter Ionen übersättigtes Speichelersatzmittel der Abpufferung eines demineralisierenden Mundmilieus zuträglich wäre (SCHEMEHORN *et al.* 1999).

In das Versuchsdesign ist eine realitätsorientierte Einschätzung der erläuterten, von Patienten erwartbaren Putzmöglichkeiten und -frequenzen eingeflossen (DYER *et al.* 2000). Auch wurde in der Auswahl einer Zahnpasta mit erhöhter Fluoridkonzentration den dargestellten Risikogruppen Rechnung getragen (ADAMS *et al.* 1996, KIELBASSA 2004). Zudem simuliert die manuelle Putzmethode über die Auswahl der Mittel wie die gewählte weiche Zahnbürste, deren Auswirkung beim eventuellen Ausüben von Druck vernachlässigbar bleibt, die Art der Oberflächenexposition der geputzten Flächen (leicht zugänglich) und die Versuchsdauer über einen Gesamtzeitraum von fünf Wochen, mit zweimal täglich maximal zweiminütigem Putzen, einen realistisch vorstellbaren und reproduzierbaren Ablauf (HUNTER *et al.* 2000). Die mehrwöchige Reproduktion eines einfachen Ablaufs vermag zudem mögliche menschlich bedingte Schwankungen bei der Ausführung, verglichen zum Beispiel mit einem automatisierten Prozess durch eine Zahnputzmaschine, auszugleichen.

Die Intensität der Probenbehandlung im Rahmen der Versuchsdurchführung (alle Oberflächen konstant gleichgut und gleichmäßig erreichbar) verdichtet die Ergebnisse im Vergleich zu einer klinischen Situation. Klinisch könnten ähnliche Resultate bei einem regelmäßigen Gebrauch des Speichelersatzmittels durch die unterschiedliche Zugänglichkeit der Zahnoberflächen möglicherweise nicht so kurz-, mittelfristig jedoch in ähnlicher Weise vorgefunden werden; eine dem Ausmaß des fehlenden Speichels bei einer Hyposalivation oder Xerostomie geschuldete unterschiedliche natürliche Remineralisation der Zahnhartgewebe würde klinisch die Resultate zusätzlich beeinflussen. Klinisch relevant sind Werte, die Tendenzen über längere Zeiträume hinweg prognostizieren können, da das Risiko des Kariesbefalls

zumindest bei radiotherapierten Patienten aufgrund der Hyposalivation manifest bleibt und die Prognose ohne Therapiekonzept in Bezug auf drohenden Substanzverlust schlecht ist (GUCHELAAR *et al.* 1997).

Das Putzen der demineralisierten Schmelzproben könnte einen abrasiven Einfluß ausgeübt haben, indem es den unter der Oberfläche liegenden, aufgrund geringerer Mineralverteilung reduzierten Verbund zusätzlich mechanisch durch Herauslösen der Kristalle aus der Gitterstruktur geschwächt hat. Dazu könnte, im Vergleich zu einem Putzen nur mit Zahnbürste und Wasser, ein negativ verstärkender Effekt einer Säurewirkung der sehr hohen Fluoridkonzentration des Slurrys gekommen sein (BETKE *et al.* 2003). Diese theoretisch vorstellbaren Ursachen könnten zu den Mineralverlusten beim Schmelz sowohl in der Positivkontrolle, der Originallösung als auch in den experimentellen Lösungen geführt haben. Der Verzicht auf das Putzen der Dentinproben könnte somit beim Vergleich der Positivkontrollgruppen Schmelz/Dentin die positiven Remineralisationswerte beim Dentin gegenüber den negativen Werten beim Schmelz, die durch die Abrasion beim Putzen ausgelöst worden sein können, erklären. Der Verlust eines Teils der absoluten Ausgangsmineralmenge durch Abrasion aber hat nicht unbedingt zur Folge, dass sich die Mineralverteilung bei der Remineralisierung ungünstig entwickelt (KAWASAKI *et al.* 2000). Insgesamt konnte kein negativer Effekt des Bürstens ermittelt werden, solange eine ausreichende Sättigung mit OKP in den experimentellen Lösungen eine ständige Remineralisierung gewährleistete. Da eine gleichmäßige Benetzung der Oberflächen mit dem Duraphat-Speichelersatzmittel-Slurry durch das probenweise Einlegen gewährleistet war, wurde auf das zusätzliche Putzen der bereits demineralisierten Dentinproben verzichtet, da aus versuchstechnischen Erwägungen ein zu großer Verlust der auswertbaren Oberflächenschichtdicke der Dünnschliffe zu erwarten gewesen wäre. Daher wurde das Putzen bei den Schmelzproben belassen.

Als eine therapeutische Maßnahme gegen Initiailläsionen wurde vorgeschlagen, die Oberfläche abzutragen, zu polieren und zu fluoridieren (KIELBASSA 2004). Initiale Läsionen werden oft einfach abgetragen, falls die Lage der Läsion dies erlaubt (ÅRTUN *et al.* 1986). Weiterhin wurde erläutert, dass die Abrasion durch den Putzdruck und die Azidität der Zahnpasten selbst einen Einfluß auf den Mineralverlust und die Läsionstiefe haben. Auch der Zusammenhang zu ihrem Fluoridgehalt und der innewohnenden Pufferkapazität wurde aufgezeigt. Hier zeigte sich trotz durch leichten Putzdruck verursachtem Substanzabtrag dennoch eine deutliche Remineralisation der Läsionen. *In vivo* findet man Abrasionsfolgen nie getrennt vom Einfluss der Remineralisationswirkungen des Speichels oder dem dadurch erworbenen Schmelzhäutchen (IJIMA *et al.* 2000). In dieser In-vitro-Studie war das remineralisierende Potential (normalerweise das des natürlichen Speichels)

durch die beschriebene Ionenzugabe zum Speichersatzmittel gewährleistet. Daher sollten weitere experimentelle Ansätze in die Richtung gehen, die verschiedenen bekannten Einflussgrößen neu miteinander in Wechselwirkung treten zu lassen. Ebenso wie in der vorliegenden Studie sollten möglichst klinische Gesichtspunkte im Hinblick auf die praktische Relevanz berücksichtigt werden.

Die transversale mikroradiographische Auswertung (TMR) der im Anschluss an den Versuch erzeugten Probendünnschliffe ist eine Methode, die sehr gut verarbeitbare quantitative und sehr gut dargestellte und beschreibbare qualitative Ergebnisse der Mineralveränderungen und Läsionstiefen liefert. Um mikroradiographisch eine Probe im technischen Sinne aussagekräftig auswerten zu können, bedarf es einer planen Oberfläche, die mittels Dünnschliffverfahren erzeugt wird. Durch die Egalisierung finden sich in den Oberflächenschichten geringfügig andere Kristallstrukturen mit etwas weniger Kristalliten und etwas geringerem Fluoridgehalt als in dem gewölbten Ursprungsrelief (MELLBERG 1992). Da nach dem Dünnschliff die grundsätzlich gleiche Struktur untersucht wird und alle Probenoberflächen in diesem Arbeitsschritt gleich behandelt wurden, ist der Einfluss dieses geringfügigen Oberflächenabtrages auf die Ergebnisse vernachlässigbar.

6.2 Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden In-vitro-Studie waren nach dem fünfwöchigen Untersuchungszeitraum deutliche Mineralgewinne bei Schmelz und Dentin festzustellen. Da Schmelz zu fast einhundert Prozent aus anorganischer Matrix besteht, sind dort die Ergebnisse quantitativ wie auch qualitativ weniger ausgeprägt als beim Dentin (ARNOLD 2006).

Hinsichtlich der Verwendung von Saliva natura ist für die hier untersuchten Dentinproben festzustellen, dass die Demineralisation weiter voranschreitet. Dies bestätigt frühere Studien, in denen die demineralisierende Wirkung von Saliva natura auf Schmelz und auf Dentin ebenfalls beschrieben wurden (TSCHOPPE *et al.* 2009a, TSCHOPPE *et al.* 2009b).

Die für diese Untersuchung modifizierten, im Hinblick auf OKP experimentell übersättigten Lösungen zeigten remineralisierende Wirkungen sowohl auf demineralisierten Schmelz als auch auf demineralisiertes Dentin boviner Proben. Daher muss die Nullhypothese, dass unterschiedliche Saliva natura-Modifikationen (hinsichtlich S_{OKP} und S_{DKPD}) in Kombination mit hochkonzentrierter Fluoridzahnpaste sich nicht signifikant hinsichtlich Demineralisierungsgrad und Läsionstiefe über die Zeitintervalle unterscheiden, abgelehnt werden.

Es wurde festgestellt, dass die experimentellen Ionenzugaben zu den einzelnen Lösungen die demineralisierenden Wirkungen vermindern, indem sie die Sättigungen von Oktakalziumphosphat (OKP), Dikalziumdihydrogenphosphat (DKPD) und

Hydroxylapatit (HA) erhöhen. Saliva natura (im Ausgangszustand) zeigte die erwähnte weitere Demineralisation, die zu signifikanten Erhöhungen der Mineralverluste und Läsionstiefen sowohl beim Schmelz als auch beim Dentin führten. Die hinsichtlich OKP übersättigte und hinsichtlich DKPD einfach gesättigte Kontrolllösung (Positivkontrolle = PK) zeigte eine eindeutige Remineralisation der Dentinproben. Diejenigen Lösungen, welche hinsichtlich Oktakalziumphosphat gesättigt bzw. übersättigt waren (SN 1, 2, 3), zeigten einen graduellen Anstieg der Remineralisation. Nach zwei Wochen gab es eine deutliche Verringerung der Mineralverluste bei allen drei Modifikationen, am stärksten bei der dritten Modifikation SN 3.

Im Vergleich zu einer Parallelstudie ohne Verwendung eines Fluorid-Lösungs-Slurries, in der die gleichen Tendenzen, nur weniger ausgeprägt, sichtbar waren (TSCHOPPE *et al.* 2009a), zeigten sich in der hier vorliegenden Studie beim Dentin sogar noch deutlich höhere Remineralisationswerte, die bei der Lösung mit der höchsten Sättigung bis fast an die PK (Remineralisationslösung) heranreichten. Der Vergleich der Lösungen mit der Sättigung SN 2 und SN 3 untereinander zeigte insgesamt kaum Unterschiede. Die modifizierten Lösungen zeigten im Resultat eine Remineralisation der Zahnhartsubstanzen und einen Rückgang der Läsionstiefen, sowohl im Schmelz, bei dem eine signifikante Remineralisation durch die übersättigte, dritte Modifikation SN 3 stattfindet, als auch im Dentin, bei dem die Ergebnisse beider letzten Gruppen (SN 2 und SN 3) fast an die PK heranreichte. Insgesamt stimmten die Aussagen über die Läsionstiefen mit denen der Mineralverluste überein. Bei den Schmelzproben war nach zwei wie nach fünf Wochen eine Remineralisation ebenfalls in der Gruppe SN 3 zu verzeichnen. Eine voranschreitende Demineralisation war in der Gruppe mit der Ausgangslösung Saliva natura festzustellen. Insgesamt sind die Veränderungen im Schmelz quantitativ längst nicht so ausgeprägt wie bei den Dentinproben.

Es ist also festzuhalten, dass die höchste Reduktion des Mineralverlustes sowohl im Schmelz als auch im Dentin durch die Anwendung der Saliva natura-Modifikation SN 3 erreicht wird. Diese Anordnung führt auch zur größten Verringerung der Läsionstiefen. Beim Vergleich der vorliegenden Studie und der bereits erwähnten Studie ohne Fluorid (TSCHOPPE *et al.* 2009a) sind die Tendenzen ähnlich; dort wurde die höchste Verringerung der Demineralisation mit der Modifikation SN 2 erreicht. Die Remineralisationswerte der vorliegenden Studie, in der zusätzlich Fluoride und Putzen angewendet wurden, waren aber noch deutlich höher, so dass theoretisch ein Einfluss dieses Faktors auf diese Ergebnisse möglich sein könnte. Unterstützt werden könnte diese Annahme durch das Teilergebnis nach zwei Wochen, in der die Kombination von Saliva natura-Originallösung mit Fluorid und Putzen zunächst eine neutrale (und keine demineralisierende) Reaktion auf

Dentin erzeugte, was im Vergleich zu der Studie ohne Fluorid (bereits nach zwei Wochen Mineralverluste) nicht eintrat (TSCHOPPE *et al.* 2009a); nach fünf Wochen war die Demineralisation in der hier vorliegenden Studie bei der Saliva natura-Originallösung auch unter der kombinierten Verwendung der hochkonzentrierten Fluoridzahnpaste mit Saliva natura eingetreten. Fluoride konnten in der Vergangenheit unter Beweis stellen, dass sie die Remineralisationsrate von Dentin steigern (ARENDS *et al.* 1989, BAYSAN *et al.* 2001). Die kombinierte Verwendung mit der hochkonzentrierten Fluoridzahnpaste könnte somit mit der zunächst eintretenden Hemmung einer Demineralisation in Verbindung gebracht werden, was wiederum mit den Vorgängen beim Ionentransport zu tun haben könnte.

In der vorliegenden Untersuchung verstärkt sich bei der Saliva natura-Originallösung die Demineralisation. Die biophysikalischen Vorgänge beim Ionentransport in die Gewebeschichten der Zahnhartsubstanzen könnten dabei eine wichtige Rolle übernehmen. Eine Untersuchung beschreibt beispielsweise Beziehungen zwischen den Mineralverteilungsprofilen von Ausgangsläsionen (oder auch Geometrien der Läsionen) und einer reproduzierbaren Mineralverteilung bei einer nachfolgenden Remineralisation. Die eine untersuchte Form der Ausgangsläsion verhält sich dergestalt, dass eine regelrechte Transportbarriere in Form einer zügig intensiv remineralisierten, unter der Oberfläche liegenden Läsion entsteht und somit eine Fluoridanreicherung der tieferen Läsionsschichten verhindert. Bei der anderen beschriebenen Form findet sich ein über die gesamte Läsion in der Art demineralisiertes Dentin, so dass kein Angebot an ausreichender respektive adäquater Kristallgitterstruktur (anlagerungsfähige Ursprungskerne) mehr vorliegt, sondern nur so wenig und unstrukturiertes Mineral, um entgegen sonstiger Charakteristik überhaupt einen Einbau von Fluorid zu ermöglichen. Ein nicht stattfindender Einbau könnte somit auf das Fehlen ausreichender Mengen anderer relevanter Ionen zurückzuführen sein (KAWASAKI *et al.* 2000).

Die Sättigung der Lösungen mit Oktakalziumphosphat scheint insofern die entscheidende Rolle zu spielen, als dass die hinsichtlich OKP/DKPD untersättigte Lösung Saliva natura nach fünf Wochen auch bei Lagerung in die hochkonzentrierte Fluoridzahnpaste nicht in der Lage war, den Prozess der Remineralisation im Dentin einzuleiten. Das Fehlen von Kalzium und Phosphat in der Saliva natura-Originallösung könnte in der hier vorliegenden Untersuchung ein limitierender Faktor für die Einleitung einer Remineralisation sein. Auch könnte der fehlende Anteil protektiver Ionen dazu führen, dass den Puffersystemen sowohl an der Zahnoberfläche als auch in der Speichelersatzlösung ihre benötigten Komponenten nicht zur Verfügung stehen.

Es ist davon auszugehen, dass die Ionen aus den Zahnhartsubstanzen entlang des Konzentrationsgefälles in die Lösung diffundieren. Auch kommt es nicht zum

Umbau von Hydroxylapatit durch Fluoridionen in das stabilere Fluorapatit im Sinne eines aktiven Mineralisationsvorganges. Die Voraussetzungen für diesen remineralisierenden Effekt waren in dieser Studie mit dem Angebot ausreichend hoher Fluoridkonzentrationen in einer flüssigen Phase um die Schmelz- und Dentinsubstanz herum gegeben („loosely bound fluoride“; „CaF₂-like material“) (CHRISTOFFERSON *et al.* 1984, ARENDS *et al.* 1990). Bei den mit Kalzium und Phosphaten übersättigten Modifikationen gelang der Remineralisationsvorgang. Bei der Saliva natura-Originallösung werden mit zunehmender Versuchsdauer immer größere Mengen an Ionen per diffusionem im Sinne eines Konzentrationsgradienten aus den Zahnhartsubstanzen in die untersättigte Speichelersatzlösung überführt. Nach fünfwöchiger Lagerung im Zahnpasta-Speichelersatzmittel-Slurry war ein Aufhalten des demineralisierenden Prozesses mit dem nicht modifizierten Speichelersatzmittel Saliva natura (SN) nicht erkennbar. Die Schlussfolgerung liegt nahe, dass die Untersättigung an Ionen in Saliva natura für diese Destabilisierung der Remineralisationsvorgänge mitursächlich ist. Für die modifizierten, übersättigten Saliva natura-Lösungen zeigten die Befunde dieser Untersuchung, dass die Modifikationen von Saliva natura in Kombination mit hochfluoridhaltiger Zahnpasta offensichtlich die Remineralisation befördern.

Neben typischen Bestandteilen einer Zahnpastagrundlage entfällt das größte Volumen der Duraphat-Zahncreme mit 70 % laut Herstellerangaben auf eine nicht kristallisierende Sorbitollösung. Diese Eigenschaft ist insofern von Bedeutung, als dass in früheren Studien die Komplexbildung von Sorbitol mit Kalzium und Phosphat zu einer gesteigerten Demineralisation der Läsionen geführt hatte (MEYER-LUECKEL *et al.* 2006c). Diese Komplexbildung von Kalzium und Phosphat mit den Inhaltsstoffen der verschiedenen Speichelersatzmittel (Carboxymethylcellulose, Leinsamen, hier: Polysaccharide) könnte hier theoretisch den Effekt haben, dass durch die Bindung und somit Abnahme freier Kalzium- und Phosphationen diese nicht in wünschenswerter Anzahl für eine Remineralisation zur Verfügung stehen. Wie im natürlichen Speichel können die Ionen nur bei ausreichender Konzentration wirksam sein. Das legt nahe, die Lösungen in Zukunft in Hinblick auf OKP, DKPD und HA zu (über-)sättigen. Sinnvoll wäre eine leicht übersättigte Lösung, um Ausfällungen zu vermeiden (Sättigung > 1).

Was die Höhe der Übersättigung mit OKP und seiner instabileren Vorstufe DKPD in den Modifikationen betrifft, so ergibt sich, dass die Lösung SN 2 mit ihrer leichten Übersättigung an DKPD bereits als ausreichend für den Remineralisierungsvorgang angesehen werden kann. In Bezug auf die absoluten Werte ist festzustellen, dass sie bei der stark übersättigten Lösung zwar höher ausfallen, für die gesättigte und die stark übersättigte Lösungen S_{OKP}1 und 3 dennoch annähernd gleich sind. Eine mögliche Folgerung wäre, dass der Lösung,

die weniger Ausfällungen hat (entsprechend einer geringeren Menge an DKPD) (JOHANSSON *et al.* 1992), der Vorzug gegeben wird, da schon eine schwache Übersättigung eine Remineralisation erreicht.

Die Schmelzproben haben besser bei der SN 3 abgeschnitten als die Dentinproben. Schmelz ist in einer durchschnittlichen Dentition zwar stärker im Mund exponiert. Betrachtet man jedoch die Dentitionen, die in Fällen von Speichelersatzmittelanwendung geschützt werden sollen, können Schmelz und Dentin durchaus gleichermaßen exponiert sein. Da die Ergebnisse bei Schmelz quantitativ weniger ausgeprägt sind als bei Dentin (ARNOLD 2006), könnte man daher dahingehend gewichten, einen Sättigungsgrad zu ermitteln, der zwischen beiden Lösungen liegt (beispielsweise 2,5).

Dass auch bei einer zu starken Übersättigung mit der Vorstufe DKPD kein größerer Vorteil erwartet wird, ließe sich damit erklären, dass bei hohen Kalziumkonzentrationen die zur Verfügung stehenden Fluoride gebunden werden (CHOW *et al.* 1992). Die vermutlich entstehenden Kalziumfluoridpräzipitate und andere Kalzium-Phosphat-Komplexe sind durch ihre Inaktivität, vor allem bei einem hohen pH-Wert von 6,0, für Diffusionsvorgänge an der Grenzfläche von Flüssigkeit und Zahnhartsubstanzen nicht verfügbar (SCHEMEHORN *et al.* 1999). Leichte Übersättigungen mit DKPD wären demzufolge ausreichend, und das zusätzliche Angebot an Fluoriden über das Slurry könnte die durch die beschriebene Komplexbildung unzureichend gewordenen Mengen an verfügbaren Fluoridionen ersetzen und ergänzen. Dieser Vorgang könnte die Steigerung der Ergebnisse durch ein Fluorid-Speichelersatzmittel-Slurry bei grundsätzlicher Wiederholung der gleichen Tendenzen einer Vorgängerstudie ohne Fluorid-Speichelersatzmittel-Slurry erklären und betrifft die Mineralisationsvorgänge an den beiden hier untersuchten Zahnhartsubstanzen (TSCHOPPE *et al.* 2009a, TSCHOPPE *et al.* 2009b).

Für die Relevanz der Ergebnisse in einer klinische Situation ist es von Bedeutung, ob ein Patient viel, wenig oder gar keinen Speichelfluss hat und ob sein Zahnbestand vorgeschädigt ist. Zu klären ist, inwieweit ein Patient in der Lage ist, durch sich wiederholende und in einer bestimmten Form und Dauer ausgeführten Mundhygiene eine für Remineralisationsvorgänge ausreichende Ionenkonzentration, die sich am günstigsten in gesättigter Form in wässriger Lösung entfalten kann, aufrechtzuerhalten (KAWASAKI *et al.* 2000). Das Vorhandensein von Ionen in den hier *in vitro* untersuchten gesättigten Lösungen trägt maßgeblich dazu bei, einen deutlichen Remineralisationsvorgang an den Zahnoberflächen zu erzeugen.

Abhängig vom Speichelfluss werden Mundspüllösungen und auch Zahnpasten *in vivo* wieder abtransportiert, teilweise auch verschluckt (DAWES 1983), so dass die zugesetzten Ionen und im Speziellen die Fluoridionen nur in sehr individueller und geringer Form remineralisierend und kariesprophylaktisch wirken (LAMBROU *et al.*

1981). Dies galt es bei der praktischen Anwendung in Bezug auf eine angestrebte Mindestputzdauer der Zahnproben, sofern das Fluorid in der Zahnpasta enthalten ist, und auf die Einwirkzeit des Speichersatzmittels zu bedenken. Da eine nur geringe Konzentration von frei verfügbarem Kalzium in oralen Flüssigkeiten die Bildung von kalziumvermittelten Fluoriddepots, in denen orale Fluoride nach lokaler Fluoridbehandlung eingebunden bleiben, begrenzt (MARTENS *et al.* 1998), konnten in der hier vorliegenden Studie durch die Zuführung höherer, in Form von mit OKP übersättigten Speichersatzmitteln vorliegenden Kalziummengen, die Remineralisationsvorgänge gesteigert werden.

Ebenso unterstützt werden können die Ergebnisse einer In-vivo-Studie, in der eine hohe Konzentration von Kalzium das Speichel-Fluorid erhöht hatte, indem es vor einer Fluoridspülung/Fluoridzahnpasta eingebracht wurde. Unmittelbar vorverabreichte Kalziumspülung vor einer Fluoridspülung erhöhte die Ein-Stunden-Fluoridspeichelkonzentration gegenüber der ausschließlichen Fluoridspülung. Umgekehrt führte eine Fluoridspülung vor der Kalziumspülung nicht zu einem Anstieg der Ein-Stunden-Fluoridspeichelkonzentration (VOGEL *et al.* 2006). Die Ergebnisse der hier vorliegenden Untersuchung bestärken die Schlussfolgerung, dass eine mäßig hohe Kalziumkonzentration, verabreicht unmittelbar vor einer Fluoridspülung oder Anwendung von Fluoridzahnpasta, die kariostatische Wirkung eines Fluoridproduktes steigert.

Als Mundspüllösungszusatz allein ist in Bezug auf das kariesprotektive Potential von Fluorid somit eher von einer geringeren Wirksamkeit auszugehen, auch, da die Verteilung der aufgenommenen Flüssigkeit auf alle oralen Oberflächen intraindividuell sehr inhomogen ist und interindividuell sehr hohe Unterschiede festzustellen sind (WEATHERELL *et al.* 1986). So kann man schlussfolgern, dass eine Fluoridmenge in einer wirksamen Konzentration, die man über einen ausreichenden Zeitpunkt in die Zahnoberflächen einbürstet, dort ihre erwünschte Wirkung freisetzen kann (KAWASAKI *et al.* 2000).

Auch die tatsächliche Vermischung der neu sezernierten oder zugeführten künstlichen Speichel mit dem bereits vorliegenden Speichelfilm ist längst nicht vollständig (JENKINS *et al.* 1985). So ist eine individuelle Patientenanleitung nach genauer Untersuchung der Gegebenheiten für eine optimal wirksame Anwendung nötig.

Das Einlegen der Schmelz- und Dentinproben über die hier *in vitro* untersuchten Zeiträume von zwei und fünf Wochen und der zusätzliche und regelmäßige Einsatz des Slurrys bedeuten einen äußerst intensiven Kontakt. Wichtig ist hierbei, auf die Situation im Mund übertragen, was sich in dieser Studie als beste Anordnung erwiesen hat, nämlich die Erhaltung der optimalen Sättigung. Die maximale Remineralisationskapazität, die auf der optimalen

Oktakalziumphosphatsättigung in wässriger Lösung beruht, wird durch die gegenseitige positive Beeinflussung von zugesetzten Ionen und Fluoridionen im Slurry gesteigert.

6.3 Diskussion des Versuchsdesigns

Remineralisationsverläufe in demineralisiertem Schmelz und vor allem Dentin sind sehr komplex (KAWASAKI *et al.* 2000). Die Resultate bilden hier demnach sehr komplexe Vorgänge phänotypisch ab. Verschiedene erörterte Untersuchungen über Demineralisationsvorgänge, Speichel, Speichelersatzmittel, Speichelbewegungen, Putzen, fluoridierte Zahncremes und für den oralen Stoffwechsel relevante Ionen bildeten die Grundlagen für das Versuchsdesign (KIELBASSA 1997b, PAPAS *et al.* 1999, KIELBASSA *et al.* 1999b, DYER *et al.* 2000, KIELBASSA *et al.* 2000, BAYSAN *et al.* 2001, VOGEL *et al.* 2001, LARSEN *et al.* 2003, VOGEL *et al.* 2006, HUBER *et al.* 2007, TWETMAN 2009). Das vorliegende Modell scheint geeignet, mögliche Remineralisierungseffekte eines Speichelersatzmittels in Kombination mit einer hochkonzentrierten Fluoridzahnpaste zu zeigen.

In bisher durchgeführten Studien mit gängigen, kommerziell erhältlichen und hinsichtlich Kalzium-Phosphaten untersättigten Speichelersatzmitteln wurden Demineralisationen von Schmelz und Dentin nach Anwendung dieser Speichelersatzmittel festgestellt (TSCHOPPE *et al.* 2007). Ein fehlendes Remineralisierungsvermögen würde in der Konsequenz nicht den Anspruch an ein neu zu konzipierendes Speichelersatzmittel erfüllen. Wirksame Maßnahmen gegen eine im Sinne einer Schadenssequenz künstlich simulierten Manifestation der sowohl Schmelz als auch Dentin betreffenden (Strahlen-) Karies sollten erprobt werden. Das Versuchsdesign sollte erreichen, die demineralisierende Zusammensetzung eines bereits erhältlichen Speichelersatzmittels durch eine weiterentwickelte, remineralisierende Zusammensetzung aufzuheben. Entwicklung und Verlauf der (Strahlen-) Karies werden zudem maßgeblich durch das ihr begegnende Prophylaxeverhalten beeinflusst.

Für die Konzeption der vorliegenden Untersuchung wurde postuliert, dass Menschen als Grundhygienemaßnahme irgendeine Form des Zähneputzens mehr oder weniger regelmäßig ausführen. Daher wurden im Versuchsaufbau zusätzlich der Vorgang des Zähneputzens, der in den Abläufen der täglichen Pflegeroutine als erforderlich angesehen wird, und die als erwiesen anzusehenden kariesprotektiven Wirkungen des Fluorids eingearbeitet (ROLLA *et al.* 1991). An beiden Hartsubstanztypen waren vor Versuchsbeginn gesunde Bereiche künstlich demineralisiert worden, um Läsionen unterhalb der Oberfläche herzustellen, die eine Karies nachahmen sollten. So konnten Bedingungen nicht-gesunder Dentitionen

wirklichkeitsgetreu dargestellt werden, für die Remineralisationsleistungen notwendig und weitere Demineralisationsprozesse unbedingt zu vermeiden sind.

Das Vorhandensein einer Hyposalivation ist grundsätzlich ungünstig. Ohne ständige Maßnahmen der Befeuchtung (Verdünnung) sind anhaltende Phasen der Demineralisation in der Mundhöhle zu erwarten. Derart betroffene Patienten wenden in kurzen, aber häufigen Phasen Speichelersatzmittel an und/oder nehmen immer wieder kleine Mengen Flüssigkeit zu sich. Entscheidend für die De- und Remineralisation scheint zu sein, was in dem zugeführten Medium enthalten ist. Klinisch werden Speichelersatzmittel von Patienten rein nach Bedarf verwendet und unterliegen keiner Tageshöchstdosis. In der vorliegenden Studie wurden *in vitro* die Schmelz- und Dentinproben in einem intensiven Kontakt über einen Zeitraum von zwei und fünf Wochen den verschiedenen Speichelersatzmitteln ausgesetzt. Berücksichtigt man die komplexer ausfallende Zugänglichkeit der Zahnoberflächen *in vivo* sowie Schwankungen in der Regelmäßigkeit und Intensität der Anwendung, könnten ähnliche Effekte des hier *in vitro* untersuchten intensiven Kontakts klinisch durchaus über längere Zeiträume erwartet werden (IMFELD *et al.* 1995b).

Um die erörterten klinisch relevanten Aspekte zu erfassen, wurden in dieser In-vitro-Studie neben dem Ursprungsprodukt drei Modifikationen des Speichelersatzmittels Saliva natura hinsichtlich Kalzium, Phosphat und Fluorid in ihrer Wirkung sowohl auf demineralisierten bovinen Schmelz als auch Dentin untersucht. Diese wurden dabei mit hochfluoridhaltigem Duraphat-Ersatzmittel-Slurry manuell vorsichtig geputzt oder benetzt. Diese Untersuchung sollte ein Modell darstellen, das etwas komplexere klinische Annahmen teilweise vorwegnimmt. Aus zahnärztlicher Sicht wäre wünschenswert, neben Patienten mit definitiver Hyposalivation die teilweise unzureichend therapierten Oligosialien einzubeziehen. Diese reichen von Patienten mit somatischen oder psychosomatischen Leiden, Medikationen, medizinischen Therapien, Dehydration, Dysphonie, Dysphagie oder Dysgeusie bis zu Patienten im Senium. Denn unabhängig von der Diagnose zeigt das potentielle Anwenderprofil eines Speichelersatzmittels einen Patienten, dessen möglicherweise sämtliche Zahngewebe teilweise oder ganz exponiert sind, eventuell mit Läsionen, Abrasionen, Attritionen, kariösen Vorschädigungen und freiliegenden Zahnhälsen. Ein sehr hohes Risiko sowohl für Karies als auch für bakterielle, virale oder fungiforme Infektionen der Mundschleimhaut sind typische Folgen solcher Situationen (IMFELD 1984b, RATH *et al.* 2008). Trotz des limitierten Rahmens einer In-vitro-Studie lassen die Ergebnisse vermuten, dass für die genannten Varianten vorgeschädigter Gewebe eine günstiger verlaufende Gewebereaktion bei kombinierter Anwendung eines remineralisierenden Speichelersatzmittels und Putzens mit hochfluoridhaltiger Zahnpasta möglich zu sein scheint.

Durch die übersättigten Modifikationen von Saliva natura und die kombinierte Verwendung eines hochfluoridhaltigen Duraphat-Slurrys konnten signifikante Verbesserungen in Bezug auf das Remineralisationsvermögen erreicht werden. Daher mußte die Nullhypothese, die besagte, dass sich unterschiedliche Modifikationen hinsichtlich S_{OKP} und S_{DKPD} von Saliva natura nicht signifikant bezüglich Demineralisierungsgrad und Läsionstiefe boviner Schmelz- und Dentinproben über die Zeitintervalle (2 und 5 Wochen) unterscheiden, abgelehnt werden. Bezugnehmend auf die Befunde dieser Untersuchung könnte somit eine kombinierte Anwendung eines mit Kalzium und Phosphaten angereicherten Speichelersatzmittels, einer hohen Fluoriddosis der verwendeten Zahnpasta und einer geeigneten Zahnpflegetechnik besonders bei Patienten mit Hyposalivation prophylaktisch und therapeutisch vorteilhaft sein. Ihr potentieller klinischer Nutzen sollte daher *in vivo* weiter untersucht werden.

7 Schlussfolgerungen

Im Ergebnis zeigt diese Studie, dass durch die höheren Sättigungen der modifizierten Speichelersatzmittel eine Remineralisation der demineralisierten Schmelz- und Dentinproben herbeigeführt werden konnte. Im Rahmen der Versuchsanordnung erfolgte eine regelmäßige Applikation von hochdosiertem Fluorid in Kombination mit modifizierten Saliva natura-Lösungen. Die modifizierte Lösung S_{OKP} 3 (SN 3) erzielte dabei die besten Ergebnisse in absoluten Zahlen, unterschied sich jedoch nicht signifikant von der Lösung S_{OKP} 2 (SN 2). Somit ermöglichen Saliva natura-Lösungen mit leichten Übersättigungen an OKP und DKPD in Kombination mit hochkonzentrierter Fluoridzahnpaste (Duraphat) Remineralisationen von Schmelz und Dentin *in vitro*. Die Ergebnisse widerlegten somit die Nullhypothese. Wünschenswert und erforderlich sind nun auf Basis der hier erzielten Ergebnisse vielgestaltig entworfene Versuchsanordnungen für In-vivo-Untersuchungen, die den potentiellen Nutzen dieser Kombination klinisch bestätigen.

8 Zusammenfassung

Problemstellung: Speichelersatzmittel können Schmelz und Dentin demineralisieren. **Zielsetzung:** Für diese In-vitro-Studie wurden die Wirkungen experimenteller Modifikationen von Saliva natura (hinsichtlich Kalzium, Phosphat und Fluoriden) sowie die gleichzeitige Anwendung einer hochfluoridhaltigen Zahncreme (Duraphat) untersucht. **Material und Methoden:** Je hundert demineralisierte (suboberflächliche Läsionen; 37 °C, Schmelz: 14 d, Dentin 7 d) bovine Schmelz- und Dentinproben wurden in drei mit Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD) unterschiedlich hoch gesättigten Modifikationen (S_{OKP1-3}) von Saliva natura (SN 1-3), der Originallösung (SN) sowie einer Remineralisationslösung (PK) über zwei und fünf Wochen gelagert. Parallel wurden alle Proben (2×2 min/ d) mit einem standardisierten hochkonzentriertem Fluoridzahnpasta (5000 ppM; Duraphat)-Speichelersatzmittel-Slurry (1:3) (Schmelz: mit Putzen, 5s/ Probe; Dentin: ohne Putzen) behandelt. Schrittweise wurden die Probenoberflächen in Bereiche unterteilt (Kontrolle/gesund, demineralisiert, Effektbereiche 2 und 5) und mit Lack bedeckt. Die Untersuchungsbereiche wurden nach Dünnschliffverfahren ausgewertet; Unterschiede hinsichtlich des Mineralverlustes (ΔZ) und der Läsionstiefe (ΔL_t) vor/nach Lagerung wurden mittels Transversaler Mikroradiographie (TMR) evaluiert. **Ergebnisse:** SN 1-3 (übersättigt hinsichtlich OKP) zeigten nach zwei und fünf Wochen remineralisierende Wirkungen auf demineralisierte bovine Schmelz- und Dentinproben. Diese unterschieden sich signifikant von den in die Originallösung eingelegten Proben ($p < 0,005$; ANOVA), die nach zwei Wochen zunächst ein neutrales Verhalten, nach fünf Wochen jedoch eine signifikante Demineralisation zeigten ($p < 0,005$). SN 3 erreichte die größten Remineralisationswerte, unterschied sich aber nicht signifikant von SN 2 ($p > 0,005$). Ähnliche Ergebnisse wurden für die Läsionstiefen ermittelt. **Schlussfolgerungen:** Innerhalb der hier eingegrenzten Untersuchungsbedingungen ermöglichte die Kombination von OKP/DKPD-Übersättigungen von Saliva natura mit einem Speichelersatzmittel-Fluoridzahnpasta-Slurry *in vitro* eine Remineralisation der demineralisierten Schmelz- und Dentinproben. Bereits leichte Übersättigungen von Saliva natura hinsichtlich OKP und annähernde Sättigungen mit DKPD führten zu signifikanten Remineralisationen.

Schlagwörter:

Xerostomie; Hyposalivation; Speichelersatzmittel; Demineralisation; Schmelz; Dentin; OKP-Sättigung; Kalzium; Phosphat; Fluoride; Slurry; Zähneputzen; Remineralisation.

Klinische Bedeutung:

Anhand der vorliegenden Ergebnisse könnte die Verwendung der Kombination S_{OKP} /hochkonzentrierte Fluoride für Patienten empfohlen werden.

9 Abstract

Statement of problem: Saliva substitutes are able to demineralize enamel and dentin. **Objectives:** For this *in vitro* study, the effects of experimental modifications (with respect to calcium, phosphate and fluoride) of Saliva natura and simultaneous application of high-concentrated fluoride toothpaste (5000 ppm, Duraphat) were examined. **Materials and methods:** One hundred each of both demineralized bovine enamel and dentin specimens (subsurface lesions; 37 °C, enamel: 14 d, dentin 7 d) were stored in three different modifications with respect to the degree of saturation with octacalcium phosphate (OCP) and dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) (S_{OCP} 1-3) of Saliva natura (SN 1-3), the original solution (SN) and a remineralizing solution (PK) for two and five weeks. Simultaneously all specimens were treated (2×2 min/ d) with a standardized high-concentrated fluoride toothpaste (5000 ppm; Duraphat)-saliva substitute-slurry (1:3) (enamel: with brushing, 5 s/ specimen; dentin: without brushing). Successively, surfaces of specimens were divided in subareas (control/sound, demineralized, effect 2 and 5), and covered with nail varnish. After preparation, thin sections for microradiography were obtained. Differences in mineral loss (ΔZ) and lesion depth (ΔLt) before/after exposure were evaluated microradiographically with contact microradiographs (TMR). **Results:** After two and five weeks SN 1-3 (supersaturated with respect to OCP) showed remineralizing effects on bovine demineralized enamel and dentin specimens. The specimens differed significantly from those stored in the original solution Saliva natura ($p < 0,005$; Anova), which first showed, after the period of two weeks, a neutral reaction but revealed significant demineralization effects after five weeks ($p < 0,005$). SN 3 demonstrated the highest remineralization, but did not differ significantly from modification SN 2 ($p > 0,005$). Comparable results were obtained for lesion depths. **Conclusions:** Under the conditions of this limited protocol, the combination of saliva natura solutions slightly supersaturated (with respect to OCP/ DCPD) with a high-concentrated fluoride toothpaste-saliva substitute-slurry enabled remineralization of demineralized enamel and dentin specimens *in vitro*. Slightly supersaturated modifications of saliva substitute Saliva natura with respect to OCP and nearly saturated with respect to DCPD induce significant remineralization.

Keywords:

Xerostomia ; hyposalivation ; saliva substitute ; demineralization; enamel; dentine; OCP-saturation ; calcium; phosphate; fluorides; slurry; toothbrushing; remineralization.

Clinical significance:

On the basis of the results the combination of S_{OCP} /highly-concentrated fluoride could be recommended for patients.

10 Literaturverzeichnis

- 1 Absi E, Addy M, Adams D: The effect of toothbrushing and dietary compounds on dentine in vitro: A SEM study. *J Oral Rehabil* 1992, 19:101-10.
- 2 Adams D, Addy M, Absi EG: Abrasive and chemical effects of dentifrices; in Embery G, Rolla G: *Clinical and Biological Aspects of Dentifrices*. Oxford Medical Publication 1996:345-55.
- 3 Ahrens G: Lokale Fluoridapplikationen und Effizienz der Anwendungsformen von Fluoridionen: Lösungen und Gelees. *Dtsche Zahnärztl Z* 1983, 38(5):576-9.
- 4 Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM: Factors affecting the development of carious lesions in bovine teeth in vitro. *Arch Oral Biol* 1998, 43:619-28.
- 5 Angmar MB: *Studies on the distribution and ultrastructure of the main components in human dental enamel*. Zahnmed Diss, Stockholm 1970:
- 6 Arends J, Schuthof J, Jongebloed W: Microhardness indentations on artificial white spot lesions. *Caries Res* 1979, 13:290-7.
- 7 Arends J, Christofferson J, Schuthof J, Smits MT: Influence of xylitol on demineralization of enamel. *Caries Res* 1984, 18:296-301.
- 8 Arends J, Christofferson J, Ruben J, Jongebloed WG: Remineralisation of bovine dentine in vitro. *Caries Res* 1989, 23:309-14.
- 9 Arends J, Christofferson J: Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. *J Dent Res* 1990, 69:601-5.
- 10 Arnold W: Mikromorphologie und Molekularbiologie der Dentinogenese und Amelogenese. *Dtsche Zahnärztl Z* 2006, 61:524-34.
- 11 Årtun J, Thylstrup A: Clinical and scanning electron microscopic study of surface changes of incipient enamel caries lesions after debonding. *Scand J Dent Res* 1986, 94:193-210.
- 12 Atkinson JC, Grisius M, Massey W: Salivary hypofunction and xerostomia: diagnosis and treatment. *Dent Clin North Am* 2005, 49:309-26.
- 13 Attin T, Deifuss H, Hellwig E: Influence of acidified fluoride gel on abrasion resistance of eroded enamel. *Caries Res* 1999, 33:135-9.
- 14 Attin T, Koidl U, Buchalla W, Schaller H, Kielbassa A, Hellwig E: Correlation of microhardness and wear of differently eroded enamel. *Arch Oral Biol* 1997, 42:243-50.
- 15 Backer Dirks O: Post-eruptive changes in dental enamel. *J Dent Res* 1966, 45:503-11.
- 16 Basting GH: *Praktische Zahnerhaltungskunde*. Berlin, Quintessenz, 1987, pp 28, 214-6.
- 17 Baum B: Salivary gland fluid secretion during aging. *J Am Geriatr Soc* 1989, 5:453-8.
- 18 Baysan A, Lynch E, Ellwood R, Davies R, Petersson L, Borsboom P: Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5,000 and 1,100 ppm fluoride. *Caries Res* 2001, 35:41-6.
- 19 Ben-Aryeh H, Gutman D, Szargel R, Laufer D: Effects of irradiation on saliva in cancer patients. *Int J Oral Surg* 1975, 4:205-10.
- 20 Betke H, Schick U, Buchalla W, Hellwig E, Attin T: Einfluß der Pufferkapazität von aminfluoridhaltigen Zahnpasten und Gelen auf die Schmelzabrasion. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2003, 113:1158-64.
- 21 Bork K, Hoede G, Korting G, Burgdorf W, Young S: *Diseases of the oral mucosa and the lips*. Philadelphia, Saunders, 1996, pp 377.
- 22 Bornstein M, Filippi A., Buser, D.: Früh- und Spätfolgen im intraoralen Bereich nach Strahlentherapie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2001, 111:61-8.
- 23 Borsboom P, Arends J, van der Mei HC: Enamel lesion formation with and without fluoride in solution. *Caries Res* 1985, 19:396-402.
- 24 Brown LR, Dreizen S, Handler S, Johnstone D: The effect of irradiation induced xerostomia on human oral microflora. *J Dent Res* 1975, 11:50-4.

- 25 Brown LR, Dreizen S, Rider LJ, Johnstone DA: The effect of radiation induced xerostomia on saliva and serum lysozyme and immunoglobulin levels. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1976, 1:83-92.
- 26 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, 19:490-6.
- 27 Carl W: Local radiation and systemic chemotherapy: preventing and managing the oral complications. *J Am Dent Assoc* 1993, 124:119-23.
- 28 Chatzidakis AJ: Mikroradiografische Untersuchung zur Auswirkung unterschiedlicher Elektrolytkonzentrationen potenzieller CMC-basierender Speichersatzmittel auf demineralisierten bovinen Schmelz in vitro. Zahnmedizinische Fakultät, Charité-Campus Benjamin Franklin 2007: 82.
- 29 Chavez EM, Taylor GW, Borrell LN: Salivary function and glycemic control in older persons with diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000, 89:305-11.
- 30 Chow LC, Takagi S, Shih S: Effect of a two-solution fluoride mouthrinse on remineralization of enamel lesions in vitro. *J Dent Res* 1992, 71:443-7.
- 31 Christersson CE, Lindh L, Arnebrant T: Film-forming properties and viscosities of saliva substitutes and human whole saliva. *Eur J Oral Sci* 2000, 108:418-25.
- 32 Christofferson M, Christofferson J, Arends J: Kinetics of dissolution of calcium hydroxylapatit VII. The effect of fluoride ions. *J Crystal Growth* 1984, 67:107-14.
- 33 Cooper J, Fu K, Marks J: Late effects of radiation therapy in the head and neck region. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995, 31:1141-64.
- 34 Davidson C, Boom G, Arends J: Calcium distribution in human and bovine surface enamel. *Caries Res* 1973, 7:349-59.
- 35 Davies A: Saliva substitutes or stimulants. *Palliat Med* 1997, 11:254-5.
- 36 Davies A: The management of xerostomia: a review. *Eur J Cancer Care* 1997a, 6:209-14.
- 37 Davies A, Daniels C, Pugh R, Sharma K: A comparison of artificial saliva and pilocarpine in the management of xerostomia in patients with advanced cancer. *Palliat Med* 1998, 12:105-11.
- 38 Davies A: A comparison of artificial saliva and chewing gum in the management of xerostomia in patients with advanced cancer. *Palliat Med* 2000, 14:197-203.
- 39 Dawes C: A mathematical model of salivary clearance of sugar from the oral cavity. *Caries Res* 1983, 17:321-34.
- 40 Dawes C: Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. *J Dent Res* 1987, 66:648-53.
- 41 Dawes C, Weatherell J: Kinetics of fluoride in the mouth. *J Dent Res* 1990, 69:638-44.
- 42 de Groot JF, Borggreven JM, Driessens FC: Some aspects of artificial caries lesion formation of human dental enamel in vitro. *J Biol Buccale* 1986, 14:125-31.
- 43 Deetjen P, Speckmann E: Physiologie. München-Wien, Urban&Schwarzenberg, 1996, pp 946.
- 44 Distler W, Kröncke A: Der Stoffwechsel isolierter Streptokokken und Plaque im Vergleich. *Dtsch Zahnärztl Z* 1979, 34:162-4.
- 45 Dorozhkin SV, Epple M: Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew Chem Int Ed* 2002, 41:3130-46.
- 46 Dreizen S, Brown LR, Handler S, Levy BM: Radiation-induced xerostomia in cancer patients. Effect on salivary and serum electrolytes. *Cancer* 1976, 38:273-8.
- 47 Dyer D, Addy M, Newcombe R: Studies in vitro of abrasion by different manual toothbrush heads and a standard toothpaste. *J Clin Periodontol* 2000, 27:99-103.

- 48 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, 82:268-75.
- 49 Esser M, Tinschert J, Marx R: Material characteristics of the hard tissues of bovine versus human teeth. *Dtsch Zahnärztl Z* 1998, 53:713-7.
- 50 Feagin F, Gonzalez M, Jeansonne B: Kinetic reactions of calcium, phosphate, and fluoride ions at the enamel surface-solution interface. *Calcif Tissue Res* 1972, 10:113-27.
- 51 Fischer GM, Morgan R, Phillips G: Radiation damage in calcium phosphates and collagen: an interpretation of ESR spectra. *Radiat Res* 1971, 46:229-35.
- 52 Gängler P, Arnold W, Steinberg D: Zahnkaries - Grundlagen und Diagnostik. Ätiologie und Pathogenese. In: Gängler P, Hoffmann T, Willershausen B, Schwenzer N, Ehrenfeld M (Hrsg): *Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie*. Stuttgart, New York, Thieme, 2005, pp 112-36.
- 53 Gelhard TB, Fidler V, s-Gravenmade EJ, Vissink A: Remineralization of softened human enamel in mucin- or CMC-containing artificial salivas. *J Oral Pathol* 1983, 12:336-41.
- 54 Grötz K, Duschner H, Kutzner J, Thelen M, Wagner W: Neue Erkenntnisse zur Ätiologie der sogenannten Stahlenkaries. Nachweis direkt radiogener Veränderungen an der Schmelz-Dentin-Grenze. *Strahlenther Onkol* 1997, 173:668-76.
- 55 Guchelaar HJ, Vermes A, Meerwaldt JH: Radiation-induced xerostomia: pathophysiology, clinical course and supportive treatment. *Support Care Cancer* 1997, 5:281-8.
- 56 Gülzow HJ, Hellwig E, Hetzer G: *Leitlinie Fluoridierungsmaßnahmen*. 2005, Düsseldorf, DGZMK
- 57 Guijarro Guijarro B, Lopez Sanchez AF, Hernandez Vallejo G: Treatment of xerostomia. A review. *Med Oral* 2001, 6:7-18.
- 58 Hatton MN, Levine MJ, Margarone JE, Aguirre A: Lubrication and viscosity features of 45:496-9.
- 59 Heintze U, Petersson L: Accumulation and clearance of fluoride in human mixed saliva after different topical treatments. *Swed Dent J* 1979, 3:141-8.
- 60 Hellwig E, Klimek J, Attin T: *Einführung in die Zahnerhaltung*. München-Jena, Urban&Schwarzenberg, 1999, pp 22; 90; 100-2.
- 61 Höhling H: *Die Bestandteile von Schmelz und Dentin aus einer morphologischen, chemischen strukturellen Sichtweise*, Hanser, 1966.
- 62 Huber HP, Nitschke I: Salivationsminderung im Alter. *Quintessenz* 2007, 58:293-8.
- 63 Hunter M, West N: Mechanical tooth wear: The role of individual toothbrushing variables and toothpaste abrasivity, in: Addy M, Embery G, Edgar W, et al (ed): *Tooth Wear and Sensitivity*, 2000, pp 161-9.
- 64 Iijima M, Nelson D, Pan Y, Kreinbrink A, Adachi M, Goto T, Moriwaki Y: Fluoride analysis of apatite crystals with a central planar OCP inclusion: concerning the role of F.ions on apatite/OCP/apatite structure formation. *Calcif Tissue Int* 1996, 59:377-84.
- 65 Iijima Y, Takagi O: In situ resistance of in vivo formed white spot lesions. *Caries Res* 2000, 34:388-94.
- 66 Ikebe K, Sujma H, Kobayashi S: Association of salivary flow rate with oral function in a sample of community dwelling older adults in Japan. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002, 94:184-90.
- 67 Imfeld T: Oligosialie und Xerostomie I: Basis Beispiele, Epidemiologie, Etiologie, Pathologie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984a, 94:741-54.
- 68 Imfeld T: Oligosialie und Xerostomie II: Diagnose, Prophylaxe und Behandlung. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984b, 94:1083-96.

- 69 Imfeld T: Reduzierter Speichelfluß: Ursachen, Folgen und Diagnose, in: GmbH MCS (ed): Reduzierter Speichelfluß und Mundtrockenheit: Herausforderung zur Zusammenarbeit in der Kariesprophylaxe. München, 1995a
- 70 Imfeld T, Lutz F: The subjective evaluation of oral health in 40- to 69-year-old subjects. A representative survey of 600 persons in German- and French-speaking Switzerland. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1995b, 105:10:1272-83.
- 71 Imfeld T: Comparison of the mechanical effects of a toothbrush and standard abrasive on human and bovine dentine in vitro. *J Clin Dent* 2001, 12:4:92-6.
- 72 Itthagarun A, Wei SH: Chewing gum and saliva in oral health. *J Clin Dent* 1997, 8:159-62.
- 73 Jansma J, Vissink A, Gravenmade EJ, Visch LL, Fidler V, Retief DH: In vivo study on the prevention of postradiation caries. *Caries Res* 1989, 23:172-8.
- 74 Jenkins G, Krebsbach P: Experimental study of the migration of charcoal particles in the human mouth. *Arch Oral Biol* 1985, 30:697-9.
- 75 Johnsson MS, Nancollas GH: The role of brushite and octacalcium phosphate in apatite formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992, 3:61-82.
- 76 Jones IL, Leaver AG: Studies on the minor components of the organic matrix of human dentine. *Arch Oral Biol* 1974, 19:371-80.
- 77 Jongebloed WL, s'-Gravenmade EJ, Retief DH: Radiation caries: A review and SEM study. *Am J Dent* 1988, 1:139-46.
- 78 Joyston-Bechal S, Kidd EA: The effect of three commercially available saliva substitutes on enamel in vitro. *Br Dent J* 1987, 163:187-90.
- 79 Katz S: The use of fluoride and chlorhexidine for the prevention of radiation caries. *J Am Dent Assoc* 1982, 104
- 80 Kawasaki K, Featherstone JD: Effects of collagenase on root demineralization. *J Dent Res* 1997, 76:588-95.
- 81 Kawasaki K, Ruben J, Tsuda H, Huysmans MC, Takagi O: Relationship between mineral distributions in dentine lesions and subsequent remineralization in vitro. *Caries Res* 2000, 34:395-403.
- 82 Keene HJ, Daly T, Brown LR, Dreizen Sr, Drane JB, Horton IM: Dental caries and streptococcus mutans prevalence in cancer patients with irradiation-induced xerostomia: 1-13 years after radiotherapy. *Caries Res* 1981, 15:27.
- 83 Kielbassa AM, Pioch T, Rowbotham F, Hellwig E: In vivo demineralization of irradiated human enamel. A SEM study. *Acta Med Dent Helv* 1997a, 2:193-8.
- 84 Kielbassa AM: Prophylaxe der Wurzelkaries beim älteren Patienten. *Prophylaxe Impuls* 1997b, 1:6-18.
- 85 Kielbassa AM, Beetz I, Schendera A, Hellwig E: Irradiation effects on microhardness of fluoridated and non-fluoridated bovine dentin. *Eur J Oral Sci* 1997c, 105:444-7.
- 86 Kielbassa AM, Rowbotham F, Hellwig E, Schade-Brittinger C: Der Einfluß der Mundhygiene auf die Entstehung der initialen Karies in tumortherapeutisch bestrahltem Schmelz: Eine In-situ-Untersuchung. *Dtsch Zahnärztl Z* 1997d, 52:735-40.
- 87 Kielbassa AM, Wrbas KT, Dornfeld B, Hellwig E, Schade-Brittinger C: *In vitro* and *in situ* studies on the effects of tumor radiotherapy on the development of caries in human dentin. *Dtsch Zahnärztl Z* 1999a, 54:31-7.
- 88 Kielbassa AM, Shohadai SP: The effect of saliva substitutes on lesion depth of demineralized enamel. *Dtsch Zahnärztl Z* 1999b, 54:757-63.
- 89 Kielbassa AM, Shohadai SP, Schulte-Mönting J: Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel. *Support Care Cancer* 2000, 9:40-7.
- 90 Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H: [Effects of saliva substitutes and mouthwash solutions on dentin]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2001, 111:1060-6.

- 91 Kielbassa AM: Strahlentherapie im Kopf-Halsbereich, in: Kielbassa AM (ed). Hannover, Schlütersche, 2004, pp 66.
- 92 Kielbassa AM, Gillmann L, Zantner C, Meyer-Lueckel H, Hellwig E, Schulte-Monting J: Profilometric and microradiographic studies on the effects of toothpaste and acidic gel abrasivity on sound and demineralized bovine dental enamel. *Caries Res* 2005, 39:380-6.
- 93 Kitamura M, Kiyah H, Mulligan K: Predictors of root caries in the elderly. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1986, 14:34-8.
- 94 Klapproth J: Der Einfluss tumortherapeutischer Bestrahlungen auf das De- und Remineralisationsverhalten von humanem Dentin – eine in-vitro-Studie. Med. Fak., Martin-Luther-Universität 2003:
- 95 Klimek J: Initiale Karies und ihre Behandlung, *Deutscher Zahnärztekalender* (ed Deutscher Zahnärzte Verlag). Köln, 1997, pp 23-42.
- 96 König KG: Karies und Parodontopathien- Ätiologie und Prophylaxe. Stuttgart, Thieme, 1987, pp 30-74.
- 97 Küster F, Thiel A, Fischbeck K: Buffer systems. In: *Logarithmic monograph*. Berlin, de Gruyter, 1972.
- 98 Lambrou D, Larsen M, Fejerskov O, Tachos B: The effect of fluoride in saliva on remineralisation of dental enamel in humans. *Caries Res* 1981, 15:341-5.
- 99 Larsen MJ, Bruun C: Caries chemistry and fluoride mechanism of action, in: Thylstrup A, Fejerskov O (ed): *Textbook of clinical cariology*. 2nd edn. Munksgaard, Kopenhagen, 1994, pp 231-57.
- 100 Larsen MJ, Pearce EI: Saturation of human saliva with respect to calcium salts. *Arch Oral Biol* 2003, 48:317-22.
- 101 LeGeros R: *Calcium phosphate in oral biology and medicine*. Basel, Karger, 1991.
- 102 Lehmann K, Hellwig E: *Einführung in die restaurative Zahnheilkunde*. München, Urban&Schwarzenberg, 1993, pp 13-23.
- 103 Leone C, Oppenheim, FG: Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in humans. 2001, 65:1054-62.
- 104 Levine MJ, Aguirre A, Hatton MN, Tabak LA: Artificial salivas: present and future. *J Dent Res* 1987, 66:693-8.
- 105 Llana-Puy C: The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006, 11:449-55.
- 106 Lüdin M, Müller O: Zahnveränderungen nach protrahiert-fraktionierter Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie Onkologie* 1936, 56:644-9.
- 107 Lussi A, Jaeggi T: Erosionspotential verschiedener Mundpflegeprodukte. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2001, 111:274-81.
- 108 Lynch RJ, Mony U, ten Cate JM: Effect of lesion characteristics and mineralizing solution type on enamel remineralization in vitro. *Caries Res* 2007, 41:257-62.
- 109 Macpherson LM, Damato FA, MacFarlane TW, Strang R, Stephen KW: Variation in the susceptibility of enamel to an in vitro demineralization system. *Caries Res* 1991, 25:143-5.
- 110 Mair L: Wear in the mouth: The tribological dimension, in Addy M, Embery G, Edgar WM, Orchardson R: *Tooth Wear and Sensitivity*, 2000, pp 181-8.
- 111 Mannerberg F: Appearance of tooth surfaces as observed in shadowed replicas, in various age groups, in long-term studies, after toothbrushing, in cases of erosion and after exposure to citrus fruit juice. *Odont Revy* 1960, 11:1-116.
- 112 Margolis HC, Duckworth JH, Moreno EC: Composition and buffer capacity of pooled starved plaque fluid from caries-free and caries-susceptible individuals. *J Dent Res* 1988, 67:1476-82.

- 113 Marks NJ, Roberts B: A proposed new method for the treatment of dry mouth. *Ann R Coll Surg Engl* 1983, 65:191-3.
- 114 Marschall M: Mikroradiografische Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Elektrolytkonzentrationen von leinsamenbasierter Speichelersatzmittel auf demineralisierten bovinen Schmelz in vitro. Medizinische Fakultät, Charité-Campus Benjamin Franklin 2006: 77.
- 115 Martens L, Verbeeck R: Mechanism of action of fluorides in local/topical application. *Rev Belge Med Dent* 1998, 53:295-308.
- 116 Mathis H: Die Erkrankungen der Speicheldrüsen (ed Carl Hanser). München, Germany, 1954.
- 117 Matzker J, Schreiber J: Synthetischer Speichel zur Therapie der Hyposalivation, insbesondere der radiogenen Sialadenitis. *Z Laryngol Rhinol Otol* 1972, 51:422-8.
- 118 Medizinproduktegesetz: (ed verfügbar unter: http://www.bfarm.de/nn_424276/DE/BfArM/BfArMServicegesetze/gesetze-node.html_nnn=true). 2009, Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
- 119 Mellberg JR: Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anticariogenic activity in situ. *J Dent Res* 1992, 71:913-9.
- 120 Mellberg JR: The mechanism of fluoride protection. *Compend Contin Educ Dent* 1997, 18:37-43.
- 121 Meurman J, Rytömaa I, Kari K, Laakso T, Murtomaa H: Salivary pH and glucose after consuming various beverages, including sugar-containing drinks. *Caries Res* 1987, 21:353-9.
- 122 Meyer J, Nancollas G: The effect of pH and temperature on the crystal growth of hydroxyapatite. *Arch Oral Biol* 1972, 17:1623-7.
- 123 Meyer-Lueckel H, Schulte-Monting J, Kielbassa AM: The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 2002, 8:192-8.
- 124 Meyer-Lueckel H, Umland N, Hopfenmuller W, Kielbassa AM: Effect of mucin alone and in combination with various dentifrices on in vitro remineralization. *Caries Res* 2004, 38:478-83.
- 125 Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM: Influence of calcium phosphates added to mucin-based saliva substitutes on bovine dentin. *Quintessence Int* 2006a, 37:537-44.
- 126 Meyer-Lueckel H, Hopfenmuller W, von Klinggraeff D, Kielbassa AM: Microradiographic study on the effects of mucin-based solutions used as saliva substitutes on demineralised bovine enamel in vitro. *Arch Oral Biol* 2006b, 51:541-7.
- 127 Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Stenzel WR, Hopfenmuller W, Kielbassa AM: The effect of polymers used in saliva substitutes on demineralized bovine enamel in vitro. *Am J Dent* 2006c, 19:308-12.
- 128 Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Kielbassa AM: Effect of various $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ concentrations of linseed-based saliva substitutes on enamel in vitro. *J Oral Rehabil* 2006d, 33:760-6.
- 129 Meyer-Lueckel H, Chatzidakis AJ, Kielbassa AM: Effect of various calcium/phosphates-ratios of carboxymethylcellulose based saliva substitutes on mineral loss of bovine enamel in vitro. *J Dent* 2007, 35:851-7.
- 130 Mira J, Wescott WB, Starke EN, Shannon IL: Some factors influencing salivary function when treating with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1981, 7:535-41.
- 131 Momm F, Volegova-Neher NJ, Schulte-Monting J, Guttenberger R: Different Saliva Substitutes for Treatment of Xerostomia Following Radiotherapy A Prospective Crossover Study. *Strahlenther Onkol* 2005, 181:231-6.
- 132 Münzel M: Die Biochemie der menschlichen Speicheldrüsensekrete. *Arch Oral Biol* 1981, 21:233-7.

- 133 Nancollas G, Mohan M: The growth of hydroxyapatite crystals. *Arch Oral Biol* 1970, 15:731-45.
- 134 Nancollas GH, Tomazic B: Growth of calcium phosphate on hydroxyapatite crystals. Effect of supersaturation and ionic medium. *J Phys Chem* 1974, 78:2218-25.
- 135 Navazesh M, Brightman VJ, Pogoda JM: Relationship of medical status, medications and salivary flow rates in adults of different ages. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996, 81:172-6.
- 136 Naylor M, Murray J: Fluorides and dental caries, in: Murray J (ed): *The prevention of dental disease*. Oxford, Oxford University Press, 1983, pp 83-158.
- 137 Nieuw Amerongen AV, Oderkerk CH, Driessen AA: Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. *Caries Res* 1987, 21:297-309.
- 138 Noack M, Fritz U, Seemann R: Wurzelkaries - Ein Prophylaxe- und Behandlungskonzept, in: *Zahnärztekalendar D* (ed). Köln, Deutscher Zahnärzte Verlag, 1997, pp 43-7.
- 139 Ogaard B: The cariostatic mechanism of fluoride. *Compend Contin Educ Dent* 1999, 20:10-7.
- 140 Palmi G, Blackwell B, Maxwell AE: Patterns of salivary flow in depressive illness and during treatment. *Br J Psychiatry* 1967, 113:1297-308.
- 141 Papas A, Joshi A, MacDonald SC: Caries prevalence in xerostomic individuals. *J Can Dent Assoc* 1993, 59:177-9.
- 142 Papas A, Russell D, Singh M, Stack K, Kent R, Triol C, Winston A: Double blind clinical trial of a remineralizing dentifrice in the prevention of caries in a radiation therapy population. *Gerodontology* 1999, 16:2-10.
- 143 Pioch T, Golfels D, Staehle H: An experimental study on the stability of irradiated teeth in the region of the dentinoenamel junction. *Endod Dent Traumatol* 1992, 8:241-4.
- 144 Pioch T, Möller D, Staehle HJ, Hoppe W: Solubility of enamel and synthetic hydroxylapatite on irradiation. *Dtsch Zahnärztl Z* 1991, 46:413-5.
- 145 Pontefract H, Hughes J, Kemp K, Yates R, Newcombe R, Addy M: The erosive effects of mouthrinses on enamel: A study in situ. *J Clin Periodontol* 2001, 28:319-24.
- 146 Raab WH, Petschelt A, Voß A: Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zur radiogenen Karies. *Dtsch Zahnärztl Z* 1990, 45:425-7.
- 147 Rahn R, Kocjancic B, Urban T, Manegold R: In-vitro-Untersuchungen zur Ursache der radiogenen Karies. *Zahnärztl Welt* 1989, 98:701-3.
- 148 Rath C, Imfeld T: Dry mouth--oral care for patients with oligoliasia and xerostomia. *Ther Umsch* 2008, 65:2:91-6.
- 149 Reeh ES, Douglas WH, Levine MJ: Lubrication of saliva substitutes at enamel-to-enamel contacts in an artificial mouth. *J Prosthet Dent* 1996, 75:649-6.
- 150 Reich E: Welche Faktoren führen zu einem hohen Kariesrisiko? *Dtsch Zahnärztl Z* 1995, 50:769-75.
- 151 Remick R, Blasberg B, Patterson B, Carmichael R, Miles J: Clinical aspects of xerostomia. *J Clin Psychiatry* 1983, 44:63-5.
- 152 Rieke JW, Hafermann MD, Johnson JT, LeVeque FG, Iwamoto R, Steiger BW, Muscoplat C, Gallagher SC: Oral pilocarpine for radiation-induced xerostomia: integrated efficacy and safety results from two prospective randomized clinical trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995, 31:661-9.
- 153 Roberts B: A study of the viscosity of saliva at different shear rates in dentate and edentulous patients. *J Dent* 1977, 5:303-9.
- 154 Robinson C, Shore R, Brookes S, Strafford S, Wood S, Kirkham J: The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000, 11:481-95.

- 155 Rolla G, Ogaard B, De Almeida Cruz R: Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: a review. *Int Dent J* 1991, 41:171-4.
- 156 Ruben J, Arends J: Shrinkage prevention of in vitro demineralized human dentine in transversal microradiography. *Caries Res* 1993, 27:262-5.
- 157 Rubin R, Doku H: Therapeutic radiology-the modalities and their effects on oral tissues. *J Am Dent Assoc* 1976, 92:731-9.
- 158 Rytömaa I, Meurman J, Franssila S, Torkko H: Oral hygiene products may cause dental erosion. *Proc Finn Dent Soc* 1989, 85:161-6.
- 159 Schemehorn BR, Orban JC, Wood GD, Fischer GM, Winston AE: Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent* 1999, 10:13-6.
- 160 Schemel W, Hummel K, Krekeler G: Härteprüfung an Schmelz, Dentin und Zement rezenter menschlicher Zähne. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984, 94:1029-41.
- 161 Schneider H: Konservierende Zahnheilkunde. Linnich, Apollonia, 1992, pp 198.
- 162 Schroeder HE: *Orale Strukturbiologie*. Stuttgart, Thieme, 1987, pp 73-85.
- 163 Seifert G, Miehlke A, Haubrich J, Chilla R: *Speicheldrüsenkrankheiten*. Stuttgart, Thieme, 1984, pp 91-7.
- 164 s'Gravenmade EJ, Vissink A: Mucin-containing lozenges in the treatment of intraoral problems associated with Sjögren's syndrome-A double-blind crossover study in 42 patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993, 75:466-71.
- 165 Shannon IL, McCrary BR, Starcke EN: A saliva substitute for use by xerostomic patients undergoing radiotherapy to the head and neck. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977, 44:656-61.
- 166 Shannon IL, Edmonds EJ: Effect of fluoride concentration on rehardening of enamel by a saliva substitute. *Int Dent J* 1978a, 28:421-6.
- 167 Shannon IL, Trodahl JN, Starcke EN: Remineralization of enamel by a saliva substitute designed for use by irradiated patients. *Cancer* 1978b, 41:1746-50.
- 168 Shellis RP: A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. *Comput Appl Biol Sci* 1988, 4:373-9.
- 169 Ship J, De Carli, C, Friedland, RP: Diminished submandibular salivary flow in dementation of the Alzheimer type. *J Gerontol* 1990, 45:61-6.
- 170 Silverstone LM, Wefel JS, Zimmerman BF, Clarkson BH, Featherstone MJ: Remineralization of natural and artificial lesions in human dental enamel in vitro. Effect of calcium concentration of the calcifying fluid. *Caries Res* 1981, 15:138-57.
- 171 Slop D, de Rooij J, Arends J: Abrasion of enamel. I. An in vitro investigation. *Caries Res* 1983,
- 172 Sreebny LM, Schwartz SS: A reference guide to drugs and dry mouth. *Gerodontology* 1986, 5:75-99.
- 173 Sreebny LM: Recognition and treatment of salivary induced conditions. *Int Dent J* 1989, 39:197-204.
- 174 Stookey G, Muhler J: Laboratory studies concerning the enamel and dentin abrasion properties of common dentifrice polishing agents. *J Dent Res* 1968, 47:524-32.
- 175 Tanaka M, Kadoma Y: Comparative reduction of enamel demineralization by calcium and phosphate in vitro. *Caries Res* 2000, 34:241-5.
- 176 Ten Cate JM: Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci* 1997, 105:461-5.
- 177 Ten Cate JM, Damen JJ, Buijs MJ: Inhibition of dentin demineralization by fluoride in vitro. *Caries Res* 1998, 32:141-7.
- 178 Tenovuo J, Rekola M: Some effects of sugar-flavored acid beverages on the biochemistry of human whole saliva and dental plaque. *Acta Odontol Scand* 1977, 35:317-30.

- 179 Tepel J, Haverkamp U, Hoppe W: The influence of fluoride on the solubility of human irradiated enamel. *Oralprophylaxe* 1992, 14:12-6.
- 180 Thiel H: Die Strahlenkaries. *Radiobiol Radiother* 1989, 30:192-211.
- 181 Tschoppe P: Mikroradiographischer Einfluss verschiedener in Speichelersatzmitteln enthaltene Basisstoffe auf demineralisiertem Schmelz und Dentin. Zahnmedizinische Fakultät, Charité-Campus Benjamin Franklin 2005: 68.
- 182 Tschoppe P, Meyer-Lückel H, Toll R, Kielbassa AM: In Vitro Analysis of an New Saliva Substitute (Saliva natura[®]) on Enamel and Dentin. *Laryngo rhino otol* 2007, 10:723-7.
- 183 Tschoppe P, Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM: Effect of carboxymethylcellulose-based saliva substitutes on predemineralised dentin evaluated by microradiography. *Arch Oral Biol* 2008, 53:250-6.
- 184 Tschoppe P, Kielbassa A, Meyer-Luckel H: Evaluation of the remineralizing capacities of modified saliva substitutes in vitro. *Arch Oral Biol* 2009a, 54:810-6.
- 185 Tschoppe P, Kielbassa AM, Meyer-Luckel H: Modifikation der mineralisierenden Eigenschaften eines Speichelersatzmittels auf Schmelz. *Laryngo-rhino-otol* 2009b, 88:717-22.
- 186 Tschoppe P, Wolgin M, Pischon N, Kielbassa A: Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health. *Quintessence Int* 2010, 41:321-33.
- 187 Twetman S: Caries prevention with fluoride toothpaste in children: an update. *Eur Arch Paediatr Dent* 2009, 10:162-7.
- 188 Van der Reijden WA, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV: Rheological properties of commercially available polysaccharides with potential use in saliva substitutes. *Biorheology* 1994, 31:631-42.
- 189 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, 58:465-74.
- 190 Van der Weijden G, Timmerman M, Reijerse E, Snoek C, van der Velden U: Toothbrushing force in relation to plaque removal. *J Clin Periodontol* 1996, 23:724-9.
- 191 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, 13:22-8.
- 192 Vissink A, 's-Gravenmade EJ, Gelhard TB, Panders AK, Franken MH: Rehardening properties of mucin- or CMC-containing saliva substitutes on softened human enamel. Effects of sorbitol, xylitol and increasing viscosity. *Caries Res* 1985, 19:212-8.
- 193 Vissink A, De Jong HP, Busscher HJ, Arends J, s'Gravenmade EJ: Wetting properties of human saliva and saliva substitutes. *J Dent Res* 1986, 65:1121-4.
- 194 Vissink A, 's-Gravenmade EJ, Panders AK, Vermey A: Treatment of hyposalivation. *Ear Nose Throat J* 1988, 67:179-85.
- 195 Vitali C, Bombardieri, S, Jonsson, R: Classification criteria for Sjögren´s syndrome in a closed rural community. *Ann Rheum Dis* 2002, 61:554-8.
- 196 Vogel G, Zhang Z, Chow L, Schuhmacher G: Effect of a water rinse on `labile` fluoride and other ions in plaque and saliva before and after conventional and experimental fluoride rinses. *Caries Res* 2001, 35:116-24.
- 197 Vogel G, Shim D, Schumacher G, Carey C, Chow L, Takagi O: Salivary fluoride from fluoride dentifrices or rinses after use of a calcium pre-rinse or calcium dentifrice. *Caries Res* 2006, 40:449-54.
- 198 Waldeyer A, Mayet A: Anatomie des Menschen 2. Berlin, de Gruyter, 1986, pp 51.
- 199 Wannemacher M: Experimentelle und klinische Untersuchungen zur Wirkungen ionisierender Strahlen auf die Gewebe im Bereich der Mundhöhle. München, Hanser Verlag, 1976.
- 200 Weatherell JA, Hallsworth AS, Robinson C: The effect of tooth wear on the distribution of fluoride in the enamel surface of human teeth. *Arch Oral Biol* 1973, 18:1175-89.

- 201 Weatherell JA, Strong M, Robinson C, Ralph J: Fluoride distribution in the mouth after fluoride rinsing. *Caries Res* 1986, 20:111-9.
- 202 Wefel JS, Heilmann J, Jordan T: Comparison of in vitro root caries models. *Caries Res* 1995, 29:204-9.
- 203 Wescott WB, Starcke EN, Shannon IL: Chemical protection against postirradiation dental caries. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975, 40:709-19.
- 204 White D: The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Adv Dent Res* 1995, 9:175-93.
- 205 Whitford GM: The physiological and toxicological characteristics of fluoride. *J Dent Res* 1990, 69:539-49.
- 206 Willich N, Gundacker K, Zwingers T, Rohloff R: Die Entwicklung von Strahlenkaries nach Hochdosis Bestrahlung. *Strahlenther Onkol* 1988, 164:466-73.
- 207 Zimmermann JS, Wilhelm R, Niehoff P, Schneider R, Kovacs G, Kimmig B: [Prevention and therapy of acute radiation-related morbidity of the skin and mucosa]. *Strahlenther Onkol* 1998, 174:142-8.

11 Anhang

11.1 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Tab.	Tabelle
Ca	Kalzium
Ca ²⁺	Kalzium
Ca ₁₀ [PO ₄] ₆ [OH] ₂	Hydroxylapatit
Ca/P	Kalzium-Phosphat
CaF ₂	Kalziumfluorid
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ F ₂	Fluorapatit
Cl ⁻	Chlorid
DKPD	Dikalziumphosphat-Dihydrat, (Synonyme: Brushit, Dikalziumdihydrogenphosphat)
F ⁻	Fluorid
HA	Hydroxylapatit
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat
KOH	Kalilauge
Mg ²⁺	Magnesium
MHDP	Methylendiphosphonsäure
Na ⁺	Natrium
NaCl-Lösung	isotonische Kochsalzlösung
OKP	Oktakalziumphosphat
P	Phosphat
ppM	parts per million
CEC	Carboxyethylcellulose
CMC _{jj}	Carboxymethylcellulose
HEC	Hydroxyethylcellulose
Na-CMC	Natrium-Carboxymethylcellulose
POE	Polyethylenoxid
PK	Positivkontrolle/ Remineralisationslösung
S _{OKP} 1-3	unterschiedliche Sättigungen (1-3) hinsichtlich OKP
S _{OKP} und S _{DKPD}	Sättigung mit OKP und DKPD
SN 0	Saliva natura [®]
SN 1-3	Saliva natura [®] -Modifikationen 1-3

d	demineralisierter Bereich der Zahnhartsubstanz
e2	Effektbereich der Zahnhartsubstanz nach zwei Wochen
e5	Effektbereich der Zahnhartsubstanz nach fünf Wochen
g	gesunder/ nicht demineralisierter Bereich der Zahnhartsubstanz
TMR	Transversale Mikroradiographie
Lt	Läsionstiefe
Mv	Mineralverlust
OS	Oberflächenschicht
LK	Läsionskörper
MW	Mittelwert
Stabw	Standardabweichung
$\Delta Z_G, Lt_G$	Mineral gesund
$\Delta Z_{Demin}, Lt_{Demin}$	Mineral demineralisiert
$\Delta Z_{Effekt2}$	Mineralverlust nach Lagerung für zwei Wochen
$\Delta Z_{Effekt5}$	Mineralverlust nach Lagerung für fünf Wochen
$Lt_{Effekt2}$	Läsionstiefe nach Lagerung für zwei Wochen
$Lt_{Effekt5}$	Läsionstiefe nach Lagerung für fünf Wochen
$\Delta\Delta Z_{Effekt2}$	effektive Mineralverluste nach zwei Wochen
$\Delta\Delta Z_{Effekt5}$	effektive Mineralverluste nach fünf Wochen
$\Delta Lt_{Effekt2}$	effektive Läsionstiefen nach zwei Wochen
$\Delta Lt_{Effekt5}$	effektive Läsionstiefen nach fünf Wochen

11.2 Liste der verwendeten Materialien

Alle in dieser Dissertationsschrift genannten Marken und Produktnamen unterliegen warenzeichen-, patentrechtlichen– oder markenrechtlichem Schutz bzw. sind Warenzeichen der jeweiligen Inhaber. Die Wiedergabe von Marken, Produktnamen, Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen etc. in dieser Schrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Waren- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und benutzt werden dürften.

- Mat. 1 Analysenwaage Typ AG204; Mettler, Gießen, Deutschland
- Mat. 2 Aqua dest. „Ampuwa“[®]; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
- Mat. 3 Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 4 CCD Videokamera Modul XC77CE; Sony, Japan
- Mat. 5 CRT Brutschrank Incubat; Melag, Berlin, Deutschland
- Mat. 6 Duraphat[®] Fluorid 5 mg/ g Zahnpaste; Colgate-Palmolive, Salford, England
- Mat. 7 Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat. 8 Einwegspritzen Injekt[®] Solo 5 ml/ 20 ml, Luer-Ansatz exzentrisch; B. Braun, Melsungen, Deutschland
- Mat. 9 Emissions-Spektrometrie (ICP OES), Optima 2100 DV; Perkin-Elmer, Rodgau-Jügesheim, Deutschland
- Mat. 10 Ethylenglycol; Sigma, Steinheim, Deutschland
- Mat. 11 Falcon Probenröhrchen 50 ml; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 12 Filter 0,22 µm; Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
- Mat. 13 Fluoridelektrode, Typ 96-09 BNC; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
- Mat. 14 Fluoridstandard, 0,1 Molar; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
- Mat. 15 High speed holographic Film So-253; Kodak, Stuttgart, Deutschland
- Mat. 16 Ionenchromatograph, 761 Compact IC mit Autosampler; Metrohm, Filderstadt, Deutschland
- Mat. 17 Kaliumchlorid 99,5-100,5 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 18 Kaliumdihydrogenphosphat min 98 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 19 Kaliumhydroxid-Plättchen min. 85,0 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 20 Kalziumchlorid \geq 90,0 % wasserfrei gepulvert; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 21 Kleingefäß 50 ml; Jena Glas Schott & Gen, Mainz, Deutschland
- Mat. 22 Leukofix; Beiersdorf, Hamburg, Deutschland
- Mat. 23 Magnesiumchlorid >98 % wasserfrei; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 24 Methyldiphosphonsäure >98 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 25 Methyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 26 Mikrometerschraube Digimatic; Mitutoyo GmbH, Kawasaki, Japan
- Mat. 27 Mikropipette Acura 821; Socorex, Lausanne, Schweiz
- Mat. 28 Milchsäure etwa 90 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 29 Nagellack JetSet; Lóreal, Paris, Frankreich
- Mat. 30 Natriumcarbonat/Natriumhydrogenkarbonat, Eluentkonzentrat; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 31 Natriumchlorid min. 99,5 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 32 Natriumchlorid 0,9 % Lösung; DeltaSelect GmbH, Pfullingen, Deutschland

Mat. 33	Objektträger; diaplus, Oststeinbeck, Deutschland
Mat. 34	pH-Meter CG 819; Schott Geräte GmbH, Hofheim, Deutschland
Mat. 35	Propyl-4-hydroxybenzoat min. 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 36	Pufferlösung CertiPUR [®] pH 4,00 und 7,00; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 37	Rechteckbehältnis; Tupperware, Frankfurt a.M., Deutschland
Mat. 38	Regel-Transformator Typ 392533; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Mat. 39	REM Probenhalter G 301; Plano, Wetzlar, Deutschland
Mat. 40	Röntgenstrahlgenerator, PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande
Mat. 41	Rührgerät IKA-Combimag; Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland
Mat. 42	Saliva natura [®] medac; Parnell Pharmaceuticals Ltd., Dublin, Ireland
Mat. 43	Salpetersäure 65%ig, Suprapur; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 44	Schleifpapier; Exakt, Norderstedt, Deutschland
Mat. 45	Schleif- und Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz - Buehler, Düsseldorf, Deutschland
Mat. 46	Schleifsystem Exakt 400cs; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
Mat. 47	Sekundenkleber UHU; Henkel, Düsseldorf, Deutschland
Mat. 48	SPSS Software, Version 11.5.1; SPSS Inc., München, Deutschland
Mat. 49	Tabellenkalkulationssoftware, Office Excel 2003; Microsoft Deutschland, Unterschleißheim, Deutschland
Mat. 50	Technovit 4071; Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland
Mat. 51	Tetric Flow Dentalcomposit; Ivoclar Vivadent, Ellwangen, Deutschland
Mat. 52	Thymol > 99 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 53	TISAB II; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
Mat. 54	Titration, Orion Auto Chemistry System 960; Fisher Scientific, Ulm, Deutschland
Mat. 55	TMR für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande
Mat. 56	TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland
Mat. 57	Ultra - Turrax T25; Janke & Kunkel, IKA [®] - Labortechnik, Staufen, Deutschland
Mat. 58	Wärmeschrank BR 6000; Heraeus, Hanau, Deutschland
Mat. 59	Wasserstrahlpumpe; Brand GmbH, Wertheim, Deutschland
Mat. 60	Weithalsflaschen 1500 ml; Merck, Darmstadt, Deutschland
Mat. 61	Zahnbürsten Meridol-Paro, weich; Gaba, Lörrach, Deutschland

11.3 Danksagung

Mein allerherzlichster Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. A. M. Kielbassa für die Überlassung des Themas und sein mir entgegengebrachtes Vertrauen. Er hat mir alle Freiheiten gelassen und in den entscheidenden Momenten weitergeholfen.

Herrn Oberarzt Dr. P. Tschoppe danke ich für die tolle Betreuung, seine ständige Ansprechbarkeit und seine immerwährende positive Ermutigung während der Erstellung der vorliegenden Arbeit. Herrn MTA R. Toll danke ich für die sehr gute technische Betreuung und seinen überaus hilfsbereiten Einsatz.

Ich danke von ganzem Herzen meiner gesamten Familie, zuallererst Urs, und meinem Sohn Louis; meinen Eltern, sowie Michael und Lilo, Astrid und Uli und Cornelia.

Außerdem bedanken möchte ich mich bei Frau L. Gewehr, meiner Freundin Julie und Frau S. Yalinkilic.

11.4 Lebenslauf

„Mein Lebenslauf wird aus Gründen des Datenschutzes in der elektronischen Fassung meiner Arbeit nicht veröffentlicht.“

11.5 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Anke Czarnietzki, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „In-vitro-Studie eines Speichelersatzmittels (Saliva natura) und mehrerer Modifikationen auf den Mineralgehalt und die Läsionstiefe von bovinem Schmelz und Dentin nach Putzen mit und Lagerung in fluoridhaltiger Zahnpasta (Duraphat)“ 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:

Unterschrift