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

DISSERTATION

Einfluss von Fluoriden in Bleichgelen auf die Remineralisation von bovinem Zahnschmelz *in vitro*

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von
Stephan Alexander Bogner
aus Altenburg

Gutachter: 1. Prof. Dr. A. M. Kielbassa

2. Prof. Dr. A. M. Schmidt-Westhausen

3. Prof. Dr. J. Klimek

Datum der Promotion: 20.11.2009

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG 1
2. LITERATURÜBERSICHT 2
2.1. Zahnschmelz 2
2.1.1. Chemische Zusammensetzung 2
2.1.2. Histologischer Aufbau 3
2.1.3. Eigenschaften 4
2.1.4. Entstehung einer initialen Schmelzkaries 5
2.1.5. Histologischer Aufbau einer initialen Schmelzkaries 5
2.1.6. Remineralisation einer initialen Schmelzkaries 7
2.2. Fluoride 8
2.2.1. Fluoridwirkung auf Zahnschmelz 8
2.2.2. Fluoridwirkung auf demineralisierten Zahnschmelz 10
2.3. Bleichen 10
2.3.1. Einteilung der Bleichmethoden 11
2.3.2. Chemische Grundlagen des Bleichvorganges 13
2.3.3. Nebenwirkungen der Bleichbehandlung 15
2.3.4. Zusatzstoffe in Bleichgelen 17
3. FRAGESTELLUNG 18
4. MATERIAL UND METHODE 19
4.1. Herstellung der Schmelzproben 19
4.2. Demineralisation der Schmelzproben 20
4.3. Bleichen der Schmelzproben 21
4.4. Remineralisation der Schmelzproben 23
4.5. Vorbereitung der Proben für die transversale Mikroradiografie 23
4.6. Transversale Mikroradiografie 25
4.7. Mikroradiografische Untersuchung 26
4.8. Mikroradiografische Auswertung 27
4.8.1. Bestimmung des Mineralverlustes der Schmelzproben 27
4.8.2. Bestimmung der Läsionstiefe der Schmelzproben 27
4.8.3. Struktureller Aufbau der Schmelzproben 28
4.9. Untersuchungen mit dem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop 29
4.10. Bestimmung von Fluoridgehalt und pH-Wert in den Bleichgelen 31

4.11. Statistische Auswertung ... 32
5. ERGEBNISSE ... 34
5.1. Quantitative Auswertung ... 34
5.1.1. Mineralverlust der Schmelzproben ... 34
5.1.2. Veränderung des Mineralgehaltes ... 35
5.1.3. Läsionstiefe der Schmelzproben ... 38
5.1.4. Veränderung der Läsionstiefe ... 38
5.1.5. Fluoridgehalt und pH-Wert der Bleichgele ... 39
5.2. Qualitative Auswertung ... 40
5.2.1. Struktureller Aufbau der Schmelzproben nach dem Bleichen ... 40
5.2.2. Struktureller Aufbau der Schmelzproben nach der Remineralisation ... 42
5.2.3. Konfokalmikroskopische Auswertung ... 43
6. DISKUSSION ... 46
6.1. Diskussion von Material und Methode ... 46
6.1.1. Bovine Schmelzproben ... 46
6.1.2. Vorbereitung der Proben ... 47
6.1.3. Zusammensetzung der Bleichgele ... 48
6.1.4. Fluoridkonzentration und pH-Wert der Bleichgele ... 50
6.1.5. Bleichen und Remineralisation der Schmelzproben ... 51
6.1.6. Mikroradiografie ... 52
6.2. Diskussion der Ergebnisse ... 53
6.3. Schlussfolgerungen ... 60
7. ZUSAMMENFASSUNG ... 61
8. SUMMARY ... 62
9. LITERATURVERZEICHNIS ... 63
10. ANHANG ... 72
10.1. Abkürzungsverzeichnis ... 72
10.2. Material und Methode ... 73
10.2.1. Materialliste ... 73
10.2.2. Bleichgele ... 76
10.2.3. Ergebnisse ... 77
11. DANKSAGUNG ... 78
12. LEBENSLAUF ... 79

Vorbemerkung

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie wurden auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Zahnerhaltung (DGZ) am 24.11.2007 in Düsseldorf präsentiert:

Tschoppe P[a], Bogner S[a], Neumann K[b], Kielbassa AM[a]. Einfluss von fluoridierten und nicht fluoridierten Bleachinggelen auf die Remineralisation von Schmelz. Dtsch Zahnärztl Z 2007;62(Supplement):D18.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie wurden veröffentlicht:

Tschoppe P[a], Neumann K[b], Mueller J[a], Kielbassa AM[a]. Effect of fluoridated bleaching gels on the remineralization of predemineralized bovine enamel in vitro. J Dent 2009;37(2):156-62.

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

[b] Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie, CharitéCentrum 4, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Deutschland

1. EINLEITUNG

Ein strahlend weißes Lächeln ist in der heutigen Zeit Bestandteil des Schönheitsideals und gilt als Symbol für Gesundheit, Attraktivität und Jugendlichkeit. Dabei verursachen Genuss- und Lebensmittel, Tabak, aber auch Krankheiten oder Medikamente Verfärbungen der Zähne, die zunehmend als störend empfunden werden. Während früher für die Behandlung verfärbter Zähne Veneers oder Keramikkronen favorisiert wurden, stellt heute das Bleichen das Mittel der Wahl zur Zahnaufhellung dar und erfreut sich aus rein kosmetischen Gesichtspunkten einer zunehmenden Beliebtheit [Kihn 2007].

Im frühen 19. Jahrhundert war Wasserstoffperoxid als desinfizierende Mundspüllösung bekannt, ehe Harlan 1884 die bleichende Wirkung dieser Substanz zum ersten Mal beschrieb [Goldstein et al. 1995]. Das von Haywood 1989 beschriebene Home-bleaching geht auf den Kieferorthopäden Klusmier zurück, der seinen Patienten mit Gingivitis ein Wasserstoffperoxidgel verordnete, welches in einer individuell angepassten Schiene über Nacht angewendet wurde. Nach der Behandlung stellte er neben gesunden Gingivaverhältnissen auch eine Aufhellung der Zähne fest. Seit dem hat sich das Home-bleaching zu einer gängigen Methode in der Zahnmedizin entwickelt [Haywood et al. 1989, Goldstein 1997].

Obwohl das Bleichen als eine effiziente und einfache Methode zum Aufhellen der Zähne gilt, werden auch Nebenwirkungen wie Mineralverluste, eine Reduktion der Oberflächenhärte oder überempfindliche Zähne nach der Bleichbehandlung durch Peroxide sowie weitere im Bleichgel enthaltene Inhaltsstoffe angegeben [Basting et al. 2003]. Im Rahmen der Kariesprävention sind die Wirkungen der Fluoride sind vielfach beschrieben worden. Dabei konnte gezeigt werden, dass sich Fluoride in der Mundhöhle förderlich auf die Remineralisation von Zahnschmelz auswirken [ten Cate 2004]. Somit könnten die in einigen Bleichgelen enthaltenen Fluoridverbindungen einen interessanten Ansatz darstellen, ihre aufhellende Wirkung durch den remineralisierenden Effekt der Fluoride zu ergänzen, um damit gleichzeitig initial demineralisierte Schmelzbereiche wie White Spots erfolgreich zu therapieren. Ziel dieser Studie war es daher, den Einfluss von Natriumfluorid in zwei kommerziell erhältlichen Bleichgelen auf die Remineralisation von demineralisiertem, bovinem Zahnschmelz *in vitro* zu untersuchen.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Zahnschmelz

2.1.1. Chemische Zusammensetzung

Der Zahnschmelz ist die am stärksten mineralisierte und härteste Substanz im menschlichen Körper. Im Rahmen der Schmelzbildung scheiden Adamantoblasten eine Schmelzmatrix aus, die zum größten Teil aus nicht kollagenen Proteinen sowie zu 2 % aus Kohlenhydraten und Lipiden besteht. Diese Schmelzmatrix wird während der präeruptiven Schmelzreifung mineralisiert, wodurch Kristallstrukturen entstehen, die durch weitere Mineralisation wachsen. Dabei verbleiben Mikroporösitäten zwischen den Kristallen und Ionendefekte in den Gitterstrukturen, die erst nach Durchbruch des Zahnes in die Mundhöhle innerhalb der posteruptiven Schmelzreifung ausgeglichen werden [Fejerskov et al. 2008].

Humaner Zahnschmelz setzt sich zum größten Teil aus anorganischen Bestandteilen wie Kalzium, Phosphor, Karbonat, Magnesium und Natrium zusammen, wobei die Angaben über die Menge je nach Entnahmestelle und Analysemethode zwischen 93 und 98 Gew.% variieren [Gwinnett 1992]. Darüber hinaus besteht Zahnschmelz zu etwa 1 Gew.% aus organischer Substanz sowie 1,5 bis 4 Gew.% Wasser [Lutz et al. 1993]. Der organische Anteil des Zahnschmelzes enthält Proteine, Lipide und Spuren von Kohlenhydraten, Laktat und Zitrat, wobei sich ein Großteil dieser Stoffe im inneren Drittel der Schmelzschicht in Form von unvollständig mineralisierten und daher matrixangereicherten Schmelzbüscheln anordnet [Schröder 1992]. Als zweitgrößte Fraktion im Zahnschmelz kommt Wasser, entweder kristallin in der Hydratationsschale oder lose an die organische Schmelzmatrix gebunden, vor. Bei Erwärmung kann das lose gebundene Wasser verdampfen sowie bei Feuchtigkeitszufuhr wieder aufgenommen werden. Dies kann zur Erklärung physikalischer Phänomene bei der Kariesentstehung bzw. Kariesprävention beitragen [Dibdin 1972]. Der Zahnschmelz wirkt bei diesem Flüssigkeitsstrom als Molekularsieb, bei dem Ionen sowohl in den Zahnschmelz eingebaut als auch aus diesem herausgelöst werden können.

Als anorganische Hauptbestandteile liegen Kalzium und Phosphor im Zahnschmelz in einem Verhältnis von 1 : 1,2 als Apatitverbindung $(Ca_{10-x}PO_{6-x}) \times X_2 \times H_2O$ in Form kleiner Kristalle vor. Dabei handelt es sich um nicht stöchiometrische Verbindungen von Kalzium-, Phosphat- und Hydroxylionen, die als Hydroxylapatit bezeichnet werden [Nanci 2007]. Die Bildung von reinem, stöchiometrischen Hydroxylapatit ist unter

biologischen Bedingungen nicht möglich [Schumacher et al. 1990]. Durch ein Defizit an Kalzium-, Phosphat- und Hydroxylionen können diese Apatitkristalle durch verschiedene andere Ionen wie Karbonat, Natrium und Fluoride modifiziert werden. Durch diese Substitutionsreaktionen kann es zur Ausbildung von fluoridiertem Hydroxylapatit oder Fluorapatit kommen, die stabilere Kristallgitterstrukturen als Hydroxylapatit aufweisen. Nach Einbau von Karbonat in das Schmelzmineral verringert sich wiederum die Resistenz gegenüber einem kariösen Angriff [Nikiforuk et al. 1962, Hellwig et al. 2007].

2.1.2. Histologischer Aufbau

Die Apatitkristalle des Zahnschmelzes weisen einen annährend sechseckigen Querschnitt auf, haben einen Durchmesser von ungefähr 40 nm und sind ca. 160 nm lang. Etwa einhundert Schmelzkristalle liegen dicht gepackt, mehr oder weniger parallel, und bilden die Schmelzprismen (Abb. 1).

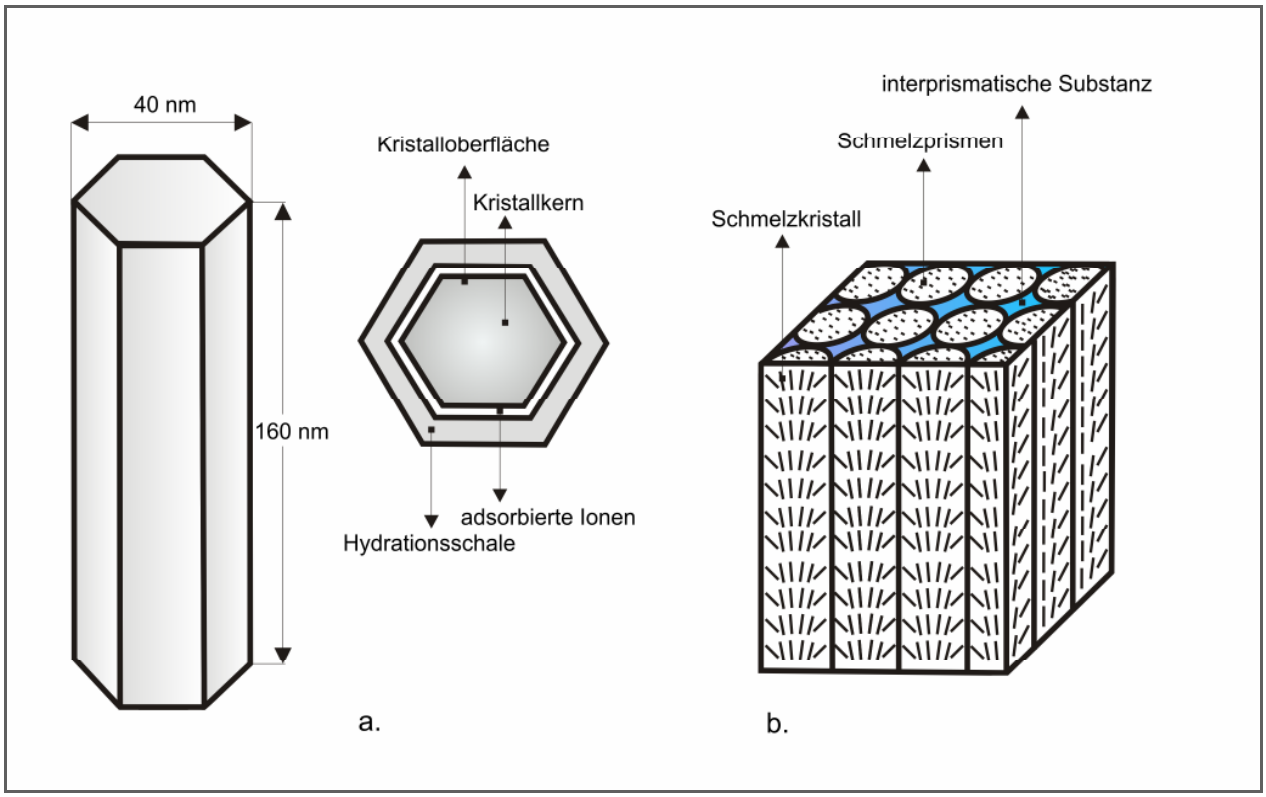

Abb. 1: a) Schematische Darstellung eines Hydroxylapatitkristalls [Nikiforuk 1985]
b) Ausrichtung der Schmelzkristalle innerhalb der Schmelzprismen [Hellwig et al. 2007]

Am Rand gelegene Kristallite haben aufgrund ihres größeren Winkels zur Längsachse ein gefiedertes Aussehen und stehen mit benachbarten Prismen in Verbindung (Abb. 1b). Dieser Verzahnungsbereich von ineinander greifenden Apatitkristallen, welche auch als Prismenscheide bezeichnet wird, bewirkt die hohe mechanische Festigkeit des Zahnschmelzes [Schumacher et al. 1990].
Die Schmelzprismen verlaufen in gewundener Form von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Schmelzoberfläche. Eingebettet sind die Schmelzprismen in der interprismatischen Substanz, die aus unregelmäßig angeordneten Schmelzkristallen, 11 Vol.% Wasser und 2 Vol.% organischem Material besteht. Im Gegensatz zu den Kristallen in den Prismen können Kristalle in der interprismatischen Substanz eine beträchtliche Länge erreichen und vereinzelt auch den gesamten Schmelz durchdringen [Daculsi et al. 1984]. An der Schmelzoberfläche menschlicher Zahnkronen befindet sich häufig eine Schicht prismenfreien Zahnschmelzes, in der die Kristalle parallel zur Oberfläche liegen [Nanci 2007]. Diese prismenfreie Oberfläche ist dichter mineralisiert und speichert größere Fluoridmengen als der unmittelbar darunter liegende prismenhaltige Zahnschmelz. Die prismenfreie Schmelzoberfläche ist dadurch weniger säurelöslich und widersteht einer kariösen Zerstörung wesentlich länger als der übrige Zahnschmelz (Schroeder 1992).

2.1.3. Eigenschaften

Aufgrund des Aufbaus und des hohen Mineralgehaltes sind Härte und Farbe des Zahnschmelzes mit der von Hydroxylapatit vergleichbar. Zahnschmelz ist wie Hydroxylapatit farblos. Die gelblichen Anteile in der Zahnkrone werden von durchscheinendem Dentin verursacht [Fejerskov et al. 2008].
Die Transparenz von Hydroxylapatit ist durch dessen Hydratationshülle zu erklären, denn die Brechungsindices (BI) der Medien Hydroxylapatit (BI 1,67) und Wasser (BI 1,33) sind ähnlich, sodass nur wenige Streustrahlen auftreten und der Schmelz transparent erscheint. Bei trockenem Zahnschmelz kommt es vermehrt dazu, dass Lichtstrahlen aus dem Medium Luft (BI 1) direkt auf das Medium Hydroxylapatit (BI 1,67) treffen. Dadurch kommt es zu einer stärkeren Streuung der Lichtstrahlen, was sich klinisch in einer dezent opak-kreidigen Farbe des Schmelzes bemerkbar macht [Fejerskov et al. 2008].

2.1.4. Entstehung einer initialen Schmelzkaries

Der Zahnschmelz ist unter physiologischen Bedingungen in der Mundhöhle ständigen De- und Remineralisationsvorgängen ausgesetzt. Für gesunden Zahnschmelz ist dabei ein dynamisches Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisation notwendig [Edgar et al. 2004, Featherstone 2004].
Durch die Nahrung aufgenommene niedermolekulare Kohlenhydrate können durch verschiedene Mikroorganismen in der dentalen Plaque verstoffwechselt werden. Die dabei entstehenden organischen Säuren wie Milch-, Brenztrauben- oder Buttersäure senken den pH-Wert unter den für Zahnschmelz kritischen Wert von 5,2 - 5,8 ab [Leonard et al. 1994]. Unter diesen Bedingungen ist der Speichel hinsichtlich Hydroxylapatit und Fluorapatit untersättigt, was zu einem Herauslösen von Kalzium und Phosphat aus den Apatitkristallen und damit zu einer Demineralisation von Zahnschmelz führt [Leonard et al. 1994, Fejerskov et al. 2008]. Verbleibt die dentale Plaque über einen längeren Zeitraum auf der Schmelzoberfläche, verzögert sich die Neutralisation der gebildeten Säuren durch die Puffersysteme des Speichels. Damit überwiegen die Demineralisationsvorgänge an der Schmelzoberfläche und es kommt zur Ausbildung einer initialen Schmelzkaries [Edgar et al. 2004, Featherstone 2004].

2.1.5. Histologischer Aufbau einer initialen Schmelzkaries

Eine initiale Schmelzkaries ist klinisch durch eine weißlich-opake Veränderung gekennzeichnet, wobei die Schmelzoberfläche aufgeraut, aber noch intakt erscheint. Dieser Bereich wird auch als White Spot bezeichnet [Fejerskov et al. 2008].
Die Untersuchung der Schmelzkaries kann mit einem Licht- und Polarisations-mikroskop durchgeführt werden. Dabei können an Dünnschliffen initialkariöser Schmelzbereiche in Abhängigkeit vom Imbitionsmedium zumeist vier verschiedene Zonen unterschieden werden (Abb. 2). Von der Schmelzoberfläche in Richtung Schmelz-Dentin-Grenze sind dabei die pseudointakte Oberflächenschicht, der Läsionskörper, die dunkle Zone und die Zone der fortschreitenden Demineralisation (transluzente Zone) zu erkennen. Die Oberflächenschicht ist durch einen im Mikroskop nicht sichtbaren Mineralverlust von 1 - 10 % sowie ein Porenvolumen von weniger als 5 % gekennzeichnet, weswegen auch von einer pseudointakten Oberflächenschicht

gesprochen wird. Es wird angenommen, dass die Poren im Zahnschmelz initial durch ein Herauslösen von leicht säurelöslichem Karbonat aus dem Apatitgitter entstehen [Hellwig et al. 2007]. Daran schließt sich der Läsionskörper als Zone mit dem größten Mineralverlust und einem Porenvolumen zwischen 5 - 25 % an, wobei in diese Poren Speichelbestandteile wie Wasser und Proteine eindringen können. In Richtung Dentin folgt die dunkle Zone mit einem Porenvolumen von 2 - 4 %. Aufgrund von Remineralisationsvorgängen an den Apatitkristallen sind die Poren kleiner als in der darunter liegenden transluzenten Zone, die ein Porenvolumen von 1 % aufweist und auch als Zone der fortschreitenden Demineralisation bezeichnete wird [Fejerskov et al. 2008].

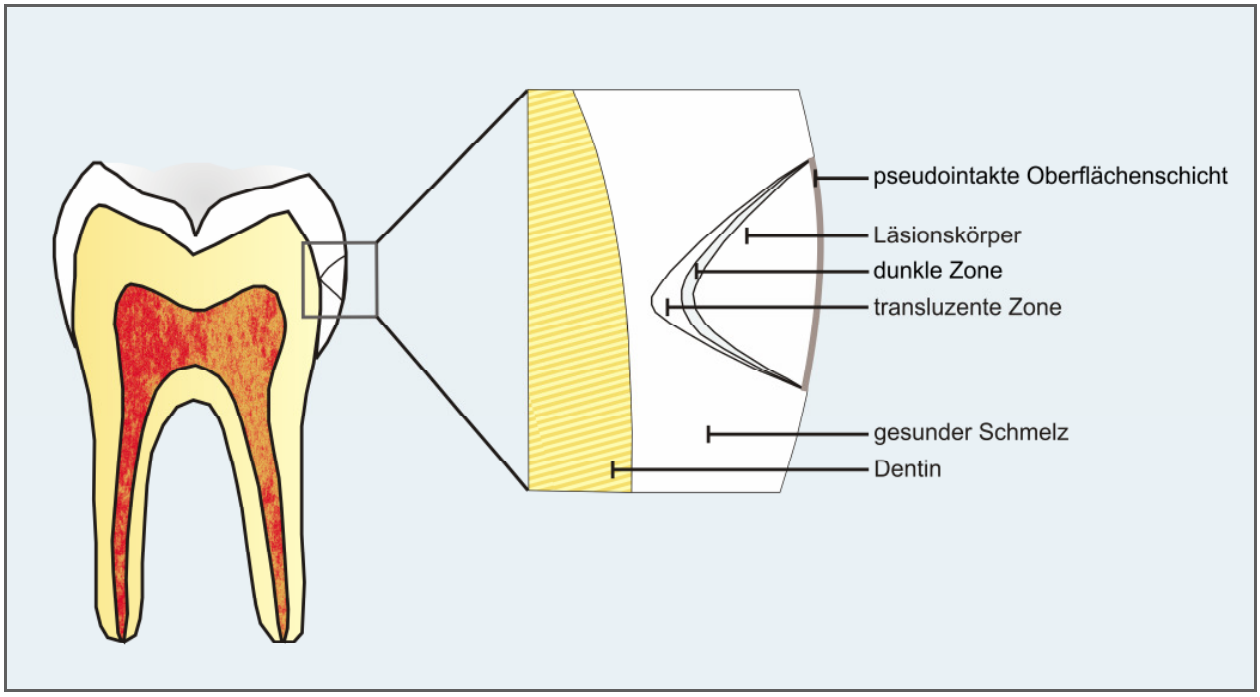

Abb. 2: Schematische Darstellung einer initialen kariösen Schmelzläsion [Hellwig et al. 2007]

Kariogene Mikroorganismen produzieren organische Säuren, die entlang eines Konzentrationsgradienten in die interprismatischen Bereiche des Zahnschmelzes diffundieren und dort dissoziieren. Die dabei freigesetzten Wasserstoffionen führen zu Auflösungserscheinungen an der Oberfläche der Kristallite [Fejerskov et al. 2008]. Dadurch werden Ionen gelöst, die in die wässrige Phase um die Kristalle und anschließend entlang des Konzentrationsgradienten durch die erweiterten Poren im Schmelz in Richtung Oberfläche diffundieren. Da der Diffusionsgradient zwischen Schmelz, Plaque und Speichel an der Schmelzoberfläche geringer wird, nimmt die

Diffusionsgeschwindigkeit ab und es kommt zu einer Präzipitation von Kalzium und Phosphat, wodurch eine pseudointakte Oberflächenschicht ausgebildet wird [Fejerskov et al. 2008].

2.1.6. Remineralisation einer initialen Schmelzkaries

Die Progression einer initialen Schmelzkaries wird durch Speichel, Mundhygienemaßnahmen und Ernährung beeinflusst. Dabei wird eine Vermeidung häufiger Demineralisationsprozesse, lange Phasen mit neutralem pH-Wert, kalzium- und phosphatübersättigter Speichel, ein optimales Fluoridangebot an der Schmelzoberfläche sowie eine noch nicht eingebrochene Oberflächenschicht als Vorraussetzung für die Remineralisation einer initialen Schmelzläsion angegeben [Silverstone 1977, König 1987, Featherstone 2004, Gmur et al. 2006].
Bei dem sehr langsam ablaufenden Prozess der Remineralisation kommt es neben dem Einbau von Mineralien zu einem Umbau vorhandener Schmelzkristallite [Arends et al. 1981, König 1987]. Eine Bildung von neuen Apatitkristallen wird dabei nicht angenommen [Fejerskov et al. 2008]. Die Schmelzoberflächen werden glatter und homogener und die Kristallite dichter gepackt und größer. Dabei kann der Durchmesser dieser Schmelzkristallite in remineralisierten Bereichen im Vergleich zu gesundem Schmelz (40 nm) um mehr als die Hälfte zunehmen (50 - 150 nm). Es kommt zu einer Verkleinerung der Läsion und Teile des Läsionskörpers nehmen die Struktur und optische Qualität der dunklen Zone an [Fejerskov et al. 2008].
Bei Mineralverlusten im Zentrum der Läsion von mehr als 30 % wird angenommen, dass zwar oberflächlich noch Mineral aufgenommen wird, jedoch im Läsionskörper keine vollständige Remineralisation der Initialläsion mehr stattfindet. Somit kann es bei optimalen Remineralisationsbedingungen zu einer Verbreiterung der Oberflächenschicht kommen, obwohl in der Tiefe der Läsion ein Defekt zurückbleibt [Silverstone 1984, Klinger et al. 1985]. Dieser erhöhte Mineralgehalt in der Oberflächenschicht schützt auf der einen Seite den Läsionskörper vor Demineralisation, bewirkt aber andererseits während der Remineralisationsphasen einen verminderten Mineralgewinn [Fejerskov et al. 2008]. Für Läsionen mit niedrigem Mineralgehalt innerhalb der Oberflächenschicht konnte wiederum gezeigt werden, dass diese aufgrund eines erhöhten Konzentrationsgradienten für Kalzium-, Phosphat- und

Fluoridionen zwischen Speichel und Zahnschmelz leichter remineralisieren [ten Cate 1990, Fejerskov et al. 2008].

2.2. Fluoride

Die Fluoride werden als ein wichtiger Pfeiler in der Kariesprävention angesehen. Als wirksame und praktikable Anwendungsmethoden haben sich dabei fluoridierte Zahncremes, Mundspüllösungen, Gele und Lacke sowie die Trinkwasser- und Kochsalzfluoridierung bewährt. Während der systemischen Applikation von Fluoriden früher ein großer Stellenwert eingeräumt wurde, nehmen heute die lokal verabreichten Fluoride die bedeutendere Rolle ein [Gülzow 2001, Hellwig et al. 2007, Schiffner 2007]. Dabei ist der Mechanismus der protektiven Wirkung der Fluoride multifaktoriell und konnte bis heute nicht vollständig geklärt werden. Die Fluoride bewirken an der Zahnhartsubstanz eine Förderung der Remineralisation, eine Hemmung der Demineralisation sowie einen Fluorideinbau in das Kristallgitter des Hydroxylapatits. Darüber hinaus können die Fluoride die Schmelzoberfläche durch Desorption von Proteinen und Bakterien beeinflussen sowie eine Hemmung des mikrobiellen Kohlenhydratstoffwechsels bewirken [Klimm 1997, Ekstrand et al. 1999].

2.2.1. Fluoridwirkung auf Zahnschmelz

Die Reaktion der Fluoride mit der Zahnhartsubstanz wird von verschiedenen Faktoren wie Fluoridkonzentration, pH-Wert, Kontaktzeit mit der Zahnhartsubstanz sowie der Art der Fluoridverbindung beeinflusst [Kirkegaard 1977]. Bei niedriger Fluoridkonzentration diffundieren Fluoridionen direkt in die Zahnhartsubstanz und können dort unspezifische Bindungen mit der Hydratationsschale der Kristalle und spezifische Bindungen mit den Kristallstrukturen eingehen. Die dabei entstehenden fluoridierten Hydroxylapatit- und Fluorapatitkristalle sind widerstandsfähiger gegenüber kariösen Angriffen. Durch die fluoridreichen Hydratationsschalen werden die Kristallstrukturen zusätzlich vor Demineralisation geschützt [Fischer et al. 1995].
Die Hydroxylapatitkristalle werden bei normaler Speichelzusammensetzung ab einem pH-Wert von 5,2 - 5,8 [Leonard et al. 1994] aufgelöst, wodurch Mineralien freigesetzt

werden. Da fluoridreiche Apatitstrukturen geringere Löslichkeitsprodukte als Hydroxylapatit aufweisen, dissoziieren bei gleichem pH-Wert weitaus weniger Moleküle aus fluoridreichen Apatitverbindungen [Fejerskov et al. 2008]. Die gelösten Mineralien aus dem Apatit können mit den auf der Schmelzoberfläche vorhandenen Fluoridionen als fluoridiertes Hydroxylapatit oder Fluorapatit wieder ausfallen und dem Verlust an Zahnmineral somit entgegenwirken [ten Cate 1997]. Fluoridhaltiges Apatit geht bei sinkendem pH-Wert später in Lösung und wird bei einsetzender Remineralisation als erste Kalzium-Phosphat-Verbindung wieder gebildet. Somit kann mit einer geringen, permanenten Fluoridverfügbarkeit von ≥ 1 ppm auf der Schmelzoberfläche ein wichtiger kariesprotektiver sowie remineralisierender Effekt erzielt werden [White et al. 1990].

Im Rahmen der Kariesprophylaxe spielen die gelösten Fluoridionen in der Umgebung des Zahnes eine bedeutendere Rolle als kovalent im Hydroxylapatit gebundene Fluoride. Das konnte in einer Studie gezeigt werden, bei der Haifischzähne und menschliche Zähne demineralisiert wurden. Obwohl Haifischzähne einen deutlich höheren Fluorapatitgehalt aufwiesen, waren die Demineralisationsmuster beider Schmelzarten ähnlich. Darüber hinaus war die Hemmung der Demineralisation durch Zugabe auch schon kleiner Mengen gelöster Fluoridionen in der Umgebung des Zahnschmelzes effektiver als ein höherer Fluorapatitgehalt im Schmelz [Ogaard et al. 1988]. Dabei wird angenommen, dass eine direkte Adsorption von Fluoridionen und die Etablierung einer Kalziumfluoriddeckschicht (CaF_2) auf der Schmelzoberfläche für diesen Effekt verantwortlich sind [Arends et al. 1990].

Die Zugabe von hohen Fluoridkonzentrationen, wie zum Beispiel im Fluoridgel, führt in Abhängigkeit des Speichelmineralgehaltes zu einem unterschiedlich ausgeprägten kalziumfluoridartigen Niederschlag auf der Schmelzoberfläche, der sich im Mikroskop als aufgelagerte globuläre Struktur darstellt. In diesem Präzipitat sind neben Kalziumfluorid auch Phosphate, Proteine und andere Bestandteile enthalten [Rolla et al. 1986]. Diese Schicht dient als Fluoridreservoir und kann während eines kariösen Angriffes Fluoridionen freisetzen.

Ein niedriger pH-Wert im Fluoridgel kann die Ausprägung dieser Deckschicht positiv beeinflussen, denn durch die initiale Auflösung der Schmelzoberfläche werden Mineralien freigesetzt, die sich mit den im Gel befindlichen Fluoridionen auf der Oberfläche auskristallisieren können [Attin et al. 2006]. Darüber hinaus kann eine verlängerte Reaktionszeit zwischen Fluoriden und Schmelz, eine erhöhte Konzentration von Fluoriden oder eine Vorbehandlung mit Kalzium zu einer verstärkten Ablagerung

von CaF_2 führen [Rolla et al. 1990]. Diese Kalziumfluoridkristalle bilden durch zusätzliche Anlagerung von Hydrogenphosphat-Ionen aus dem Speichel eine löslichkeitshemmende Schicht und somit einen Schutz vor Demineralisation [Saxegaard et al. 1988]. Eine Dissoziation von Fluoridionen aus diesem Depot findet erst bei einem kariösen Angriff und dem Absinken des pH-Wertes statt, wobei die Fluoridionen entweder in die Zahnhartsubstanz oder in den Speichel wandern können. Weil bei saurem pH-Wert Fluoridionen aus der CaF_2-Schicht freigesetzt werden sowie bei neutralem pH-Wert die Schicht weitestgehend stabil bleibt, wird es als pH-gesteuertes Fluoriddepot bezeichnet [Saxegaard et al. 1989, Ogaard 1990].
Im Schmelz reichern sich die freigesetzten Fluoridionen in der Flüssigkeit zwischen den Schmelzkristallen an und können so an die Kristalloberfläche der Apatite adsorbiert werden, wodurch die Kristallstruktur fluoridapatitähnliche Eigenschaften bekommt. Während eines kariösen Angriffs bleiben diese fluoridumhüllten Hydroxylapatitkristalle im Gegensatz zu den ungeschützte Kristalloberflächen länger stabil [Arends et al. 1990].

2.2.2. Fluoridwirkung auf demineralisierten Zahnschmelz

Die Fluoridwirkung auf demineralisierten Zahnschmelz verläuft grundsätzlich ähnlich wie bei gesundem Schmelz, jedoch kann in demineralisiertem Schmelz mehr Fluorid aufgenommen werden. Die porösere Struktur des demineralisierten Zahnschmelzes vergrößert die Oberfläche und die Kontaktfläche, die somit eine bessere Penetration des Fluorids zulässt. Darüber hinaus wird auf demineralisiertem Zahnschmelz eine breitere Ausprägung der CaF_2-Deckschicht beschrieben [Koulourides et al. 1974, Hellwig et al. 1984].

2.3. Bleichen

Die Popularität der Zahnaufhellung in der heutigen Zeit ist auf den gestiegenen Anspruch vieler Patienten zurückzuführen, neben gesunden Zähnen auch ein ästhetisch ansprechendes Lächeln zu haben [Kihn 2007, Zantner et al. 2007]. Der Wunsch des Patienten nach weißen Zähnen stellt dabei in der Geschichte der

Menschheit ein relativ neues Phänomen dar. Vor 4000 Jahren wurde in Japan das dekorative Schwarzfärben (Ohaguro) der Zähne durchgeführt. Die Aztecken wiederum färbten ihre Zähne um 1570 mit dem Saft bestimmter Beeren rot oder orange. Über die erste Zahnaufhellung wurde im 12. Jahrhundert aus China berichtet, bei der die Frontzähne mit Salzsäure behandelt wurden. Neben der Anwendung von Tabakasche, Chlorkalklösung, Oxalsäure wurde 1884 Wasserstoffperoxid beschrieben, welches sich bis heute zum Aufhellen der Zähne in der Zahnmedizin durchgesetzt hat [Hoffmann-Axthelm 1985, Goldstein 1997]. Seitdem hat sich die Zahnaufhellung als ein effizient und einfach durchzuführendes Verfahren zum Entfernen von extrinsischen und intrinsischen Verfärbungen der Zähne etabliert [Haywood et al. 1989, Basting et al. 2003].

2.3.1. Einteilung der Bleichmethoden

Es können Bleichbehandlungen an vitalen und devitalen Zähnen unterschieden werden, wobei bei vitalen Zähnen die Bleichgele von außen auf den Zahn, bei devitalen Zähnen zusätzlich direkt in das Pulpenkavum appliziert werden können (Abb. 3).

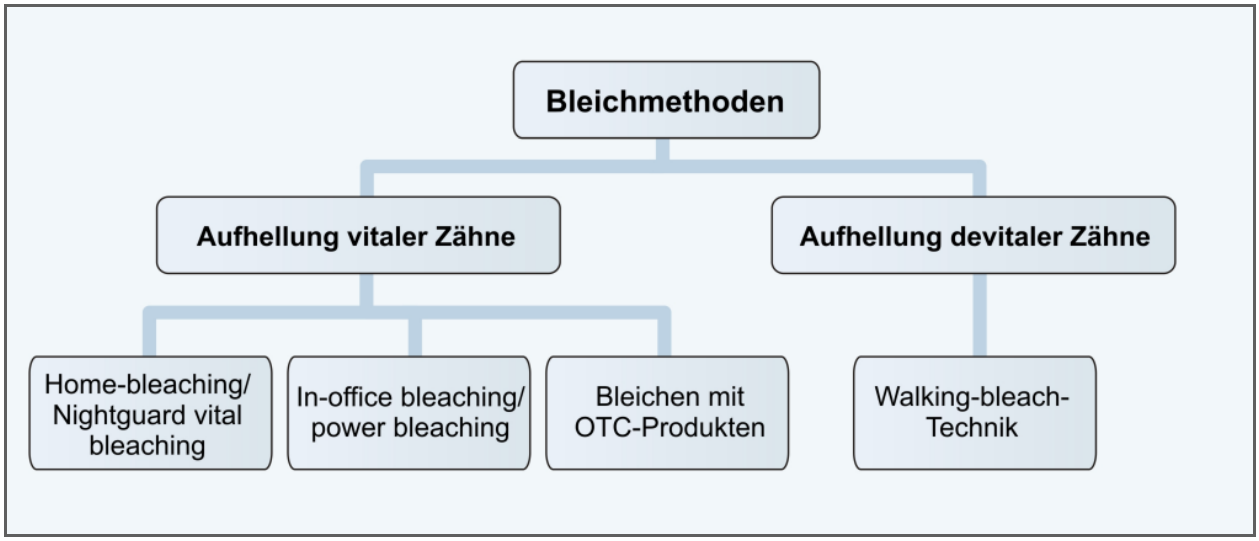

Abb. 3: Möglichkeiten der Zahnaufhellung vitaler und devitaler Zähne; OTC (over-the-counter Produkte)

Bei dem 1989 eingeführten Home-bleaching erhält der Patient in der Zahnarztpraxis eine Anleitung zum Gebrauch der Bleichmaterialien, eine individuell hergestellte Tiefziehschiene sowie das Bleichgel, welches für gewöhnlich 10 - 22 %

Carbamidperoxid enthält. Je nach gewünschter Zahnfarbe wird eine zweimal tägliche, halb- bis zweistündige Bleichbehandlung über einen Zeitraum von 2 bis 6 Wochen empfohlen [Haywood et al. 1989].

Beim Nightguard vital bleaching wird eine Schiene mit Bleichgel beschickt und über Nacht getragen, was auf eine höhere Patientenakzeptanz stößt, weil die Behandlungszeiten bei gleichem Effekt reduziert werden können. Darüber hinaus wird der Verzicht auf Kofferdam von vielen Patienten als positiver Aspekt dieser Schienentherapie angegeben [Haywood 2000].

Beim In-office bleaching wird in der Zahnarztpraxis 15 - 35 % Wasserstoffperoxidgel unter Kofferdam auf die Labialflächen der Zähne aufgetragen. Diese Behandlungsmethode eignet sich für Patienten, die das Bleichen von Zähnen unter direkter Kontrolle vom Zahnarzt durchführen lassen wollen, auch wenn das mit längeren Behandlungszeiten in der Praxis und höheren Kosten für den Patienten verbunden ist [Goldstein 1997].

Zu den frei verkäuflichen Produkten (over-the-counter) gehören neben niedrig konzentrierten Bleichgelen auch Zahncremes, whitening-strips und paint-on Applikationssysteme. Die Zahncremes enthalten Abrasivstoffe zur Entfernung von Auflagerungen und Peroxide zum Bleichen der Zähne. Aufgrund der kurzen Verweildauer auf den Zähnen ist das Aufhellungspotential von Zahncremes als gering einzuschätzen [Kihn 2007]. Da die Kontaktzeit von whitening-strips und paint-on Applikationssystemen auf der Zahnoberfläche im Vergleich zu Schienensystemen reduziert ist, müssen diese länger angewendet werden. Sollen Zähne wiederholt gebleicht werden oder kommt aufgrund von zeitlichen oder finanziellen Gesichtspunkten keine andere Behandlung in Frage, so sind diese Systeme den Patienten zu empfehlen [Kihn 2007].

Die Aufhellung devitaler Zähne wird mit der seit 1976 bekannten Walking-bleach-Methode durchgeführt, bei der Wasserstoffperoxid, Natriumperborat oder ein Gemisch aus beidem über einen Zeitraum von einer Woche im Pulpenkavum belassen wird, wobei dieser Vorgang mehrmals wiederholt werden kann [Goldstein 1997]. Dabei kann zusätzlich die thermokatalytische Bleichmethode eingesetzt werden, bei der durch Rotlicht- oder Halogenlichtlampen die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies beschleunigt wird [Glockner et al. 1997].

2.3.2. Chemische Grundlagen des Bleichenvorganges

Der chemische Prozess des Bleichens ist eine Redoxreaktion, bei der Oxidations- und Reduktionsreaktion gleichzeitig ablaufen. Das Wasserstoffperoxid als Bleichagens wird dabei als Oxidationsmittel bezeichnet und bildet reaktive Sauerstoffspezies mit unpaaren Elektronen, die auf das zu bleichende Molekül, das Reduktionsmittel, übertragen werden. Das Wasserstoffperoxid wird dabei reduziert und das zu bleichende Molekül oxidiert [Goldstein et al. 1995]. Die Verfärbungen der Zähne stammen von Chromogenen aus Nahrungsmitteln und/oder Tabak, die sich in oder auf der Zahnhartsubstanz abgelagert haben [Nathoo 1997]. An den ungesättigten Doppelbindungen der Chromogene kommt es zur Absorption von Licht, was zu den unerwünschten Veränderungen der Zahnfarbe führt [Goldstein et al. 1995]. Diese Verfärbungen der Zähne werden für gewöhnlich mit Carbamidperoxid, Wasserstoffperoxid oder Natriumperborat behandelt.

<u>Carbamidperoxid</u>

Nach Applikation von 10 % Carbamidperoxid (CP) auf die Zahnoberfläche kommt es zu einem Zerfallsprozess, wobei in wässriger Lösung etwa zwei Drittel Harnstoff und ein Drittel Wasserstoffperoxid entstehen. Der Harnstoff wird über die Zwischenstufe Ammoniak weiter zu Kohlendioxid, Wasserstoff und Stickstoff abgebaut [Rosentritt et al. 2003]. Das Wasserstoffperoxid stellt dabei den für das Bleichen wirksamen Bestandteil dar und kann in Schmelz und Dentin diffundieren [Bowles et al. 1987]

<u>Wasserstoffperoxid</u>

Der weitere Zerfall von Wasserstoffperoxid wird durch verschiedene Speichelenzyme wie Peroxidase oder Katalase, Katalysatoren wie Metallionen, der Änderung des pH-Wertes und der erhöhten Temperatur in der Mundhöhle bestimmt [Goldstein et al. 1995]. Dabei entstehen nicht zwangsläufig reaktive Sauerstoffspezies. Wenn zersetzende Katalysatoren und Enzyme in der Mundhöhle vorhanden sind, wird Wasserstoffperoxid enzymatisch in Wasser und Sauerstoff abgebaut (Gleichung 1).

$$H_2O_2 \rightarrow 2\,H_2O + O_2 \qquad \text{Gleichung 1}$$

Dabei werden keine reaktiven Sauerstoffspezies gebildet, was Wasserstoffperoxid als Bleichmittel unbrauchbar macht [Carlsson 1987]. Die für diese Reaktion notwendigen Enzyme sind auch in der Mundhöhle vorhanden und stellen einen wichtigen Beitrag der Körperabwehr gegen die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies dar. Darum ist für die gute Wirksamkeit eines Bleichmittels eine saubere, zahnstein- und plaquefreie Oberfläche der Zähne notwendig [Goldstein et al. 1995].

Der Zerfall von Wasserstoffperoxid in reaktive Sauerstoffspezies kann spontan in Abhängigkeit von vorhandenen Katalysatoren (Luft, Licht, Wärme, pH-Wert) erfolgen, wobei unterschiedlich reaktionsfreudige Radikale gebildet werden (HO_2•, O•).

Bei einem saurem pH-Wert im Bleichgel reagiert ein großer Anteil von Wasserstoffperoxid zu Wasser und O•, einem relativ schwachen Sauerstoffradikal (Gleichung 2).

$$H_2O_2 \rightarrow H_2O + O\bullet$$
$$\downarrow$$
$$H + HO_2\bullet$$

Gleichung 2

Der saure pH-Wert soll den spontanen Zerfall von Wasserstoffperoxid im Bleichmittel verhindern und führt dadurch zu einer Verlängerung der Lagerungsfähigkeit. Unter diesen sauren Bedingungen werden jedoch weniger reaktive Radikale gebildet. Im alkalischen Milieu entstehen wiederum mehr Anteile des stärker wirksamen Perhydroxylradikals HO_2•, welches in gleicher Zeit einen größeren Bleicheffekt bewirkt (Gleichung 3). Das Optimum für diese Reaktion liegt bei einem pH-Wert von 9,5 - 10,8 [Frysh et al. 1995]. Neben O• und HO_2• können noch weitere Sauerstoffspezies gebildet werden [Goldstein et al. 1995].

$$H_2O_2 \rightarrow H + HO_2\bullet$$
$$\downarrow$$
$$H + HO_2\bullet$$

Gleichung 3

Die gebildeten reaktiven Sauerstoffspezies sind aufgrund ihrer unpaaren Elektronenanzahl sehr instabil und reaktionsfreudig. Sie können ungesättigte Doppelbindungen von organischen Molekülen angreifen, die dadurch ihre

Molekülstruktur verändern oder in kleinere Moleküle geteilt werden. Diese Um- oder Neubildung hin zu kleineren organischen Molekülen ist mit einer Reduktion der Lichtabsorption verbunden, was zu einer Aufhellung des Zahnes führt. Ein im Licht rötlich erscheinendes Makromolekül wie zum Beispiel Betakarotin kann an einer ungesättigten Doppelbindung durch eine reaktive Sauerstoffspezies angegriffen werden und dadurch in zwei im Licht farblos erscheinende Vitamin A Moleküle zerfallen. Ebenso können durch reaktive Sauerstoffspezies Kohlenstoff-Ringstrukturen geöffnet werden, wobei weniger lichtreflektierende Kohlenstoffketten entstehen [Goldstein et al. 1995].

Natriumperborat

Natriumperborat liegt in Form eines weißen, kristallinen Pulvers in verschiedenen Hydratisierungsgraden vor (Natriumperborat-Monohydrat, Natriumperborat-Trihydrat, Natriumperborat-Tetrahydrat) und wird als Bleichmittel bei devitalen Zähnen verwendet. In wässriger Lösung zerfällt das Natriumperborat in Wasserstoffperoxid und Natriumhydrogenkarbonat (Gleichung 4).

$$Na_2B_2H_4O_8 + 2\ H_2O \rightarrow 2\ Na^+ + H_2BO_3^- + 2\ H_2O_2$$

Gleichung 4

Je nach Hydratisierungsgrad von Natriumperborat werden unterschiedlich viele Sauerstoffradikale freigesetzt. Bei der Umsetzungsreaktion von Natriumperborat-Monohydrat werden dabei mehr Sauerstoffradikale als bei anderen Hydratisierungsgraden freigesetzt [Weiger et al. 1994], was sich auf die Bleichwirkung und auf die Nebenwirkungsrate auswirken kann [Dahlstrom et al. 1997].

2.3.3. Nebenwirkungen der Bleichbehandlungen

Die Nebenwirkungen auf Zahnhartsubstanzen und Weichgewebe werden durch die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies sowie durch Zusatzstoffe in den Bleichpräparaten kontrovers diskutiert. So konnte einerseits gezeigt werden, dass

Peroxide aus den Bleichpräparaten zu keinen Veränderungen von Hydroxylapatit, der mineralischen Komponente von Knochen und Zähnen, führen [White et al. 2000, Duschner 2002, Dahl et al. 2003]. Bei Mikrohärteuntersuchungen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen gebleichten und ungebleichten Schmelzproben festgestellt werden [Lee et al. 1995, Potocnik et al. 2000]. Ebenfalls wurden bei der Behandlung mit Carbamidperoxid klinisch keine relevanten Veränderungen der Oberflächenbeschaffenheit von Zahnschmelz beobachtet [Haywood et al. 1990].

Auf der anderen Seite sind jedoch auch geringfügige Strukturveränderungen der Zahnhartsubstanz beschrieben worden [Ernst et al. 1996, Hegedus et al. 1999], die durch Zusatzstoffe in den Bleichgelen verursacht sein könnten [Duschner 2002]. Es wird angenommen, dass denaturierende Eigenschaften des Harnstoffes zu Veränderungen im Zahnschmelz führen und damit die Permeabilität für Wasserstoffperoxid erhöhen [Hegedus et al. 1999]. Darüber hinaus werden nach In-vitro-Untersuchungen mit Bleichgelen auch Mikrohärteverluste [Lewinstein et al. 2004], Mineralverluste [Potocnik et al. 2000] sowie eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Demineralisation angegeben [Attin et al. 2003].

Ferner werden Entzündungsreaktionen des Pulpagewebes durch Wasserstoffperoxide diskutiert, die sich als Hypersensibilitäten vitaler Zähne darstellen können [Haywood et al. 1994]. Dabei soll die Dauer und Häufigkeit der Anwendung, der pH-Wert sowie der Gehalt an Carbopol im Bleichgel die Hypersensibilitäten der Zähne beeinflussen [Leonard et al. 1997]. Eine Fluoridbehandlung im Anschluss an die Bleichtherapie kann das Auftreten von Hypersensibilitäten reduzieren[Haywood et al. 2001].

Durch den Zerfall von Carbamidperoxid zu Wasserstoffperoxid und Harnstoff wird der Zahn bei der Bleichbehandlung dehydriert, worauf unmittelbar nach Bleichbehandlung der Zahn heller wirkt und erst durch Rehydrierung wieder nachdunkelt [Peters 2005]. Ebenfalls werden gehäuft Irritationen der Gingiva angegeben, wobei kaum Anhaltspunkte für bleibende Schäden nach einer Bleichbehandlung bestehen [Haywood et al. 1994]. Ein direktes kanzerogenes Potential durch die freigesetzten reaktiven Sauerstoffspezies konnten nur bei extremer Überdosierung von 10 mg Carbamidperoxid pro Kilogramm Körpergewicht (dies entspricht 1 g Bleichmittel pro Kilogramm Körpergewicht bei 10 % Carbamidperoxidgel) nachgewiesen werden [Li 1997, Kihn 2007].

2.3.4. Zusatzstoffe in Bleichgelen

Aufgrund der nach dem Bleichen häufig beschriebenen Hypersensibilitäten und Mineralverluste der Zähne werden einigen Bleichgelen Zusatzstoffe wie Fluoride, Kaliumnitrat oder amorphes Kalziumphosphat (ACP) beigefügt, um deren Wirkungsspektrum zu erweitern und die Patientenzufriedenheit zu erhöhen. Dabei sollen die Fluoride die Empfindlichkeit der Zähne reduzieren und den Mineralverlust in der Zahnhartsubstanz ausgleichen [Lewinstein et al. 2004, da Costa et al. 2007]. Es konnte gezeigt werden, dass eine Behandlung mit Duraphat (0,23 % NaF) oder einer Fluoridlösung (0,2 % NaF) im Anschluss an eine Bleichbehandlung zu einem signifikant geringeren Verlust der Oberflächenhärte von Schmelzproben im Vergleich zu einer mit Duraphat oder Fluoridlösung unbehandelten Gruppe führte [Attin et al. 1997a, Bizhang et al. 2006].

Kaliumnitrat als weiterer Zusatz in Bleichgelen beeinflusst die Erregungsbildung von Mechanorezeptoren in der Pulpaperipherie, indem eine Repolarisation nach initialer Depolarisation verzögert und damit eine Schmerzauslösung gehemmt wird [Matis et al. 1999]. Ebenfalls soll Kaliumnitrat in Verbindung mit Fluoriden die Dentintubuli verschließen, um damit die Flüssigkeitsbewegungen in den Dentintubuli zur Pulpa hin zu reduzieren [Haywood et al. 2001]. In einer klinischen Studie konnte durch den Zusatz von 3 % Kaliumnitrat und 1100 ppm Natriumfluorid in Bleichpräparaten eine verminderte Hypersensibilität der Zähne nachgewiesen werden [Tam 2001].

In einigen Bleichpräparaten (Discus Dental) sind darüber hinaus gelöste Kalzium- und Phosphationen enthalten, die nach Applikation auf der Schmelzoberfläche amorphes Kalziumphosphat (ACP) bilden können. Dabei wird angenommen, dass ACP zusammen mit Karbonat über mehrere Zwischenstufen neue Hydroxylapatitkristalle in der Schmelzoberfläche bildet und somit eine Remineralisation der Zahnhartsubstanz bewirkt. Ebenfalls werden durch diese Mineraleinlagerungen oberflächliche Mikrodefekte ausgeglichen, wodurch der Schmelz geglättet wird. Ferner wird ein Verschluss der Dentintubuli durch ACP angenommen, der bei vitalen Zähnen zu einer Reduktion der Zahnempfindlichkeiten führen soll [Matis et al. 1999, Tung et al. 2004].

3. FRAGESTELLUNG

Das Bleichen von Zähnen stellt heute eine weit verbreitete und anerkannte Methode dar, um die Zähne aufzuhellen. Im Zusammenhang mit dem Bleichvorgang werden jedoch häufig Mineralverluste des Zahnschmelzes beschrieben. In der verfügbaren Literatur gibt es nur wenige Studien, die sich mit dem Zusatz von Fluoriden in Bleichgelen und deren Einfluss auf die Remineralisation von Zahnschmelz auseinandersetzen.

Das Ziel dieser Studie war, das Remineralisationsvermögen nach Anwendung von den fluoridhaltigen Bleichgelen Nite White ACPF (Discus Dental, Culver City, Kalifornien, USA) und Opalescence PF (Ultradent, South Jordan, Utah, USA) im Vergleich zu den fluoridfreien Bleichgelen Opalescence regular und Nite White ACP auf demineralisierten bovinen Zahnschmelz *in vitro* zu untersuchen. Jeder demineralisierte (d), gebleichte (e1) und remineralisierte (e2) Schmelzprobenbereich wurde mit der transversalen Mikroradiografie auf die Parameter Mineralverlust (min) und Läsionstiefe (lt) hin untersucht.

- Mineralverlust (min d, min e1, min e2)
- Läsionstiefe (lt d, lt e1, lt e2)

Als Hauptzieleffekte wurden die Veränderungen (in %) von Mineralverlust (min%) und Läsionstiefe (lt%) im Vergleich zu den demineralisierten Ausgangswerten ermittelt.

- Veränderung Mineralverlust [min% (e1-d), min% (e2-d)]
- Veränderung Läsionstiefe [lt% (e1-d), lt% (e2-d)]

Um detaillierte Erkenntnisse über die Verteilung des Minerals innerhalb der Schmelzproben zu erhalten, wurden die Mineralverluste in den oberflächlichen 18 µm sowie dem verbleibenden inneren Bereich jeder Läsion ermittelt.

Als einseitige Arbeitshypothese wurde in der vorliegenden Studie angenommen, dass sich direkt in Bleichgelen enthaltene Fluoride fördernd auf die Remineralisation von bovinem Zahnschmelz auswirken. Die Nullhypothese besagte, dass keine Unterschiede im Mineralgewinn zwischen fluoridhaltigen und -freien Bleichgelen nachzuweisen sind.

4. MATERIAL UND METHODE

4.1. Herstellung der Schmelzproben

Zur Herstellung der Schmelzproben wurden 63 frisch extrahierte, klinisch gesunde, bleibende Rinderfrontzähne (OK 1er) verwendet, vorsichtig gesäubert und bis zum Versuchsbeginn in Kochsalzlösung (0,9 %; Delta Select; Pfullingen, Deutschland) gelagert. Aus der Labialfläche der Zähne wurden 2 Schmelzproben (6 × 4 × 3 mm³) unter ständiger Wasserkühlung herauspräpariert (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Jeweils sechs Schmelzproben wurden anschließend mit Hilfe von Silikonformen in Kunstharz (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) eingebettet (Abb. 4).

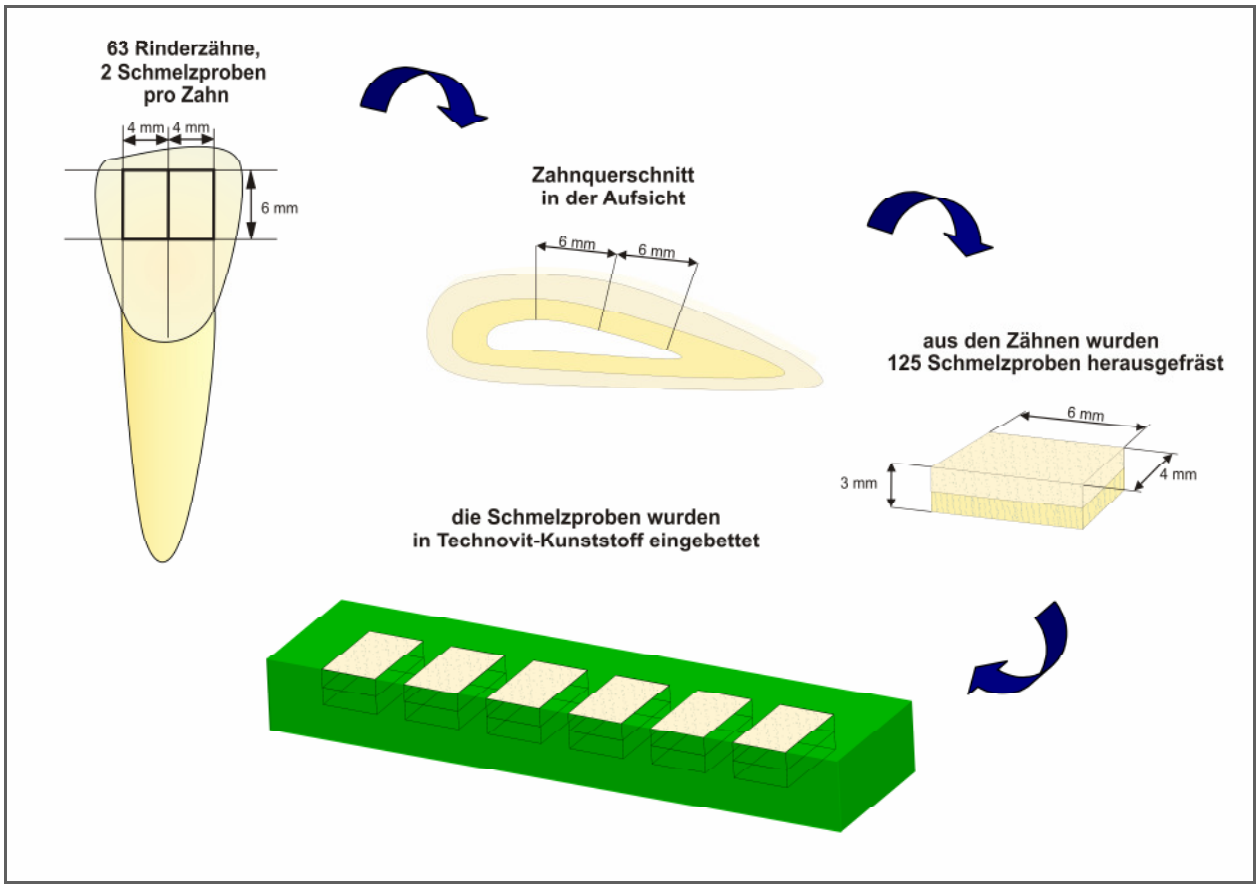

Abb. 4: Schematische Darstellung der Schmelzprobenherstellung

Danach wurden die Oberflächen der in Kunststoff eingebetteten Schmelzproben mit einer Poliermaschine (Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland) und Schleifpapier aufsteigender Körnung (Körnung 1200, 2400, 4000; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) parallelisiert. Die Umdrehungszahl der Poliermaschine war

auf 300 U/min eingestellt. Auf diesen so präparierten Schmelzoberflächen wurden jeweils zwei schmale Bereiche erst mit Nagellack (Resist & Shine; Loreal, Paris, Frankreich) und darüber mit Kunststoff (Tetric Flow; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) abgedeckt. Sie dienten als Kontrolle der gesunden Schmelzoberfläche. Auf jeder Schmelzprobe verblieben danach drei ungeschützte Schmelzbereiche (Abb. 5, Kontrolle Gesund).

4.2. Demineralisation der Schmelzproben

Bei konstanten 37 °C wurden die Schmelzproben im Wärmeschrank (Venticell; MMM Group, Planegg, Deutschland) für 10 Tage einer Demineralisationslösung ausgesetzt (Tab. I). Dabei wurden initialkariöse Schmelzbereiche mit einer Läsionstiefe von 100 µm angestrebt.

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

Stoff	Konzentration in mmol/l	Molare Masse in g/mol	Menge
$CaCl_2 \times 2H_2O$	3	147,02	2,205 g
KH_2PO_4	3	136,09	2,041 g
MHDP *	0,06	176,00	5,28 mg
CH_3COOH	50	60,05	15,012 g
KOH 10 M	(ad pH 4,95)	56,11	ca. 23 ml
Aqua dest.		18,00	ad 5 l

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

Einmal täglich wurde der pH-Wert der Lösung durch ein pH-Meter (GMH 3510; Greisinger Electronic, Regenstauf, Deutschland) kontrolliert und bei Abweichung auf einen Sollwert von pH 4,95 korrigiert. Bei einem erniedrigtem pH-Wert wurde unter manuellem Rührvorgang Kaliumhydroxid (10 M; Merck, Darmstadt, Deutschland), bei einem erhöhtem pH-Wert Salzsäure (0,1 M; Merck, Darmstadt, Deutschland) tropfenweise hinzu pipettiert (Falcon, 1 ml; Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, New Jersey, USA).

Nach 10-tägiger Lagerung der Schmelzproben in der Demineralisationslösung wurde ein weiterer Teil der Probenoberfläche (Kontrolle Demineralisation) mit Nagellack und Kunststoff abgedeckt (Abb. 5).

4.3. Bleichen der Schmelzproben

Die Proben wiesen vor der Bleichtherapie zwei abgedeckte gesunde Bereiche (Kontrolle Gesund), einen abgedeckten (Kontrolle Demineralisation) und zwei nicht abgedeckte initialkariöse Schmelzbereiche auf (Abb. 5, Kontrolle Demineralisation abgedeckt). Jeweils 25 Schmelzproben wurden randomisiert den vier mit Bleichgel behandelten Untersuchungsgruppen und zusätzlich einer nicht mit Bleichgel behandelten Kontrollgruppe zugeordnet.

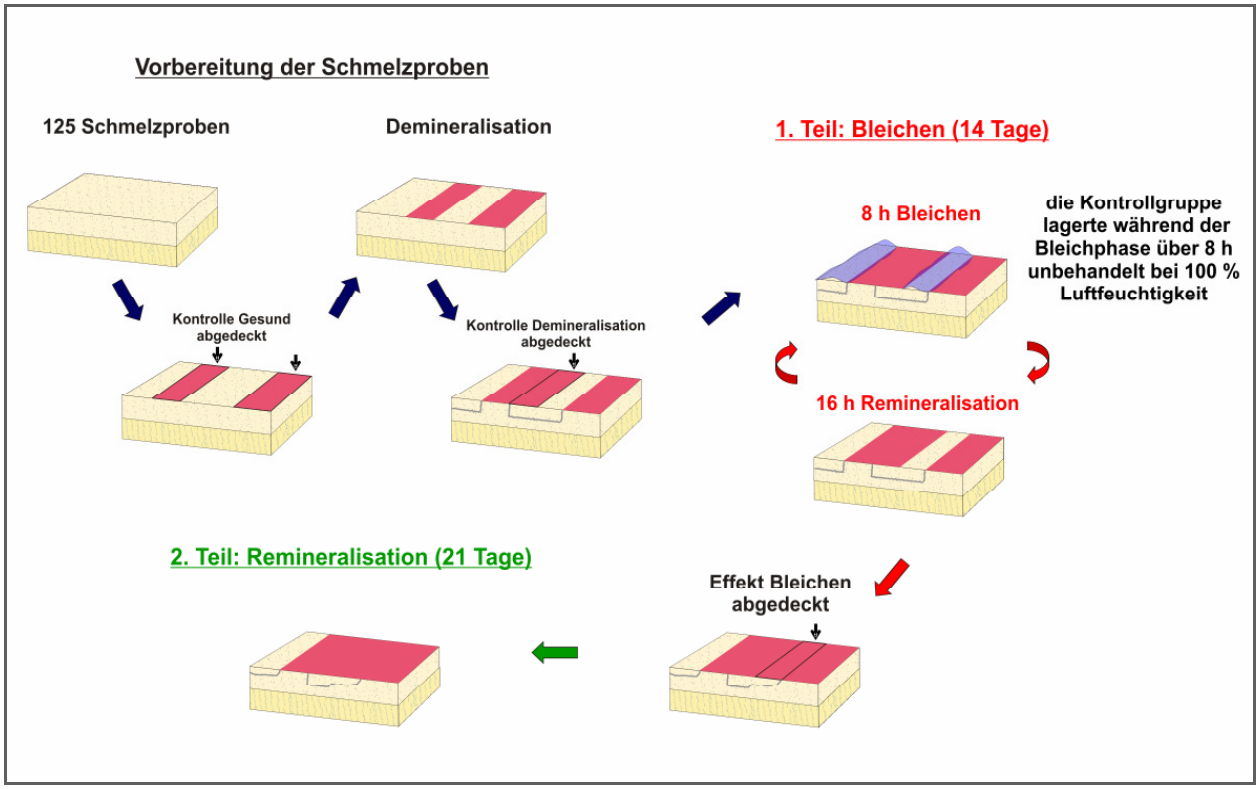

Abb. 5: Versuchsablauf mit Vorbereitung, Bleichen (1. Teil) und Remineralisation (2. Teil) der Schmelzproben

Die Untersuchungen wurden mit den beiden fluoridfreien Bleichpräparaten Opalescence regular (Ultradent, South Jordan, Utah, USA) und Nite White ACP (Discus Dental, Culver City, Kalifornien, USA) sowie den beiden fluoridhaltigen Präparaten Opalescence PF und Nite White ACPF durchgeführt (Tab. II). Getrennt nach Gruppen (n = 4) wurden die Schmelzproben im ersten Versuchsteil mit einer ca. 2 mm dicken Schicht Bleichgel benetzt und anschließend für 8 Stunden in luftdicht verschlossenen Kunststoffbehältern (Komax, Gasan-dong, Guncheon-gu, South Korea) bei 100 % Luftfeuchtigkeit und 37 °C im Wärmeschrank gelagert.

Die Behälter waren mit 200 ml Remineralisationslösung gefüllt, jedoch befanden sich die Proben während der Bleichphase außerhalb der Flüssigkeit. Die Kontrollgruppe wurde während dieser Zeit unter gleichen Versuchsbedingungen ohne Bleichgel gelagert.

Tabelle II: **Z**usammensetzung der Bleichgele (Herstellerangaben), weitere Angaben zu den Inhaltsstoffen in Tabelle X (Anhang)

Bleichgel	Carbamid-peroxid (%)	F^- (ppm)	ACP*	Hersteller
Opalescence regular	10	-	-	Ultradent, South Jordan, Utah, USA
Nite White ACP	10	-	ACP	Discus Dental, Culver City, Kalifornien, USA
Opalescence PF	10	1100	-	Ultradent, South Jordan, Utah, USA
Nite White ACPF	10	650	ACP	Discus Dental, Culver City, Kalifornien, USA

* ACP = amorphes Kalziumphosphat

Nach 8 Stunden wurden alle Schmelzproben dem Wärmeschrank entnommen und für ca. 20 Sekunden mit destilliertem Wasser aus einer Sprayflasche abgespült. Danach wurden alle Proben getrennt nach Gruppen für 16 Stunden direkt in der Remineralisationslösung (Tab. III) bei 37 °C im Wärmeschrank gelagert.

Nach den 16 Stunden wurden alle Proben den Remineralisationslösungen entnommen und mit destilliertem Wasser abgespült. Im Anschluss daran schloss sich eine weitere Bleichphase über 8 Stunden an, wobei sich in dieser beschriebenen Reihenfolge Bleich- und Remineralisationsphasen über insgesamt 14 Tage abwechselten. Die Remineralisationslösungen in den verschiedenen Behältern wurden alle 2 Tage erneuert. Am Ende dieser Behandlung wurde ein weiterer vorher unbedeckter Schmelzbereich mit Nagellack und Kunststoff abgedeckt, und diente somit als Kontrolle der Bleichbehandlung (Abb.: 4, Effekt Bleichen abgedeckt).

Tabelle III: Zusammensetzung der Remineralisationslösung [Buskes et al. 1985]

Stoff	Konzentration	Menge
$CaCl_2 \times 2H_2O$	1,5 mM	0,221 g/l
KH_2PO_4	0,9 M	0,1224 g/l
Hepes (1 M) *	20 mM	20 ml
HCl ad pH 7,0	10 %	~ 3,5 ml
Aqua dest.		ad 5 l

* Hepes Hydroxyethylpiperazinethansulfonsäure)

4.4. Remineralisation der Schmelzproben

Im zweiten Versuchsteil (Abb. 5, 2. Teil) wurden die Schmelzproben getrennt nach Gruppen für 21 Tage kontinuierlich in Kunststoffbehältern mit jeweils 200 ml Remineralisationslösung (Tab. III) bei 37 °C im Wärmeschrank gelagert, wobei die Proben dabei vollständig von Flüssigkeit bedeckt waren. Die Remineralisationslösung [Buskes et al. 1985] war hinsichtlich Octakalziumphosphat (2,5) und Hydroxylapatit (14,5) übersättigt [Shellis 1988, Tschoppe et al. 2007].
Jeden zweiten Tag wurden die Proben dem Wärmeschrank entnommen, mit Aqua dest. abgespült und anschließend mit ca. 200 ml neuer Remineralisationslösung in die gesäuberten Behälter (Komax, Gasan-dong) zurückgelegt. Nach Abschluss der 21-tägigen Lagerung in Remineralisationslösung wurden alle Proben mit destilliertem Wasser abgespült und bis zum Beginn der Auswertung bei Raumtemperatur in Kochsalzlösung (0,9 %) gelagert. Vor der weiteren Bearbeitung und Auswertung aller Schmelzproben wurden alle Gruppen vom Studienleiter für den Untersucher verblindet.

4.5. Vorbereitung der Proben für die transversale Mikroradiografie

Jede Schmelzprobe wurde mit der Bandsäge (Exakt 300cl; Exakt Apparatebau) senkrecht zur Oberfläche geteilt, wobei jeweils eine Hälfte für die mikroradiografische Auswertung herangezogen wurde. Die durch die Bandsäge entstandene raue Schnittfläche wurde mit der Poliermaschine und Schleifpapier aufsteigender Körnung (1200, 2000, 4000) poliert. Anschließend wurde die bearbeitete Schmelzprobe mit der polierten Schnittfläche auf einem Objektträger aus Plexiglas (Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland) mit Sekundenkleber (Uhu, Bühl, Deutschland) befestigt (Abb. 6). Dabei wurden nur Dentinbereiche und der äußere Technovit-Kunststoffmantel punktförmig mit Klebstoff benetzt, um ein späteres Ablösen der dünn geschliffenen Probe vom Objektträger zu gewährleisten. Danach wurde mit einer 200 µm dicken, diamantierten Bandsäge unter ständiger Wasserkühlung ein zweiter Sägeschnitt durchgeführt, sodass ein zum Objektträger planparalleler Probenkörper von ca. 300 µm Dicke auf dem Objektträger verblieb. Die Schnittgeschwindigkeit der Säge war auf 200 U/min, die Vorschubkraft des Probentisches auf 50 g eingestellt.

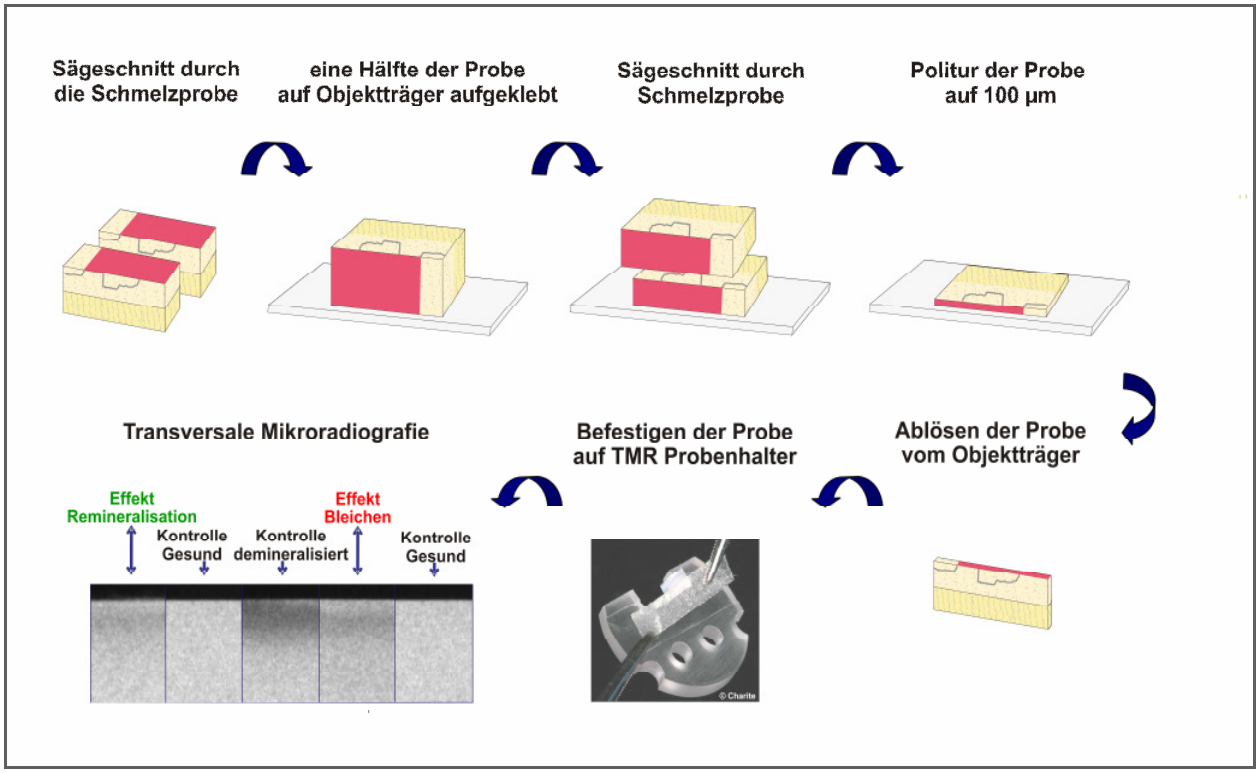

Abb. 6: Vorbereitung der Schmelzproben für die transversale Mikroradiografie

Eine endgültige Parallelisierung und Glättung der Proben erfolgte in Anlehnung an frühere Studien [Meyer-Lueckel et al. 2006, Tschoppe et al. 2008] mit gewässertem Schleifpapier in einer Mikroschleifapparatur (Exakt Mikroschleifsystem; Exakt Apparatebau). Dabei wurde eine definitive Schliffdicke der Proben von 100 (10) µm [Mittelwert (Standardabweichung)] hergestellt, die mit einem digitalen Mikrometer (Digimatic Bügelmessschraube; Mitutoyo, Kawasaki, Japan) bei einer Genauigkeit von 1 µm überprüft wurde. Die hergestellten Dünnschliffe wurden im Anschluss mit einem Skalpell (Feather, Osaka, Japan) vom Objektträger und dem sie umgebenden Technovit-Kunststoff gelöst und mit einem schmalen Streifen Leukofix (BSN medical Hamburg, Deutschland) auf einem TMR-Probenhalter (Plano, Wetzlar, Deutschland) fixiert (Abb. 6). Bis zur transversalen Mikroradiografie wurden die Probenhalter mit den daran befestigten Dünnschliffen in Kochsalzlösung (0,9 %) bei Raumtemperatur gelagert.

4.6. Transversale Mikroradiografie

Die Mikroradiografie stellt eine Standardmethode für qualitative und quantitative Analysen des Mineralgehaltes von Zahnhartsubstanzen dar.

Für die transversale Mikroradiografie von Schmelzproben wurden die Aufnahmen in einem linsenlosen Photoapparatgehäuse vorgenommen, welches mit der „Objektivseite“ an den Röntgentubus eines Röntgenstrahlgenerators (PW 1730; Phillips, Kassel, Deutschland) gekoppelt war. Das Kameragehäuse enthielt auf Filmhöhe eine aus 10 Stufen von jeweils 1 mm Breite bestehende Aluminiumeichtreppe. Rechts daneben befand sich ein Aluminiumschlitten zur Aufnahme der TMR-Probenhalter, welcher die Probe während der mikroradiografischen Aufnahme in exakt gleicher Position zur Aluminiumeichtreppe hielt (Abb. 7).

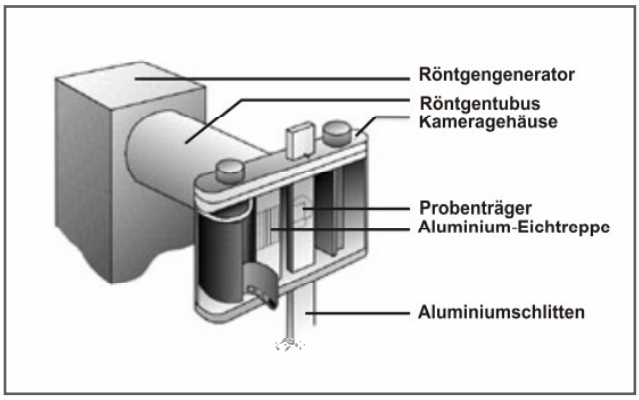

Abb. 7: Röntgentubus mit Kameragehäuse [Schuster 2002]

Zur Erstellung der Mikroradiogramme diente ein hochauflösender, holografischer Spezialfilm (high speed holographic film SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland), der in einer lichtundurchlässigen Kassette auf eine handelsübliche Filmrolle manuell aufgespult war. Nach Einlegen des Films und Schließen des Kameragehäuses wurde der Aluminiumschlitten nach oben herausgezogen, der TMR-Probenhalter mit Dünnschliff in den Probenträger eingelegt und anschließend wieder bis zum Anschlag in das Kameragehäuse eingeschoben.

Für die Untersuchungen der Schmelzproben wurden an der Röntgenröhre eine Röhrenspannung von 20 kV, ein Röhrenstrom von 20 mA und eine Belichtungszeit von 10 Sekunden gewählt. Nach dem Einschalten wurden aus der vertikal montierten Röntgenröhre, einer Kupferanode mit Nickelfilterung, Röntgenstrahlen emittiert, welche die Schmelzprobe parallel zur behandelten Oberfläche und senkrecht zur Schnittebene durchdrangen und den Röntgenfilm belichteten. Neben der Schmelzprobe wurde auf jedem Röntgenbild die Aluminiumeichtreppe abgebildet, welche zur Kalibrierung bei der Auswertung mikroradiografischer Filme notwendig war.

Der Film wurde nach Abschluss jeder Aufnahme bei geschlossenem Kameragehäuse weitergedreht. Ohne den Film zu belichten, wurde der Aluminiumschlitten bei

geschlossenem Kameragehäuse mit einer neuen Probe beschickt. Nach der Anfertigung der Mikroradiogramme wurden die Schmelzproben weiter in Kochsalzlösung (0,9 %) gelagert.

4.7. Mikroradiografische Untersuchung

Die mikroradiografischen Einzelaufnahmen wurden nach der Filmentwicklung mit einem Durchlichtmikroskop (60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an dem eine Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan) angeschlossen war, digitalisiert und auf einen angeschlossenen Computer übertragen. Vor der mikroradiografischen Untersuchung der Schmelzproben wurden alle Gruppen vom Studienleiter für den Untersucher verblindet.
Mit einer speziellen TMR-Software (Transversal Micro Radiography für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande) erfolgte anschließend von den behandelten Probenbereichen jeder Schmelzprobe eine densitometrische Berechnung der Mineralverluste (Vol.% × µm). Bei jeder Probe wurde in einem gesunden Bereich eine Adjustierung der Lichtintensität am Mikroskop vorgenommen, bevor dann bei 16-facher Vergrößerung jede einzelne Stufe der Aluminiumeichtreppe gescannt und im Programm abgespeichert wurde. Im Anschluss daran wurden die vier verschiedenen Schmelzbereiche „Kontrolle Gesund“, „Kontrolle Demineralisation“, „Effekt Bleichen“ und „Effekt Remineralisation“ jeder Probe mit einer Fläche von ca. 400 × 350 μm^2 (Tiefe × Breite) ebenfalls gescannt und abgespeichert. Im Vergleich mit den im Computerprogramm gespeicherten Daten der Dicke, Röntgenabsorption und Grauwerte von jeder Stufe der Aluminiumeichtreppe konnte mit den Graustufen eines jeden Probenbereiches im digitalisierten Mikroradiogramm der Mineralverlust (Vol.%) als Funktion der Probentiefe (µm) automatisch errechnet werden. Daneben konnte der gesamte Mineralverlust (Vol.% × µm) einer Probe durch Integration von Läsionstiefe (µm) und Mineralgehalt (Vol.%) ermittelt werden.

4.8. Mikroradiografische Auswertung

4.8.1. Bestimmung des Mineralverlustes der Schmelzproben

Mit der TMR-Software wurde der gesamte Mineralverlust (Vol.% × µm) der gesunden (g), demineralisierten (d), gebleichten (e1) sowie remineralisierten Bereiche (e2) der jeweiligen Schmelzprobe errechnet. Danach wurde der Mineralverlust des gesunden Bereiches jeweils von dem Mineralverlust nach Demineralisation abgezogen (d-g), sodass projektionsbedingte Messfehler an der Probenoberfläche korrigiert wurden und nicht mit in die Auswertung eingingen. Des Weiteren wurden die Veränderungen des Mineralgehaltes (min%) nach dem Bleichen (e1-d) und nach der Remineralisation (e2-d) prozentual zu den Ausgangswerten nach der Demineralisation ermittelt und grafisch mittels Box-and-Whisker-Plots dargestellt (Tab. IV).
In dem Diagramm der Mittelwertgrafen (Abb. 8) stellt die Fläche zwischen den gesunden und demineralisierten Schmelzproben ein Maß für den mittleren Mineralverlust während der Demineralisation über 10 Tage dar. Im Rahmen der Auswertung wurde neben dem gesamten Bereich der Läsion (g) für jede Probe der Mineralverlust sowie die prozentuale Veränderung des Mineralgehaltes in den oberflächlichen 18 µm (s) und dem verbleibenden inneren Anteil der Läsion (i) errechnet und ausgewertet. Der äußere Anteil der Schmelzläsion (Abb. 8, L_s) wurde für alle Proben dieser Studie als Bereich zwischen dem vom TMR-Programm definierten Anfang der Probenoberfläche (bei 20 Vol.%) sowie dem halben Abstand zwischen dem Punkt mit dem höchsten Mineralgehalt innerhalb der pseudointakten Oberflächenschicht (Os) und dem Punkt mit dem geringsten Mineralgehalt im Bereich des Läsionskörpers (Lk) auf dem Mittelwertgraf aller demineralisierten Proben bestimmt [(Os + Lk)/2]. Der äußere Anteil der Läsion (L_s) erstreckte sich somit bei jeder untersuchten Schmelzprobe von der Oberfläche bis zu einer Läsionstiefe von 18 µm. Als innerer Anteil der Läsion (L_i) ergab sich der Bereich ab einer Läsionstiefe von 18 µm bis zum definierten Ende der Läsion (Abb. 8).

4.8.2. Bestimmung der Läsionstiefe der Schmelzproben

Die Läsionstiefe (in µm) wurde vom TMR-Programm als Distanz zwischen dem Anfang der Schmelzoberfläche bei 20 Vol.% und einem Punkt definiert, an dem die

Mineraldichte 95 % des gesunden Schmelzes betrug. Für gesunden bovinen Zahnschmelz wurde im Programm ein Mineralgehalt von 87 Vol.% voreingestellt.
Für die gesunden, demineralisierten, gebleichten und remineralisierten Bereiche jeder Schmelzprobe wurde mit der TMR-Software die Läsionstiefe ermittelt. Anschließend wurden diese Werte um den projektionsbedingten Fehlerwert der Läsionstiefe im gesunden Bereich korrigiert (lt d, lt e1, lt e2, Tab. IV). Darüber hinaus wurden die Veränderungen der Läsionstiefe nach Bleichen und Remineralisation prozentual zu den Ausgangswerten nach Demineralisation dargestellt [lt% (e1-d), lt% (e2-d)].

Tabelle IV: Untersuchungsgrößen bei der mikroradiografischen Auswertung: Mineralverlust (min) und Veränderung des Mineralverlustes (min%) im gesamten (g) sowie oberflächlichen (s) und inneren Bereich (i) der Probe sowie Läsionstiefe (lt) und Veränderung der Läsionstiefe (lt%)

		gesamter Bereich (g)	oberflächlicher Bereich (s)	innerer Bereich (i)
1 min	**Mineralverlust (Vol.% × µm)**			
	d Demineralisation e1 Bleichen e2 Remineralisation	min d min e1 min e2	s min d s min e1 s min e2	i min d i min e1 i min e2
2 min%	**Veränderung Mineralverlust (%)**			
	e1 Bleichen - d Demineralisation e2 Remineralisation -d Demineralisation	g (e1-d) g (e2-d)	s (e1-d) s (e2-d)	i (e1-d) i (e2-d)
3 lt	**Läsionstiefe (µm)**			
	d Demineralisation e1 Bleichen e2 Remineralisation	lt d lt e1 lt e2		
4 lt%	**Veränderung der Läsionstiefe (%)**			
	e1 Bleichen – d Demineralisation e2 Remineralisation - d Demineralisation	lt (e1-d) lt (e2-d)		

4.8.3. Struktureller Aufbau der Schmelzproben

Mit der TMR-Software wurde von jedem vorher gescannten und abgespeicherten gesunden, demineralisierten, gebleichten und remineralisierten Bereich einer Probe in einem Diagramm eine Kurve erstellt. Dabei wurde der Mineralgehalt (Vol.%, y-Achse) gegen die Probentiefe (µm, x-Achse) aufgetragen.
Anschließend wurden alle Koordinaten der Kurven erst in ein Textdokument und anschließend in eine Tabellenkalkulationssoftware (Office Excel 2003; Microsoft Deutschland, Unterschleissheim, Deutschland) übertragen. Diese wurden danach zur Erstellung von Mittelwertgrafen zusammengefasst, wobei Grafen der gesunden und demineralisierten Bereiche aller Proben (Abb. 8, gestrichelte Grafen) und

Mittelwertgrafen jeweils nach 14 Tagen Bleichbehandlung (e1) sowie weiteren 21 Tagen Remineralisation (e2) für die mit Nite White ACP, Opalescence regular, Nite White ACPF und Opalescence PF behandelten Gruppen sowie der ohne Bleichgel behandelten Kontrollgruppe erstellt wurden.

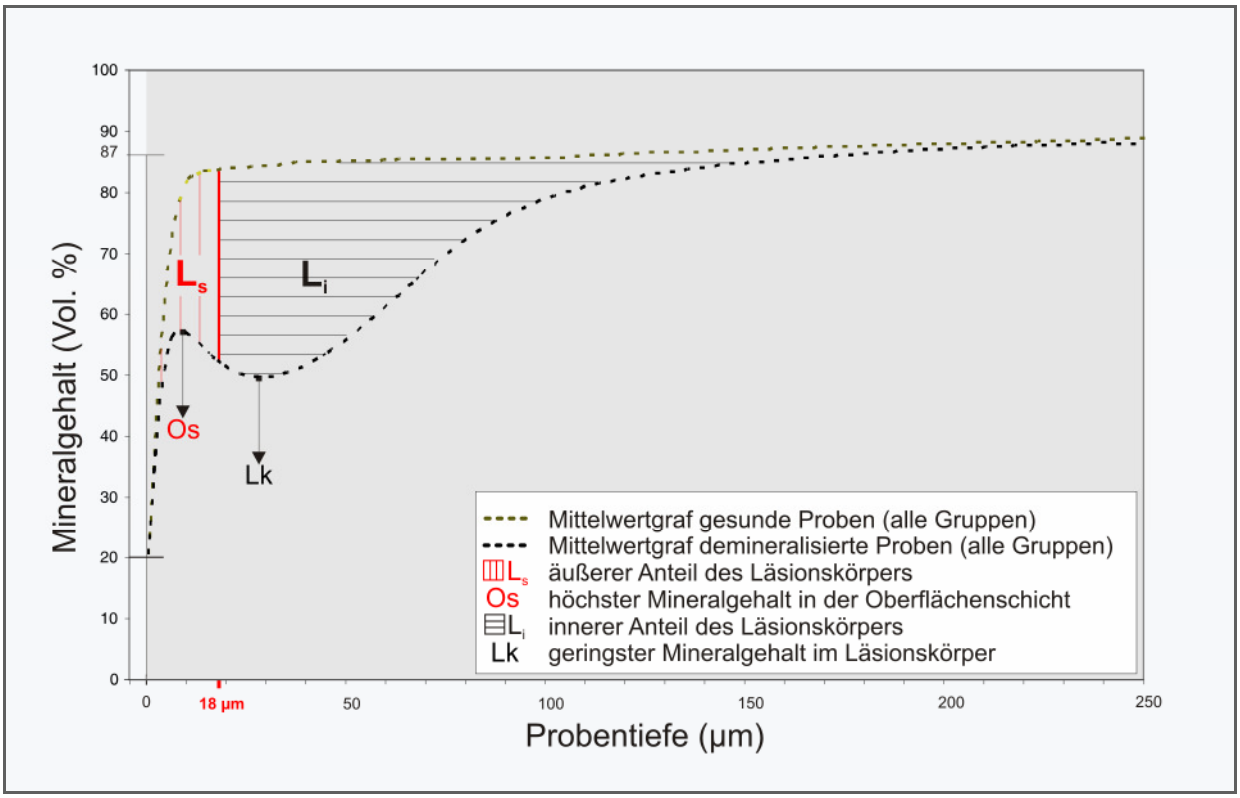

Abb. 8: Mittelwertgrafen aller gesunden und demineralisierten Probenbereiche

4.9. Untersuchungen mit dem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop

Zur qualitativen Untersuchung wurden exemplarisch an jeweils einer ausgewählten Schmelzprobe pro Gruppe die demineralisierten, gebleichten und remineralisierten Areale mit dem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop (TCS NT; Leica, Mannheim, Deutschland) dargestellt. Um die behandelten Schmelzbereiche für eine Untersuchung sichtbar zu machen, wurden die Schnittflächen der Schmelzproben mit niedrig viskösem Kunstharz (Spurr Harz-Kit; Plano, Wetzlar, Deutschland), welcher mit dem Fluoreszenzfarbstoff Rhodamin B Isothiocyanat (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland) versetzt war, infiltriert (Tab. V). Die mit Spurr-Kunststoff behandelten

Proben wurden im Polymerisationsgerät (Ivomat IP3; Ivoclar Vivadent, Schaan, Lichtenstein) bei 70 °C und 0,8 MPa über 8 Stunden ausgehärtet.

Tabelle V: Zusammensetzung Spurr-Kunststoff

Stoff		Menge	Anteil (%)
ERL 4206	Vinylzyklohexendioxid	10 g	23,6
DER 736	Diglyzidyletherpolypropylenglykol	6 g	14,2
NSA	Nonenylsukzinylanhydrid	26 g	61,3
DMAE	Dimethylaminoethanol	0,4 g	0,9
RITC	Rhodamin B Isothiocyanat	100 µmol/l	

Im Anschluss daran wurden die Schnittflächen der Proben mit der Poliermaschine (Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler) und Schleifpapier (Körnung 1200, 2400, 4000; Exakt Apparatebau) parallelisiert und mit dem polierten Bereich auf einen Objektträger aus Plexiglas (Diaplus) mit Klebstoff (Uhu) befestigt. Nachfolgend wurde der Überschuss an Spurr-Kunststoff mit der Poliermaschine und grobem Schleifpapier (Körnung 400) bis zum Anfang der Probenschnittfläche entfernt und danach die Probe mit feinem Schleifpapier aufsteigender Körnung (1200, 2500, 4000) poliert und zum Objektträger parallelisiert.

Die konfokalmikroskopischen Aufnahmen wurden danach im Fluoreszenzmodus mit einem 40-fach vergrößernden Objektiv mit Ölimmersion (Immersol; Zeiss, Jena, Deutschland) durchgeführt. Mit einem Argon-Krypton-Laser erzeugtes Anregungslicht wurde über einen akusto-optischen Filter (AOTF) sowie einen halbdurchlässigen Spiegel (Beamsplitter) auf die Probe gelenkt. Anschließend wurde das Licht durch einen Langpassfilter mit einem Durchlässigkeitsmaximum von 590 nm geleitet, um lediglich das durch den Fluoreszenzfarbstoff Rhodamin B Isothiocyanat emittierte Licht zu detektieren.

Die mit der CLSM-Software (Leica Confocal Software, Version 2.61; Leica, Mannheim, Deutschland) über den Mittelwert von acht Einzelaufnahmen (Average-Funktion) gewonnenen Bilder wurden anschließend im TIF-Format abgespeichert und mit dem Bildverarbeitungsprogramm Image J (Version 1.37, National Institutes of Health; Bethesda, Maryland, USA) bearbeitet.

4.10. Bestimmung von Fluoridgehalt und pH-Wert in den Bleichgelen

Fluoridgehalt

Den Herstellerangaben zufolge enthielten die Bleichgele Opalescence PF 0,25 % und Nite White ACPF 0,145 % Natriumfluorid, was rechnerisch bei Opalescence PF einer Fluoridmenge von 1100 ppm und bei Nite White ACPF von 650 ppm entsprechen würde. Die Bestimmung des Fluoridgehaltes in den Bleichgelen wurde mit einem mikroprozessorgesteuerten Ionometer (Thermo Orion 960 Titrator plus Ionometer; Thermo, Beverly, Massachusetts, USA), dem Zusatzmodul Thermo Orion EA 940 (Thermo Orion ion Analyzer EA 940; Thermo) und einer Fluoridelektrode (Fluoride Elektrode 96-09 BNWP; Thermo) durchgeführt.

Das Wirkprinzip einer Fluoridelektrode beruht darauf, dass mit einem Ionometer ein Spannungspotential gemessen wird, welches zwischen der zu analysierenden Lösung unbekannter Fluoridkonzentration und einer in der Elektrode enthaltenen internen Referenzlösung (A Optimum Results, Orion 900061; Thermo) aufgebaut wird. In dem angewendeten Standard-Additions-Verfahren (Known-Addiction-Predict-Analyse) wird der Probenlösung mit bekanntem Volumen eine definierte Menge 0,1 M Fluoridstandard-Lösung (0,1 M Fluorid Standard, Orion 940906; Thermo) zugesetzt und nach jeder Zugabe die Potentialänderung gemessen, die anschließend bei dem mikroprozessorgesteuerten Gerät selbstständig in einer Eichkurve aufgenommen wird. Die ursprünglich in der Lösung befindliche Fluoridkonzentration wird über eine mathematische Auswertung, die sich aus der Nernst-Gleichung ableitet, berechnet [Ulrich 1988].

Vor der Messung wurden jeweils 2,4 ml Bleichgel, 21,6 ml Aqua dest. und 24 ml Puffersubstanz (low TISAB, Tab. VI) mit dem am Gerät befindlichen Rührer für zwei Minuten gemischt. Die Pufferlösung diente zur Angleichung der Ionenstärken von Standardlösung (0,1 M Fluorid Standard Orion 940906; Thermo) und Messlösung. Da in der Pufferlösung keine Zusätze von CDTA (Cyclohexandiaminotetraessigsäure) enthalten waren, wurden nur die bioverfügbaren Fluoridkonzentrationen bestimmt.

Die anschließende Messung fand unter kontinuierlichem Rührvorgang von ca. 250 U/min statt. Die Elektrode und der Rührer tauchten ca. 2 cm in die Lösung ein. Der Dispenser zur Zugabe des Fluoridstandards befand sich knapp außerhalb der Lösung.

Tabelle VI: Zusammensetzung von low TISAB [ohne Zusätze von Cyclohexandiaminotetraessigsäure (CDTA)]

Stoff	Molare Masse in g/mol	Menge
CH_3COOH	60,05	57 ml
NaCl	58,44	58 g
5 M NaOH	39,997	ad pH 5,45
Aqua dest.	18,00	ad 1 l

pH-Wert

Die pH-Werte der zu untersuchenden Bleichpräparate Nite White ACP, Nite White ACPF (Discus Dental), Opalescence regular und Opalescence PF (Ultradent) wurde von den Herstellern mit jeweils ~ 6,5 angegeben. Zur Messung wurden 2,4 ml Bleichgel in einen Becher (100 ml; Ratio-med, Lilienthal, Deutschland) gefüllt und der pH-Wert mit pH-Meter (Titrando 809, Software Tiamo 1.1; Metrohm, Herisau, Schweiz) und pH-Elektrode (Flachmembran, 60227100; Metrohm) bei Raumtemperatur bestimmt. Zwischen den Messungen wurde die pH-Elektrode mit destilliertem Wasser gründlich abgespült. Für jedes Bleichgel wurden jeweils drei Messungen durchgeführt.

4.11. Statistische Auswertung

Vor der Untersuchung der Schmelzproben wurden alle Gruppen für den Untersucher verblindet. Im Rahmen der mikroradiografischen Auswertung wurden Mineralverlust (min) und Läsionstiefe (lt) der demineralisierten (d), gebleichten (e1) und remineralisierten (e2) Proben ermittelt. Anschließend wurden diese Werte um den projektionsbedingten Fehlerwert von Mineralverlust und Läsionstiefe im gesunden Bereich (g) korrigiert [(min d - min g), (min e1 - min g), (min e2 - min g), (lt d - lt g), (lt e1 - lt g), (lt e2 - lt g)]. Darüber hinaus wurde der Mineralverlust in der Oberflächenschicht (s min = Mineralverlust in den äußeren 18 µm der Läsion) und in dem verbleibenden inneren Anteil der Läsion (i min) untersucht [Kawasaki et al. 2000, Kielbassa et al. 2005]. Des Weiteren wurden die prozentualen Veränderungen des Mineralgehaltes (min%) sowie der Läsionstiefe (lt%) zwischen Demineralisation/Bleichen und Demineralisation/Remineralisation ermittelt (Tab. IV). Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der SPSS-Software (Statistical Package for Social Sciences, Version 11.5.1; SPSS, München, Deutschland). Alle Variablen wurden auf Normalverteilung

untersucht (Kolmogorov-Smirnov-Test) und einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen. Im Falle einer ermittelten Signifikanz wurden die Gruppen untereinander mit dem Bonferroni post-hoc Test verglichen.

Das Signifikanzniveau wurde bei allen Tests jeweils mit 5 % festgelegt. Nach Abschluss der statistischen Auswertung wurde eine Entblindung der Gruppen durch den Studienleiter vorgenommen.

5. ERGEBNISSE

5.1. Quantitative Auswertung

5.1.1. Mineralverlust der Schmelzproben

Gesamte Läsion

Der durchschnittliche Mineralverlust aller Proben nach Demineralisation betrug 2433 (620) Vol.% [Mittelwert (Standardabweichung)].

Nach der Bleichbehandlung war ein signifikant höherer Mineralverlust bei den mit Opalescence regular (min e1, Tab. VII) im Vergleich zu den mit Opalescence PF behandelten Schmelzproben nachweisbar (p = 0,004; Bonferroni post-hoc Test). Keine signifikanten Unterschiede wurden zwischen den mit Nite White ACP und Nite White ACPF behandelten Proben nachgewiesen (p = 1). Darüber hinaus unterschieden sich die mit Bleichgel behandelten Proben jeweils nicht signifikant von der Kontrollgruppe.

Tabelle VII: Mineralverluste [Mittelwerte (Standardabweichung) Vol.% × µm] mit Signifikanzen (Sig) nach Demineralisation (d), Bleichen (e1) und Remineralisation (e2) jeweils für die gesamte Probe (gesamt) sowie getrennt für den oberflächlichen (s) und den inneren Anteil (i) der Läsion. Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben in einer Zeile kennzeichnen signifikante Unterschiede (p < 0,05; Bonferroni post-hoc Test).

		Kontrolle	Opalescence regular	Opalescence PF	Nite White ACP	Nite White ACPF
gesamt	min d	**2486** (637)	**2542** (758)	**2241** (663)	**2568** (545)	**2330** (429)
	Sig.	**A**	**A**	**A**	**A**	**A**
	min e1	**1671** (429)	**2023** (621)	**1526** (458)	**1632** (364)	**1741** (425)
	Sig.	**AB**	**B**	**A**	**A**	**AB**
	min e2	**1133** (283)	**1506** (500)	**1058** (240)	**1176** (268)	**1252** (348)
	Sig.	**A**	**B**	**A**	**A**	**AB**
oberfl.	s min d	**364** (99)	**399**(102)	**341** (90)	**393** (70)	**365** (71)
	Sig.	**A**	**A**	**A**	**A**	**A**
	s min e1	**166** (76)	**354** (102)	**252** (108)	**102** (44)	**228** (83)
	Sig.	**AB**	**D**	**C**	**A**	**BC**
	s min e2	**186** (82)	**325** (132)	**199** (90)	**148** (50)	**186** (88)
	Sig.	**A**	**B**	**A**	**A**	**A**
inner	i min d	**2123**(550)	**2143** (687)	**1900** (623)	**2174** (491)	**1965** (390)
	Sig.	**A**	**A**	**A**	**A**	**A**
	i min e1	**1504** (401)	**1667**(555)	**1273** (406)	**1529** (347)	**1513** (416)
	Sig.	**AB**	**B**	**A**	**AB**	**AB**
	i min e2	**948** (247)	**1181** (399)	**859** (214)	**1028** (263)	**1066** (288)
	Sig.	**AB**	**B**	**A**	**AB**	**AB**

Nach der Remineralisationsphase (min e2) waren signifikant höhere Mineralverluste bei Opalescence regular im Vergleich zu Opalescence PF behandelten Proben nachweisbar (p < 0,001). Zwischen Nite White ACP und Nite White ACPF zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (p = 1).

Zur Kontrollgruppe wiesen lediglich die mit Opalescence regular behandelten Proben einen signifikant höheren Mineralverlust auf (p = 0,002).

Oberflächlicher und innerer Anteil der Läsion

Im Vergleich mit Opalescence regular zeigten die mit Opalescence PF behandelten Proben signifikant geringere Mineralverluste nach der Bleichbehandlung innerhalb der Oberflächenschicht (p = 0,001; Bonferroni post-hoc Test) sowie im inneren Anteil der Läsion (p = 0,019). Im Vergleich zur Kontrollgruppe wiesen die mit Opalescence regular (p < 0,001) sowie Opalescence PF (p = 0,008) behandelten Proben einen signifikant höheren Mineralverlust im oberflächlichen Anteil der Läsion auf (s min e1, i min e1, Tab. VII).

Während die mit Nite White ACP behandelten Proben im oberflächlichen Anteil der Läsion signifikant geringere Mineralverluste im Vergleich zu Nite White ACPF zeigten (p < 0,001), wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen im inneren Anteil der Läsion nachgewiesen (p = 1). Weder im oberflächlichen noch im inneren Bereich der Läsion waren signifikante Unterschiede im Mineralverlust zwischen Nite White ACP, Nite White ACPF sowie der Kontrollgruppe nachzuweisen.

Nach der Remineralisationsphase wurden bei Opalescence regular sowohl in der Oberflächenschicht (s min e2, p < 0,001) wie auch im inneren Anteil der Läsion (i min e2, p = 0,02) signifikant höhere Mineralverluste im Vergleich zu Opalescence PF nachgewiesen. Zur Kontrollgruppe zeigten die mit Opalescence regular behandelten Proben innerhalb der Oberflächenschicht signifikant höhere Mineralverluste (p < 0,001). Zwischen den mit Nite White ACP und Nite White ACPF behandelten Proben waren weder im oberflächlichen (p = 1) noch im inneren Anteil der Läsion (p = 1) signifikante Unterschiede feststellbar.

5.1.2. Veränderung des Mineralgehaltes

Nach dem Bleichen (e1) sowie der anschließenden Remineralisationsphase (e2) wurden im Vergleich zu den Werten nach Demineralisation (e1-d, e2-d) geringere Mineralverluste ermittelt, welche in der weiteren Auswertung als Mineralgewinn und somit Remineralisation der Schmelzproben gedeutet wurden.

Gesamte Läsion

Der Mineralgewinn nach dem Bleichen (e1) zeigte zwischen mit Opalescence regular [20 (13) %, Tab. XI, Anhang] und Opalescence PF behandelten Proben [31 (15) %] keine signifikanten Unterschiede [g (e1-d), Abb. 9]. Im Vergleich mit Nite White ACP [35 (11) %] wiesen die mit Nite White ACPF [25 (14) %] behandelten Proben einen signifikant geringeren Mineralgewinn auf (p = 0,04; Bonferroni post-hoc Test). Im Vergleich mit der Kontrollgruppe [32 (13) %] ließ keine der mit Bleichgel behandelten Proben signifikante Unterschiede erkennen.

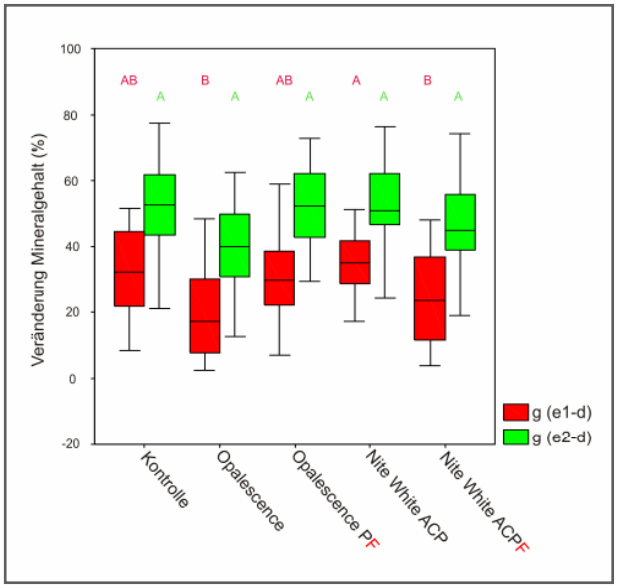

Abb. 9: Veränderung des Mineralgehaltes (in %) für die gesamten Läsion nach Bleichen [g (e1-d)] und Remineralisation [g (e2-d)] im Vergleich zur jeweiligen demineralisierten Probe. Prozentzahlen > 0 stehen für einen Mineralgewinn. Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben in einer Zeile kennzeichnen signifikante Unterschiede (p < 0,05; Bonferroni post-hoc Test).

Nach der Remineralisation (e2) zeigten sich weder zwischen Opalescence regular und Opalescence PF (p = 1) noch zwischen Nite White ACP und Nite White ACPF (p = 0,467) signifikante Unterschiede im Mineralgewinn. Darüber hinaus unterschieden sich die mit Bleichgel behandelten Proben nach der Remineralisationsphase nicht signifikant von der Kontrollgruppe (p = 0,087; ANOVA).

Oberflächlicher und innerer Anteil der Läsion

Der Mineralgewinn der mit Opalescence regular behandelten Proben ließ weder im oberflächlichen (p = 0,529; Bonferroni post-hoc Test) noch im inneren Anteil der Läsion (p = 1) nach dem Bleichen (e1-d) signifikante Unterschiede zu den mit Opalescence PF behandelten Proben erkennen (Abb. 10 und 11). Im Vergleich mit der Kontrollgruppe [54 (21) %] war ein signifikant geringerer Mineralgewinn innerhalb der Oberflächenschicht bei Opalescence regular [11 (18) %] und Opalescence PF [26 (26) %] nachweisbar.

Bei Nite White ACP [74 (10) %] zeigten sich nach dem Bleichen innerhalb der Oberflächenschicht signifikant höhere Mineralgewinne im Vergleich zu den mit Nite White ACPF [37 (21) %] behandelten Proben (p < 0,001).

Keine signifikanten Unterschiede wurden zwischen Nite White ACP und Nite White ACPF im inneren Teil der Läsion nachgewiesen (p = 0,745). Die mit Nite White ACP behandelten Proben zeigten darüber hinaus einen signifikant höheren Mineralgewinn im Vergleich zur Kontrollgruppe (p = 0,001).

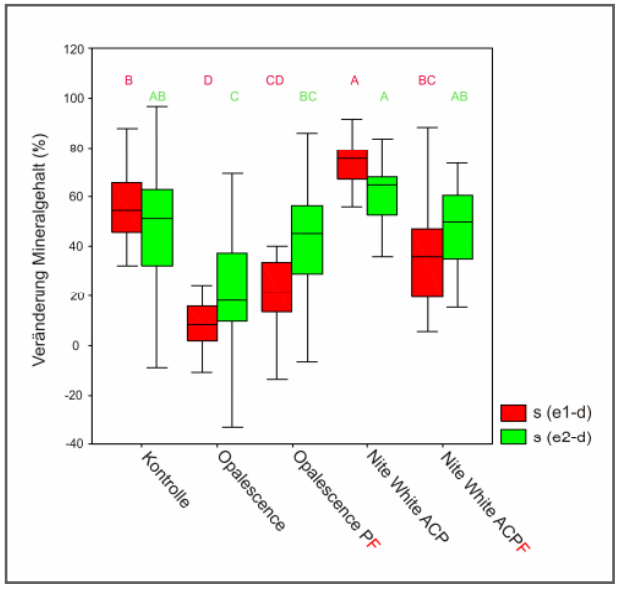

Abb. 10: Veränderung des Mineralgehaltes (in %) im oberflächlichen Anteil der Läsion nach Bleichen [s (e1-d)] und Remineralisation [s (e2-d)]. Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben in einer Zeile kennzeichnen signifikante Unterschiede (p < 0,05; Bonferroni post-hoc Test).

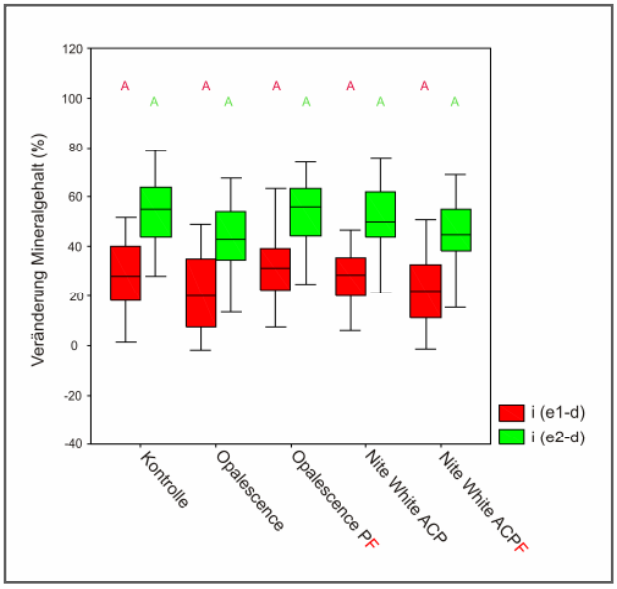

Abb. 11: Veränderung des Mineralgehaltes (in %) im inneren Anteil der Läsion nach Bleichen [i (e1-d)] und Remineralisation [i (e2-d)]. Gruppen mit gleichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (p > 0,05; Bonferroni post-hoc Test).

Nach der Remineralisationsphase (e2-d) waren weder innerhalb der Oberflächenschicht (p = 0,103) noch im inneren Anteil der Läsion (p = 1) zwischen den mit Opalescence regular und Opalescence PF behandelten Proben signifikante Unterschiede nachzuweisen. Zur Kontrollgruppe [54 (14) %] wiesen lediglich die mit Opalescence regular [44 (13) %] behandelten Proben einen signifikant geringeren Mineralgehalt auf (p = 0,01). Zwischen den mit Nite White ACP und Nite White ACPF behandelten Schmelzproben waren nach der Remineralisation innerhalb der Oberflächenschicht (p = 0,115) sowie im inneren Teil der Läsion (p = 0,859) keine signifikanten Unterschiede im Mineralgewinn zu verzeichnen. Der Mineralgewinn unterschied sich bei den mit Nite White ACP und Nite White ACPF behandelten Proben weder im oberflächlichen noch im inneren Teil der Läsion signifikant von der Kontrolle.

5.1.3. Läsionstiefe der Schmelzproben

Nach der Demineralisation betrug die Läsionstiefe aller Schmelzproben 95 (21) µm [MW (SD)]. Während der Bleichtherapie kam es bei allen Gruppen zu einer Reduktion der Läsionstiefe, wobei zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen wurden (lt e1, Tab. VIII). Bei der anschließenden Remineralisationsphase kam es zu einer weiteren Reduktion der Läsionstiefe, wobei ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nachgewiesen wurden (lt e2).

Tabelle VIII: Läsionstiefe [Mittelwerte (Standardabweichung) in µm] und Signifikanzen (Sig.) der Proben nach Demineralisation (d), Bleichen (e1) und Remineralisation (e2). Gruppen mit gleichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (p > 0,05, Bonferroni post-hoc Test).

		Kontrolle	Opalescence regular	Opalescence PF	Nite White ACP	Nite White ACPF
lt	lt d	**96,15** (16,67)	**96,75** (22,82)	**87,47** (20,71)	**97,33** (20,59)	**97,41** (21,81)
	Sig.	A	A	A	A	A
	lt e1	**84,98** (23,65)	**82,05** (21,85)	**73,25** (16,01)	**85,76** (22,03)	**88,30** (21,68)
	Sig.	A	A	A	A	A
	lt e2	**68,59** (19,05)	**76,34** (18,64)	**64,27** (23,27)	**73,65** (13,82)	**77,53** (21,59)
	Sig.	A	A	A	A	A

5.1.4. Veränderung der Läsionstiefe

Im Vergleich zu den Werten nach der Demineralisation verminderte sich im Mittel während der Bleichbehandlung bei allen Gruppen die Läsionstiefe [lt (e1-d), Abb. 12)]. Die Reduktion der Läsionstiefe fiel bei Opalescence regular um 15 (17) % [MW (SD), Tab. XII, Anhang], bei Opalescence PF um 15 (16) %, bei Nite White ACP um 11 (16) %, bei Nite White ACPF um 9 (10) % sowie bei der Kontrollgruppe um 12 (14) % aus. Zwischen den Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede nachweisbar.

Nach der anschließenden Remineralisationsphase reduzierte sich die Läsionstiefe im Vergleich zur Demineralisation bei Opalescence regular um 19 (20) %, bei Opalescence PF um 24 (29) %, bei Nite White ACP um 22 (15) %, bei Nite White ACPF um 19 (21) % sowie bei der Kontrollgruppe um 28 (17) %. Dabei waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nachweisbar.

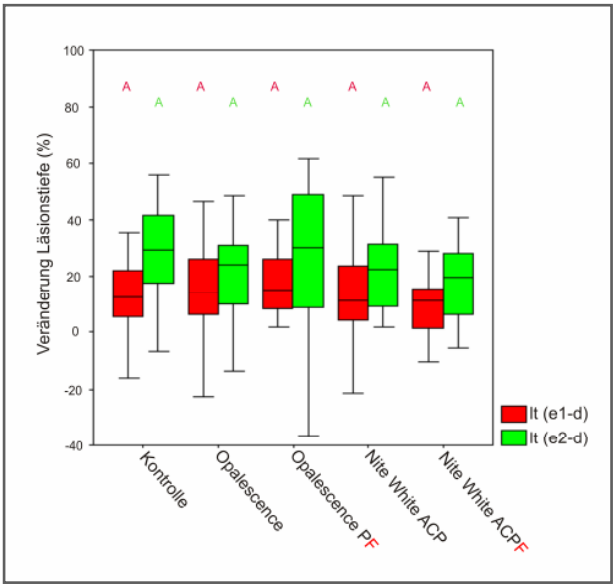

Abb. 12: Veränderung der Läsionstiefe (in %) nach Bleichen [lt (e1-d)] und Remineralisation [lt (e2-d)] im Vergleich zur Demineralisation. Prozentzahlen > 0 bedeuten eine Reduktion der Läsionstiefe. Gruppen mit gleichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (p > 0,05; Bonferroni post-hoc Test).

5.1.5. Fluoridgehalt und pH-Wert der Bleichgele

Die Messung der biologisch verfügbaren Fluoridionen mit der Pufferlösung (low TISAB) ohne CDTA (Cyclohexandiaminotetraessigsäure) ergab im Mittel einen Fluoridgehalt in Opalescence PF von 1220 (111) ppm und Nite White ACPF von 663 (27) ppm. Darüber hinaus wurden bei den Bleichgelen Opalescence regular, Opalescence PF und Nite White ACP schwach saure pH-Werte, sowie bei Nite White ACPF ein stark saurer pH-Wert ermittelt (Tab. IX).

Tabelle IX: Fluoridgehalt [Mittelwert (Standardabweichung) in ppm] und pH-Wert der Bleichpräparate.

	Opalescence regular	Opalescence PF	Nite White ACP	Nite White ACPF
Fluoridgehalt (ppm) mit low TISAB* ohne CDTA*	**2,45** (0,83)	**1220** (111,36)	**3,82** (1,32)	**663,33** (26,58)
pH-Wert	**6,13** (0,11)	**6,37** (0,13)	**6,02** (0,18)	**4,58** (0,18)

* TISAB = Total Ionic Strength Adjustment Buffer; CDTA = Cyclohexandiaminotetraessigsäure

5.2. Qualitative Auswertung

5.2.1. Struktureller Aufbau der Schmelzproben nach dem Bleichen

Der Mittelwertgraf aller unbehandelten gesunden Proben (Abb. 13, grüne gestrichelte Linie) zeigte einen geringfügigen oberflächlichen Mineralverlust, der auf projektionsbedingte Artefakte zurückgeführt wurde. Zwischen den Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede im Mineralverlust nachweisbar ($p = 0{,}285$; ANOVA).
Nach Demineralisation aller Proben über 10 Tage (schwarze gestrichelte Linie) war das typische Erscheinungsbild einer initialkariösen Läsion mit der pseudointakten Oberflächenschicht (1), dem Läsionskörper (2) sowie der Zone der fortschreitenden Demineralisation (3) mit dem Übergang in den gesunden Schmelzbereich zu erkennen. Dabei stieg der Mineralgehalt innerhalb der pseudointakten Oberflächenschicht von der Schmelzoberfläche bis zu einer Probentiefe von 8 µm an (Punkt Os), um anschließend mit zunehmender Probentiefe auf den geringsten Mineralgehalt innerhalb des Läsionskörpers abzusinken (Punkt Lk, 28 µm). Danach nahm der Mineralgehalt mit zunehmender Probentiefe wieder zu und ging über die Zone der fortschreitenden Demineralisation in gesunden Schmelzbereich über. Die Fläche zwischen den Mittelwertgrafen der gesunden und demineralisierten Proben kann als Maß für den Mineralverlust der Proben nach Demineralisation über 10 Tage angesehen werden.
Nach der Bleichtherapie blieb der strukturelle Aufbau einer initialkariösen Läsion grundlegend erhalten, unabhängig davon ob die Proben mit fluoridhaltigen oder -freien Bleichgel behandelt wurden. Die Oberflächenschicht der mit Nite White ACP behandelten Proben zeigte einen höheren Mineralgehalt und war breiter ausgeprägt als die der anderen Gruppen. In der definierten Oberflächenschicht (0-18 µm Probentiefe) war der Mineralgehalt (s min e1, Tab. VII) bei Nite White ACP im Vergleich mit Nite White ACPF behandelten Proben signifikant erhöht ($p < 0{,}001$; Bonferroni post-hoc Test). Von der Kontrollgruppe unterschieden sich die mit Nite White ACP ($p = 0{,}108$) und Nite White ACPF ($p = 0{,}150$) behandelten Proben jeweils nicht signifikant.
Im Vergleich mit Opalescence regular zeigten die mit Opalescence PF behandelten Schmelzproben innerhalb der definierten Oberflächenschicht einen signifikant höheren Mineralgehalt ($p = 0{,}001$). Zur Kontrollgruppe wiesen die mit Opalescence regular ($p < 0{,}001$) und Opalescence PF ($p = 0{,}008$) behandelten Proben einen signifikant geringeren Mineralgewinn innerhalb der Oberflächenschicht auf.

Darüber hinaus kam es während des Bleichens bei allen Schmelzproben zu Mineraleinlagerungen im inneren Bereich des Läsionskörpers. Mit Ausnahme der breiter ausgeprägten pseudointakten Oberflächenschicht bei Nite White ACP waren die Mineralgehalt-Grafen der mit Nite White ACP und Nite White ACPF behandelten Proben im inneren Bereich der Läsion (ab 18 µm Probentiefe) vergleichbar. Es waren keine signifikanten Unterschiede im Mineralgehalt nachweisbar (Tab. VII, i min e1, p = 1). Der höchste Mineralgehalt war im Bereich der Zone der fortschreitenden Demineralisation bei den mit Opalescence PF behandelten Proben zu verzeichnen. Dabei waren diese Mineraleinlagerungen nur im Vergleich mit Opalescence regular behandelten Proben signifikant erhöht (i min e1, p = 0,019). Bei allen Gruppen führten die Mineraleinlagerungen zu einer Verkleinerung des Läsionskörpers und damit zu einer Reduktion der Läsionstiefe, wobei die mit Opalescence PF [(73 (16) µm, Tab. VIII] behandelten Proben die geringsten Läsionstiefen aufwiesen. Zwischen den Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede der Läsionstiefe nachgewiesen werden (p = 0,132; ANOVA).

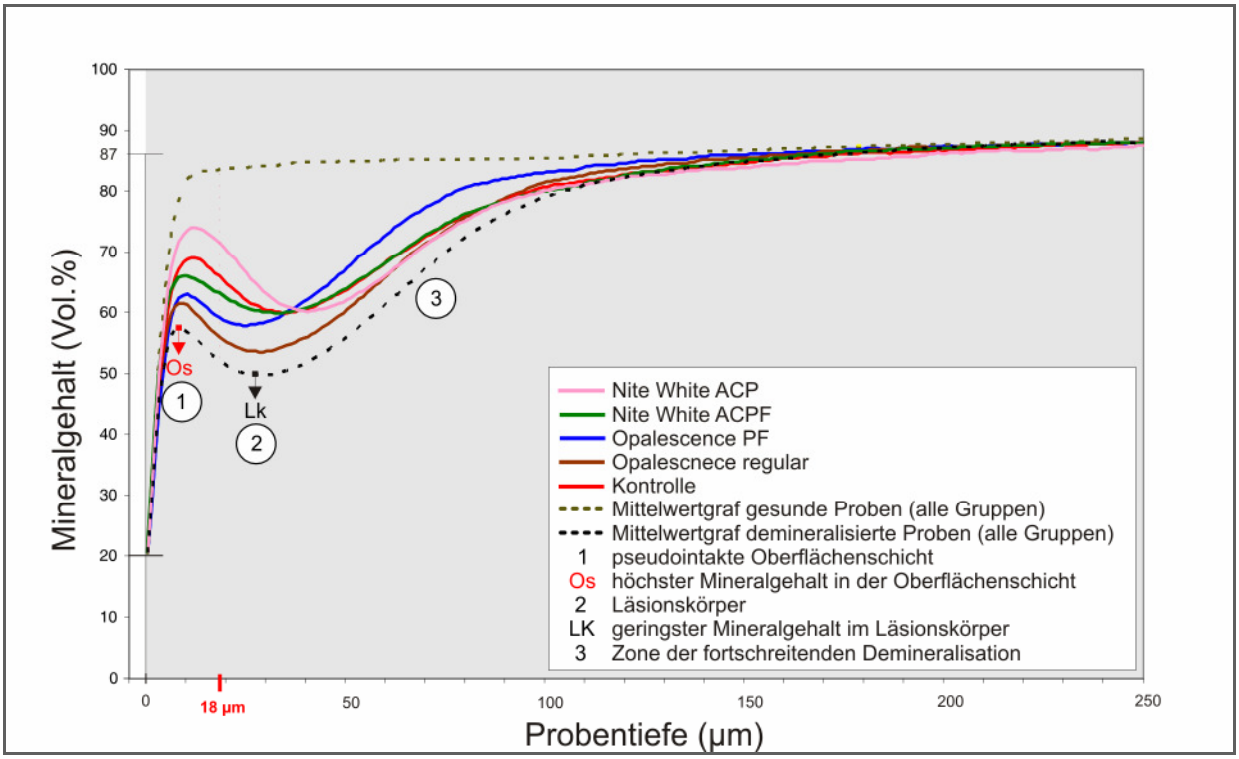

Abb. 13: Mineralgehalt-Kurven nach dem Bleichen (durchgezogene Linien). Die Mittelwerte des Mineralgehaltes aller Proben (n = 24) der jeweiligen Gruppen (n = 5) sind gegen die Probentiefe aufgetragen. Die Mittelwertgrafen der gesunden und demineralisierten Proben aller Gruppen sind als gestrichelte Linien dargestellt.

5.2.2. Struktureller Aufbau der Schmelzproben nach der Remineralisation

Nach der Bleichbehandlung und der anschließenden Remineralisation blieb der strukturelle Aufbau der initialkariösen Läsionen mit pseudointakter Oberflächenschicht, Läsionskörper und Zone der fortschreitenden Demineralisation bei allen behandelten Proben grundlegend erhalten (Abb. 14). Die Mineraleinlagerungen während der Remineralisation führten bei allen Proben zu einer Verbreiterung der pseudointakten Oberflächenschicht. Die mit Nite White ACP behandelten Proben zeigten innerhalb der Oberflächenschicht den höchsten Mineralgehalt. Dabei kam es im oberflächlichen Anteil der Läsion bei den mit Nite White ACP behandelten Proben nach der Remineralisation im Vergleich zur Bleichbehandlung zu einem Mineralverlust ($p = 0{,}01$; t-Test). Gleichzeitig wurden im inneren Anteil der Läsion signifikant höhere Mineralgewinne nachgewiesen ($p < 0{,}001$).

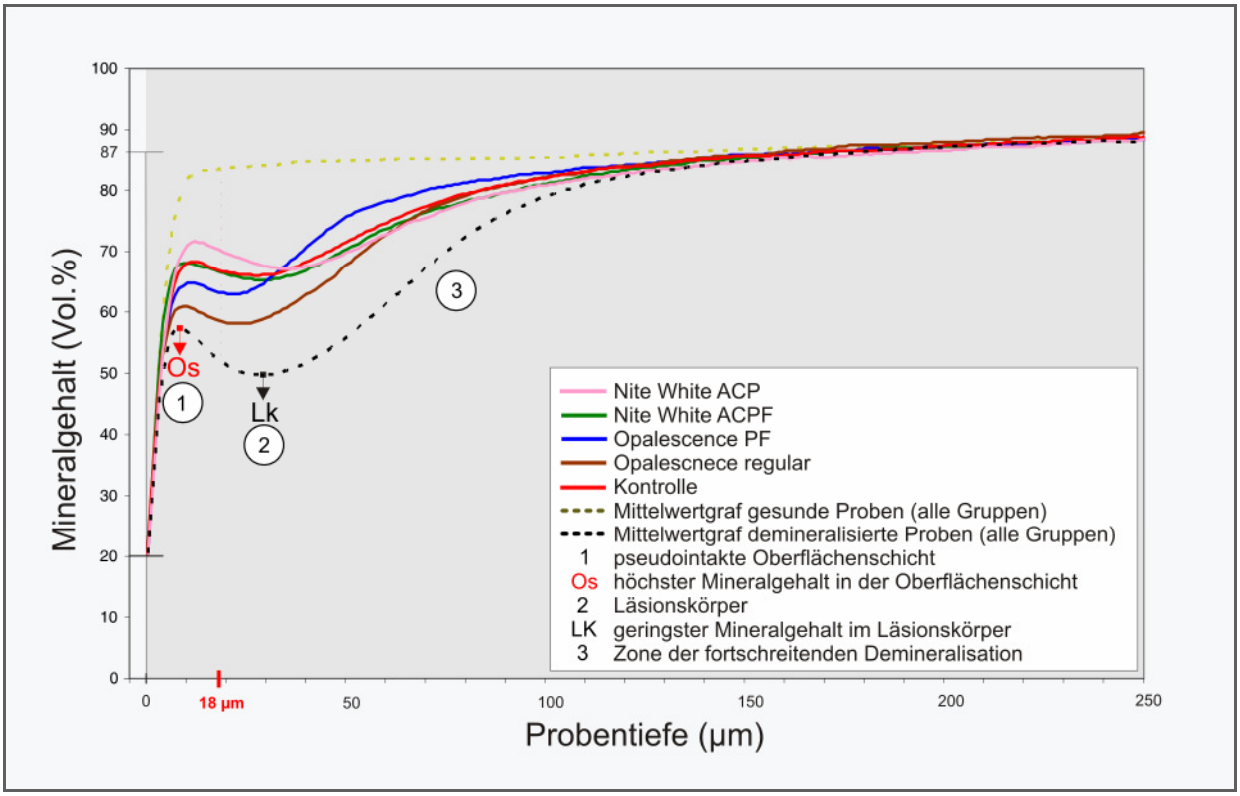

Abb. 14: Mineralgehalt-Kurven nach der Remineralisation (durchgezogene Linien). Es sind die Mittelwerte des Mineralgehaltes aller Proben (n = 24) der jeweiligen Gruppen (n = 5) gegen die Probentiefe aufgetragen. Die Mittelwertgrafen der gesunden und demineralisierten Proben aller Gruppen sind als gestrichelte Linien dargestellt.

Die mit Opalescence regular behandelten Proben zeigten im Vergleich mit allen anderen Gruppen einen signifikant geringeren Mineralgehalt innerhalb der

Oberflächenschicht. Im inneren Bereich der Läsion war ein signifikant geringerer Mineralgehalt lediglich bei Opalescence regular im Vergleich mit den mit Opalescence PF behandelten Proben nachweisbar (p = 0,002; Bonferroni post-hoc Test).

Eine Verbreiterung der pseudointakten Oberflächenschicht, Mineraleinlagerungen im Bereich des Läsionskörpers und der Zone der fortschreitenden Demineralisation führten nach der Remineralisation allgemein zur Abflachung der Mineralgehalt-Grafen sowie zu einer weiteren Verkleinerung des Läsionskörpers. Die mit Opalescence PF behandelten Proben wiesen dabei die geringste Läsionstiefe auf [(64 (23) µm, Tab. VIII]. Zwischen den Gruppen wurden keine signifikanten Unterschiede der Läsionstiefe nachgewiesen (p = 0,108; ANOVA).

5.2.3. Konfokalmikroskopische Auswertung

Demineralisierte Schmelzbereiche

Die demineralisierten Schmelzbereiche (Abb. 15a und 16a) zeigten den typischen pathohistologischen Aufbau einer initialkariösen Schmelzläsion mit pseudointakter Oberflächenschicht, Läsionskörper und Zone der fortschreitenden Demineralisation.

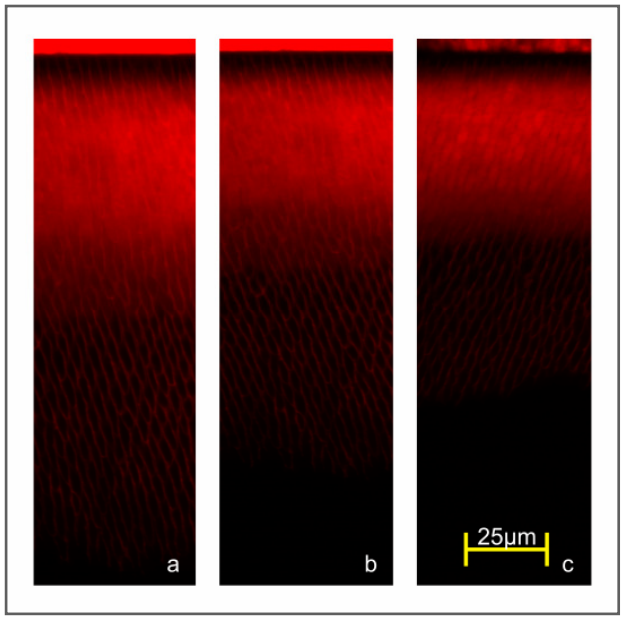

Abb. 15: CLSM-Bilder der Kontrollgruppe (mit Bleichgel unbehandelt) nach (a) Demineralisation (b) Bleichen sowie (c) Remineralisation.

Die oberste Schicht der Läsion, welche als pseudointakte Oberflächenschicht bezeichnet wird, zeigte eine geringere Fluoreszenz im Vergleich zum Läsionskörper. Dabei waren in dieser Schicht vor allem die Prismenscheiden angefärbt. Mit zunehmender Probentiefe schloss sich ein stärker fluoreszierender Bereich des Läsionskörpers an, in dem neben den Prismenscheiden ebenfalls fluoreszierende Prismenkerne zu erkennen waren. Unterhalb des Läsionskörpers war ein weniger fluoreszierender Bereich sichtbar, in dem nur noch die Prismenscheiden angefärbt waren. Dieser Bereich wurde als Zone der fortschreitenden Demineralisation bezeichnet.

Gebleichte Schmelzbereiche

Nach der Bleichbehandlung blieb der strukturelle Aufbau der initialkariösen Läsion sowohl bei den mit Bleichgel behandelten Proben (Abb. 16b) wie auch bei der Kontrollgruppe (Abb. 15b) auf dem konfokalmikroskopischen Bild grundlegend erhalten. Unabhängig davon, ob die analysierten Schmelzproben mit fluoridhaltigen oder -freien Bleichgel behandelt wurden, waren keine wesentlichen Unterschiede im strukturellen Aufbau auf den exemplarischen CLSM-Bildern zu erkennen. Es bestanden darüber hinaus keine Anhaltspunkte für eine Beeinflussung der Schmelzintegrität durch die verschiedenen Bleichmaterialien (Abb. 15b und 16b). Die pseudointakte Oberflächenschicht von Nite White ACPF war im Vergleich zu der mit Nite White ACP behandelten Schmelzprobe weniger breit ausgeprägt. Bei allen Schmelzproben erstreckten sich nach dem Bleichen die stärker fluoreszierenden Anteile des Läsionskörpers im Vergleich zu den jeweiligen demineralisierten Bereichen weniger tief in die Probe, was zu einer Verkleinerung des Läsionskörpers führte. Damit verschob sich ebenfalls die weniger fluoreszierende Zone der fortschreitenden Demineralisation in Richtung Oberfläche.

Remineralisierte Schmelzbereiche

Nach Bleichbehandlung und anschließender Remineralisation zeigten die untersuchten Proben (Abb. 15c und 16c) eine weitere Verkleinerung des stärker fluoreszierenden Läsionskörpers und damit ebenfalls eine Verlagerung der sich daran anschließenden weniger fluoreszierenden Zone der fortschreitenden Demineralisation in Richtung Oberfläche. Im Vergleich mit Nite White ACP erschien die pseudointakte Oberflächenschicht der mit Nite White ACPF behandelten Schmelzprobe tendenziell leicht verbreitert (Abb. 16c).

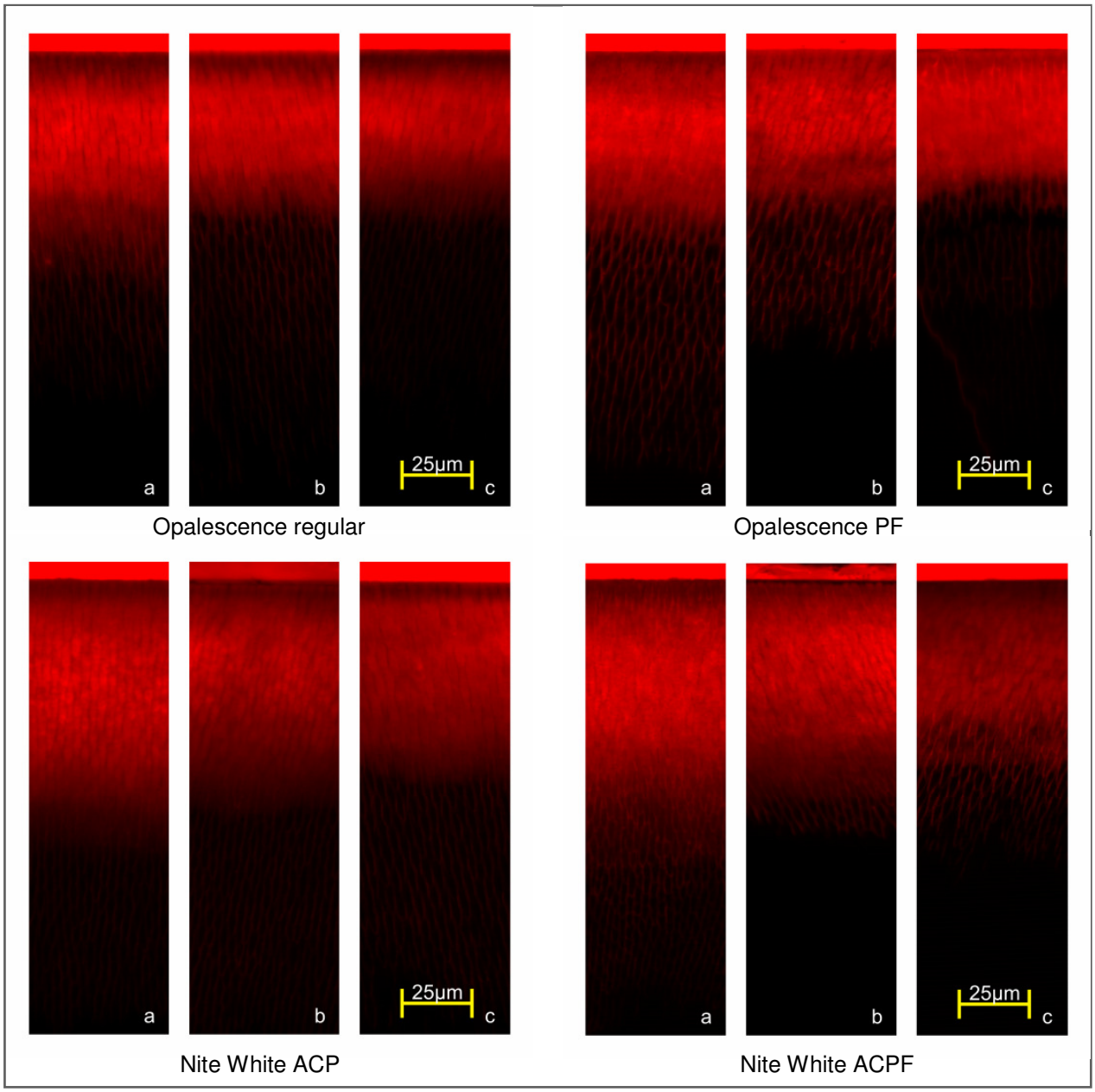

Abb. 16: CLSM-Bilder der mit verschiedenen Bleichgelen behandelten Gruppen nach (a) Demineralisation (b) Bleichen und (c) Remineralisation.

6. DISKUSSION

6.1. Diskussion von Material und Methode

6.1.1. Bovine Schmelzproben

In dieser Studie wurden Schmelzproben von Rinderfrontzähnen verwendet. Der Rinderschmelz unterscheidet sich in seiner chemischen Zusammensetzung nur geringfügig von humanem Schmelz [Esser et al. 1998], sodass prinzipiell eine gute Vergleichbarkeit boviner und humaner Schmelzproben angenommen werden kann. Darüber hinaus sind Rinderzähne aufgrund der hohen Verfügbarkeit und Größe gut zur Herstellung ausreichend dimensionierter Schmelzproben mit den in dieser Studie gewählten vier unterschiedlichen Untersuchungsbereichen geeignet. Ohne umfangreiche Vorbehandlung lassen sich durch die weniger stark gewölbte Oberfläche der Rinderzähne die für die transversale Mikroradiografie notwendigen planen Proben herstellen. Außerdem ist boviner Zahnschmelz im Gegensatz zu humanem Schmelz weniger durch Karies und Fluoridierungsmaßnahmen in seiner Zusammensetzung und Struktur beeinflusst, was eine in früheren Studien nachgewiesene gleichmäßigere Demineralisation von Schmelzproben erklären könnte [Mellberg 1992].

Die Verwendung humaner Schmelzproben wäre für In-vitro-Versuche zu diskutieren, weil auch Unterschiede zu bovinem Zahnschmelz beschrieben wurden [Mellberg 1992, Esser et al. 1998]. Da boviner Zahnschmelz eine porösere Struktur als humaner Schmelz aufweist [Mellberg 1992], könnten die damit einhergehenden höheren Diffusionsraten eine schnellere Entstehung von kariösen Läsionen begünstigen [Featherstone et al. 1981, Edmunds et al. 1988]. Des Weiteren bestehen strukturelle Unterschiede in der Größe der Schmelzprismen und der interprismatischen Substanz [Featherstone et al. 1981, Whittaker 1982]. Andererseits kann die Verwendung von humanen Zähnen zu methodischen Problemen führen. Extrahierte humane Zähne stammen meist aus unterschiedlichen Quellen und Altersstufen und sind durch abweichende äußere Einflüsse wie Ernährung und Fluoridexposition beeinflusst. Diese Variabilität humaner Zähne kann zu einer erhöhten Variationsbreite der Ergebnisse führen [Mellberg 1992]. Darüber hinaus kann die Beschaffung einer ausreichend großen Anzahl von humanen Zähnen ohne initialkariöse Läsionen und mit ausreichend großer, ebener Oberfläche ein weiteres Problem darstellen.

Da das bovine Schmelzmodell als akzeptable Alternative zur Substitution von humanem Schmelz in der Literatur dokumentiert und anerkannt ist [Nakamichi et al. 1983,

Mellberg 1992, Kielbassa et al. 2006], wurden in dieser Studie bovine Schmelzproben verwendet.

6.1.2. Vorbereitung der Proben

Die Schmelzproben wurden aus frisch extrahierten und bis zum Versuchsbeginn in Kochsalzlösung gelagerten Zähnen hergestellt. Dabei wurde die in der Literatur empfohlene kurze Lagerungszeit der Proben bis zum Versuchsbeginn beachtet [Hoppenbrouwers et al. 1986]. Um eine größtmögliche Vergleichbarkeit der Proben gewährleisten zu können, wurden diese nur aus den Labialflächen der ersten oberen Rinderfrontzähne gewonnen. In Anlehnung an frühere Studien erfolgte eine weitere Bearbeitung der Proben, indem diese in Kunstharz eingebettet und durch Parallelisierung und Politur mit Schleifpapier in einer Poliermaschine bearbeitet wurden [Kielbassa et al. 2005, Meyer-Lueckel et al. 2006]. Das Ziel dieser Vorbehandlung war eine Standardisierung der Probenoberfläche. Ebenfalls wurden durch die Politur oberflächliche Verunreinigungen beseitigt, die zu Problemen bei der Auswertung hätten führen können [Mellberg 1992]. Die Entfernung dieser oberflächlichen Schicht scheint dabei im Vergleich zu einer nicht abradierten Oberfläche keinen wesentlichen Einfluss auf die anschließende künstliche Demineralisation zu nehmen [Featherstone et al. 1981].

Um vergleichbare initialkariöse Läsionen zu erhalten, wurden die Schmelzproben aller Gruppen für 10 Tage gemeinsam in einer Demineralisationslösung bei pH 4,95 gelagert [Buskes et al. 1985]. Dabei wurde für die Demineralisationslösung eine Temperatur von 37 °C gewählt, um die Diffusionsrate von Molekülen durch den Schmelz zu erhöhen [Burke et al. 1975]. Durch den Zusatz von Methylhydroxydiphosphonat (MHDP) in der Demineralisationslösung sollte eine Erosion des Zahnschmelzes verhindert werden. Die in der Studie erzeugten initialkariösen Schmelzläsionen wiesen anschließend bei intakter Oberflächenschicht eine mittlere Läsionstiefe von 95 (21) µm auf, was annährend den vorher angestrebten Werten für die Läsionstiefe von 100 µm entsprach und somit Hinweis auf eine gute Vorhersagbarkeit der in dieser Studie gewählten Methode zur Demineralisation von Schmelzproben *in vitro* sein könnte.

6.1.3. Zusammensetzung der Bleichgele

In dieser Studie wurden die Home-bleaching-Präparate Opalescence regular 10 % und Opalescence PF 10 % (Ultradent, South Jordan, Utah, USA) sowie die Produkte Nite White ACP 10 % und Nite White ACPF 10 % (Discus Dental, Culver City, Kalifornien, USA) untersucht. Die Wirkung der Bleichgele wird einerseits von der Konzentration der Peroxide und andererseits von der Dauer der Anwendung beeinflusst, sodass beide Komponenten im Zusammenhang betrachtet werden sollten [Joiner 2006]. Gute klinische Ergebnisse konnten dabei für Home-bleaching-Präparate mit einer Carbamidperoxidkonzentration von 10 % und einer täglich achtstündigen Anwendung über einen Zeitraum von zwei Wochen nachgewiesen werden, sodass dieser Ablauf häufig empfohlen wird [Haywood 1992, Matis et al. 1999]. Bei höheren Konzentrationen der Peroxide von bis zu 35 % können die Zähne in kürzerer Zeit ähnlich stark aufgehellt werden, jedoch werden dabei erhöhte Nebenwirkungsraten diskutiert [Leonard et al. 1998].

Die toxikologische Wirkung von Peroxiden in Bleichgelen wurde umfassend untersucht, wobei keine Hinweise auf eine direkte karzinogene Wirkung gefunden werden konnte. Jedoch wird Bleichmaterialien mit einer Peroxidkonzentration von mehr als 15 % ein unterstützendes karzinogenes Potential nachgesagt [Klein-Szanto et al. 1982]. Bei einer täglich achtstündigen Anwendung von 10 % Carbamidperoxidgel über zwei Wochen [Reinhardt et al. 1993] sowie über sechs Wochen [Scherer et al. 1992] konnten keine Veränderungen auf der Schleimhaut festgestellt werden. Aufgrund der nachgewiesenen guten Wirksamkeit und geringeren Nebenwirkungsrate wurden in der vorliegenden Studie Bleichgele mit einer Carbamidperoxidkonzentration von 10 % gewählt.

Da eine genaue Auflistung der Inhaltsstoffe der in dieser Studie untersuchten Home-bleaching-Präparate nicht verfügbar war, wurden lediglich die Angaben auf den Verpackungen ausgewertet (Tab. X, Anhang). Bei den Präparaten der Firma Discus Dental fällt auf, dass im Vergleich zu Nite White ACPF bei Nite White ACP zusätzlich unter anderem Dinatrium-EDTA und Tetrakaliumdiphosphat-Pyrophosphat enthalten ist. Aus chemischen Sicht ist eine Zugabe von Dinatrium-EDTA als Komplexbildner kritisch zu betrachten, da positiv geladene Ionen wie Kalzium komplex gebunden werden und nur durch Austausch mit Metallionen höherer Stabilitätskonstante wie Eisen oder Quecksilber wieder freigesetzt werden und damit potentiell zur Mineralisierung der Zahnhartsubstanz zur Verfügung stehen.

Durch eine Zugabe von EDTA kann aber auch eine Stabilisierung von Wasserstoffperoxid erreicht werden, wodurch die Wasserstoffperoxidaktivität im Bleichgel verlängert wird [Goldstein et al. 1995].

Das Tetrakaliumdiphosphat-Pyrophosphat könnte wegen seiner stark alkalischen Wirkung zur Neutralisation von Säuren hinzugegeben sein, was den höheren pH-Wert von Nite White ACP im Vergleich zu Nite White ACPF erklären könnte. In Nite White ACP sowie Nite White ACPF liegen darüber hinaus gelöste Kalzium- und Phosphationen vor, die nach Applikation auf den Zahn einen nichtkristallinen, amorphen Kalziumphosphatkomplex (ACP) auf der Zahnhartsubstanz bilden [Skrtic et al. 1996]. Aufgrund einer ausgeprägten Reaktivität der Kalzium- und Phosphationen liegen diese bis zum Auftragen auf den Zahn in Doppelkammerspritzen getrennt vor. Aus welchen Inhaltsstoffen die Bildung von ACP angeregt wird, ist nicht bekannt. In der Literatur werden ACP-Komplexe aus Lösungen von Kalziumnitrat und Dinatriumhydrogen-phosphat beschrieben, wobei durch Zugabe von Tetrakaliumdiphosphat-Pyrophosphat das ACP stabilisiert werden kann [Eanes et al. 1965, Skrtic et al. 1996]. Aus diesen ACP-Komplexen werden Kalzium- und Phosphationen freigesetzt, die über weitere Zwischenstufen zum Aufbau von Hydroxylapatit führen. Durch die durch Pyrophosphat bedingte Stabilisierung der ACP-Komplexe hält die Übersättigung an Kalzium- und Phosphationen länger an [Meyer et al. 1978]. Diese zum Teil unterschiedlichen Zusatzstoffe und pH-Werte beider Präparate der Firma Discus Dental lassen den Schluss zu, dass sich Nite White ACP und Nite White ACPF nicht nur über den Zusatz von Natriumfluorid unterscheiden.

Über die Zusammensetzung der Präparate Opalescence regular und Opalescence PF stehen weniger detaillierte Informationen zur Verfügung (Tab. X, Anhang). In beiden Präparaten sind neben 10 % Carbamidperoxid, Wasser als Lösungsmittel, Kaliumnitrat, Befeuchtungsmittel, Puffersubstanzen und Verdickungsmittel enthalten.

Der Einfluss der Fluoride in den Bleichgelen könnte somit durch die unterschiedlichen Inhaltsstoffe der Bleichmaterialien verschleiert werden. Daher ist nicht genau nachzuweisen, ob Fluoride oder andere Inhaltsstoffe für die nachgewiesenen Effekte verantwortlich sind. Die verschiedenen Inhaltsstoffe können sich ebenfalls unterschiedlich auf die Freisetzung von Fluoriden aus dem Bleichgel auswirken [Attin et al. 2006]. Unter diesen Gesichtspunkten sollten die Ergebnisse dieser Arbeit kritisch betrachtet werden. Aufgrund der zum Teil unbekannten Zusammensetzungen der

Bleichgele steht ein Vergleich von Opalescence regular mit Opalescence PF und ein Vergleich von Nite White ACP mit Nite White ACPF im Vordergrund der Auswertung.

6.1.4. Fluoridkonzentration und pH-Wert der Bleichgele

Den Bleichpräparaten Opalescence PF wurden 0,25 % und Nite White ACPF 0,145 % Natriumfluorid beigemengt, was rechnerisch einer Fluoridmenge von 1100 ppm für Opalescence PF und 650 ppm für Nite White ACPF entspricht. Der bioverfügbare Fluoridgehalt wurde in dieser Studie bei Opalescence PF mit 1220 (111) ppm und Nite White ACPF mit 663 (27) ppm bestimmt, womit die vom Hersteller angegebenen Werte annährend bestätigt wurden.
Während die pH-Werte bei Opalescence regular [6,1 (0,1)], Opalescence PF [6,4 (0,1)], und Nite White ACP [6,0 (0,2)] annährend mit den Werten des Herstellers (~ 6,5) übereinstimmten, wurden für Nite White ACPF [4,6 (0,2)] stark saure und von den Herstellerangaben abweichende Werte (~ 6,5) ermittelt. Die Bestimmung des pH-Wertes mit einer Elektrode könnte dabei durch die Beimengung von Verdickungsmitteln und dem damit einhergehenden zähflüssigen Charakter des Gels beeinflusst worden sein. Der pH-Wert stellt ein Maß für die Wasserstoffionenkonzentration in einer wässrigen Lösung dar. Für höher visköse Bleichgele mit geringem Wasseranteil könnte der mit einer Elektrode bestimmte pH-Wert fehlerbehaftet sein. Eine Erhöhung des Wasseranteils durch nachträgliche Verdünnung der viskösen Bleichgele mit destilliertem Wasser würde die Konzentration der Wasserstoffionen und somit den pH-Wert beeinflussen. Das im Gel enthaltene Carbamidperoxid zerfällt in Gegenwart von Wasser zu schwach saurem Wasserstoffperoxid und Harnstoff, der katalytisch über die Zwischenstufe Ammoniak weiter zu Kohlendioxid, Wasserstoff und Stickstoff abgebaut wird und zu einem Anstieg des pH-Wertes führen könnte. Ebenfalls sind Puffersubstanzen in allen Bleichgelen enthalten, die bei Zugabe von Wasser weiter dissoziieren und nur im Rahmen ihrer Pufferkapazität stabilisierend auf den pH-Wert wirken [Goldstein et al. 1995]. Des Weiteren würden die in den Bleichgelen enthaltenen Verdickungsmittel ungebundenes Wasser binden und somit einer Verdünnung entgegenwirken. Dabei werden bei einigen Verdickungsmitteln und bestimmten Verdünnungen Netzwerkeffekte beschrieben, die sich in einer überproportionalen Erhöhung der Viskosität der Gele äußern [Mergenthaler 1984]. Dieses Phänomen war

bei den untersuchten Präparaten Opalescence regular und Opalescence PF in Nebenversuchen bei einer Verdünnung von 1 : 20 zu beobachten. Eine Messung des pH-Wertes mit einer Elektrode war somit bei den verdünnten Bleichgelen nicht praktikabel. Eine Bestimmung des pH-Wertes mit Indikatorstäbchen ist bei den Bleichmaterialien ebenso nicht geeignet, da Wasserstoffperoxid die Indikatorfarbstoffe oxidiert und daher die Farben verändert werden könnten. In Anlehnung an frühere Studien wurde somit der pH-Wert in dieser Arbeit im unverdünnten Gel mit einer pH-Elektrode bestimmt [Attin et al. 2007]. Da die Messungen des pH-Wertes bei drei Bleichmaterialien mit den Herstellerangaben vergleichbar waren, scheint eine fehlerhafte Messung bei Nite White ACPF eher unwahrscheinlich.
In folgenden Studien zum Einfluss der Fluoride in Bleichgelen sollten Bleichmaterialien mit identischen Fluoridmengen gewählt werden. Des Weiteren ist es empfehlenswert, auf vergleichbare Zusammensetzungen und chemischen Eigenschaften der fluoridhaltigen und -freien Bleichgele zu achten.

6.1.5. Bleichen und Remineralisation der Schmelzproben

Die Dauer der Bleichbehandlung von zwei Wochen und die Applikationszeit von acht Stunden pro Tag wurde in Übereinstimmung mit anderen Studien und den Empfehlungen des Herstellers zum Home-bleaching gewählt [Attin et al. 2003, Basting et al. 2003, Attin et al. 2006]. Um sich den klinischen Gegebenheiten anzunähern, wurden alle Schmelzproben zwischen den Bleichbehandlungen in einer häufig beschriebenen Remineralisationslösung mit einem Ca/P-Verhältnis von 1,5 : 0,9 gelagert [ten Cate et al. 1982, Buskes et al. 1985]. Diese Lösung war hinsichtlich Octakalziumphosphat und Hydroxylapatit übersättigt, weswegen mit Remineralisations-erscheinungen zu rechnen war [Tschoppe et al. 2007]. Um einen größtmöglichen kariespräventiven Effekt bei Patienten mit optimaler Mundhygiene und dem Wunsch nach einer Bleichbehandlung zu erzeugen, lagerten die Schmelzproben während der Remineralisationsphase kontinuierlich über 21 Tage bei 37 °C in der Remineralisationslösung. Der darin enthaltene Hepes-Puffer sollte die Lösung abpuffern und Reaktionen zwischen Kalzium oder Phosphat sowie Komplexbildungen verhindern, sodass davon auszugehen war, dass die Mineralien der Lösung für Remineralisationsvorgänge zur Verfügung standen [Good et al. 1966].

Je nach Häufigkeit des Konsums von kariogener Kost kommt es täglich mehrere Male in der Mundhöhle zu einem Absinken des pH-Wertes unter 5,7, gefolgt von einer Neutralisation und einem Ansteigen des pH-Wertes. Um diese physiologischen Veränderungen des pH-Wertes in der Mundhöhle über den Tag nachzuahmen, sind In-vitro-Versuche mit einem pH-cycling-System erfolgreich durchgeführt worden [Robinson et al. 1992, Matsuda et al. 2006], welche für den Einsatz in künftigen Studien einen interessanten Ansatz darstellen könnten.

6.1.6. Mikroradiografie

Die Mikroradiografie hat sich seit 1940 [Thewlis 1940] vielfach bewährt und gilt als Goldstandard bei der quantitativen Analyse von De- und Remineralisationsvorgängen der Zahnhartsubstanzen [Gmur et al. 2006]. Wie auch in vielen anderen Studien wurden die Proben in der vorliegenden Arbeit mit der transversalen Mikroradiografie analysiert [Arends et al. 1997, Kielbassa et al. 2005, Bizhang et al. 2006, Tschoppe et al. 2008]. Unter Erhalt eines vorher angefertigten Dünnschliffes wurden Messungen des Mineralverlustes und der Läsionstiefe durchgeführt. Die bei der Mikroradiografie beschriebenen projektionsbedingten Unschärfen an der Oberfläche der Schmelzproben wurden in der Auswertung der Studie berücksichtigt. Dabei sind die Werte für den Mineralverlust und die Läsionstiefe nach Demineralisation, Bleichen und Remineralisation jeweils um den “Fehlerwert“ für Mineralverlust und Läsionstiefe im gesunden Schmelzbereich korrigiert worden [Tschoppe et al. 2008].
Die Angaben über Mineralverluste und Veränderungen des Mineralgehaltes der gesamten Läsion (Tab. IV, gesamter Bereich) lassen jedoch keine Rückschlüsse auf die genaue Verteilung des Minerals innerhalb einer Schmelzprobe zu. Im Rahmen der mikroradiografischen Auswertung wurden die Mineralverluste sowie die Veränderungen des Mineralgehaltes für die Oberflächenschicht sowie den inneren Bereich der Läsion getrennt analysiert [Kawasaki et al. 2000, Kielbassa et al. 2005, Tschoppe et al. 2008], um auch kleinere strukturelle Veränderungen während der Bleich- und Remineralisationsphase erfassen zu können. Die Oberflächenschicht wurde in dieser Studie als Bereich zwischen der Probenoberfläche sowie dem halben Abstand zwischen dem Punkt mit dem höchsten (Abb. 8, Os) sowie geringsten Mineralgehalt (Lk) auf dem Mittelwertgraf aller demineralisierten Proben definiert. Diese

Berechnungsgrundlage [(Os + Lk)/2] würde nur dann exakt das Ende der Oberflächenschicht beschreiben, wenn ein symmetrischer, sinuswellenartiger Kurvenverlauf des Mineralgehaltgrafen im Bereich der Oberflächenschicht und des Läsionskörpers vorliegen würde. Da jedoch der Kurvenradius des Grafen in der pseudointakten Oberflächenschicht kleiner ist als im Läsionskörper, befindet sich das rechnerische Ende dieser definierten Oberflächenschicht häufig schon im eigentlichen Läsionskörper. Somit ist bei der Auswertung der Oberflächenschicht weniger der Wert für den Mineralverlust und die Veränderungen des Mineralgehaltes als vielmehr ein Vergleich der Ergebnisse zwischen den Gruppen von Bedeutung. Da in der vorliegenden Studie zwischen den Gruppen vor allem in der Oberflächenschicht Unterschiede im Mineralgehalt nachgewiesen wurden (Abb. 10), zahlte sich die Unterteilung in oberflächlichen und inneren Bereich der Läsion im Rahmen der Auswertung in dieser Studie aus.

6.2. Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden In-vitro-Studie wurde der Einfluss von Natriumfluorid in Bleichpräparaten auf die Remineralisation von bovinem Zahnschmelz untersucht. Alle Schmelzproben wurden demineralisiert und anschließend über einen Zeitraum von 14 Tagen jeweils 8 Stunden mit Bleichgel behandelt und 16 Stunden in einer Remineralisationslösung gelagert. Im zweiten Versuchsteil wurden die Proben kontinuierlich über 21 Tage einer Remineralisationslösung ausgesetzt. Als Hauptzieleffekte sollten die Veränderungen des Mineralgehaltes und der Läsionstiefe nach dem Bleichen sowie einer anschließenden Remineralisationsphase jeweils im Vergleich zu den demineralisierten Ausgangswerten untersucht werden.

<u>Einfluss der Fluoride auf die Remineralisation</u>

Ein Vergleich der Mineralgewinne zwischen den mit Opalescence regular und Opalescence PF behandelten Schmelzproben zeigte keine signifikanten Unterschiede. Bei Nite White ACPF zeigte sich im Vergleich zu den mit fluoridfreien Nite White ACP behandelten Proben ein geringerer Mineralgewinn, der jedoch nur schwach signifikant ausfiel und deshalb zurückhaltend betrachtet werden sollte. Die Ergebnisse dieser Studie deuten somit darauf hin, dass sich die Zugabe von Natriumfluorid in den

Bleichgelen unter diesen Versuchsbedingungen nicht nachweislich fördernd auf die Remineralisation von demineralisiertem bovinem Zahnschmelz ausgewirkt hat.

Ähnliche Ergebnisse wurden in einer Studie beschrieben, die den Einfluss von unterschiedlichen Kalzium- (0,1 und 0,2 %) und Fluoridzusätzen (0,2 und 0,5 % NaF) in Bleichgelen auf die Oberflächenhärte von humanen Schmelzproben untersuchte. Dazu wurden Proben demineralisiert, über 14 Tage jeweils 6 Stunden gebleicht und 18 Stunden in künstlichem Speichel aufbewahrt und anschließend noch für weitere 7 Tage in Speichel gelagert. Danach konnten bei den mit Kalzium- oder Fluoridzusätzen unterschiedlicher Konzentration behandelten Schmelzproben nach 7, 14 und 21 Tagen jeweils keine signifikanten Unterschiede der Oberflächenhärte im Vergleich zu Proben nachgewiesen werden, die mit kalzium- und fluoridfreien Bleichmaterialien behandelt wurden [de Oliveira et al. 2005].

Da der Fluoridgehalt in den Bleichpräparaten Nite White ACPF [663 (27) ppm] und Opalescence PF [1220 (111) ppm] in dieser Studie mit einer elektronensensitiven Elektrode nachgewiesen werden konnte, erscheinen Komplexbildungen mit den Basisstoffen der Bleichgele eher unwahrscheinlich. Die remineralisierende Wirkung der Fluoride könnte vielmehr durch die in den Präparaten enthaltenen Bleichmittel beeinflusst worden sein, die in einigen Studien beschrieben werden [Burgmaier et al. 2002, Attin et al. 2006, Chen et al. 2008]. Bei einer Untersuchung wurden bovine Schmelzproben über 4 Tage jeweils 8 Stunden mit 10 % Carbamidperoxid, 2 Minuten in 2000 ppm Natriumfluoridlösung und 15 Stunden in künstlichem Speichel gelagert. Danach wurden die löslich gebundenen (KOH-soluble) sowie strukturell gebundenen Fluoride in den äußeren 30 µm der Schmelzprobe ermittelt. Während die löslich gebundenen Fluoride durch eine Bleichbehandlung nicht nachweisbar beeinflusst wurden, konnten in einer ungebleichten Kontrollgruppe hingegen viermal mehr strukturell gebundene Fluoride im Vergleich zu den gebleichten Proben nachgewiesen werden. Der Wirkmechanismus wird so erklärt, dass die Bleichsubstanzen in den Zahnschmelz diffundieren, zum Teil zu reaktiven Sauerstoffspezies zerfallen und damit die strukturell neu gebundenen Fluoridionen sofort wieder herauslösen [Burgmaier et al. 2002]. Darüber hinaus wird eine Interaktion der reaktiven Sauerstoffspezies mit den im Gel befindlichen Fluoridionen angenommen, die ebenfalls zu einer geringeren Fluoridaufnahme in den Zahnschmelz führen könnte [Attin et al. 2006].

In einer weiteren Studie wurde der Einfluss von Carbamidperoxid auf die Fluoridaufnahme von Zahnschmelz untersucht, die zu vergleichbaren Ergebnissen

führte. Eine mit Bleichmaterial (+1 % Aminfluorid) behandelte Gruppe wies dabei signifikant weniger gebundenes Fluorid als eine mit 1 % Aminfluoridgel behandelte Kontrollgruppe auf [Attin et al. 2006].
Da in der vorliegenden Studie unter den gewählten Versuchsbedingungen *in vitro* kein fördernder remineralisierender Einfluss von Fluoriden nachgewiesen werden konnte, wären die beschriebenen Interaktionen zwischen der Bleichagens und den im Gel befindlichen sowie strukturell im Zahnschmelz gebundenen Fluoriden eine denkbare Erklärung.

Einfluss des pH-Wertes

Dem pH-Wert wird eine wichtige Rolle bei De- und Remineralisationseffekten zugesprochen, wobei auch die Ergebnisse dieser Studie dadurch beeinflusst sein könnten. So zeigten die mit dem sauren Präparat Nite White ACPF [pH 4,6 (0,2)] im Vergleich zu dem schwach sauren Präparat Nite White ACP [pH 6,0 (0,2)] behandelten Schmelzproben nach dem Bleichen im gesamten sowie oberflächlichen Bereich der Läsion geringere Mineralgewinne (Abb. 9 und 10). Der Wert für die im Handel erhältlichen Bleichgele wird zwischen pH 4,8 und 8,5 angegeben [Leonard et al. 1994, Attin et al. 2006, Schemehorn et al. 2007].
In früheren Studien konnte gezeigt werden, dass eine gesteigerte Fluoridanreicherung an der Schmelzoberfläche weniger durch eine erhöhte Fluoridkonzentrationen als durch einen niedrigen pH-Wert eines Fluoridgels zu erzielen ist [Strübig et al. 1986, Delbem et al. 2002]. Somit könnte angenommen werden, dass ebenso bei fluoridhaltigen Bleichgelen durch einen sauren pH-Wert eine erhöhte Fluoridanreicherung im Zahnschmelz zu erreichen ist. Die Herstellung von sauren fluoridhaltigen Bleichpräparaten wie Nite White ACPF (4,6) erscheint unter diesen Gesichtspunkten nachvollziehbar. Da der kritische pH-Wert für Zahnschmelz von 5,2 - 5,8 [Leonard et al. 1994] bei dem Präparat Nite White ACPF leicht unterschritten wird, könnte es jedoch während der achtstündigen Bleichphase unter den Versuchsbedingungen *in vitro* zu Demineralisationserscheinungen der Proben gekommen sein, zumal eine erhöhte Anfälligkeit von gebleichtem Zahnschmelz gegenüber Demineralisation nachgewiesen werden konnte [Attin et al. 2003, de Menezes et al. 2007]. Der im Vergleich zu Nite White ACP [35 (11) %; Abb. 9] bei Nite White ACPF [25 (14) %] tendenziell geringere Mineralgewinn nach dem Bleichen könnte somit vom niedrigeren pH-Wert des Bleichgels beeinflusst worden sein. Die Einwirkung des sauren Bleichgels über 8

Stunden könnte zu einem oberflächlichen Mineralverlust und somit zu einer geringeren Ausprägung der pseudointakten Oberflächenschicht bei Nite White ACPF im Vergleich zu den mit Nite White ACP behandelten Schmelzproben nach dem Bleichen geführt haben (Abb. 13 und 16). Bei der anschließenden Remineralisation stellt die oberflächliche Schicht den geschwindigkeitsbestimmenden und limitierenden Faktor dar, denn durch die geringer mineralisierte Oberflächenschicht mit größeren Poren, Lücken und Hohlräumen besteht ein besserer Zugang zum Läsionskörper [ten Cate et al. 1978, Silverstone et al. 1981, ten Cate 1990, Fejerskov et al. 2008]. Die dadurch begünstigte Remineralisation kann Einfluss auf die vergleichsweise breitere Oberflächenschicht bei den mit Nite White ACPF behandelten Schmelzproben genommen haben (Abb. 16).

Eine Erosion, die polarisationsmikroskopisch durch den Verlust der pseudointakten Oberflächenschicht gekennzeichnet ist [Attin et al. 1997b], konnte bei den mit Nite White ACPF behandelten Schmelzproben hingegen nicht nachgewiesen werden (Abb. 13 und 16). Darüber hinaus zeigten die Ergebnisse der Läsionstiefe bei Nite White ACPF [88 (22) µm; Tab. VIII] und Nite White ACP [86 (22) µm] sowie bei der Kontrolle [85 (24) µm] nach der Bleichbehandlung vergleichbare Werte.

Im Gegensatz zu den gewählten Versuchsbedingungen mit der unveränderten Einwirkung der Bleichgele über 8 Stunden *in vitro* dürften die Demineralisationseffekte des Schmelzes durch saure Bleichgele klinisch weniger relevant sein. Die vermehrte Speichelsekretion mit Erhöhung des Speichel-pH-Wertes beim Home-bleaching [Leonard et al. 1994] wird auch unter einer Bleichschiene tendenziell eher zu einer Verdünnung und Pufferung der sauren Gele und damit zur Veränderung der Bleichgele führen.

<u>Weitere Wirkungen der Fluoride</u>

Unter den gewählten Versuchsbedingungen konnte in dieser Studie kein fördernder Effekt der Fluoride auf die Remineralisation nachgewiesen werden, jedoch wären weitere Effekte der in den Bleichgelen enthaltenen Fluoride zu diskutieren. Bei den hohen Natriumfluoridzugaben von 1220 ppm bei Opalescence PF und 650 ppm bei Nite White ACPF wird die Ausbildung eines kalziumfluoridhaltigen, kristallinen Niederschlages (CaF_2) auf der Schmelzoberfläche angenommen. Eine Freisetzung von Fluoriden und Kalzium aus dieser Schicht findet erst bei einem sauren pH-Wert statt [Ogaard 1990], sodass unter den Studienbedingungen kaum mit einer Freisetzung aus

diesem Depot zu rechnen wäre und die Mineralien aus dieser CaF_2-Deckschicht somit nicht zur Remineralisation zur Verfügung stehen. Eine mechanische Reduktion dieser CaF_2-Schicht wie sie ebenfalls in der Literatur beschrieben wird erscheint eher unwahrscheinlich, da bei der Versuchsdurchführung die Bleichsubstanzen von den Schmelzproben mit destilliertem Wasser aus einer Sprayflasche und nicht mit einer Bürste entfernt wurden [Schiffner 2007]. Somit wäre zu vermuten, dass dieses Fluoriddepot während der Bleichphase mit fluoridhaltigen Gelen auf der Zahnoberfläche aufgebaut und während der anschließenden Remineralisationsphase *in vitro* relativ stabil auf der Zahnoberfläche verbleibt.

Zu einer erhöhten Freisetzung von Fluoriden aus dieser CaF_2-Deckschicht könnte es bei der Anwendung des sauren Bleichgels Nite White ACPF gekommen sein. Diese Fluoride reichern sich zum Teil in der flüssigen Phase um die Schmelzkristalle an und verleihen dem damit fluoridumhüllten Hydroxylapatit fluorapatitähnliche Eigenschaften, die dann zu einer verminderten Demineralisation der Schmelzproben während der Bleichphase mit dem sauren Präparat Nite White ACPF beigetragen haben könnten. Damit wird der Einfluss der Fluoride in den Bleichgelen unter diesen Versuchsbedingungen mehr in dem Schutz vor Demineralisation als einer Förderung der Remineralisation bestehen.

Nach der Remineralisationsphase waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Mineralgewinne zwischen Nite White ACP und Nite White ACPF, Opalescence regular und Opalescence PF sowie aller Proben zur Kontrolle nachzuweisen. Somit konnte während der Remineralisationsphase ebenfalls kein remineralisationsfördernder Einfluss der Fluoride aus der CaF_2-Deckschicht nachgewiesen werden.

<u>Einflusse durch unterschiedliche Inhaltsstoffe</u>

Bei den mit Nite White ACP behandelten Proben kam es nach dem Bleichen innerhalb der oberflächlichen 18 µm im Vergleich mit allen anderen behandelten Proben sowie ebenfalls zur Kontrolle zu einem signifikant höheren Mineralgewinn. Da in Nite White ACP keine Fluoride enthalten waren, deuten diese Ergebnisse auf Einflüsse von anderen Zusatzstoffen und Eigenschaften der Bleichgele hin.

Somit könnte durch den Zusatz des ACP-Komplexes bei dem Bleichgel Nite White ACP (pH 6,4) die Remineralisation in der Oberflächenschicht positiv beeinflusst worden sein. Dabei wird in der Literatur beschrieben, dass mit amorphem Kalzium Phosphat (ACP) in Verbindung mit Kalziumkarbonat Kristalle in Form von Hydroxylapatit gebildet werden

[Mathew et al. 2001]. Diese Kristalle können mikroskopisch kleine Defekte auf der Schmelzoberfläche auffüllen und zu einer Reparatur initialkariöser Läsionen führen und somit die Oberfläche härter und glatter machen [Milnar 2007]. Des Weiteren werden nach Anwendung von ACP geringere Zahnempfindlichkeiten beschrieben [Giniger et al. 2005]. Da das Bleichpräparat Nite White ACPF einen pH-Wert von 4,6 aufweist, könnte eine stärkere Demineralisation während der Bleichphasen innerhalb der Oberflächenschicht für den signifikant geringeren Mineralgewinn nach dem Bleichen [37 (14) %; Abb. 10] im Vergleich zu Nite White ACP [74 (10) %] verantwortlich sein.

Nebenwirkungen der Bleichgele

Innerhalb der gesamten Läsion sind in der vorliegenden Studie keine signifikanten Unterschiede im Mineralgewinn der gebleichten Proben im Vergleich zur Kontrollgruppe nachzuweisen. Nicht auszuschließen sind Veränderungen durch die Bleichgele im Vergleich zur Kontrollgruppe, die anschließend während der Remineralisationsphasen wieder ausgeglichen wurden und somit am Ende der zweiwöchigen Bleichphase nicht mehr nachweisbar waren.

Die Einflüsse der Bleichgele auf den Zahnschmelz werden in der Literatur kontrovers diskutiert. In einer Studie wurde die Oberflächenbeschaffenheit von humanen Schmelzproben untersucht, die 30-mal abwechselnd 7 Stunden gebleicht und 1 Stunde in einer Remineralisationslösung gelagert wurden. Anschließend wurden Abbilder der Schmelzoberfläche aus Kunststoff hergestellt, mit Gold besputtert und mit einem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop ausgewertet. Dabei konnten keine Unterschiede in der Oberflächenbeschaffenheit von gebleichten und ungebleichten Arealen ermittelt werden [Haywood et al. 1990]. In der vorliegenden Studie konnten ebenfalls keine auffälligen Veränderungen gebleichter und nicht gebleichter Areale an ausgewählten Proben mit dem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop (CLSM) gezeigt werden, wobei hier die Querschnitte der Schmelzproben analysiert wurden.

In einer weiteren Studie wurde 10 % Carbamidperoxidgel alle 8 Stunden über 14 Tage auf humane Schmelzproben aufgebracht. Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Mikrohärte im Vergleich zur Kontrolle. Eine zusätzliche Untersuchung der Mineralien im Zahnschmelz mit einer Elektronenstrahl-Mikroanalyse (EPMA) ergab jedoch, dass nach der Bleichbehandlung geringere Kalzium-, Phosphat- und Fluoridwerte im Zahnschmelz vorhanden waren. Darüber hinaus konnten nach der Behandlung mit einer Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) im Bleichgel höhere

Kalzium- und Phosphatwerte nachgewiesen werden. Somit deuten diese Ergebnisse auf mikrostrukturelle Veränderungen der Zahnhartsubstanzen durch den Bleichvorgang hin, obwohl sich die Mikrohärtewerte der gebleichten Proben nicht signifikant von der Kontrolle unterschieden [Potocnik et al. 2000].

In der vorliegenden Studie konnten bei der Auswertung der Mineralgewinne innerhalb der Oberflächenschicht jedoch ebenfalls Unterschiede der gebleichten Proben zur Kontrolle gezeigt werden, wobei sich diese weniger einheitlich darstellten. Während die mit Opalescence regular [11 (18) %; Abb. 10] und Opalescence PF [26 (26) %] behandelten Proben geringere Mineralgewinne im Vergleich zur Kontrollgruppe [54 (21) %] aufwiesen, zeigten sich bei Nite White ACPF [37 (21) %] vergleichbare und bei Nite White ACP [74 (10) %] höhere Mineralgewinne im Vergleich zur Kontrolle. Diese unterschiedlichen Mineralgewinne in der Oberflächenschicht könnten durch die verschiedenen Inhaltsstoffe und chemischen Eigenschaften der Bleichmaterialien beeinflusst worden sein.

Die Mikrohärtewerte nach Anwendung von 10 % Carbamidperoxidgel mit und ohne Zusatz von Carbopol wurden in einer weiteren Studie untersucht, wobei mit carbopolhaltigem Gel ein Mikrohärteverlust in den äußeren 25 µm des Zahnschmelzes festgestellt wurde. Dabei sollen Glycerin und Carbopol eine undurchdringbare Barriere auf der Zahnoberfläche bilden, die eine Remineralisation durch den Speichel verhindert. Des Weiteren werden sie als direktes Demineralisationsagens betrachtet [McCracken et al. 1996, Basting et al. 2003]. Die Einflüsse des pH-Wertes und der Inhaltsstoffe der Bleichgele auf die Zahnhartsubstanz konnten ebenfalls in vielen anderen Studien gezeigt werden [Shannon et al. 1993, Akal et al. 2001, Rodrigues et al. 2001]. Durch die unterschiedlichen Inhaltsstoffe und Eigenschaften auch zwischen den Bleichgelen eines Herstellers ist ein direkter Nachweis von Einflüssen einzelner Zusatzstoffe auf Veränderungen der Zahnhartsubstanzen in dieser Studie erschwert.

Somit kann zusammenfassend festgehalten werden, dass mit Opalescence regular und Opalescence PF behandelten Proben der Mineralgewinn der Schmelzproben in der Oberflächenschicht von 18 µm im Vergleich zur Kontrolle vermindert war. Bei den Produkten Nite White ACP und Nite White ACPF wäre ein fördernder remineralisierender Effekt in der Oberflächenschicht durch den Zusatz von ACP zu vermuten, der in weiteren Studien näher untersucht werden sollte.

6.3. Schlussfolgerungen

In der vorliegenden In-vitro-Studie konnte kein fördernder Einfluss von Natriumfluorid in den Bleichpräparaten Opalescence PF und Nite White ACPF auf die Remineralisation von demineralisiertem bovinem Zahnschmelz nachgewiesen werden. Somit muss die Arbeitshypothese verworfen und die Nullhypothese angenommen werden, wonach keine signifikanten Unterschiede im Mineralgewinn zwischen den mit fluoridhaltigen und -freien Bleichmaterialien behandelten Schmelzproben nachzuweisen waren. Darüber hinaus konnten die häufig diskutierten Mineralverluste nach Anwendung von carbamidperoxidhaltigen Bleichmitteln nicht generell für alle Bleichgele bestätigt werden.

Es wird angenommen, dass Peroxide, der pH-Wert sowie verschiedene Zusatzstoffe wie ACP in den untersuchten Bleichgelen Einfluss auf die De- und Remineralisationserscheinungen und damit den Mineralgehalt der Schmelzproben genommen haben. Aufgrund der unterschiedlichen Inhaltsstoffe und Eigenschaften auch zwischen den Bleichgelen eines Herstellers sind die Ergebnisse dieser Studie nicht generell auf alle 10 % carbamidperoxidhaltigen Bleichmaterialien übertragbar. In weiteren In-vitro-Studien könnten Bleichgele mit identischen pH-Werten und Inhaltsstoffen untersucht werden. Darüber hinaus könnten In-vitro-Versuche durch ein pH-cycling-Modell der klinischen Situation in der Mundhöhle angenährt werden.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser In-vitro-Studie war es, den Einfluss von fluoridhaltigen und -freien Bleichgelen auf die Remineralisation initial demineralisierter, boviner Schmelzproben zu untersuchen.

Aus 63 Rinderfrontzähnen wurden 125 Schmelzproben präpariert, in Kunstharz eingebettet und oberflächlich poliert. Vor und nach der Demineralisation (pH 4,95; 10 d; 37 °C) wurden jeweils ein Viertel der Probenoberfläche mit Nagellack abgedeckt (Kontrolle Gesund/Demineralisation). Anschließend wurden die Proben 14 Tage lang täglich 16 h in einer Remineralisationslösung (pH 7,0) gelagert und 8 h mit dem jeweiligen Bleichgel behandelt: (1) ohne Bleichgel (Kontrolle), (2) Opalescence regular (O; Ultradent), (3) Opalescence PF (O-PF), (4) Nite White ACP (NW-ACP; Discus Dental), (5) Nite White ACPF (NW-ACPF). Danach wurden jeweils die Hälfte der gebleichten Bereiche mit Nagellack abgedeckt und alle Proben für weitere 3 Wochen in einer Remineralisationslösung (pH 7,0) gelagert. Die anschließend angefertigten Dünnschliffe wurden verblindet und mikroradiografisch auf Veränderungen des Mineralverlustes und der Läsionstiefe hin untersucht. Darüber hinaus wurde der Mineralverlust in den oberflächlichen 18 µm jeder Läsion ermittelt.

Im Vergleich mit NW-ACP zeigten die mit NW-ACPF behandelten Schmelzproben nach 2 Wochen im gesamten ($p = 0,04$; Bonferroni post-hoc Test) sowie oberflächlichen Anteil der Läsion ($p < 0,001$) signifikant höhere Mineralverluste, wobei diese nach 5 Wochen nicht mehr nachweisbar waren. Zwischen O und O-PF behandelten Proben wurden für den gesamten sowie oberflächlichen Bereich der Läsion weder nach 2 Wochen noch nach 5 Wochen signifikante Unterschiede im Mineralverlust nachgewiesen. Bei O und O-PF behandelten Proben wurden nach 2 Wochen innerhalb der Oberflächenschicht signifikant höhere Mineralverluste im Vergleich zu NW-ACP sowie zur Kontrolle nachgewiesen ($p < 0,001$). Darüber hinaus waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Läsionstiefe zwischen den Gruppen nach 2 ($p = 0,642$; ANOVA) und 5 Wochen ($p = 0,732$) nachweisbar.

Somit konnte unter den gewählten Versuchsbedingungen in dieser Studie kein fördernder Einfluss von Natriumfluorid in Opalescence PF und Nite White ACPF auf die Remineralisation von demineralisiertem bovinem Zahnschmelz *in vitro* nachgewiesen werden.

8. SUMMARY

Objectives: This study evaluated possible differences regarding the remineralization of predemineralized enamel after exposure to fluoridated or non-fluoridated bleaching gels.

Methods: 125 enamel specimens were prepared from sixty three bovine incisors; before and after demineralization (37 °C; pH 4.95; 10 d), one-quarter of each specimen's surface was covered with nail varnish (control sound/demineralized). Subsequently, the specimens were stored for 16 h daily in a remineralizing solution (pH 7.0; 14 d), while for the remaining time (8 h) various bleaching gels were applied: (1) no treatment (control), (2) Opalescence regular (O; Ultradent), (3) Opalescence PF (O-PF), (4) Nite White ACP (NW-ACP; Discus Dental) and (5) Nite White ACPF (NW-ACPF). Following, half of the bleached parts were nail-varnished and stored for another 3-weeks period in a remineralizing solution. Differences in mineral losses and lesion depths before and after treatment/remineralization period were evaluated from microradiographs. Additionally, the mineral loss was calculated in the surface layer up to a depth of 18 µm of the lesion.

Results: In comparison with NW-ACP the enamel specimens handled with NW-ACPF displayed after the bleaching in the complete area ($p = 0,04$; Bonferroni post-hoc Test) as well as in the surface layer ($p < 0,001$) a significant higher mineral loss. After subsequent remineralization, no significant differences were provable. After treatment with O and O-PF for 2 and 5 weeks in the complete area as well as in the surface layer no significant differences could be observed. Two weeks treatment with O and O-PF resulted in significant higher mineral loss in the surface layer compared to NW-ACP and control ($p < 0,001$). Further no significant differences of lesion depth were provable for all groups after 2 ($p = 0,642$; ANOVA) and 5 weeks ($p = 0,732$).

Conclusions: Under the chosen test conditions no beneficial influence of sodium fluoride in Opalescence PF and Nite White ACPF could be proved on the remineralization of demineralized bovine enamel in vitro.

9. LITERATURVERZEICHNIS

Akal N, Over H, Olmez A, Bodur H. Effects of carbamide peroxide containing bleaching agents on the morphology and subsurface hardness of enamel. J Clin Pediatr Dent 2001;25:293-296.

Arends J, Christoffersen J. Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. J Dent Res 1990;69 Spec No:601-605.

Arends J, Ruben JL, Inaba D. Major topics in quantitative microradiography of enamel and dentin: R parameter, mineral distribution visualization, and hyper-remineralization. Adv Dent Res 1997;11:403-414.

Arends J, Ten Cate JM. Tooth enamel remineralization. J Crystal Growth 1981;53:135-147.

Attin T, Albrecht K, Becker K, Hannig C, Wiegand A. Influence of carbamide peroxide on enamel fluoride uptake. J Dent 2006;34:668-675.

Attin T, Betke H, Schippan F, Wiegand A. Potential of fluoridated carbamide peroxide gels to support post-bleaching enamel re-hardening. J Dent 2007;35:755-759.

Attin T, Kielbassa AM, Schwanenberg M, Hellwig E. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. J Oral Rehabil 1997a;24:282-286.

Attin T, Kocabiyik M, Buchalla W, Hannig C, Becker K. Susceptibility of enamel surfaces to demineralization after application of fluoridated carbamide peroxide gels. Caries Res 2003;37:93-99.

Attin T, Koidl U, Buchalla W, Schaller HG, Kielbassa AM, Hellwig E. Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. Arch Oral Biol 1997b;42:243-250.

Basting RT, Rodrigues AL, Jr., Serra MC. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. J Am Dent Assoc 2003;134:1335-1342.

Bizhang M, Seemann R, Duve G, Romhild G, Altenburger JM, Jahn KR, Zimmer S. Demineralization effects of 2 bleaching procedures on enamel surfaces with and without post-treatment fluoride application. Oper Dent 2006;31:705-709.

Bowles WH, Ugwuneri Z. Pulp chamber penetration by hydrogen peroxide following vital bleaching procedures. J Endod 1987;13:375-377.

Burgmaier GM, Schulze IM, Attin T. Fluoride uptake and development of artificial erosions in bleached and fluoridated enamel in vitro. J Oral Rehabil 2002;29:799-804.

Burke EJ, Moreno EC. Diffusion fluxes of tritiated water across human enamel membranes. Arch Oral Biol 1975;20:327-332.

Buskes JA, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. Caries Res 1985;19:490-496.

Carlsson J. Salivary peroxidase: An important part of our defense against oxygen toxicity. J Oral Pathol 1987;16:412-416.

Chen HP, Chang CH, Liu JK, Chuang SF, Yang JY. Effect of fluoride containing bleaching agents on enamel surface properties. J Dent 2008;36:718-725.

da Costa JB, Mazur RF. Effects of new formulas of bleaching gel and fluoride application on enamel microhardness: an in vitro study. Oper Dent 2007;32:589-594.

Daculsi G, Menanteau J, Kerebel LM, Mitre D. Length and shape of enamel crystals. Calcif Tissue Int 1984;36:550-555.

Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching-a critical review of the biological aspects. Crit Rev Oral Biol Med 2003;14:292-304.

Dahlstrom SW, Heithersay GS, Bridges TE. Hydroxyl radical activity in thermo-catalytically bleached root-filled teeth. Endod Dent Traumatol 1997;13:119-125.

de Menezes M, Turssi CP, Faraoni-Romano JJ, Serra MC. Susceptibility of bleached enamel and root dentin to artificially formed caries-like lesions. Am J Dent 2007;20:173-176.

de Oliveira R, Paes Leme AF, Giannini M. Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness. Braz Dent J 2005;16:103-106.

Delbem AC, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. Am J Dent 2002;15:169-172.

Dibdin GH. The stability of water in human dental enamel studied by proton nuclear magnetic resonance. Arch Oral Biol 1972;17:433-437.

Duschner H. Zahnaufhellung mit Peroxiden. Zahnärztl Mitt 2002;13:42-49.

Eanes ED, Gillessen IH, Posner AS. Intermediate states in the precipitation of hydroxyapatite. Nature 1965;208:365-367.

Edgar WM, Dawes C, O´Mullane D. Saliva and Oral Health. British Dental Association, London 2004.

Edmunds DH, Whittaker DK, Green RM. Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. Caries Res 1988;22:327-336.

Ekstrand J, Oliveby A. Fluoride in the oral environment. Acta Odontol Scand 1999;57:330-333.

Ernst CP, Marroquin BB, Willershausen-Zonnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. Quintessence Int 1996;27:53-56.

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

Featherstone JD. The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process. J Dent Res 2004;83 Spec No C:39-42.

Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. Caries Res 1981;15:109-114.

Fejerskov O, Kidd E. Dental Caries: The Disease and its Clinical Management. Blackwell-Munksgaard, Oxford 2008.

Fischer C, Lussi A, Hotz P. Kariostatische Wirkungsmechanismen der Fluoride. Schweiz Monatsschrift Zahnmed 1995;105:311-317.

Frysh H, Bowles WH, Baker F, Rivera-Hidalgo F, Guillen G. Effect of pH on hydrogen peroxide bleaching agents. J Esthet Dent 1995;7:130-133.

Giniger M, Macdonald J, Ziemba S, Felix H. The clinical performance of professionally dispensed bleaching gel with added amorphous calcium phosphate. J Am Dent Assoc 2005;136:383-392.

Glockner K, Ebelseder K, Städtler P. Das Bleichen von verfärbten Frontzähnen. Schweiz Monatsschrift Zahnmed 1997;107:413-425.

Gmur R, Giertsen E, van der Veen MH, de Josselin de Jong E, ten Cate JM, Guggenheim B. In vitro quantitative light-induced fluorescence to measure changes in enamel mineralization. Clin Oral Investig 2006;10:187-195.

Goldstein RE. In-office bleaching: where we came from, where we are today. J Am Dent Assoc 1997;128(Supplement):11-15.

Goldstein RE, Garber DA. Complete Dental Bleaching. Quintessence Publishing, Berlin 1995.

Good NE, Winget GD, Winter W, Connolly TN, Izawa S, Singh RM. Hydrogen ion buffers for biological research. Biochemistry 1966;5:467-477.

Gülzow HJ. Bewährter Schutz vor Karies. Zahnärztl Mitt 2001;12:54-55.

Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. Oper Dent 1992;5(Supplement):10-17.

Haywood VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. Quintessence Int 1992;23:471-488.

Haywood VB. Current status of nightguard vital bleaching. Compend Contin Educ Dent Suppl 2000;28(Supplement):10-17.

Haywood VB, Caughman WF, Frazier KB, Myers ML. Tray delivery of potassium nitrate-fluoride to reduce bleaching sensitivity. Quintessence Int 2001;32:105-109.

Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. Quintessence Int 1989;20:173-176.

Haywood VB, Leech T, Heymann HO, Crumpler D, Bruggers K. Nightguard vital bleaching: effects on enamel surface texture and diffusion. Quintessence Int 1990;21:801-804.

Haywood VB, Leonard RH, Nelson CF, Brunson WD. Effectiveness, side effects and long-term status of nightguard vital bleaching. J Am Dent Assoc 1994;125:1219-1226.

Hegedus C, Bistey T, Flora-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. J Dent 1999;27:509-515.

Hellwig E, Klimek J. Fluoridverlust aus demineralisiertem Schmelz nach Applikation verschieden konzentrierter NaF- und NaF-MFP-Lösungen im künstlichen Mund. Dtsch Zahnärztl Z. 1984;39:892-898.

Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. Elsevier, München 2007.

Hoffmann-Axthelm W. Die Geschichte der Zahnheilkunde. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin 1985.

Hoppenbrouwers PM, Scholberg HP, Borggreven JM. Measurement of the permeability of dental enamel and its variation with depth using an electrochemical method. J Dent Res 1986;65:154-157.

Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. J Dent 2006;34:412-419.

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.

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;39:380-386.

Kielbassa AM, Hellwig E, Meyer-Lueckel H. Effects of irradiation on in situ remineralization of human and bovine enamel demineralized in vitro. Caries Res 2006;40:130-135.

Kihn PW. Vital tooth whitening. Dent Clin North Am 2007;51:319-331.

Kirkegaard E. In vitro fluoride uptake in human dental enamel from various fluoride solutions. Caries Res 1977;11:16-23.

Klein-Szanto AJ, Slaga TJ. Effects of peroxides on rodent skin: epidermal hyperplasia and tumor promotion. J Invest Dermatol 1982;79:30-34.

Klimm W. Kariologie - ein Leitfaden für Studierende und Zahnärzte. Hanser, München/Wien 1997.

Klinger HG, Wiedemann W. Grenzen der Remineralisierbarkeit initialer Karies. Dtsch Zahnärztl Z. 1985;40:16-22.

König KG. Karies und Parodontopathien. Ätiologie und Prophylaxe. Thieme, Stuttgart 1987.

Koulourides T, Phantumvanit P, Munksgaard EC, Housch T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. J Oral Pathology 1974;3:185-196.

Lee CQ, Cobb CM, Zargartalebi F, Hu N. Effect of bleaching on microhardness, morphology, and color of enamel. Gen Dent 1995;43:158-160,162.

Leonard RH, Jr., Bentley CD, Haywood VB. Salivary pH changes during 10% carbamide peroxide bleaching. Quintessence Int 1994;25:547-550.

Leonard RH, Jr., Haywood VB, Phillips C. Risk factors for developing tooth sensitivity and gingival irritation associated with nightguard vital bleaching. Quintessence Int 1997;28:527-534.

Leonard RH, Sharma A, Haywood VB. Use of different concentrations of carbamide peroxide for bleaching teeth: an in vitro study. Quintessence Int 1998;29:503-507.

Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. J Prosthet Dent 2004;92:337-342.

Li Y. Toxicological considerations of tooth bleaching using peroxide-containing agents. J Am Dent Assoc 1997;128(Supplement):31-36.

Lutz F, Krejci I, Schüpbach P. Adhäsivsysteme für zahnfarbene. Restaurationen. Schweiz Monatsschrift Zahnmed 1993;103 (5):537-549.

Mathew M, Takagi S. Structures of biological minerals in dental research. Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology 2001;106(6):1035-1044.

Matis BA, Gaiao U, Blackman D, Schultz FA, Eckert GJ. In vivo degradation of bleaching gel used in whitening teeth. J Am Dent Assoc 1999;130:227-235.

Matsuda Y, Komatsu H, Murata Y, Tanaka T, Sano H. A newly designed automatic pH-cycling system to simulate daily pH fluctuations. Dent Mater J 2006;25:280-285.

McCracken MS, Haywood VB. Demineralization effects of 10 percent carbamide peroxide. J Dent 1996;24:395-398.

Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. J Dent Res 1992;71 Spec No:913-919.

Mergenthaler E. Hydrokolloide - Stabilisatoren, Dickungs- und Geliermittel in Lebensmitteln. B. Behr’s Verlag, Hamburg 1984.

Meyer JL, Eanes ED. A thermodynamic analysis of the secondary transition in the spontaneous precipitation of calcium phosphate. Calcif Tissue Res 1978;25:209-216.

Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Kielbassa AM. Linseed based saliva substitutes and their effect on mineral dissolution of predemineralized bovine dentin in vitro. J Dent 2006;34:751-756.

Milnar FJ. Considering biomodification and remineralization techniques as adjuncts to vital tooth-bleaching regimens. Compend Contin Educ Dent 2007;28:234-236, 238-240.

Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. J Dent Res 1983;62:1076-1081.

Nanci A. Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure and Function. Mosby, Burlington 2007.

Nathoo SA. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. J Am Dent Assoc 1997;128(Supplement):6-10.

Nikiforuk G. Understanding dental caries. Etiology and Mechanism. Karger, Basel 1985.

Nikiforuk G, McLeod IM, Burgess RC, Grainger RM, Brown HK. Fluoride-Carbonate Relationship in Dental Enamel. J Dent Res 1962;41:1477.

Ogaard B. Effects of fluoride on caries development and progression in vivo. J Dent Res 1990;69 Spec No:813-819.

Ogaard B, Rolla G, Ruben J, Dijkman T, Arends J. Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. Scand J Dent Res 1988;96:209-211.

Peters S. Ansprüche des Patienten an sein häusliches Zähnebleichen. Zahnärztl Mitt 2005;17:34-38.

Potocnik I, Kosec L, Gaspersic D. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. J Endod 2000;26:203-206.

Reinhardt JW, Eivins SE, Swift EJ, Jr., Denehy GE. A clinical study of nightguard vital bleaching. Quintessence Int 1993;24:379-384.

Robinson C, Kirkham J, Baverstock AC, Shore RC. A flexible and rapid pH cycling procedure for investigations into the remineralisation and demineralisation behaviour of human enamel. Caries Res 1992;26:14-17.

Rodrigues JA, Basting RT, Serra MC, Rodrigues Junior AL. Effects of 10% carbamide peroxide bleaching materials on enamel microhardness. Am J Dent 2001;14:67-71.

Rolla G, Ogaard B. Reduction in caries incidence in Norway from 1970 to 1984 and some considerations concerning the reasons for this phenomenon. In: Frank R.M., O'Hicke S. (Hrsg): Strategy for dental caries prevention in European countries according to their laws and regulations. 1986;IRL Press Ltd. Oxford:223-229.

Rolla G, Saxegaard E. Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. J Dent Res 1990;69 Spec No:780-785.

Rosentritt M, Lang R, Plein T, Behr M, Handel G. Das Bleichen von Zähnen. Quintessenz 2003;54:255-260.

Saxegaard E, Rolla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. Scand J Dent Res 1988;96:523-535.

Saxegaard E, Rolla G. Kinetics of acquisition and loss of calcium fluoride by enamel in vivo. Caries Res 1989;23:406-411.

Schemehorn BR, Novak ED. Use of a calcium peroxide whitening agent for remineralization and recalcification of incipient lesions. J Clin Dent 2007;18:126-130.

Scherer W, Palat M, Hittelman E, Putter H, Cooper H. At-home bleaching system: effect on gingival tissue. J Esthet Dent 1992;4:86-89.

Schiffner U. Fluorid in der Kariesprophylaxe: Grundlagen und Konzept. Zahnärztl Welt Ref 2007;116:165-174.

Schröder HE. Orale Strukturbiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1992.

Schumacher GH, Schmidt H, Böring H, Richter W. Anatomie und Biochemie der Zähne. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart/New York 1990.

Schuster FJ. In vitro Untersuchung zum Einfluss von Fluorid und Milch auf die erosive Demineralisation des menschlichen Zahnschmelzes mit zwei unterschiedlichen Analysemethoden. Zahnmed. Diss, Giessen 2002.

Shannon H, Spencer P, Gross K, Tira D. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. Quintessence Int 1993;24:39-44.

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

Silverstone LM. Remineralization phenomena. Caries Res 1977;11(Supplement 1):59-84.

Silverstone LM. The significance of remineralization in caries prevention. J Can Dent Assoc 1984;50:157-167.

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;15:138-157.

Skrtic D, Hailer AW, Takagi S, Antonucci JM, Eanes ED. Quantitative assessment of the efficacy of amorphous calcium phosphate/methacrylate composites in remineralizing caries-like lesions artificially produced in bovine enamel. J Dent Res 1996;75:1679-1686.

Strübig W, Gülzow HJ. Untersuchungen zur lokalen Wirksamkeit von Gelees mit unterschiedlichem Fluoridgehalt und unterschiedlichem pH. Dtsch Zahnärztl Z. 1986;4:832-835.

Tam L. Effect of potassium nitrate and fluoride on carbamide peroxide bleaching. Quintessence Int 2001;32:766-770.

ten Cate JM. In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. J Dent Res 1990;69:614-619.

ten Cate JM. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. Eur J Oral Sci 1997;105:461-465.

ten Cate JM. Fluorides in caries prevention and control: empiricism or science. Caries Res 2004;38:254-257.

ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. II. Determination of activation energy and reaction order. Caries Res 1978;12:213-222.

ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. Caries Res 1982;16:201-210.

Thewlis J. The structure of teeth as shown by x-ray examination. Med Res Coun Sp Rep 1940;238:5-82.

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

Tschoppe P, Meyer-Lueckel H, Toll R, Kielbassa AM. [In vitro analysis of an new saliva substitute (Saliva natura) on enamel and dentin]. Laryngorhinootologie 2007;86:723-727.

Tung MS, Eichmiller FC. Amorphous calcium phosphates for tooth mineralization. Compend Contin Educ Dent 2004;25:9-13.

Ulrich P. Ionenselektive Analytik in der Chemie. Schriftenreihe der Colora Messtechnik GmbH 1988;1-16.

Weiger R, Kuhn A, Lost C. Radicular penetration of hydrogen peroxide during intra-coronal bleaching with various forms of sodium perborate. Int Endod J 1994;27:313-317.

White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Gotz H. Effects of tooth-whitening gels on enamel and dentin ultrastructure-a confocal laser scanning microscopy pilot study. Compend Contin Educ Dent Suppl 2000;29(Supplement):29-34.

White DJ, Nancollas GH. Physical and chemical considerations of the role of firmly and loosely bound fluoride in caries prevention. J Dent Res 1990;69 Spec No:587-594.

Whittaker DK. Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. Arch Oral Biol 1982;27:383-392.

Zantner C, Beheim-Schwarzbach N, Neumann K, Kielbassa AM. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. Dent Mater 2007;23:243-250.

10. ANHANG

10.1. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACP	Amorphes Kalziumphosphat
AOFT	Acousto-Optical Tunable Filter
BI	Brechungsindex
CDTA	Cyclohexandiaminotetraessigsäure
CLSM	Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop
CP	Carbamidperoxid
EDTA	Ethylendiamintetraacetessigsäure
EPMA	(Electron Probe Microanalysis), Elektronenstrahl-Mikroanalyse
Gew.%	Gewichtsprozent
KHN	Knoophärte
Ks	Stabilitätskonstante
M	Molare Masse
MW (SD)	Mittelwert (Standardabweichung)
MHDP	Methylendiphosphonsäure
NaF	Natriumfluorid
ppm	parts per million
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
Tab.	Tabelle
TIFF	Tagged Image File Format
TISAB	(Total Ionic Strength Adjustment Buffer), Probenkonditionierlösung zur Fluoridbestimmung

10.2. Material und Methode

10.2.1. Materialliste

Mat.1 A Optimum Results, Orion 900061; Thermo, Beverly, Massachusetts, USA

Mat.2 Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland

Mat.3 CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan

Mat.4 Digimatic Bügelmessschraube; Mitutoyo, Kawasaki, Japan

Mat.5 Durchlichtmikroskop 60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland

Mat.6 Drucker Epson LX-300$^+$; Thermo, Beverly, Massachusetts USA

Mat.7 Eppendorf Reference, 1000µl; Eppendorf, Hamburg, Deutschland

Mat.8 Essigsäure (CH_3COOH); Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat.9 Excel 2003; Microsoft Deutschland, Unterschleissheim, Deutschland

Mat.10 Falcon, 1ml; Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, New Jersey, USA

Mat.11 Film (high speed holographic film) SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland

Mat.12 Fluoridelektrode 96-09 BNWP; Thermo, Beverly, Massachusetts, USA

Mat.13 Fluoridstandard, 0,1 M; Orion 940906; Thermo, Beverly, Massachusetts, USA

Mat.14 GMH 3510 (pH Meter); Greisinger Electronic, Regenstauf, Deutschland

Mat.15 Hepes (Hydroxyethylpiperazinethansulfonsäure) Puffer, 1M; Biochrom AG, Berlin, Deutschland

Mat.16 HI 7004 pH 4,01 Pufferlösung; Hama Instruments, Szeged, Ungarn

Mat.17 HI 7007 pH 7,01 Pufferlösung; Hama Instruments, Szeged, Ungarn

Mat.18 Image J Version1.37; National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA

Mat.19 Immersionsöl (Immersol); Zeiss, Jena, Deutschland

Mat.20 Ivomat IP3; Ivoclar Vivadent, Schaan, Lichtenstein

Mat.21 Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4); Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat.22 Kaliumhydroxid (KOH), 10 M; Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat.23 Kalziumchlorid-2-hydrat ($CaCl_2 \times 2H_2O$); Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat.24 Kunststoffbehälter, 400 ml; Komax, Gasan-dong, Guncheon-gu, South Korea

Mat.25 Leica Confocal Software Version 2,61; Leica, Mannheim, Deutschland

Mat.26 Leukofix; BSN medical, Hamburg, Deutschland

Mat.27 Methylendiphosphonsäure > 98 % (MHDP); Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat.28 Natriumchlorid 0,9 %; Delta Select, Pfullingen, Deutschland

Mat.29 Nite White ACP 10 %; Discus Dental, Culver City, Kalifornien, USA

Mat.30 Nite White ACPF 10 % Mint DDE; Discus Dental, Culver City, Kalifornien, USA

Mat.31 Objektträger; Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland

Mat.32 Opalescence 10 % neutral; Ultradent, South Jordan, Utah, USA

Mat.33 Opalescence PF 10 % neutral; Ultradent, South Jordan, Utah, USA

Mat.34 pH-Elektrode Flachmembran, 60227100; Metrohm, Herisau, Schweiz

Mat.35 pH-Indikatorstäbchen Acilit pH 0 – 6; Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat.36 pH-Indikatorstäbchen Neutralit; Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat.37 pH-Indikatorstäbchen Universalindikator pH 0 – 14; Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat.38 Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland

Mat.39 Polyethylen Becher, 100 ml; Ratio-med, Lilienthal, Deutschland

Mat.40 Präzisionswaage Sartorius, IC 821; Sartorius, Göttingen, Deutschland

Mat.41 Röntgenröhre, PW 1730; Phillips, Kassel, Deutschland

Mat.42 Resist & Shine Nagellack; Loreal, Paris, Frankreich

Mat.43 Rhodamin B Isothyocyanat, gemischte Isomere; Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland

Mat.44 Salzsäure (HCL), 0,1 M; Merck, Darmstadt, Deutschland

Mat.45 Schleifpapier: Körnung 1200, 2400, 4000; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland

Mat.46 Sekundenkleber; Uhu, Bühl, Deutschland

Mat.47 SenTix 81; WTW, Weilheim, Deutschland

Mat.48 Skalpell; Feather, Osaka, Japan

Mat.49 SPSS (Statistical Package for Social Sciences), Version 11.5.1; SPSS, München, Deutschland

Mat.50 TCS NT; Leica, Mannheim, Deutschland

Mat.51 Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland

Mat.52 Tetric Flow A2; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein

Mat.53 Thermo Orion 960 Titrator plus Ionometer; Thermo, Beverly, Massachusetts, USA

Mat.54 Thermo Orion ion Analyzer EA 940; Thermo, Beverly, Massachusetts, USA

Mat.55 TISAB II (Total Ionic Strength Adjustment Buffer), Orion 940909; Thermo, Beverly, Massachusetts, USA

Mat.56 Titrando 809, Software Tiamo 1.1; Metrohm, Herisau, Schweiz

Mat.57 TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland

Mat.58 Transversal Micro Radiography (TMR) für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande

Mat.59 Venticell; MMM Group, Planegg, Deutschland

10.2.2. Bleichgele

Tabelle X: Inhaltsstoffe und pH-Wert der getesteten Bleichpräparate (Herstellerangaben)

Bleichgel	Inhaltsstoffe		NaF	pH
	identisch	unterschiedlich		
Opalescence regular (O) 10 % neutral LOT-Nr. B2LCC	Carbamidperoxid 10 % Wasser > 20 % Kaliumnitrat 0,5 % Befeuchtungsmittel Verdickungsmittel Puffersubstanzen		-	~ 6,5
Opalescence PF (O-PF) 10 % neutral LOT-Nr. B2LVJ	Carbamidperoxid 10 % Wasser > 20 % Kaliumnitrat 0,5 % Befeuchtungsmittel Verdickungsmittel Puffersubstanzen	Natriumfluorid	0,25 % (F^- 0,11 %, 1100 ppm)	~ 6,5
Nite White ACP (NW-ACP) Mini Kit, 10 %, Mint LOT-Nr. 06247096	Propylenglykol Glycerin demineralisiertes Wasser Carbamidperoxid 10 % Wasserstoffperoxid Hydroxypropylcellulose Kaliumnitrat Kalziumnitrat Kaliumhydroxid Mintgeschmack	Siliziumdioxid Emulgierendes Wachs Glimmer und Titandioxid Dimethyl-Polysiloxan-Gemisch Dinatrium-Phosphat Dinatrium-EDTA Tetrakaliumdiphosphat-Pyrophosphat	-	~ 6,5
Nite White ACPF (NW-ACPF) Deluxe 10 % Mint DDE LOT-Nr. 06338118 06325009	Propylenglykol Glycerin demineralisiertes Wasser Carbamidperoxid 10 % Wasserstoffperoxid Hydroxypropylcellulose Kaliumnitrat Kalziumnitrat Kaliumhydroxid Geschmacksstoffe	Natriumfluorid Kieselerde Natriumphosphat Dihexadecylphosphat + Cetostearylalkohol + Ceteth-10 Phosphat Kalziumkarbonat	0,145 % (F^- 0,065 %, 650 ppm)	~ 6,5

10.2.3. Ergebnisse

Anhang 5.1.2. Veränderung des Mineralgehaltes

Tabelle XI: Veränderung des Mineralgehaltes (in %) für die gesamte Läsion sowie den äußeren (oberfl%) und inneren Bereich (inner%) der Schmelzprobe nach Bleichen (min% de1) und Remineralisation (min% de2) im Vergleich zur jeweiligen Probe nach Demineralisation. Alle Prozentzahlen sind größer 0 und bedeuten Mineralgewinn.

		Kontrolle	Opalescence regular	Opalescence PF	Nite White ACP	Nite White ACPF
gesamt %	min% de1	**31,59** (12,87)	**19,55** (12,87)	**30,57** (15,16)	**35,46** (11,20)	**24,98** (13,91)
	Sig.	**AB**	**B**	**AB**	**A**	**B**
	min% de2	**52,41** (13,88)	**40,06** (13,15)	**50,00** (16,48)	**53,13** (11,18)	**45,74** (14,41)
	Sig.	**A**	**A**	**A**	**A**	**A**
oberfl. %	min% de1	**54,43** (21,09)	**10,73** (17,75)	**26,43** (26,34)	**74,01** (10,35)	**37,15** (20,68)
	Sig.	**B**	**D**	**CD**	**A**	**BC**
	min% de2	**46,06** (29,04)	**19,56** (23,89)	**41,90** (25,72)	**61,98** (12,26)	**50,00** (20,90)
	Sig.	**AB**	**C**	**BC**	**A**	**AB**
inner %	min% de1	**27,79** (14,40)	**21,02** (14,87)	**31,44** (14,66)	**28,28** (13,08)	**22,81** (15,49)
	Sig.	**A**	**A**	**A**	**A**	**A**
	min% de2	**53,40** (13,57)	**43,80** (13,05)	**51,54** (18,04)	**51,56** (12,54)	**44,95** (14,51)
	Sig.	**A**	**A**	**A**	**A**	**A**

Anhang 5.1.4. Veränderung der Läsionstiefe

Tabelle XII: Veränderung der Läsionstiefe (in %) nach Bleichen (lt% de1) und Remineralisation (lt% de2) im Vergleich zur Demineralisation. Alle Prozentzahlen sind größer 0 und bedeuten Reduktion der Läsionstiefe.

		Kontrolle	Opalescence regular	Opalescence PF	Nite White ACP	Nite White ACPF
lt%	lt% de1	**12,31** (13,80)	**14,55** (16,80)	**14,62** (16,18)	**11,17** (15,97)	**9,38** (10,28)
	Sig.	**A**	**A**	**A**	**A**	**A**
	lt% de2	**28,38** (17,43)	**19,33** (20,04)	**23,99** (29,02)	**22,42** (15,08)	**18,91** (20,57)
	Sig.	**A**	**A**	**A**	**A**	**A**

11. DANKSAGUNG

Für die Überlassung des Themas sowie für das mir entgegengebrachte Vertrauen möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. Andrej M. Kielbassa bedanken. Er hat mir während meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter in seiner Abteilung die nötigen Freiheiten zum Voranbringen der Arbeit gelassen.

Mein herzlichster Dank gilt Herrn OA Dr. Peter Tschoppe für die wissenschaftliche Betreuung und freundliche Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Arbeit.

Herzlich bedanken möchte ich mich weiterhin bei Herrn Dr. Sebastian Paris für die hilfreiche wissenschaftliche Unterstützung.

Ferner gilt ein Dank

- Herrn Dr. Jan Müller, Herrn OA Dr. Hendrik Meyer-Lückel, Frau Dr. Alexandra Rieben aus der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie, CharitéCentrum 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Charité - Universitätsmedizin Berlin für Hilfestellungen im Rahmen dieser Arbeit,
- Herrn Denis Gebauer, Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Abteilung Kolloidchemie, Potsdam für die Unterstützung bei der pH-Wert-Bestimmung und Titration,
- Herrn Dr. Jens Dernedde, Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie, CharitéCentrum 5 für Diagnostische und präventive Labormedizin, Charité - Universitätsmedizin Berlin für die Hilfe bei der pH-Wert-Messung,
- Herrn Dr. Peter Ulrich, Thermo Fisher Scientific, Dreieich für die Hilfestellung bei der Fluoridmessung,
- Herrn Dr. Konrad Neumann, Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie, CharitéCentrum 4, Charité - Universitätsmedizin Berlin für die statistische Beratung,
- Herrn Michael Stiebritz und Herrn Rainer Toll aus der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie, CharitéCentrum 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Charité - Universitätsmedizin Berlin für die freundliche Hilfe bei der Durchführung der Versuche,
- den Firmen Discus Dental und Ultradent für die Hilfe und die Bereitstellung der Materialien.

12. LEBENSLAUF

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

Erklärung

„Ich, Stephan Bogner, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: “Einfluss von Fluoriden in Bleichgelen auf die Remineralisation von bovinem Zahnschmelz *in vitro*“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

20.11.2009 Stephan Bogner