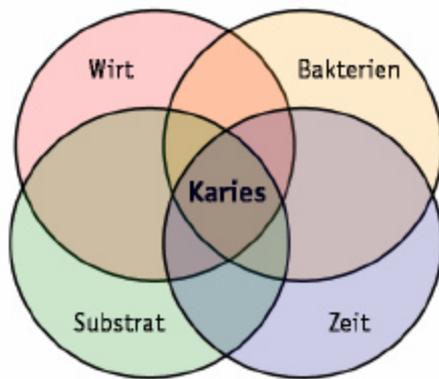


## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Kariesätiologie

Die grundsätzlichen Erkenntnisse, die für das heutige Verständnis der Kariesursachen bedeutsam sind, gehen auf *Miller* zurück. Er veröffentlichte 1892 eine Arbeit mit dem Titel „Die Mikroorganismen der Mundhöhle“. In dieser Arbeit stellt er seine chemisch-parasitäre Theorie über die Entstehung der Karies dar: „ ... kommen wir nunmehr zu der Frage: Wodurch wird die Zahncaries erzeugt? Die Zahncaries ist ein chemisch parasitärer Vorgang, bestehend aus zwei deutlich ausgeprägten Stadien, der Entkalkung resp. Erweichung des Gewebes und der Auflösung des erweichten Rückstandes. ... Nachdem wir die Gärungsvorgänge im Munde besprochen haben, ist die Quelle der zur Erweichung des Gewebes nöthigen Säuren nicht schwer zu bestimmen. Es sind vorzugsweise die in den Cariesheerden steckengebliebenen stärke- und zuckerhaltigen Speisereste, welche durch Gärung Säure bilden“ (381). Der glykolytische Abbau niedermolekularer Kohlenhydrate führt zur Bildung organischer Säuren (hauptsächlich Milchsäure), die wiederum die für die Karies typischen Zahnhartsubstanzdefekte verursachen.

Experimentell wurde die Theorie von *Miller* insbesondere durch Studien an Ratten bestätigt. Entscheidend waren dabei die von *Orland* et al. (431, 432) durchgeführten Experimente an gnotobiotischen Ratten, die zeigten, dass bei keimfrei aufgezogenen Tieren trotz extrem kohlenhydratreicher Diät keine Karies zu erzeugen war. Erst nach der Kontamination mit kariogenen Mikroorganismen war dies möglich. Auf der Basis weiterer Tierversuche entwickelte *Keyes* ein Modell der Kariesätiologie, welches mit kleinen Ergänzungen bis zum heutigen Tage Gültigkeit besitzt. Danach müssen drei Faktoren vorhanden sein, damit Karies entsteht. Diese sind der Wirtsorganismus mit Zähnen, Mikroorganismen und Substrat für die Mikroorganismen (260, 261). Von *König* wurde dieses Modell noch um den Faktor „Zeit“ erweitert; denn es müssen die zur Zerstörung der Zahnhartsubstanz notwendigen Säureangriffe entsprechend häufig oder lange auf die Zähne einwirken, damit es zur Ausbildung einer kariösen Läsion kommen kann (286). Nur wenn alle vier Faktoren zusammentreffen, entsteht Karies (Abbildung 2-1).

**Abbildung 2-1**

Die ätiologischen Faktoren der Karies (286).

### 2.1.1 Substrat und Zeit

Der Zusammenhang zwischen der Präsenz niedermolekularer Kohlenhydrate in der Nahrung und dem Auftreten von Karies konnte in zahlreichen tierexperimentellen (136, 432, 560) und klassischen experimentellen Studien am Menschen (152, 185, 200, 353, 405, 486, 559, 576, 617) sowie in epidemiologischen Untersuchungen (402, 468, 510, 511) nachgewiesen werden. Die verschiedenen Nahrungszucker zeigten in Rattenexperimenten Unterschiede in der Kariogenität. Maltose, Fruktose und besonders Laktose scheinen weniger kariogen zu sein als Saccharose (285), so dass von *Newbrun* einmal die Saccharose als Hauptschuldige (arch criminal) bezeichnet wurde (401, 660). Entscheidender als die Art des Zuckers ist jedoch seine Konzentration und Konsistenz für das kariogene Potenzial. Je klebriger und feinkörniger, desto kariogener ist die Darreichungsform (287). Den Mikroorganismen in der Plaque steht über einen längeren Zeitraum Substrat zur Verfügung, was die Dauer des Säureangriffs auf die Zähne entsprechend verlängert (238, 560). Die Aufnahmefrequenz spielt für die Entwicklung kariöser Läsionen eine weitaus bedeutendere Rolle als deren absolute Menge. Grundlegend konnte dieser Zusammenhang in der Vipeholm-Studie nachgewiesen werden (185). Diese aus heutiger Sicht ethisch bedenkliche Studie wurde in den 40er Jahren in Schweden in einem Heim für geistig Behinderte durchgeführt. Eine Kontrollgruppe erhielt eine „Normalkost“ mit durchschnittlichem Zuckergehalt. Die Mitglieder mehrerer Versuchsgruppen erhielten zusätzlich zuckerhaltige Zwischenmahlzeiten, wobei unterschieden wurde zwischen Gruppen, die den größten Anteil zusätzlichen Zuckers mit den täglichen drei Hauptmahlzeiten zu sich nahmen, und Gruppen, die den Zucker

zwischen den Mahlzeiten erhielten. Während die Mitglieder der Kontrollgruppe durchschnittlich nur 0,3 kariöse Läsionen pro Jahr entwickelten, lag der Karieszuwachs in den Versuchsgruppen zwischen 2,47 und 4,02 neuen kariösen Läsionen pro Jahr. Die Mitglieder der Gruppe, die den überwiegenden Teil des Zuckers zwischen den Mahlzeiten erhielt, wiesen dabei das höchste Kariesinkrement auf (185).

### 2.1.2 Mikroorganismen und Plaquebildung

Damit sich auf der Zahnoberfläche eine für die Kariesentstehung nötige kritische Säurekonzentration entwickeln kann, müssen die karieserzeugenden Bakterien in Form eines strukturierten Belags, der so genannten Plaque vorliegen (22, 431, 432). Ohne Plaque entsteht keine Karies. Der Begriff „Plaque“ geht auf *Miller* (gelatinous microbic plaques) zurück (381). Bereits 1683 wurden von *van Leeuwenhoek* in den auf den Zähnen befindlichen Belägen Kleinstlebewesen vermutet (379).

Plaque besteht aus lebenden und toten Mikroorganismen und einer organischen Matrix, die im Wesentlichen ein Stoffwechselprodukt der Plaquebakterien ist (286, 400). Moderne Ansätze betrachten die dentale Plaque als einen **Biofilm**. Als Biofilm wird eine Gemeinschaft hoch organisierter, miteinander in Wechselwirkung und gegenseitiger Abhängigkeit stehender Mikroorganismen bezeichnet (350). Diese Lebensgemeinschaft ist so weit entwickelt, dass sie über Signalmolekülsysteme [z. B. das Acyl-HSL(Homoserine-Lactone)-System] verfügt, um die eigene Populationsdichte zu messen. Dieses wird als „quorum sensing“ bezeichnet (84, 435). Auch der Leitkeim der Karies, *Streptococcus mutans*, besitzt ein Quorum-sensing-Signalsystem (316, 317). Innerhalb des Biofilms zeigen Mikroorganismen einen anderen Phänotyp und deutlich andere Stoffwechseleigenschaften als in einer klassischen Laborkultur (351). Diese Unterschiede lassen sich dadurch erklären, dass bei planktonisch kultivierten Mikroorganismen bestimmte Gene ausgeschaltet sind, die erst nach der Adhäsion und der Etablierung innerhalb des Biofilms aktiviert werden (75, 76).

Die Plaquebildung erfordert eine geordnete Abfolge von Kolonialisierungsvorgängen (microbial succession) bestimmter Keime. Vermittelt über einen so genannten hydration layer, der aus 90 % Kalziumionen und 10 % Phosphationen besteht (13), werden die Zähne direkt nach dem Durchbruch bzw. nach einer gründlichen mechanischen Reinigung von einem organischen Film überzogen (Abbildung 2-2). Diese Schicht wird als **Pellikel** bezeichnet (366) und besteht aus Komponenten des

Speichels, der Sulkusflüssigkeit und des bakteriellen Stoffwechsels (33, 34, 62). Nach initialer Pellikelbildung kommt es durch Bindungskräfte, wie hydrophobe Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen, zur Adhäsion weiterer Komponenten (195-197, 549, 550). Es finden sich Proteine (Albumin, Lysozym), Lipide (540) und Glykoproteine wie Laktoferrin, IgA und Amylase (314). Enzyme wie Laktoperoxidasen, Lysozym oder Glykosyltransferasen besitzen auch nach der Adsorption an der Zahnoberfläche weiterhin enzymatische Aktivität (194, 433, 448). Der Großteil des Pellikels besteht aus Speichelglykoproteinen (360, 549, 550). Sie enthalten zum Teil O-glykosidisch verknüpfte Glykane (Grundgerüst Ser/Thr-GalNAc) und stammen aus dem Mukusanteil des Speichels. Die den Mukus bildenden Muzine sind Glykoproteine mit einem Kohlenhydratanteil zwischen 30 % und 90 % (314). Kohlenhydratbestandteile dieser Oligosaccharide sind neben Galaktose, Fukose, Mannose, Galaktosamin und Glukosamin auch eine Reihe von Sialinsäuren wie N-Acetylneuraminsäure (360, 361, 549, 550).

Durch die im Pellikel enthaltenen Muzine und Lipide, die als selektive Ionenbarriere fungieren, kann die Demineralisation von Zahnhartsubstanzen herabgesetzt werden (407, 540). Weiterhin stellt das Pellikel eine Art Gleitfilm dar, der bei Artikulationsbewegungen die Zähne vor gegenseitigem Abrieb schützt (409). Neben diesen Schutzfunktionen bilden die Pellikelbestandteile jedoch als potenzielle Liganden bakterieller Adhäsine eine wichtige Voraussetzung für die dauerhafte Anlagerung von Mikroorganismen (12, 68, 69, 153, 155, 161, 162, 314, 321-324, 428, 555, 556).

Die initiale Adhäsion früher Kolonialisierer an die Zahnoberfläche wird wahrscheinlich zunächst über nichtspezifische physikochemische Interaktionen geladener Moleküle vermittelt (62). Anschließend sorgen spezifische molekulare Interaktionen zwischen bakteriellen Adhäsinen und den komplementären Rezeptoren im Pellikel für eine feste Bindung der Mikroorganismen (Abbildung 2-3) (245, 638). Die initialen Kolonialisierer vermehren sich und schaffen durch ihren Stoffwechsel die Lebensbedingungen für die Etablierung weiterer Keime (z. B. obligater Anaerobier). Die späten Kolonialisierer binden über Adhäsion-Rezeptor-Wechselwirkungen an die bereits auf der Zahnoberfläche befindlichen Keime oder an die Plaquematrix (280-282, 299, 300). Auf diese Weise entwickelt sich ein komplexer, strukturierter Biofilm (Abbildung 2-4) (348, 350).

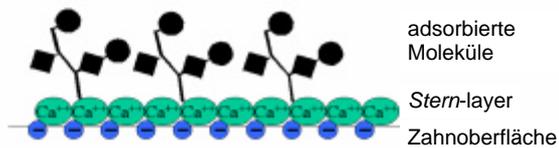


Abbildung 2-2

**Pellikelbildung**

Die Zahnoberfläche im wässrigen Milieu ist überwiegend negativ geladen. Bei Speichelkontakt kommt es zur Bildung eines Hydrationslayers (*Stern-layer*), der zu ca. 90 % aus Kalziumionen und zu ca. 10 % aus Phosphationen besteht. Diese Schicht sorgt für die initiale Anlagerung organischer Komponenten aus dem Speichel und aus der Sulkusflüssigkeit [nach (500)].

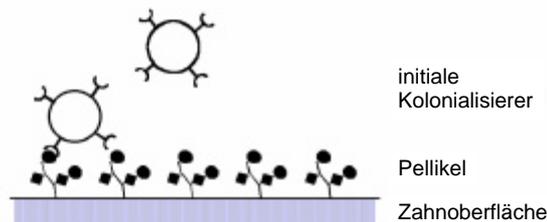


Abbildung 2-3

**Bakterielle Adhäsion**

Vereinfachte Darstellung der Adhäsion von Bakterien an die Zahnoberfläche. Die Adhäsion erfolgt über Adhäsine, die sich auf der Bakterienoberfläche befinden und an eine passende Struktur innerhalb des Pellikels binden. Die unterschiedliche Ausstattung mit Adhäsinen erklärt u. a., warum bestimmte Keime wie *S. sanguis* oder *S. salivarius* als primäre Besiedler anzutreffen sind [nach (500)].

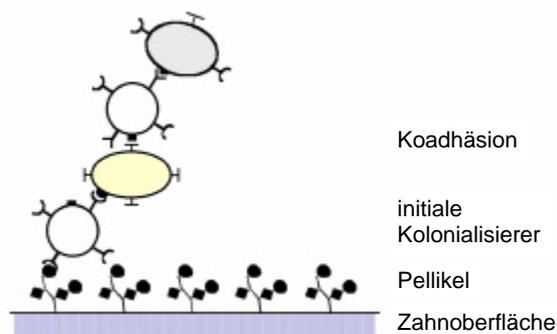


Abbildung 2-4

**Plaquereifung**

Das Wachstum und die Reifung der Plaque erfolgen einerseits durch die Vermehrung der bereits anhaftenden Keime, andererseits durch die Bindung weiterer Mikroorganismen durch Koadhäsion. Die Keimzusammensetzung hängt von den Umweltfaktoren, wie z. B. dem Nahrungsangebot, ab [nach (500)].

Bei den ersten zur Anhaftung kommenden Bakterien handelt es sich in der Regel um grampositive Kokken. Es sind aber auch zu einem geringen Prozentsatz grampositive Stäbchen, meist in Form von *Actinomyces spp.*, zu finden. Zusammen bilden sie etwa 90 % der ersten Kolonialisierer. Streptokokken stellen den weitaus größten Anteil (*S. mitis*, *S. sanguis*, *S. salivarius* und später auch *S. mutans*) (597, 598). Nach etwa ein bis drei Tagen kommt es zu einem deutlichen Anstieg gramnegativer Kokken. Diese

sind im Wesentlichen Veillonellen (*V. parvula*, *V. alcalescens*). Man findet auch vermehrt grampositive und gramnegative Stäbchen. Grampositive Kokken bilden nur noch etwas über 50 % der gesamten Flora (162, 597, 598). Die Bakterien beginnen damit, eine Matrix in Form extrazellulärer Polysaccharide (EPS) aufzubauen, die mit zunehmender Reifung einen erheblichen Anteil der Gesamtmasse einnimmt (414, 415). Diese EPS bestehen aus Glukanen und Fruktanen. Sie werden durch bakterielle Fruktosyl- und Glukosyltransferasen aus Saccharose synthetisiert und bilden im Fall der Fruktane ein Reservesubstrat, im Fall der Glukane bei entsprechender glykosidischer Verknüpfung (? 1-3) eine unlösliche Matrix (286, 429).

In zahlreichen Studien wurde die bakterielle Zusammensetzung auf kariös erkrankten Zahnoberflächen untersucht, um die kariesverursachenden Bakterienspezies zu identifizieren. Diese Studien zeigten, dass Karies mit einem Konzentrationsanstieg säureproduzierender und säuretoleranter Keime vergesellschaftet ist. Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang Mutans-Streptokokken (*S. mutans* und *S. sobrinus*) sowie Laktobazillen (42, 331, 348). Diese Mikroorganismen sind in der Lage, Nahrungszucker zu Säure zu metabolisieren und lokal niedrige pH-Werte zu induzieren. Gleichzeitig besitzen sie eine hohe Säuretoleranz, d. h., sie zeigen auch bei niedrigem pH-Wert ein optimales Vermehrungs- und Wachstumsverhalten. Stark vereinfacht betrachtet, hängt die Kariogenität der Plaque davon ab, wie viel und wie häufig Säure in ihr produziert wird. Um die Rolle der Mikroorganismen bei der Kariesentstehung zu verstehen, existieren im Wesentlichen drei so genannte Plaquehypothesen – die unspezifische, die spezifische und die ökologische Plaquehypothese.

Die **spezifische Plaquehypothese** wurde von *Loesche* eingeführt und geht davon aus, dass Karies im Sinne einer Infektion von spezifischen Mikroorganismen der Plaque verursacht wird (329). Diese sind *S. mutans* (331, 612), *S. sobrinus* (331) und Laktobazillen (332). So konnten identische Stämme von *S. mutans* in der Plaque von Müttern und der ihrer Kinder sowie in der von Lebenspartnern gefunden werden (64, 325). Je nach Konzentration dieser Mikroorganismen innerhalb der Plaque liegt eine mehr oder weniger starke Pathogenität vor. Entscheidend ist nach dieser Theorie eher die Qualität als die Quantität der Plaque. Die aus dieser Hypothese abzuleitenden Präventionsstrategien fokussieren darauf, eine „Infektion“ durch Karieserreger zu

unterbinden bzw. die Keime nachträglich selektiv (z. B. über Impfungen und antimikrobielle Therapien) zu eliminieren. Gegen die spezifische Plaquehypothese spricht, dass Karies auch ohne nachweisbaren *S. mutans* entstehen und auch bei Vorhandensein dieser Keime eine niedrige Kariesaktivität vorherrschen kann (47, 347, 408, 478). Die Anwendung hoch sensitiver immunologischer und molekularer Nachweisverfahren zeigte jedoch, dass in Plaqueproben geringe Konzentrationen verschiedener pathogener Mikroorganismen vorhanden waren, obwohl diese mikrobiologisch nicht nachweisbar waren.

Im Gegensatz zur spezifischen Plaquehypothese geht die **unspezifische Plaquehypothese** davon aus, dass eine heterogene Plaqueflora für die Kariesentstehung verantwortlich ist und lediglich eine kritische Masse erreichen muss, um pathogen zu wirken (596). Unterhalb der kritischen Masse liegende Plaquemengen können durch die Wirtsabwehrfaktoren kompensiert werden. Diese Theorie berücksichtigt das Konzept, dass Plaque eine Lebensgemeinschaft darstellt und ihre Pathogenität ein Ergebnis der Interaktionen zwischen den Mitgliedern der Gemeinschaft ist. Entscheidend ist nach dieser Hypothese eher die Quantität und nicht die Qualität der Plaque. Daraus abgeleitete Präventionsstrategien beziehen sich daher hauptsächlich auf die Entfernung bzw. mengenmäßige Reduzierung der Plaque.

Die **ökologische Plaquehypothese** basiert auf der Ansicht, dass eine kariogene Mikroflora durch einen ökologischen Shift der Plaquemikroflora entsteht (347, 349, 351). Die Theorie geht davon aus, dass sich potenziell kariogene Mikroorganismen natürlicherweise in sehr geringen Konzentrationen in der Plaque befinden. Bei neutralem pH-Wert und einer konventionellen, wenig kariogenen Diät spielen sie klinisch jedoch keine Rolle, und es überwiegen andere Mikroorganismen. De- und Remineralisation befinden sich in einem Gleichgewicht. Wird die Verfügbarkeit fermentierbarer Kohlenhydrate gesteigert, herrscht innerhalb der Plaque längere Zeit ein niedriger pH-Wert. Dieser ökologische Druck stimuliert die Vermehrung säureproduzierender und säuretoleranter Keime wie Mutans-Streptokokken und Laktobazillen, was eine weitere Ansäuerung der Plaque nach sich zieht. Das Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisation ist nun eindeutig in Richtung der Demineralisation verschoben. Selbst wenn initial keine Mutans-Streptokokken oder Laktobazillen in der Plaque zu finden wären, könnten sie sich durch die Schaffung

entsprechender Lebensbedingungen (niedriger pH-Wert) etablieren. Eine kontinuierliche Verfügbarkeit fermentierbarer Kohlenhydrate, die zu einem dauerhaft erniedrigten pH-Wert führt, ist somit die treibende Kraft der Zerstörung einer bakteriellen Homeostasis der Plaque. Präventionsstrategien, die sich aus der ökologischen Plaquehypothese ableiten lassen, fokussieren daher auf eine Kontrolle des Zuckerkonsums und auf die Stimulation des Speichelflusses zur Aktivierung natürlicher Pufferfunktionen (349).

#### 2.1.2.1 Mutans-Streptokokken

1924 gelang es *Clarke*, Keime aus kariösen Kavitäten im Mundraum zu isolieren (70). Da bis zu diesem Zeitpunkt nur runde Streptokokken bekannt waren, hielt er sie aufgrund ihrer ovalen Form für Mutanten und nannte sie demzufolge *S. mutans*. Jahre später wurde dieser Keim erneut beschrieben und mit Hilfe von Tierexperimenten seine besondere Kariogenität bewiesen (44, 137, 262, 293). Eine Unterteilung des ursprünglichen *S. mutans* bezüglich seiner immunologischen, biologischen und serologischen Eigenschaften ergab sich dann durch weitere Studien: Benennung von fünf Serotypen a, b, c, d und e (51, 52); Erweiterung um zwei Serotypen f und g (438); Identifizierung von vier Genotypen I, II, III und IV (78) und deren Namensgebung *S. mutans* (= Serotyp c), *S. rattus* (= b), *S. criceteus* (= a) und *S. sobrinus* (= d) (79); Entdeckung einer weiteren Streptokokkenart *S. macacae* (331); Neubenennung des Serotypen h in *S. downei* (634); Klassifizierung anhand von Biotypen in fünf Gruppen I, II, III, IV und V (515). Alle diese kariogenen Mutans-Spezies wurden unter dem Begriff Mutans-Streptokokken zusammengefasst (80). Beim Menschen wird von ca. 500 aus dem Mund kultivierbaren Bakterienspezies *S. mutans* am häufigsten (70 bis 100 %; *S. sobrinus* < 30 %) angetroffen, wobei er nachweislich mit Karies korreliert (28, 57, 63, 116, 204, 294, 295, 330, 331, 477).

#### 2.1.2.2 Molekulare Bindungsmechanismen kariesrelevanter Bakterien

Nach der bereits beschriebenen initialen Anlagerung von Bakterien an die Zahnoberfläche, die über unspezifische Kräfte, wie z. B. *Van-der-Waals*-Kräfte und elektrostatische Wechselwirkungen, vermittelt wird, kommt es zu einer spezifischen Adhäsion (61, 109, 155, 159, 551). Die feste Adhäsion von Bakterien an der Zahnoberfläche bildet die Grundvoraussetzung für die Entstehung von Plaque und damit auch für die Entstehung von Karies. Diese Adhäsion kann entweder an

Rezeptoren der Pellikeloberfläche, an andere Bakterien oder an Strukturen innerhalb der Plaque erfolgen (62, 155, 245, 280-282, 299, 300, 638).

Adhäsion vermittelnde bakterielle Oberflächenproteine werden als Adhäsine bezeichnet, die an sie bindenden Komponenten als Rezeptoren (153, 156). Adhäsine finden sich häufig an der Bakterienoberfläche als Bestandteil der Fimbrien bzw. Pili (68, 118). Diese Lokalisation macht es möglich, den durchschnittlichen Abstand von ca. 10 nm zwischen Zahn und Bakterium in der Phase der reversiblen Anlagerung zu überbrücken (154).

Von einigen Plaquebakterien konnten diese Adhäsine lokalisiert und in ihrer Struktur bestimmt werden (1, 255). Ein Beispiel bildet das auf *S. mutans* befindliche fibrilläre Protein AgI/II. Es besitzt ein Molekulargewicht von ca. 185 kDa, und das codierende Gen wurde komplett sequenziert (410). Es wurde auch als Protein B (469, 474), P1 (143), Pac (426), MSL-1 (94) oder SR (2) bezeichnet. Es gibt eine Reihe von Hinweisen, dass AgI/II bei der Adhäsion von *S. mutans* eine entscheidende Rolle spielt. So binden AgI/II-defekte Mutanten von *S. mutans* kaum an experimentell erzeugte Pellikel auf Hydroxylapatit (279). Weiterhin lässt sich durch freies AgI/II kompetitiv die Adhäsion von *S. mutans* verhindern (279, 390). Über die Art der Bindung zwischen AgI/II und den Rezeptoren liegen verschiedene Hinweise vor. So kann die Adhäsion durch verschiedene Speichelkomponenten vermittelt werden. Dazu gehören die prolinreichen Proteine (PRP) (32, 160), saliva-agglutinin (SAG) (302) und Proteine aus der Muzinfraktion submandibulären-sublingualen Speichels (273). Neben der Bindung über Wechselwirkungen zwischen Proteinen (118, 155) kann es über Lektinbindungen an Glykanstrukturen adsorbierter Speichelbestandteile zur Adhäsion von Mikroorganismen kommen (161, 284, 382, 383, 418, 638). Wahrscheinlich sind gleichzeitig mehrere Bindungsarten beteiligt, d. h., das Adhäsine hat mehrere Bindungsdomänen.

### 2.1.2.3 Lektinbindungen

Lektine sind nach der heute gültigen Definition kohlenhydratbindende Proteine oder Glykoproteine, die nicht zu den Immunglobulinen zählen und gegenüber den gebundenen Kohlenhydraten keine enzymatische Aktivität aufweisen (277, 334). Sie kommen bei Viren, Bakteriophagen, anderen Mikroorganismen, aber auch bei Pflanzen,

Avertebraten und Vertebraten vor und können in gelöster Form oder als Membranbestandteile vorliegen.

Oligosaccharide, die auch als Glykane bezeichnet werden können, dienen als Lektinrezeptoren. Sie kommen in hoher Variabilität vor. Das hohe Maß an Variabilität resultiert aus der Anzahl verschiedener sie bildender Kohlenhydratmoleküle (Galaktose, N-Acetyl-Galaktosamin, Mannose, Fukose, N-Acetyl-Glukosamin, Sialinsäure) und der Variabilität der glykosidischen Bindung. Die wohl bekanntesten Glykanstrukturen dieser Art stellen die Blutgruppenantigene des ABO- und des *Lewis*-Systems dar, die auch im Speichel zu finden sind (447). Lektine können mit hoher Affinität an Oligosaccharidketten bzw. Oligosaccharidkomponenten in Glykoproteinen, Polysacchariden oder Glykolipiden binden (420, 608). Hierbei kommt es nicht nur auf die einzelnen Zuckerkomponenten an, sondern auch auf die Art der Verknüpfung (z. B.  $\beta$  1-3). So bindet beispielsweise VVA (*Vicia-villosa*-Agglutinin), ein in der Zottigen Wicke (*Vicia villosa*) vorkommendes Lektin, spezifisch an N-Acetyl-Galaktosamin, das an Serin oder Threonin gekoppelt ist (644). Auch bei Säugetieren kommen Lektine als Zellbestandteile vor. Sie sind je nach Lokalisation an verschiedenen physiologischen Prozessen beteiligt. Dazu gehören z. B. die Qualitätskontrolle der Proteinsynthese, die Organisation der zellulären Plasmamembran und der transmembranäre Stofftransport, die zelluläre Signalerkennung und Signaltransduktion, Apoptose und Zellyse sowie Erkennungsprozesse von „self“ und „non-self“ (19, 20, 291). Für eine Reihe von Plaquebakterien konnte die Existenz von Adhäsinen mit Lektincharakter nachgewiesen werden (420, 638).

*Gibbons* und *Qureshi* (161) untersuchten den Einfluss verschiedener Zuckerstrukturen von Glykoproteinen im Speichel auf das Adhärenzverhalten von *S. mutans* (Serotypen a, b, c, e, g) an S-HA (saliva coated hydroxyapatite). Die Adhärenz aller untersuchten Serotypen wurde durch 0,1 M Galaktose und Melibiose (6  $\beta$ -D-Galaktosyl-D-Glukose), nicht jedoch durch Laktose gehemmt. Aus diesen Beobachtungen zogen die Autoren den Schluss, dass *S. mutans* mit Hilfe eines Lektins mit Spezifität für  $\beta$ -Galaktoseeinheiten an Speichelglykoproteinen des Pellikels bindet (161). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen von *Levine* et al. (312). Sie fanden, dass eine Vorbehandlung von Muzinen mit  $\beta$ -Galaktosidase die Fähigkeit dieser Muzine zur Agglutination von *S. mutans* hemmt. *Ligtenberg* et al. (319) fanden,

dass durch Speichel von Probanden der Blutgruppe B eine Agglutination von *S. mutans* herbeigeführt werden konnte, nicht jedoch durch Blutgruppe-A-Speichel. Das für Blutgruppe B charakteristische Blutgruppenantigen ist ein im Mukus vorhandenes Oligosaccharid mit terminaler Galaktose. Die Agglutinationsfähigkeit konnte durch Zugabe sehr hoher Konzentrationen des Monosaccharids Galaktose (25 mM) aufgehoben werden. Auch durch Zugabe von Sialinsäure konnte die Aggregation von *S. mutans* verhindert werden (319). *Fan* (123) beobachtete, dass die Bindung von *S. mutans* an S-HA durch enzymatische Abspaltung von Sialinsäure aus dem künstlichen Pellicel signifikant vermindert werden konnte. Er schloss daraus auf die Existenz eines für Sialinsäure spezifischen Adhäsins auf der Zelloberfläche von *S. mutans*. *Levine et al.* (312) konnten in ihren Agglutinationsversuchen mit *S. mutans* und *S. sanguis* weiterhin zeigen, dass es – nachdem mit Hilfe einer Neuraminidase Sialinsäure aus den Muzinen entfernt worden war – zum Verlust der Aggregationswirkung bei *S. sanguis* kam, nicht jedoch bei *S. mutans*. *S. sanguis*, einer der initialen Kolonialisierer von Zahnoberflächen, besitzt ein Oberflächenprotein, das an Neuraminsäurereste der Kohlenhydratseitenketten von Speichelmuzinen binden kann (77, 94, 95, 158, 362, 392, 393, 397).

Auch die weitreichenden Koaggregationsversuche von *Kolenbrander et al.* zeigten, dass Lektinbindungen für die Adhäsion oraler Mikroorganismen untereinander eine wichtige Rolle spielen (281-283, 638). Koaggregation ist das sichtbare Ergebnis von Bindungen zwischen verschiedenen Zelltypen, die durch Adhäsine und Rezeptoren vermittelt werden (280).

Untersuchungen von *Lamont et al.* gaben Hinweise darauf, dass Mutans-Streptokokken über verschiedene Adhäsionsmechanismen an Plaquebakterien binden können, die zu den Erstbesiedlern der Zahnoberfläche zählen. Dieses sind z. B. *A. viscosus* und *S. sanguis* (299, 300). Die von ihm beobachtete Adhäsion von Mutans-Streptokokken an diese Erstbesiedler wurde durch Speichelglykoproteine, wie das 400 kDa schwere saliva-agglutinin, vermittelt (299, 474).

*S. mutans* produziert extrazelluläre Glukanstrukturen mit Hilfe dreier bekannter Glukosyltransferasen (GTFB, GTFC, GTFD). GTFB und GTFC synthetisieren wasserunlösliche Glukane mit  $\alpha$ -1-3-glykosidischer Bindung, GTFD wasserlösliche Glukanstrukturen mit  $\alpha$ -1-6-glykosidischer Bindung. Unter Vermittlung dieser

Strukturen kommt es zur Adhäsion des Keimes an der Zahnoberfläche, was als sucrose dependent adherence bezeichnet wird (429). Von *S. mutans* werden so genannte glucan-binding proteins (Gbps) produziert. Die Gbps GbpA, GbpB und GbpC wurden isoliert und die sie codierenden Gene (*gbpA*, *gbpB*, *gbpC*) bestimmt (475, 481, 542). In Studien an Ratten konnte nachgewiesen werden, dass die Kariogenität GbpA- und GbpC-defizienter Mutanten von *S. mutans* niedriger war als die des Wildstammes. Diese Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass Gbps eine Rolle bei der Adhäsion und der Kariogenität von *S. mutans* spielen (359, 480).

### 2.1.3 Wirtsfaktoren

Der praktisch tätige Zahnarzt trifft immer wieder auf Patienten, die trotz schlechter Mundhygiene und kariesfördernden Ernährungsverhaltens keine kariösen Läsionen entwickeln, während bei anderen, die eine durchschnittlich gute Mundhygiene aufweisen und wenig kariogenen Ernährungsgewohnheiten nachgehen, kontinuierlich kariöse Läsionen entstehen. Epidemiologische Studien stützen diese Beobachtungen (450, 452) und rechtfertigen die Frage nach einer genetisch bedingten Kariesanfälligkeit respektive Kariesresistenz.

Zur Untersuchung der genetischen Beeinflussung stark umweltbeeinflusster Erkrankungen wie Karies müssen die Individuen unterschiedlichen Genotyps möglichst gleichen Umweltfaktoren ausgesetzt werden. Ein Unterschied in der Ausprägung des Kariesbefalls muss dann auf Unterschiede im Genotyp zurückzuführen sein. Antworten auf diese Frage ergaben sich aus Tierexperimenten sowie aus der Familien- und Zwillingsforschung.

#### 2.1.3.1 Tierexperimente

Bei Kariesexperimenten an Ratten wurde festgestellt, dass einige Tiere trotz gleicher Umweltbedingungen eine größere Anzahl kariöser Läsionen entwickelten als andere. Diese Beobachtung führte dazu, besonders kariesresistente und besonders kariesanfällige Tiere als Grundlage für Zuchtlinien zu verwenden, in denen das Merkmal „Kariesanfälligkeit“ respektive „Kariesresistenz“ durch künstliche Selektion verstärkt wurde. Etwa in der Mitte des letzten Jahrhunderts wurden z. B. an der Michigan State University von *Hunt* und *Hoppert* die als *Hunt-Hoppert-susceptible* und *Hunt-Hoppert-resistant* bzw. *Harvard-susceptible* und *Harvard-resistant* bekannten Stämme

gezüchtet (233). Während die *Hunt-Hoppert*-susceptible-Tiere (CS) bereits nach 35 Tagen kariöse Läsionen entwickelten, waren bei den *Hunt-Hoppert*-resistant-Tieren (CR) unter gleichen Umweltbedingungen über 500 Tage notwendig (234). Um zu untersuchen, ob die gefundenen Unterschiede tatsächlich durch genetische Faktoren und nicht durch eine unterschiedliche Bakterienflora hervorgerufen wurden, führte man verschiedenartige Kreuzungsexperimente durch. Hybride aus beiden Stämmen zeigten einen intermediären Kariesbefall (508). Wurden CR-Junge von CS-Müttern aufgezogen, entwickelten sie im gleichen Zeitraum kariöse Läsionen wie CR-Junge, die von CR-Müttern aufgezogen wurden. Analog dazu waren bei CS-Jungen, die von CR-Müttern aufgezogen wurden, genauso schnell kariöse Läsionen zu beobachten wie bei von CS-Müttern gesäugten CS-Jungen (461, 507).

Diese Beobachtungen sprechen für eine genetische Disposition, unter bestimmten Umweltbedingungen Karies zu entwickeln, lassen sich jedoch nicht direkt auf den Menschen übertragen. Da es beim Menschen ethisch nicht vertretbar und darüber hinaus auch äußerst schwierig ist, konstante Umweltbedingungen zu schaffen, ist man auf die Familien-, Stammbaum- oder Zwillingsforschung angewiesen.

#### **2.1.3.2 Familienstudien**

In der Familienforschung wird untersucht, ob ein Merkmal gehäuft im Stammbaum einer Familie auftritt. Nach dem Grad der Expression dieses Merkmals in den einzelnen Generationen kann auf den Grad der genetischen Beeinflussung geschlossen werden.

Um den genetischen Einfluss auf Karies beim Menschen untersuchen zu können, wurden in einer Reihe von Studien Kinder und Eltern bezüglich ihres Kariesbefalls verglichen (149, 150, 357, 509). Die Ergebnisse dieser Studien zeigten mehrheitlich, dass zwischen dem Kariesbefall der Eltern und dem ihrer Kinder eine positive Korrelation besteht, was auf eine genetische Beeinflussung schließen lässt. Die Aussagekraft dieser Studien sollte jedoch nicht überbewertet werden, da innerhalb der Familien bestimmte Umweltbedingungen geschaffen werden, die einen entscheidenden Einfluss auf die Entstehung von Karies haben und damit einen Confounder für eine genetische Beeinflussung darstellen. Eine Reihe von Befunden deutet auf die starke Beeinflussung dieser Umweltfaktoren hin. Betrachtet man beispielsweise die Studie von *Shaw* und *Murray*, die eine positive Korrelation zwischen dem Kariesbefall der Eltern und dem der Kinder ergab, genauer, stellt man fest, dass in den Familien mit

hohem DMFT ein höherer Zuckerkonsum zu verzeichnen war (509). Für einen starken Einfluss von Umweltfaktoren sprechen ebenfalls die Übereinstimmungen im DMFT zwischen Ehepartnern (150). Außerdem wurde festgestellt, dass der Grad der Übereinstimmung in den Zahnbefunden zwischen Mutter und Kind höher war als zwischen Vater und Kind (149), was auf den meist engeren Kontakt zwischen Mutter und Kind als zwischen Vater und Kind zurückgeführt wird. Durch sehr innigen Kontakt kann es beispielsweise in der Säuglings- und Kleinkindphase zur Übertragung kariesrelevanter Keime, insbesondere von Mutans-Streptokokken, von der Mutter auf das Kind kommen (325, 404, 546, 614).

### 2.1.3.3 Hinweise aus der Zwillingsforschung

Die Zwillingsforschung geht auf *Francis Galton*, einen Vetter *Darwins*, zurück und beruht darauf, dass Unterschiede im Phänotyp eineiiger Zwillinge (EZ) wegen ihres identischen Genotyps allein durch Umweltfaktoren bedingt sein müssen. Durch den Vergleich des Auftretens bestimmter Merkmale zwischen eineiigen (EZ) und zweieiigen Zwillingspaaren (ZZ), die einfach gleichaltrige Geschwister darstellen, kann eine Abschätzung der Stärke der genetischen Beeinflussung vorgenommen werden. Tritt das zu untersuchende Merkmal bei EZ in deutlich höherer Konkordanz auf als bei ZZ, kann von einer deutlichen genetischen Beeinflussung dieses Merkmals ausgegangen werden. Liegen keine Unterschiede im Konkordanzgrad vor, ist eine vernachlässigbare Beeinflussung durch genetische Faktoren anzunehmen. In mehreren Studien stellte man eine signifikant höhere Übereinstimmung der Zahnbefunde bei EZ gegenüber ZZ fest (122, 135, 231), was für eine genetische Beeinflussung der Kariesempfindlichkeit spricht.

Trotzdem bleibt zu bedenken, dass gemeinsam aufwachsende Zwillinge eine ähnliche Ernährungsweise, ähnliche Mundhygienegewohnheiten und eine ähnliche zahnärztliche Betreuung aufweisen. EZ betrifft dieser Umstand besonders, da sie schon aufgrund des stets gleichen Geschlechts von ihren Eltern öfter dazu angehalten werden, sich ähnlich zu verhalten und folglich ähnlicheren Umweltfaktoren ausgesetzt sind als ZZ. Diese Beeinflussung lässt sich nur umgehen, indem man Konkordanzwerte von Zwillingspaaren untersucht, die getrennt unter verschiedenen Umwelteinflüssen aufgewachsen sind. Idealerweise sollte die Trennung kurz nach der Geburt stattgefunden haben. Beobachtet man trotz komplett unterschiedlicher Umwelteinflüsse hohe Konkordanz-

grade, kann davon ausgegangen werden, dass der Kariesprozess entscheidend genetisch beeinflusst wird. In eine der umfangreichsten Studien mit getrennt aufgewachsenen Zwillingen, die Minnesota-Study-of-Twins-Reared-Apart (MSTRA), ist seit 1980 auch eine zahnmedizinische Untersuchung integriert (72). Die Untersuchungen bestanden aus psychologischen und medizinischen Tests sowie einer intensiven Befragung über den Lebenslauf, die zahnmedizinische Untersuchung aus der Erhebung eines Zahnstatus, der Anfertigung von Studienmodellen zur Zahnvermessung, Röntgenbildern und der Erhebung einer Diätanamnese (72). EZ wiesen trotz unterschiedlicher Umweltfaktoren wie Ernährungsgewohnheiten, Hygienepraktiken und verschiedenartiger zahnärztlicher Betreuung deutlich höhere Konkordanzen bezüglich vorhandener Zähne, Anzahl gefüllter oder kariöser Flächen, Zahngröße, Zahnstellung und Zahnform auf als ZZ. Dieser Sachverhalt wurde als sicherer Beweis gewertet, dass genetische Mechanismen einen entscheidenden Einfluss auf den Kariesprozess besitzen.

#### **2.1.3.4 Mechanismen genetischer Beeinflussung von Karies**

Da von einer polygen bedingten endogenen Resistenz gegenüber Karies auszugehen ist (388), stellt sich die Frage, welche genetisch determinierten Mechanismen die multifaktoriell bedingte Kariesätiologie beeinflussen (499, 518). In Frage kommen Unterschiede in der Zahnmorphologie (56, 271), der Zahnstruktur (65) und der Zahnstellung (336) sowie die Ausstattung des Speichels mit Abwehr- (171, 187, 225, 504) und Pufferfaktoren (344, 345). Zwar werden geschmackliche Präferenzen beim Menschen hauptsächlich durch Gewohnheiten und Erziehung geprägt (27, 465), sie besitzen aber trotzdem eine genetische Komponente (272).

Die präzise Bedeutung jedes einzelnen Faktors in der multifaktoriellen Kariesgenese ist kaum zu evaluieren. Nur in Einzelfällen und bei extremen Defekten wird ein einzelner Faktor für eine hohe bzw. niedrige Kariesanfälligkeit verantwortlich sein, da die Auswirkungen durch andere Faktoren kompensiert werden können (345, 388, 499); z. B. zeigen Menschen mit hereditärem Mangel an Immunglobulin A, die folglich auch einen Mangel an sekretorischem IgA im Speichel aufweisen, nicht unbedingt einen erhöhten Kariesbefall, da zum Teil höhere Konzentrationen sekretorischer Antikörper der M-Klasse (IgM) diesen Defekt kompensieren (303). Die Entschlüsselung des

menschlichen Genoms stellt in Aussicht, einzelne spezifische, die Kariesentstehung beeinflussende Faktoren zu bestimmen (241, 518).

## 2.2 Präventionsstrategien

Moderne epidemiologische Kariesstudien begannen in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts und zeigten für westliche Industrieländer eine sehr hohe Kariesprävalenz (355). In Ländern, die daraufhin eine breitflächige systematische Kariesprävention einführten, konnte in zunehmendem Maße ein kontinuierlicher Rückgang der Karies (caries decline) beobachtet werden (120, 355, 356, 395).

Die Gründe für diesen Kariesrückgang sind vielfältig und werden durchaus kontrovers diskutiert. So kam eine 52-köpfige Expertenkommission Mitte der 90er Jahre zu dem Schluss, dass die tägliche Benutzung einer fluoridierten Zahnpasta der stärkste Einzelfaktor für den insgesamt zu beobachtenden Kariesrückgang zu sein scheint (53, 167, 460). Es müssten jedoch weitere Faktoren involviert sein, da der vielerorts zu beobachtende Kariesrückgang größer war als der nach randomisierten, kontrollierten Studien zu erwartende Rückgang durch fluoridierte Zahnpasten von 20 bis 40 % (53, 356). Ein Grund könnte die höhere Frequenz des Zähneputzens sein, die neben der Plaqueentfernung den Fluorideffekt noch verstärkt. Auch die kombinierte Gabe verschiedener Fluoridpräparate führt zu additiven Effekten. Fissurenversiegelungen könnten insbesondere beim Erreichen niedriger Kariesprävalenzen eine wichtige Rolle spielen, da in den Fissuren prozentual der größte Kariesbefall festzustellen ist (368). Leider gibt es zur Klärung der Frage nach der Bedeutung der einzelnen Faktoren kaum analytische epidemiologische Studien, so dass weiterhin für Spekulationen Raum bleibt. Anhand neuerer Daten wird jedoch klar, dass die anfänglich zu beobachtenden Erfolge eine Stagnation erfahren, man also mit den bislang eingesetzten Präventionsstrategien an Grenzen stößt (356).

Zur Kariesprävention werden generell Maßnahmen eingesetzt, die entweder die ätiologischen Faktoren „Mikroorganismen“, „Substrat“ und „Zeit“ beeinflussen oder die Konstitution respektive die Abwehrfaktoren des Wirtes stärken. Maßnahmen zur Plaquekontrolle, zur Ernährungslenkung, Fluoridierungsmaßnahmen sowie die Versiegelung von Fissuren und Grübchen werden als Säulen der Kariesprophylaxe betrachtet (275).

### 2.2.1 Plaquekontrolle

Ausgehend von der Erkenntnis, dass ohne mikrobielle Plaque keine Karies entstehen kann (431, 432, 617), scheint die mechanische Plaqueentfernung als Basis für die Kariesprophylaxe auf der Hand zu liegen. Sie erfolgt hauptsächlich in Form häuslicher Mundhygienemaßnahmen mit Zahnbürste, Zahnpasta und Hilfsmitteln zur Reinigung der Interdentalräume. Ein Zusammenhang zwischen einer effektiven (= optimalen) Mundhygiene, also einer effektiv (= vollständig) durchgeführten Entfernung der Plaque, und der Reduzierung des Kariesbefalls wird als gesichert angesehen (29). Trotzdem finden sich in der Literatur widersprüchliche Ergebnisse über den Zusammenhang zwischen Mundhygiene und Kariesbefall (182, 450, 452, 454). Die nicht eindeutige Darstellbarkeit des Zusammenhangs mag neben Unterschieden in der Methodik zur Beurteilung des Mundhygieneniveaus (verschiedene Plaqueindices) darin begründet sein, dass im Gegensatz zu einer Plaquefreiheit eine messbare Plaquereduktion nicht ausreicht, um eine Kariesreduktion herbeizuführen. Häusliche Mundhygienemaßnahmen sind nicht mit einer perfekten Plaqueentfernung gleichzusetzen: Nach *Newbrun* wird ein Großteil der Zahnoberflächen gar nicht geputzt (403) und es wird meistens nur eine Putzzeit von weniger als einer Minute eingehalten (184, 403, 482). Eine Studie von *Saxer et al.* (482) ergab, dass eine Putzdauer zwischen 83 und 72 Sekunden eingehalten wurde, die Probanden jedoch nach eigener Schätzung meinten, zwischen 134 und 149 Sekunden geputzt zu haben.

Zur Effizienzsteigerung häuslicher Mundhygienemaßnahmen findet von Seiten der Industrie eine kontinuierliche Weiterentwicklung von Zahnbürsten statt, die tatsächlich teilweise zu einer Verbesserung der Plaqueentfernung beitragen (81, 483, 652). Elektrisch betriebene Zahnbürsten mit oszillierenden Bürstköpfen und schallaktivierte Modelle entfernen durchschnittlich besser Plaque als Handzahnbürsten (93, 144, 406, 519). Auch durch Anwendung moderner Zahnbürsten wird aber keine vollständige Plaquefreiheit erzielt und zur Frage, ob eine bestimmte Zahnbürste tatsächlich mehr Karies verhindert als eine andere, liegen bislang keine Studien vor. In Bezug auf die häusliche Mundhygiene ist also davon auszugehen, dass sie im Sinne einer effektiven Kariesprophylaxe unzureichend ist, weil lediglich eine Plaquereduktion hervorgerufen wird. Auch steht das Ausmaß der regelmäßig durchgeführten Interdentalraumreinigung hinter der Empfehlung einer täglichen Durchführung

deutlich zurück. In Deutschland liegt der Pro-Kopf-Verbrauch von Zahnseide nur bei etwa vier Metern pro Jahr. Eine Länge von 30 bis 40 cm wird jedoch schon für eine einmalige Anwendung benötigt. Als eine mögliche Ursache für diesen Umstand wird herangezogen, dass es aufwändig ist, Menschen zu einer guten Mundhygiene zu motivieren (380, 624, 662). Trotzdem ist eine regelmäßig durchgeführte Mundhygiene von Bedeutung, da durch die gleichzeitige Anwendung von Fluoriden in Zahnpasten auch bei nicht perfekter Plaqueentfernung eine Karieshemmung hervorgerufen wird (5, 358).

Um im Zuge eines prophylaktischen Gesamtkonzepts die Defizite in der häuslichen Mundhygiene auszugleichen, sollten in regelmäßigen Abständen professionelle Zahnreinigungen durch zahnmedizinisches Fachpersonal erfolgen. Die Frequenz dieser Maßnahmen richtet sich dabei nach der Qualität der vom Patienten selbst durchgeführten Maßnahmen und seinem individuellen Kariesrisiko. Grundlage dieses Vorgehens sind die Studien von *Axelsson* et al. (22, 23) in Schweden. Sie konnten zeigen, dass sich durch regelmäßig durchgeführte professionelle Präventionsmaßnahmen Karies fast vollständig verhindern lässt. Inzwischen liegen Untersuchungsergebnisse nach 30-jähriger Praxis vor.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass eine optimal durchgeführte Plaqueentfernung vor Karies schützt, praktisch jedoch nur mit sehr viel Aufwand bei hoch motivierten Menschen umzusetzen ist. Durch die gleichzeitige regelmäßige Anwendung von Fluoriden ist es jedoch möglich, Defiziten in der Plaqueentfernung entgegenzuwirken. Somit stellt die mechanische Plaqueentfernung eine effektive Basis zur Vermeidung von Karies dar.

### **2.2.2 Ernährungslenkung**

Während des Zweiten Weltkrieges kam es in den Ländern Europas zu einem deutlichen Einbruch des Zuckerverbrauchs. Mit zeitlicher Verzögerung ließ sich ein parallel dazu verlaufender Kariesabfall beobachten (353, 409). In den „*Turku sugar studies*“ konnte experimentell gezeigt werden, dass durch den vollständigen Verzicht auf Saccharose die Entwicklung von Karies effektiv unterbunden werden kann (486). Allerdings erscheint trotz des Bewusstseins der schädigenden Wirkung von Saccharose ein Verzicht nicht durchsetzbar zu sein. In Deutschland betrug im Jahr 2003 der Pro-Kopf-Verbrauch 34,4 kg. Davon entfielen 6,1 kg auf den Streuzucker und 28,3 kg auf

zuckerhaltige Produkte. Basierend auf der Erkenntnis, dass im Wesentlichen nicht die Menge, sondern die Aufnahme­frequenz niedermolekularer Kohlenhydrate, allen voran Saccharose, für die Kariesentwicklung bedeutsam ist (185), konzentrieren sich Präventionsstrategien im Rahmen der Ernährungslenkung folgerichtig auf die Reduktion zuckerhaltiger Zwischenmahlzeiten oder auf den Austausch der Saccharose gegen nicht kariogen wirkende Zuckeraustauschstoffe, wie z. B. Xylit, Sorbit, Mannit oder Isomaltose. Einen Beitrag hierzu leisten so genannte zahnschonende Süßwaren, deren fehlende Kariogenität mit Hilfe der intraoralen Plaque-pH-Messung untersucht wird (236, 237).

Kariesprophylaxe durch Ernährungslenkung ist zwar möglich (485), setzt jedoch eine dauerhafte Verhaltensänderung voraus, die individuell schwer umzusetzen ist (623).

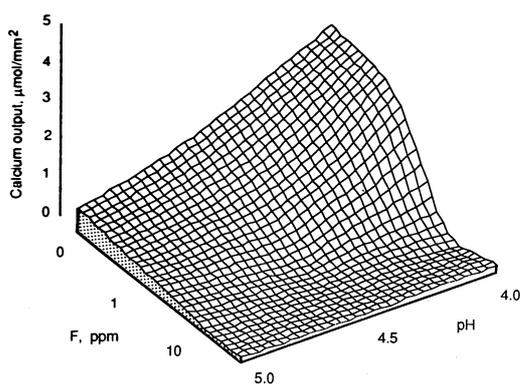
### 2.2.3 Fluoridierung

Fluoridierungsmaßnahmen wird eine Schlüsselrolle in der Kariesprävention zugeschrieben (134, 355, 356). Auch wenn Daten zur eindeutigen diskriminierenden Wertung einzelner Maßnahmen fehlen, ist davon auszugehen, dass der täglichen Fluoridierung der Zähne mit Hilfe von Zahnpasten das Primat zukommt (53, 167, 460).

Dass Fluoride einen kariespräventiven Nutzen haben, wurde als Nebeneffekt bei Fluoroseuntersuchungen aufgrund erhöhter Fluoridkonzentrationen im Trinkwasser festgestellt (30). Der karieshemmende Effekt von Fluoriden gilt heute als unstrittig (589). Während man früher davon ausging, dass die durch den Einbau von Fluorid in die Apatitstruktur der Zahnhartsubstanzen (Fluorapatit) hervorgerufene reduzierte Säurelöslichkeit den Haupteffekt des Kariesschutzes ausmacht, lässt sich diese Ansicht heute nicht mehr halten. Beobachtungen von *Øgaard* und *Rølla* an Haifischzähnen, die zu 100 % aus Fluorapatit (ca. 3,7 % Fluoridgehalt) bestehen, zeigten, dass diese in vitro ähnlich stark ausgeprägte kariöse Läsionen entwickelten wie menschliche Zähne (ca. 0,13 % Fluoridgehalt) (423). Außerdem ließen sich im Schmelz bleibender Molaren zwischen Gebieten mit hohem und niedrigem Fluoridgehalt im Trinkwasser nur geringe Unterschiede im Fluoridgehalt feststellen (244). Auch in vitro zeigten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Ausbildung kariöser Läsionen (267).

Als entscheidende kariespräventive Wirkung der Fluoride wird heute ihre Fähigkeit betrachtet, das Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisation an der Zahnhartsubstanz in Richtung Remineralisation zu verschieben. Bei gleichzeitigem

Vorliegen von Kalziumionen, Phosphat und Fluorid ist die Bildung von Fluorapatit (Remineralisation) thermodynamisch günstiger als die Auflösung von Hydroxylapatit (Demineralisation) (594). Diese Wirkung von Fluorid ist abhängig von der Dosis und dem pH-Wert der Umgebung (592, 594). Zahnschmelz löst sich ab einem pH-Wert von etwa 5,7 auf. Durch die ständige Verfügbarkeit einer Konzentration von 10 ppm Fluorid kann ein Mineralverlust auch noch bei Vorliegen eines pH-Wertes von 4,0 fast vollständig verhindert werden (592) (Abbildung 2-5). Für eine effektive karieshemmende Wirkung sollte immer eine geringe Menge frei verfügbaren Fluorids in der Nähe der Zahnoberfläche vorhanden sein. Daher wird der topischen Applikation von Fluoriden in den heutigen Empfehlungen der Fachgesellschaften der Vorzug gegeben (183). Fluorid findet sich in jeweils auf die Anwendungsform abgestimmten Konzentrationen in Zahnpasten, Spüllösungen, Gelees, Polierpasten, Touchierlösungen und Lacken. Die karieshemmende Wirksamkeit systemischer Fluoridierungsmaßnahmen, wie der Trinkwasser-, Tabletten- oder Speisesalzfluoridierung, beinhaltet auch immer eine topische Applikation. Bei der Nahrungsaufnahme kommt es zunächst zum direkten Kontakt mit den Zähnen, und eine systemische Aufnahme von Fluorid führt immer auch zur Erhöhung seiner Konzentration im Speichel (342, 539). Die im Speichel zu findenden Konzentrationen von ca. 0,02 ppm sind bereits kariesprophylaktisch wirksam (592).



**Abbildung 2-5**

Kalziumverlust in Abhängigkeit vom pH-Wert und der Fluoridkonzentration [nach (592)].

Ein weiterer Wirkmechanismus der Fluoride resultiert aus den antibakteriellen Eigenschaften. Fluorid ist in der Lage, durch Ansäuerung des bakteriellen Zytoplasmas eine Enzymhemmung hervorzurufen. Insgesamt wird die klinische Bedeutung dieses

Mechanismus jedoch als gering eingeschätzt (613). Eine zusätzliche antibakterielle Wirkung kann sich aus den Eigenschaften des Kations der jeweils verwendeten Fluoridverbindung ergeben. Während dies bei den am häufigsten genutzten Verbindungen Natriumfluorid und Natrium-Mono-Fluorophosphat nicht der Fall ist, wirkt das Kation des Aminfluorids und das des Zinnfluorids antibakteriell.

Einschränkungen in der Nutzbarkeit von Fluoriden ergeben sich aus den möglichen Nebenwirkungen. Zwar ist es bei einer PTC (probably toxic dose) von ca. 5 mg/kg Körpergewicht (637) schwierig, sich akut zu vergiften, es besteht jedoch die Gefahr einer Fluorose bei länger andauernder systemischer Überdosierung. Erste Zeichen einer skelettalen Fluorose können bei Aufnahme von 10 mg/Tag über eine Periode von mindestens zehn Jahren auftreten (637); sie sind jedoch meist nur in Gebieten zu finden, in denen das Trinkwasser eine außergewöhnlich hohe Konzentration an Fluorid enthält. Bei bestimmungsmäßigem Gebrauch von Oralprophylaktika wird diese Dosis nicht erreicht (661). Wesentlich wahrscheinlicher ist die Entwicklung einer Dentalfluorose, die durch den systemischen Einfluss des Fluorids während der Schmelzbildung und Reifung entsteht (11). Sie findet ihr morphologisches Korrelat in Form weißlicher Veränderungen der Schmelzstruktur bis hin zu ausgeprägten gelblich-bräunlichen Schmelzdefekten (11). *Thylstrup* und *Fejerskov* unterscheiden sieben Schweregrade (600). Da sich nicht zuletzt wegen der schwierigen Bestimmbarkeit der tatsächlichen Fluoridaufnahme kein eindeutiger Grenzwert für das Auftreten einer Dentalfluorose festlegen lässt, handelt es sich bei den von den Fachgesellschaften festgelegten Empfehlungen zur Dosierung von Fluoriden um einen Kompromiss zwischen effektiver Kariesprophylaxe und der Gefahr der Ausbildung einer leichten Dentalfluorose (183, 661). Dieses Vorgehen scheint vertretbar zu sein, da es sich bei leichten Formen nur um ein ästhetisches Problem handelt (600).

#### **2.2.4 Fissurenversiegelung**

Fissuren und Grübchen stellen aufgrund ihrer anatomischen Struktur ein schlecht zu reinigendes natürliches Retentionsgebiet für Plaque dar und sind daher einem höheren Kariesrisiko ausgesetzt als die Glattflächen der Zähne. Dieser Umstand spiegelt sich in kariesepidemiologischen Daten wider. So waren durch prophylaktische Maßnahmen im Bereich der Glattflächen größere Erfolge zu erzielen als im Bereich der Fissuren (26,

558). Fissuren und Grübchen mit Hilfe eines plastischen Füllungswerkstoffs zu versiegeln, um das Retentionsgebiet zu beseitigen und sie somit vor Karies zu schützen, ist kein neuer Gedanke. Von *Wilson* wurde bereits 1895 Zinkphosphatzement dazu empfohlen (640), zeigte aber keinen kariespräventiven Effekt. Bis in die 70er Jahre hinein galt die prophylaktische Odontotomie im Bereich der Fissuren als vertretbare Maßnahme zur Kariesprävention.

Das bis heute übliche Vorgehen zur Fissurenversiegelung mit Hilfe der Säureätztechnik und der anschließenden Einbringung eines Kunstharzes geht auf *Buonocore et al.* zurück (58, 82, 83, 186). In ihrer ersten Studie verwendeten sie 50%ige Phosphorsäure und eine Mischung aus Methacrylatmonomeren und Silikatzementpulver als Versiegelungsmaterial (82). Nach einem Jahr stellten sie eine Kariesreduktion von 87 % und eine Retentionsrate von 71 % fest (83). Heute wird in der Regel ca. 35%ige Phosphorsäure in Kombination mit lighthärtenden Di-Methacrylaten verwendet.

#### 2.2.4.1 Kariesprävention durch Fissurenversiegelung

Zahlreiche Studien setzen sich mit der Retentionsrate und der Karieshemmung von Fissurenversiegelungen auseinander, deren Ergebnisse in verschiedenen Übersichtsarbeiten zusammengefasst wurden [Übersichten bei (3, 4, 38, 103, 105, 128, 129, 311, 328, 367, 453, 455, 456, 464, 528-530, 534, 552, 572, 625, 653)]. Einer der ersten Berichte über einen längeren Untersuchungszeitraum wurde 1976 und 1977 von *Horowitz et al.* publiziert (228-230). Ihre Fünfjahresergebnisse zeigten eine Retentionsrate von 42 %. Außerdem konnten sie beobachten, dass Zähne mit teilweise Versieglerverlust weniger Karies (7 %) entwickelten als die unversiegelten Kontrollzähne (41 %) (230). Eine von *Llodra* publizierte Metaanalyse der Effektivität von Fissurenversiegelungen über 24 Studien ergab eine durchschnittliche Kariesreduktion von 71 % (327). Die Beobachtungszeiträume erstreckten sich über zehn Jahre und länger. *Koch et al.* fanden, dass nach zehn Jahren nur 6 % (630) und nach 20 Jahren nur 13 % der ursprünglich versiegelten Zähne eine Karies oder Füllung aufwiesen (631). In einer Fall-Kontroll-Studie fand *Simonsen* nach 15 Jahren eine 62%ige Reduktion der Fissurenkaries (533).

Trotz starker methodischer Bedenken gegenüber den meisten Studien zur Effektivität der Fissurenversiegelung (4, 367) kommt eine erst kürzlich publizierte Übersicht des Cochrane-Institutes zu dem Schluss, dass es sich bei der Fissurenversiegelung mit

Hilfe von Kunstharzen um eine empfehlenswerte Methode zur okklusalen Kariesprävention bei Molaren der zweiten Dentition handelt (4). Ergänzend folgern *Locker et al.*, dass Fissurenversiegler auf Kunstharzbasis im Gegensatz zu Glasionomerkementen (GIZ) höhere Retentionsraten aufweisen und GIZ daher keine generelle Anwendung finden sollte, dass aufgrund des Kariesrückgangs in den westlichen Industriestaaten eine Kosten-Nutzen-Analyse in die Indikationsstellung einfließen sollte und dass die Verhinderung eines Speichelzutritts die wichtigste Maßnahme darstellt, um eine dauerhafte Versiegelung zu applizieren (328).

#### 2.2.4.2 Verlust von Versiegeln

Es wird davon ausgegangen, dass eine intakte Versiegelung einen effektiven Karieschutz der darunter liegenden Fissur gewährleistet (230, 369). Wegen der allgemeinen Anerkennung der Methode als kariespräventives Mittel ist eine klinische Beurteilung neuer Versiegler unter Berücksichtigung ethischer Aspekte nur noch mit Hilfe der Retentionsraten und nicht mehr im Vergleich zum Kariesbefall unversiegelter Fissuren möglich (328). Eine regelmäßige Nachkontrolle der Fissurenversiegelungen wird dringend empfohlen, um ggf. nötige Nachversiegelungen und Versieglerreparaturen durchführen zu können. In der Regel kommt es insbesondere innerhalb der ersten Monate nach Durchführung der Versiegelung zu Versieglerverlusten. Auch wurde beobachtet, dass Versiegler, die bei jüngeren Kindern gelegt wurden, mehr Nachbehandlungen erforderten als Versiegler, die bei älteren Kindern gelegt wurden (370, 621). Beide Umstände könnten dadurch zu erklären sein, dass eine perfekte Isolierung des Arbeitsfeldes vor Speichelzutritt nicht gewährleistet werden konnte. *Feigal et al.* untersuchten in einer klinischen Studie über fünf Jahre Zusammenhänge zwischen patienten- und zahnabhängigen Variablen und dem Erfolg von Fissurenversiegelungen. Dabei zeigte sich, dass eine nicht adäquat durchgeführte Speichelkontrolle die Qualität der Fissurenversiegelungen verschlechterte (131). Eine perfekte Speichelfreiheit ist eine Grundvoraussetzung für die Anwendung der Säureätztechnik und wird daher auch für die Applikation von Fissurenversiegelungen gefordert (328, 457, 534, 599). Eine perfekte Isolierung des Arbeitsfeldes vor Speichelzutritt ist in der Regel durch die Anwendung von Kofferdam zu erreichen (541). Allerdings wird im klinischen Alltag zur Applikation von Fissurenversiegelungen eher die relative Isolierung angewendet. Hinzu kommt, dass Fissurenversiegelungen

oftmals an fortgebildete zahnmedizinische Fachangestellte delegiert werden und diese keine Assistenz zur Durchführung der Isolierung zur Verfügung haben (142, 227, 459).

Die klassische Technik der Fissurenversiegelung besteht aus einer Reinigung der zu versiegelnden Fissur mit Hilfe eines rotierenden Bürstchens und einer Polierpaste, der Ätzung mit 37%iger Phosphorsäure, Absprühen mit Wasserspray, Lufttrocknung und Einbringen des Versieglermaterials (328). In der Literatur sind zahlreiche Versuche beschrieben worden, diese Basistechnik der Fissurenversiegelung weiter zu entwickeln, um bessere Retentionsraten und damit eine höhere Karieshemmung zu erzielen. Diese Veränderungen fokussieren einerseits auf Details, andererseits auf die Einführung zusätzlicher Arbeitsschritte oder die Verwendung anderer Materialien.

In einigen Studien wurde die Auswirkung der Ätzzeit auf die Retention von Fissurenversiegelungen untersucht. Bei Milchmolaren fand sich kein signifikanter Unterschied der Retentionsraten zwischen Ätzzeiten von 120 oder 60 Sekunden (531, 532). Bei Molaren der zweiten Dentition führten kurze Ätzzeiten von 15 oder 20 Sekunden zu vergleichbaren Retentionsraten wie bei 60 Sekunden dauernden Ätzungen (111, 115, 577).

Die Reinigung der Fissuren mit Hilfe eines Pulver-Wasserstrahlgerätes anstelle von Bürstchen und Polierpaste führt zu besseren Haftwerten, zu einer besseren Penetration in die Fissur und zu höheren Retentionswerten (54, 55, 90, 547).

Von *Kersten* et al. wird empfohlen, die Fissur nach dem Ätzen mit Azeton zu reinigen, um das Ätzmuster vollständig von Feuchtigkeit zu befreien und das Ätzgel während der Ätzung in der Fissur mit Ultraschall zu aktivieren, um später eine tiefere Penetration des Versieglers in den Schmelz zu erreichen. Tatsächlich führt diese Technik in vitro zu einer besseren Penetration des Versieglers (258).

Mit fluoridfreisetzenden Versieglermaterialien wird das Ziel verfolgt, die fissurbegrenzenden Zahnhartsubstanzen gegen die kariogene Noxe unempfindlich zu machen und damit eine mögliche Kariesentstehung an Randunregelmäßigkeiten und Mikropalten auszugleichen. Untersuchungen der Fluoridfreisetzung verschiedener fluoridhaltiger Versiegler ergaben, dass der größte Anteil der freigesetzten Fluoride innerhalb der ersten 24 Stunden abgegeben wurde, um danach rapide abzunehmen (148, 386). Bezüglich der klinischen Retentionsraten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zu konventionellen Versieglermaterialien (276).

Von *Feigal* et al. wurde erstmals das Konzept untersucht, Adhäsivsysteme mit hydrophilen Monomeren [Übersicht bei (189)] im Rahmen der Fissurenversiegelung einzusetzen. Die Idee war, dass der Verlust an Haftung zwischen speichelbenetztem Schmelz und hydrophobem Versieglermaterial (599) durch das Einbringen einer Zwischenschicht aus hydrophilen Monomeren kompensiert werden könnte (224). Es zeigte sich, dass bei Verwendung einer Zwischenschicht hydrophilen Adhäsivs ähnliche Haftwerte zu finden waren, wie beim Auftragen des Versieglers auf eine gereinigte und geätzte Schmelzoberfläche. Wurde die Kombination auf unkontaminiertem Schmelz angewendet, zeigten sich sogar signifikant höhere Haftwerte. Wurde der zur Kontamination eingesetzte Speichel vorher durch einen Luftstrom getrocknet, fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen (224). Eine zweijährige klinische Studie zeigte, dass eine Retention des Versieglers auf speichelkontaminierten Schmelzarealen erreicht werden konnte, wenn eine Zwischenschicht aus einem Adhäsivsystem eingebracht wurde (130). In-vitro-Untersuchungen belegen, dass eine Zwischenschicht das Ausmaß von mikroleakage bei Speichelkontamination reduzieren kann (40, 203). Andererseits kamen *Boksman* et al. in einer klinischen Studie zu dem Schluss, dass das Einbringen einer Zwischenschicht zu keiner Steigerung der Retentionsrate führt (39).

Zu einer zusätzlichen Vereinfachung und Zeitersparnis könnte die Verwendung selbstätzender Adhäsivsysteme führen. In einer klinischen Studie führte eine Zwischenschicht mit einem Ein-Flaschen-Adhäsivsystem zu einer Halbierung des Retentionsverlustes (131). In einer Zweijahresstudie mit 18 Probanden im Split-mouth-Design fanden sich keine Unterschiede bezüglich der klinischen Erfolgsrate zwischen Versiegelungen aus dem konventionellen Versieglermaterial Delton nach Säurekonditionierung und Versiegelungen aus Delton nach Vorbehandlung mit dem selbstätzenden Adhäsivsystem Prompt-L-Pop. Die dabei erzielte Zeitersparnis belief sich jedoch auf fast ein Drittel (3,1 gegenüber 1,8 Minuten) (132), da das Ätzen mit Phosphorsäure und das anschließende Absprühen entfallen konnten.

Moderne selbstätzende Adhäsivsysteme als alleiniges Material ohne zusätzliche Applikation eines Versieglers zu verwenden, wurde bislang nur vereinzelt in morphologischen In-vitro-Versuchen untersucht (164, 199). Umfangreiche In-vitro-Experimente und vor allem klinische Experimente fehlen.

## 2.3 Potenzielle zukünftige Präventionsstrategien

### 2.3.1 Approximale Versiegelung

Wie bereits oben ausgeführt, gilt die Versiegelung von Fissuren und Grübchen als effektive und anerkannte Maßnahme zur Verhinderung von Karies (230, 328). Darauf basierend entwickelte sich die Idee, auch proximale Glattflächen durch das Auftragen einer Barriere gegen physikalische und chemische Einflüsse vor Karies zu schützen (88, 213, 494). Neben der Wahl eines geeigneten Versiegelungsmaterials stellt sich die Frage nach der Zugänglichkeit des Approximalraumes. Spezielle mit Matrizenbändern bestückte Schraubsysteme erlauben, intakte Approximalraumkontakte schmerzfrei auf 0,5 bis 1 mm aufzuspreizen, was einen bequemen Zugang zum Aufbringen eines Versiegelungsmaterials schafft und damit die klinische Umsetzung erlaubt (494). Als Versieglermaterial wurden ungefüllte Adhäsivsysteme wie Heliobond verwendet (494). Allerdings zeigte sich bei In-vitro-Untersuchungen, dass ein ungefülltes Adhäsiv keine vollständig wirksame chemomechanische Barriere bildet, um die darunter liegende Zahnhartsubstanz effektiv vor einem Säureangriff zu schützen (495), obwohl man sowohl auf demineralisiertem als auch auf gesundem Schmelz eine gute Resin-tag-Bildung beobachten konnte (497). Möglicherweise stellt die geringe und unkontrollierte Schichtstärke in Kombination mit der auf der Oberfläche befindlichen, nicht polymerisierten Sauerstoffinhibitionsschicht das Hauptproblem dar. Als weiteres Problem ungefüllter Adhäsive wird deren geringe mechanische Belastbarkeit angesehen (495). Möglicherweise könnten diese Probleme durch Anwendung einer erst kürzlich entwickelten, vorpolymerisierten adhäsiven Folie umgangen werden (663). Diese Folie besteht aus einem kreuzvernetzten methacrylierten Polymer auf Urethanbasis und erlaubt die kontrollierte Applikation gleichmäßiger Schichten (663).

In-vivo- und In-vitro-Studien zur Prüfung dieses neuen Ansatzes liegen bislang nicht vor.

### 2.3.2 Immunisierung

Ausgehend von der Erkenntnis, dass es sich bei Karies um eine bakteriell bedingte Erkrankung handelt und *S. mutans* eine besondere Stellung einzunehmen scheint (331), wurden bereits in den 70er Jahren Immunisierungsversuche gegen Karies an Ratten und Primaten durchgeführt (304, 306, 307). Diese ersten, auf eine aktive Immunisierung abzielenden Versuche waren durchaus erfolgreich. Durch die Injektion abgetöteter Zellen von *S. mutans* konnten die Besiedelung der Zahnoberfläche mit *S. mutans* und die nachfolgende Kariesentwicklung reduziert werden (45, 304). Da im Blutplasma zirkulierende Antikörper die Mundhöhle nur über die Sulkusflüssigkeit erreichen können, spielt in Bezug auf Karies das mukosaassoziierte Immunsystem (MALT) mit seinem Haupteffektor, dem sekretorischen Immunglobulin A (s-IgA), die größte Rolle (48, 50). Dieses s-IgA wird von Plasmazellen produziert, die sich in der oralen Mukosa und den Speicheldrüsen befinden (49). Um eine Produktion sekretorischer Antikörper anzuregen, müssen die immunkompetenten Zellen des MALT stimuliert werden. Sie befinden sich in allen Schleimhäuten, aber besonders gehäuft z. B. im *Waldeyer'schen* Rachenring oder den *Peyer'schen* Plaques des Darms (424). Beim Menschen konnte durch orale Immunisierung die Produktion von Antikörpern gegen *S. mutans* angeregt werden (365, 371, 374, 375, 473). Die aktive Immunisierung gegen Karies wird jedoch als durchaus problematisch betrachtet. So kam es bei Karies-Immunisierungs-Experimenten zur Bildung von Serumantikörpern, die eine Kreuzreaktion mit Herzendothelgewebe zeigten (470, 472, 473, 647). Die modernen Strategien zielen darauf ab, keine Produktion von Serumantikörpern anzuregen, sondern ausschließlich das sekretorische Immunsystem und damit eine lokale Produktion von s-IgA zu stimulieren (581-584, 645, 646, 648, 649). Eigene Studien zeigten, dass diese Stimulation so lokal begrenzt sein kann, dass es bei Unterlassung der täglichen Mundhygiene zu einem Anstieg von s-IgA im Speichel kommt (502), der sogar auf eine Drüsenseite beschränkt sein kann (119, 620). Zur Erreichung einer deutlichen Immunantwort werden heute insbesondere die nasale und tonsilläre Applikation des Antigens diskutiert (188, 253, 254, 278, 471, 543, 574, 645, 648). Zur Verstärkung des immunisierenden Effektes wird das Antigen an ein Adjuvans (z. B. Cholera-toxin) gekoppelt (188, 574, 580). Die Gefahr des Auftretens von Kreuzreaktionen auch gegenüber anderen Bakterien, die in der Mundhöhle erwünscht sind (385), lässt sich durch die sorgfältige Auswahl des Antigens

minimieren. Im Gegensatz zur Verwendung ganzer Zellen, die ein multiples Antigen darstellen, kommen heute sehr spezifische Antigene, wie z. B. gegen bestimmte Oberflächenproteine oder Glykosyltransferasen, zur Anwendung. Trotzdem bleibt ein Restrisiko. So findet sich z. B. am C-terminalen Ende von AgI/II, einem Oberflächenprotein von *S. mutans*, das als Antigen Anwendung findet, ein Epitop, das eine Kreuzreaktion gegen menschliches IgG auslösen könnte (385, 618). Somit erscheint auf absehbare Zeit die Einführung einer aktiven Immunisierung gegen *S. mutans* beim Menschen aufgrund ethischer und politischer Bedenken als wenig wahrscheinlich.

Möglicherweise verhält es sich anders mit der Durchführung passiver Immunisierungen. Die passive Immunisierung mit Hilfe von Antikörpern gegen *S. mutans* führte ebenfalls bereits in den 70er Jahren zu einer Karieshemmung bei Primaten und Ratten (309, 363, 365). Bereits in den 80er Jahren wurde an menschlichen Probanden gezeigt, dass die lokale Gabe von Antikörpern gegen das Oberflächenantigen AgI/II von *S. mutans* das Auftreten dieses Keimes in der Plaque verhindern kann (341). Außerdem eröffneten sich durch die Fortschritte in der Gentechnik Möglichkeiten, kostengünstig große Mengen monoklonaler Antikörper, z. B. durch Pflanzen (338, 339), in Kuhmilch (333, 425, 513, 622) oder Eigelb (201, 278, 296, 544), zu produzieren. Neuere passive Immunisierungsexperimente am Menschen zeigten, dass nach professioneller Zahnreinigung und chemischer Reduktion von *S. mutans* mit Hilfe von Chlorhexidin eine einmalige Touchierung der Zähne mit monoklonalen Antikörpern gegen Oberflächenproteine von *S. mutans* ausreichte, um *S. mutans* in seiner Konzentration für mehrere Monate unterhalb der Nachweisgrenze zu halten (340). Die topische Applikation von Antikörpern stellt eine viel versprechende Maßnahme zur Unterbindung der Rekolonialisierung der Zähne mit *S. mutans* dar, zumal bislang keine unerwünschten Nebenwirkungen beobachtet werden konnten (339). Fraglich bleibt, ob auch beim Menschen durch diese Maßnahme Karies zu verhindern ist, da außer *S. mutans* noch andere Keime an der Kariesentstehung beteiligt sind. Interessant schien in diesem Zusammenhang auch zu sein, dass die lokal auf die Zähne applizierten Antikörper nur über einen Zeitraum von drei Tagen in der Mundhöhle nachweisbar waren. Möglicherweise hatte die initiale Blockade der Besiedelung der Zahnoberfläche durch den Antikörper dazu geführt, dass die „ökologische Nische“ von *S. mutans* durch andere Keime besetzt wurde. Dieser

ökologische Ansatz wird ebenfalls in einer anderen, nachfolgend beschriebenen Strategie verfolgt.

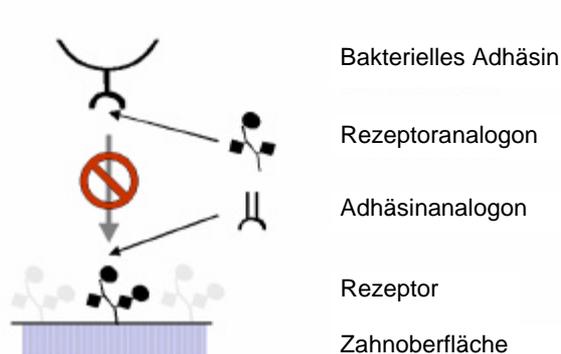
### 2.3.3 Replacement-Therapie

Unter Replacement-Therapie versteht man die Verdrängung eines pathogenen Keims in einem empfänglichen Wirtsgewebe von einem natürlich vorkommenden oder aus dem Labor stammenden harmlosen, apathogenen Keim. Dies hat zur Folge, dass der Ausbruch einer Krankheit verhindert wird (222). Um diesen Ansatz im Rahmen der Kariesprävention zu nutzen, wurde von *Hillman* et al. durch gentechnische Veränderung eines *S.-mutans*-Isolates ein Effektorkeim mit der Bezeichnung BCS3-L1 erzeugt, der verschiedene Eigenschaften aufwies, die ihn für eine Replacement-Therapie geeignet erscheinen ließen (215). Durch rekombinante DNS-Technologie wurde in seinem Genom das die Laktatdehydrogenase kodierende Gen ausgeschaltet, so dass der Keim nicht in der Lage war, die für die Kariesentstehung wichtige Milchsäure zu produzieren (113, 216-218). Außerdem besaß der Stamm die Fähigkeit, ein gegen den Wildtyp von *S. mutans* wirksames Antibiotikum namens „Mutacin 1140“ zu produzieren (220, 221). Daraus ergab sich ein entscheidender Selektionsvorteil gegenüber dem natürlich vorkommenden Stamm. In Laborstudien und Tierexperimenten an Ratten erwies sich BCS3-L1 als genetisch stabil, und es waren keine Nebenwirkungen zu beobachten (553). Im gnotobiotischen Rattenexperiment und an konventionellen Sprague-Dawley-Ratten zeigte BCS3-L1 weniger kariogene Wirkungen als der Wildtyp von *S. mutans*. Am Menschen konnte BCS3-L1 noch 14 Jahre nach einmaliger Applikation in der Mundhöhle nachgewiesen werden, ohne dass es zu einer nachweisbaren Neubesiedelung mit dem Wildtyp kam (215, 219, 220, 223). Trotz ethischer und ökologischer Bedenken bietet diese Strategie einen interessanten Ansatz zur Kariesprävention.

### 2.3.4 Antiadhäsive Therapie

Die Bindung von Pathogenen mittels mikrobieller Adhäsine an Rezeptormoleküle des Wirtsorganismus stellt einen entscheidenden Schritt in der Entwicklung einer Infektion dar (155). Eine antiadhäsive Therapie zielt darauf ab, die Adhäsion pathogener Keime am Wirkort zu inhibieren und damit die Infektion respektive den Ausbruch einer Krankheit zu verhindern (256). Triebfeder der Entwicklung antiadhäsiv wirksamer Substanzen ist die Gefahr der zunehmenden Entwicklung von Resistenzen

gegenüber herkömmlichen, auf die Schädigung der Erreger ausgerichteten Antibiotika (202, 243). Geht man von der besonderen Bedeutung von *S. mutans* im Rahmen der Kariespathogenese aus (331), lässt sich das Prinzip der antiadhäsiven Therapie auch für die Kariesprävention anwenden (68, 250, 256, 418, 561). Neben antiadhäsiv wirkenden Antikörpern, wie dem sekretorischen Immunglobulin A, sind prinzipiell zwei Arten antiadhäsiv wirkender Molekülgruppen denkbar: Adhäsin- und Rezeptoranaloga (Abbildung 2-6). Beide sind in der Lage, die bakterielle Adhäsion kompetitiv zu inhibieren. Obwohl Protein-Protein-Wechselwirkungen (257, 427, 451) und Bindungen an Glykanstrukturen bakterieller Oberflächen beschrieben wurden (251, 657), wird die bakterielle Adhäsion in der Regel über die Wechselwirkung zwischen Adhäsinen vom Lektintyp und Glykanstrukturen auf der Wirtsoberfläche vermittelt (256). Den Glykanstrukturen kommt daher als potenziellen Rezeptoranaloga besondere Bedeutung zu (68, 250, 256, 418, 561).



**Abbildung 2-6**

Kompetitive Blockierung der Wechselwirkung zwischen Adhäsin und Oberflächenrezeptor.

Natürlich vorkommenden Glykanstrukturen im Speichel wird eine gewisse Schutzfunktion zugesprochen, wenn sie in ausreichender Konzentration zur Verfügung stehen, um die lektinvermittelte Bindung pathogener Keime kompetitiv zu unterbinden (418). Von Kage et al. wurde diese Form des Schleimhautschutzes als Oligosaccharid-Lektin-abhängiges Abwehrsystem bezeichnet (250). Potenziell schützende Glykanstrukturen finden sich praktisch in allen Glykoproteinen und Glykolipiden des Speichels. Diese insgesamt als Glykokonjugate bezeichneten Moleküle werden in seröse und muköse Glykokonjugate differenziert und unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Größe, ihres Oligosaccharid- und Proteinanteils (313, 615).

Hauptvertreter der serösen Glykokonjugate sind die prolin rich glycoproteins (PRGs). Ihr Glykananteil ist hauptsächlich N-glykosidisch (GlcNAc-Asn) mit dem Proteingrundgerüst verknüpft (313). Hauptvertreter der mukösen Glykokonjugate sind das high molecular weight mucin glycoprotein (MG1) und das low molecular weight mucin glycoprotein (MG2). Sie enthalten im Wesentlichen O-Glykane (GalNAc-Thr/Ser-Grundgerüst) (313). *Tabak* et al. postulierten, dass Speichelmuzinen eine zentrale Rolle beim Schutz der Mundhöhle zukommt (573). Von *Gibbons* und *van Houte* wurde bereits 1975 der spezifische Charakter dieses Schutzmechanismus hervorgehoben (162). *Kage* et al. betonten, dass es letztlich keine Rolle spiele, an welche Struktur die Oligosaccharidanteile gebunden vorliegen, um eine Lektin-Oligosaccharid-Wechselwirkung zu unterbinden. Somit tragen alle Oligosaccharidstrukturen zum Schleimhautschutz bei (250). Als Beispiel sei hier die nicht antigenerkennende Oligosaccharidkomponente des s-IgA-Moleküls genannt: Es konnte für zwei *E.-coli*-Stämme nachgewiesen werden, dass sie mit s-IgA agglutinieren, indem ihr mannospezifisches Oberflächenadhäsion an ein mannosehaltiges Oligosaccharid des IgA-Moleküls bindet und zwar unabhängig von der Struktur des antigen-determinierenden Fragments des Immunglobulins (641).

Lektine mit bekannter Bindungsspezifität lassen sich als Sonden für die Oligosaccharidstrukturen, an die sie spezifisch binden, einsetzen. So bindet beispielsweise das Lektin ConA (Concanavalin A) an die Trimannosylstruktur in N-Glykanen oder das Lektin SNA (*Sambucus-nigra*-Agglutinin) an terminale  $\alpha$  2-6-gebundene Sialinsäure (644). Eingebunden in einen quantitativen Assay nach dem Prinzip eines ELISA lassen sich glykanhaltige Flüssigkeiten wie Speichel hinsichtlich ihres Gehaltes an bestimmten Glykanstrukturen charakterisieren (250, 504). In einer eigenen Studie an einer repräsentativen Stichprobe Berliner Schüler zeigten sich signifikante Unterschiede im Glykanmuster des Speichels zwischen Kindern mit hohem und niedrigem Kariesrisiko (504), was die Vermutung nahe legt, dass von diesen natürlich vorhandenen Glykanstrukturen ein spezifischer Kariesschutz ausgehen könnte.

Um diese Erkenntnisse im Rahmen der Kariesprophylaxe auszunutzen, könnte die Zuführung spezifischer Glykanstrukturen die Etablierung von *S. mutans* an der Zahnoberfläche behindern. In anderen Bereichen der Medizin, wie z. B. bei

Infektionen des Urogenitaltraktes mit *E. coli*, *Helicobacter pylori* oder Viren, wurden nach Bestimmung der Adhäsinspezifität des Pathogens (419) entsprechende Strategien schon erfolgreich eingesetzt (18, 394, 570). Wurde anfänglich mit Monosacchariden, wie z. B. mit  $\alpha$ -D-Mannose (18), gearbeitet, erfolgte später der Einsatz von Oligosacchariden, die den natürlichen Rezeptoren aufgrund der komplexeren Struktur näher kamen (256). Auch am Menschen gibt es erste Versuche, diese Erkenntnisse zur Behandlung akuter Infektionen einzusetzen (35, 604, 609).

Für die Inhibition der Adhäsion von *S. mutans* ergeben sich Ansätze aus seiner Bindungsspezifität. So ließ sich die Bindung von *S. mutans* an saliva coated hydroxyapatite (SHA) durch verschiedene Glykanstrukturen inhibieren (68, 155, 156). *Lembke* et al. konnten in ihren Versuchen an Wistar-Ratten einen karieshemmenden Effekt eines 1,5%igen und 5%igen Galaktosezusatzes zu einer 33%igen Saccharosediät nachweisen (310).

Ein großes Problem der antiadhäsiven Therapie ist jedoch, dass die meisten Pathogene verschiedene Adhäsine besitzen, deren Aktivität von den Lebensbedingungen abhängt. In Abhängigkeit von den Kulturbedingungen bei im Labor gezüchteten Keimen findet sich ein unterschiedliches Bindungsverhalten. Von einigen Autoren wird daher empfohlen, zur antiadhäsiven Therapie nicht eine einzige spezifische Glykanstruktur, sondern ein multipel wirksames Glykangemisch einzusetzen (250, 418). Um dies zu erreichen, wurde die Strategie verfolgt, Gemische potenzieller Rezeptoranaloga aus Nahrungsmitteln wie Milch zu nutzen (418). Ein aus Moosbeeren (*Vaccinium macrocarpon*) gewonnener Extrakt, der einen hohen Oligosaccharidanteil besitzt und als NDM (non dialysable material) bezeichnet wird, zeigte antiadhäsive Eigenschaften gegenüber einer Reihe von Bakterien (59, 60, 555, 626-629, 655) und führte zu einer Reduktion von *S. mutans* im Speichel (626). Weiterführende Versuche zur kariespräventiven Wirksamkeit dieser Strategie stehen noch aus.

## 2.4 Möglichkeiten der Kariesforschung

Zur Erforschung von Karieseinflussfaktoren stehen In-vivo- und In-vitro-Systeme zur Verfügung. Beide Ansätze besitzen Vor- und Nachteile, die in der nachfolgenden Übersicht zusammengetragen sind.

### 2.4.1 In-vivo-Forschung

In der In-vivo-Forschung werden die in der Mundhöhle vorkommenden natürlichen kariogenen Einflussfaktoren genutzt, um Erkenntnisse über die Kariesätiologie zu gewinnen. Das komplexe Ökosystem mit seinen geschätzten 1000 verschiedenen Keimen ist allerdings dem Einfluss äußerer Faktoren in hohem Maße unterworfen. Krankheitsprozesse oder unterschiedliche Lebens- bzw. Ernährungsgewohnheiten können bei sonst gleichen Grundvoraussetzungen erhebliche Differenzen in der oralen mikrobiellen Population und deren Stoffwechselprodukten bewirken (22, 91, 110, 116, 173, 185, 192, 294, 295).

Aufgrund der Vielzahl nicht standardisierbarer individueller Faktoren (s. o.) sind derartige Systeme schwer kontrollierbar und die mit ihnen erzielbaren Ergebnisse hinsichtlich ihrer Reproduzier- und Nachprüfbarkeit problematisch. Dennoch werden In-vivo-Methoden häufig angewendet.

Bei der In-situ-Forschung [Übersicht bei (71)] werden Zahnproben extrahierter Zähne im Mund von Probanden getragen und durch Schaffung einer Plaqueretention ein natürlicher Biofilm auf diesen Zahnproben gezüchtet (414-416). Die Inkorporation erfolgt mit Hilfe herausnehmbarer Prothesen oder Schienen (31, 100, 269, 290, 292); oder es werden mit Hilfe orthodontischer Bänder Kariesläsionen an Prämolaren erzeugt, die aus kieferorthopädischen Gründen extrahiert werden (191, 421, 422).

Auch klinische Studien an Probanden helfen, die therapeutische Breite von Wirkstoffen zu erforschen. Dazu gehören beispielsweise die klassischen klinischen Studien zur Kariogenität von Zucker oder die klinischen Studien zur kariesprotektiven Wirkung von Fluoriden (353, 354, 356, 660).

Patienten- oder Probandenstudien, in denen es zu einer Entwicklung kariöser Läsionen in der Kontrollgruppe kommt, sind aus ethischen Gründen heute nicht mehr möglich. Aus heutiger Sicht wären daher klassische, sehr aussagekräftige Studien wie die in den 40er Jahren durchgeführte "Vipeholm-Studie" von *Gustafsson* et al. nicht mehr

durchsetzbar. Wie bereits oben beschrieben, wurde im Vipeholm-Hospital in Schweden, einer Einrichtung für geistig behinderte Erwachsene, die überschaubare Gruppe von Probanden genutzt, um anhand wechselnder Diätfolgen karieswirksame Faktoren zu testen (185).

Für die Erforschung bestimmter Abläufe, die Einfluss auf den Kariesprozess nehmen, ist deren isolierte Betrachtung von ausschlaggebender Bedeutung. In diesem Zusammenhang sind z. B. intraorale pH-Messungen der Zahnplaque zur Einschätzung des kariogenen Potenzials von Nahrungsbestandteilen vorgenommen worden (236-238).

#### **2.4.2 Tierversuche**

Aufgrund ihrer nahen genetischen Verwandtschaft zum Menschen und der starken Ähnlichkeit des Gebisses bieten sich für Tierversuche Primaten an. Diese Versuche sind jedoch langwierig, aufwändig, teuer und aus ethischer Sicht nicht unbedenklich. Trotzdem werden Primaten z. B. bei Immunisierungsversuchen eingesetzt (306, 309).

Ein wesentlich kostengünstigeres In-vivo-Kariesmodell, mit dem kurzfristig Ergebnisse zu erzielen sind, ist das kontrollierte Rattenexperiment. Bei geeigneter Ernährung entwickeln Ratten im Bereich ihrer Molaren innerhalb weniger Wochen kariöse Läsionen, die denen des Menschen sehr ähnlich sind (285). In Abhängigkeit von der Versuchsanordnung ist es möglich, Fissuren- und Glattflächenkaries zu erzeugen. Ein genereller Vorteil von In-vivo-Experimenten ist, dass die Kariesentwicklung unter Einfluss der natürlichen Keimflora und Speichelzusammensetzung erfolgt. Rattenversuche eignen sich zur Erforschung der Immunisierung und Antiadhäsion, zur Untersuchung der Kariogenität von Nahrungsmitteln und Nahrungszusätzen sowie zur Evaluation potenziell plaquehemmender und remineralisierend wirkender Substanzen in Oralprophylaktika (89, 124, 172, 174, 193, 252, 384, 399, 430, 437, 439, 446, 544, 567, 579, 602, 654). Die Applikation des zu untersuchenden Agens findet in der Regel über die Nahrung oder das Trinkwasser statt. Auch lokale Applikationen wurden beschrieben, sind aber schlecht zu kontrollieren. Zur Erprobung neuer Füllungsworkstoffe scheinen Rattenmolaren wegen der morphologischen Unterschiede im Vergleich zu menschlichen Zähnen nicht geeignet zu sein. Außerdem sind die Molaren der Ratten nur wenige Millimeter groß, was eine Füllungsapplikation schwierig erscheinen lässt. Ein weiterer Nachteil, der aus der geringen Größe der Molaren erwächst, ist, dass die Tiere zur Kariesbestimmung geopfert werden müssen, denn die

Kiefer müssen dazu histologisch aufbereitet werden (285). Dieser Umstand bereitet erhebliche ethische Probleme.

Wie in allen biologischen Systemen kommt es aufgrund der interindividuellen genetischen Unterschiede auch zu Unterschieden in der Anfälligkeit gegenüber Karies (233, 285). Um genetisch bedingte Faktoren, wie z. B. Unterschiede im Fressverhalten, zu nivellieren, wurden Futterautomaten entwickelt, die die Nahrungsaufnahmefrequenz regeln (285).

Für Rattenexperimente werden in der Regel spezifisch pathogenfreie (SPF) Tiere verwendet. Eine besonders kontrollierte Situation lässt sich durch die Verwendung ursprünglich keimfreier Tiere erreichen, die mit bekannten Keimen infiziert werden (Gnotobiose). Um eine Fremdkontamination zu vermeiden, müssen die Tiere in Isolatoren gehalten und aufwändig mit sterilisierten Nahrungsmitteln versorgt werden (136, 431).

### **2.4.3 In-vitro-Forschung**

Die In-vitro-Forschung bedient sich unterschiedlicher Systeme. Prinzipiell lassen sich diese Systeme in solche einteilen, die den Kariesprozess auf die rein physikochemischen Abläufe reduzieren (chemische Systeme), und solche, bei denen die Karieserzeugung aufgrund eines bakteriellen Stoffwechselforgangs erfolgt (biologische Systeme).

#### **2.4.3.1 Chemische Systeme**

Chemische Systeme beschränken sich darauf, die zur Erzeugung der kariösen Läsionen notwendigen Säuren auf den Zahn zu applizieren (176, 190, 263, 523, 524). Als demineralisierendes Agens werden hauptsächlich Milchsäure und Essigsäure verwendet. Prinzipiell unterscheidet man Gel- und Lösungsmodelle. Im Gelmodell wird ein Diffusionshindernis auf den Zahn aufgebracht, um eine dem natürlichen Korrelat entsprechende subsurface lesion erzeugen zu können; u. a. ist dazu die Anwendung von Gelatinelösung (175, 190, 214, 263, 264, 522-527, 611), Methanhydroxydiphosphat (92, 126, 398), Ethanolhydroxydiphosphat (636, 642), Hydroxyethylzellulose (16, 178, 179, 226, 590), Methylzellulose (102, 239, 240, 289), Carboxymethylzellulose (14, 101, 270) und Agargel (176, 177) beschrieben worden.

Bei Verwendung des Lösungsmodells wird der wässrigen Demineralisationslösung eine genau berechnete Menge an Kalzium und Phosphat zugesetzt, um eine diffusionshemmende Konzentration in der Umgebung der Proben zu erreichen (635). Von *ten Cate* wurde der Begriff des „pH-cycling“ eingeführt, der beschreibt, dass die Probe wechselnden Lösungen mit unterschiedlichem pH-Wert ausgesetzt wird (593). Der Vorteil des pH-cyclings besteht in der besseren Simulation der De- und Remineralisationsvorgänge in vivo. Das pH-cycling kann automatisiert erfolgen (8, 458, 595).

#### 2.4.3.2 Biologische Systeme

Biologische Kariesmodelle nutzen den Stoffwechsel kariogener Keime, um bei entsprechender Ernährung die zur Demineralisation des Zahnes notwendigen Säuren zu erzeugen. Ein einfaches biologisches Modell besteht aus einer Zahnprobe, die zusammen mit einem säureproduzierenden Keim in ein Kulturmedium eingebracht wird, das niedermolekulare Kohlenhydrate enthält (112).

Komplexere biologische Modelle werden als „künstliche Mundhöhlen“ bezeichnet. Künstliche Mundhöhlen zeichnen sich dadurch aus, dass es auf den Proben zur Bildung einer plaqueartigen Struktur kommt, die einerseits die zur Läsionsbildung nötigen Säuren produziert, andererseits gleichzeitig als Diffusionshindernis fungiert. Ziel dieser Apparaturen ist es, eine möglichst naturgetreue Simulation der biologischen Abläufe zu imitieren. Trotz der Komplexität des Modells sollte es möglich sein, spezifische Abläufe isoliert untersuchen zu können. Bezüglich einzelner baulicher Details und experimenteller Abläufe existiert eine verwirrende Vielfalt. Prinzipiell besteht eine künstliche Mundhöhle aus einem nach außen abgeschlossenen Raum, zu dem nur bestimmte Stoffe Zugang haben, um die künstliche Plaque mit den erforderlichen Agenzien zu versorgen [Übersicht bei (335, 578)].

Zur Anzucht plaqueähnlicher Strukturen innerhalb künstlicher Mundhöhlen wurden verschieden Materialien wie Glas (389), Mylarstreifen (568), Epoxyharz (326), Hydroxylapatit (318) oder Polytetrafluorethylen (PTFE) (343) eingesetzt. Meist wurden jedoch natürliche Zahnhartsubstanzproben verwendet (139, 396, 443, 444, 619): mehrere Zähne in Kontakt (107, 108, 442, 445, 463, 520, 521) oder aus Zähnen gewonnene Scheiben (36, 98, 138, 232, 410, 492, 537, 603, 633, 651).

Um ein naturnahes Plaquewachstum zu gewährleisten, orientierten sich die meisten Autoren an der normalen Körpertemperatur von 37°C. Diese Temperatur wurde durch Warmwasserbäder, Heizungskonstruktionen oder durch die Positionierung der Apparatur in einem entsprechend beheizten Raum gewährleistet (73, 74, 98, 99, 139, 248, 274, 298, 396, 410, 467, 492, 537, 603, 633, 651, 658).

Bei Messungen des Sauerstoffpartialdrucks in der Mundhöhle wurden je nach Lokalisation und Messmethode Werte zwischen 3 und 120 mm Hg ermittelt (66, 121). Daher sind für den Betrieb künstlicher Mundhöhlen verschiedene Gaszusammensetzungen gewählt worden: Luft (36, 99, 104, 139, 248, 274, 442, 463, 520, 566, 619, 651), 95 % Luft/ 5 % CO<sub>2</sub> (98, 108) oder 95 % N<sub>2</sub>/ 5 % CO<sub>2</sub> für den anaeroben Betrieb (73, 410, 492, 537, 603).

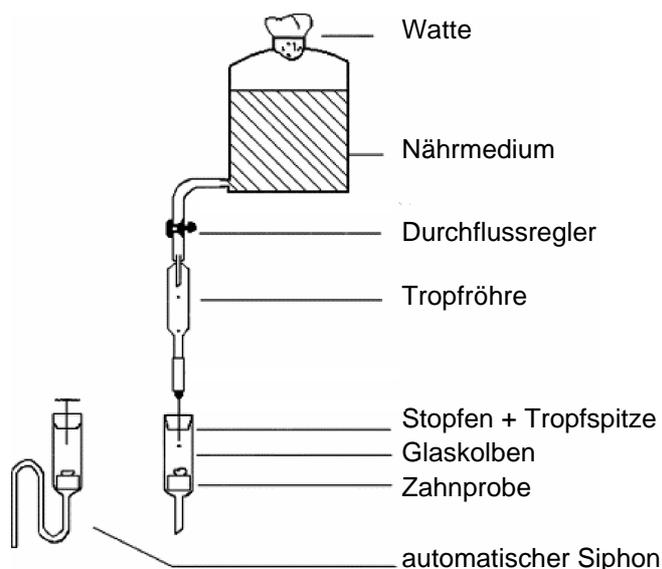
Für In-vitro-Untersuchungen im künstlichen Mund ist sowohl humaner (36, 99, 651) als auch künstlicher Speichel verwendet worden (108, 274, 410, 467, 492, 633). Die Zusammensetzung unstimulierten Speichels diente als Vorlage zur Herstellung künstlichen Speichels (512).

Da verschiedene Mikroorganismen (z. B. *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*), Präparationsmethoden und Nährlösungen unterschiedliche Plaqueformationen bzw. Wachstumsbedingungen hervorrufen (157, 352, 610, 632), sind In-vitro-Versuche mit verschiedenen bakteriellen Misch- und Reinkulturen durchgeführt worden (535-538). Für die meisten zur Karieserzeugung genutzten künstlichen Mundhöhlen wurde der Kariesleitkeim *S. mutans* verwendet (96, 139, 411, 488, 492).

Um eine gesicherte Grundversorgung der Plaque zu gewährleisten und Substrat für die Karieserzeugung zu liefern, sind verschiedene Lösungen verwendet worden: Trypton-Hefeextrakt (443-445), *Krebs-Henseleit*-Lösung (445), menschlicher Speichel (36, 99, 651), künstlicher Speichel (107, 108, 274, 410), *Todd-Hewitt*-Lösung (410), Tryptikase-Soja-Bouillon (138, 139, 566), *Geigy*-Nährlösung (633) oder auch individuelle Modifikationen einzelner Lösungen.

### 2.4.3.3 Heute verfügbare künstliche Mundhöhlen

Die Grundlagen heutiger künstlicher Mundhöhlen zur Erzeugung kariöser Läsionen wurden im Wesentlichen von *Dietz* und *Pigman* entwickelt (99, 442-444). *Pigman* positionierte extrahierte Zähne in einem transparenten Glasgefäß. Über eine Tropfspitze wurden die Zähne mit einem kontinuierlichen Fluss (5 bis 7 Tropfen/Minute) eines Nährmediums versorgt. Es enthielt 0,5 % Glukose und war auf einen pH-Wert von 6,4 bis 6,8 eingestellt (Abbildung 2-7). Der O<sub>2</sub>-Gehalt ließ sich ebenfalls kontrollieren. Verschiedene Keime, wie z. B. *Lactobacillus casei*, *S. salivarius*, *S. faecalis*, ließen sich darin als Monokultur kultivieren, und es war die Erzeugung initialer kariesartiger Läsionen möglich. Dieses Basismodell wurde bereits zur Untersuchung karieshemmender Substanzen eingesetzt (445).



**Abbildung 2-7**

Schematische Darstellung des künstlichen Mundes nach *Pigman* (442).

Seither ist es zu einer Reihe von Weiterentwicklungen gekommen (578). Sterile Verhältnisse, die bei den ersten Apparaturen noch keine Berücksichtigung fanden, sind seit den Arbeiten von *Russell* und *Coulter* obligat (467). Zur Sterilisation der Zahnproben sind verschiedene Verfahren beschrieben worden (z. B. Alkohollagerung, Autoklavieren). In einer Vergleichsstudie kamen *Toro et al.* zu dem Schluss, dass der Sterilisation mit Hilfe von Ethylendioxid bei In-vitro-Untersuchungen heute der Vorrang gegeben werden sollte (601). Eine konstante Temperaturführung des Versuchsablaufs ist seit *Jordan* und *Keyes* (248) von allen Autoren beschrieben

worden. Die Einführung der Schlauchpumpe ermöglichte sowohl eine über die Zeit gleich bleibende Drainage als auch eine intermittierte Flussrate [seit (467)]. Erste Automatisierungsbemühungen finden sich bereits in dem von *Pigman* et al. beschriebenen Basismodell (Abbildung 2-7). Durch die Einrichtung eines Siphons kam es nach Überschreiten eines bestimmten Flüssigkeitsspiegels im Reaktionsgefäß zu einem automatischen Ablauf (442). *Dibdin* et al. beschreiben eine Computersteuerung mit pneumatischen Schaltern (98). Moderne Systeme beinhalten eine z. T. komplexe Computersteuerung mit integrierter Messwertverarbeitung (643).

Eine Reihe von Apparaturen ist zur Erzeugung initialer kariesähnlicher Läsionen genutzt worden (112, 315, 411-413, 487, 488, 492, 516, 517). Für einige Apparaturen wurde auch eine Nutzung zur Untersuchung von Sekundärkaries beschrieben (97, 139, 165, 166, 489). Bei künstlichen Mundhöhlen zur Karieserzeugung lässt sich zwischen dem Prinzip der „culture bath technique“ und der „dripping technique“ unterscheiden. Während die Proben bei der culture bath technique in eine Nährlösung, die kontinuierlich ausgetauscht wird, eingetaucht sind (112, 139), werden sie bei der dripping technique über verschiedene Tropfspitzen mit den notwendigen Nährlösungen versorgt (96, 98, 488, 535, 538). In Systemen, bei denen die bakteriellen Wechselwirkungen im Vordergrund des Interesses stehen und nicht so sehr die Erzeugung kariesähnlicher Läsionen, wird in der Regel die dripping technique angewendet (535-538).

Bei der dripping technique ist die gleichmäßige Versorgung der einzelnen Proben problematisch. Während einige Autoren das Problem durch die Schaffung mehrerer identischer Probenkammern, die parallel versorgt werden müssen, lösten (98, 463, 535), erreichten andere dies durch die Einrichtung mehrerer Tropfspitzen in einer Kammer (335, 488, 492, 659) oder durch Integration eines Rades, auf dem die Proben unter den Tropfspitzen hindurchrotieren (37, 96, 411).

Im Sinne einer realitätsnahen Simulation wurden von *Fontana* et al. die folgenden Forderungen an ein bakterienbasiertes In-vitro-Kariesmodell (künstliche Mundhöhle) gestellt. Es sollte einfach zu sterilisieren sein; es sollte möglich sein, unter sterilen Verhältnissen während des laufenden Betriebs Manipulationen vorzunehmen; ein einfacher Zugang zu den Proben sollte möglich sein; die Ergebnisse sollten reproduzierbar sein; und es sollte eine optimale Simulation der oralen Umgebung

vorliegen (139). Die meisten künstlichen Mundhöhlen wurden sterilisiert, um durch die Inokulation der gewünschten Keime die Kontamination steuerbar zu gestalten; generell wurde jedoch immer wieder die Problematik der Fremdkontamination beschrieben (139, 578). Dies mag auch der Grund dafür sein, dass eine Manipulation der Proben während des laufenden Betriebs eines Systems als wenig praktikabel eingeschätzt wird (139).