

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

DISSERTATION

**In-vitro-Studie über die Wirkung von Speichelersatzmitteln auf
artifizielle, bovine Dentinläsionen**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Serina Wismach
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. Dr. h. c. A. M. Kielbassa
2. Prof. Dr. H.-G. Schaller
3. Prof. Dr. Chr. Splieth

Datum der Promotion: 03.06.2012

Widmung

Ich widme diese Arbeit meinen Eltern, die mich immer unterstützt haben.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
2	Literaturübersicht	7
2.1	Dentin	7
2.1.1	Ätiologie der Karies	8
2.1.2	Histologie der Karies	8
2.1.3	Vergleich von humaner und boviner Zahnhartsubstanz.....	10
2.2	Hyposalivation	10
2.2.1	Ursachen der Hyposalivation.....	11
2.2.2	Therapie der Hyposalivation.....	12
2.3	Der humane Speichel	13
2.3.1	Kalzium-Phosphatkonzentration des menschlichen Speichels.....	14
2.3.2	Die Sättigung von Hydroxylapatit in wässrigen Lösungen.....	15
2.3.3	Speichelproduktion	16
2.3.4	Histologie der Speicheldrüsen.....	17
2.3.5	Unterschiede der großen Mundspeicheldrüsen.....	18
2.4	Speichelersatzmittel	18
2.4.1	Subjektive Empfindung (Xerostomie) der Mundtrockenheit.....	20
3	Ziel der Arbeit und Arbeitshypothese	22
4	Material und Methoden	23
4.1	Herstellung der Dentinproben	23
4.2	Demineralisation der Dentinproben	24
4.3	Lagerung der Dentinproben in den Speichelersatzlösungen	25
4.4	Vorbereitung der Dentinproben für die Mikroradiografie	27
4.5	Transversale Mikroradiografie	28
4.6	Vorgehensweise bei der mikroradiografischen Auswertung	30
4.7	Statistische Auswertung	30
4.8	Ermittlung der Phosphat- und Kalziumkonzentration	31
4.9	Bestimmung der Sättigung der verwendeten Speichelersatzmittel	31
5	Ergebnisse	33
5.1	Quantitative Auswertung Mineralverlust	33
5.2	Quantitative Auswertung der Läsionstiefe	36

5.3	Qualitative Auswertung	38
5.4	Ionenkonzentration und Sättigung der verwendeten Speichel- ersatzmittel.....	43
6	Diskussion	45
7	Schlussfolgerungen.....	51
8	Zusammenfassung.....	52
9	Abstract.....	53
10	Literaturverzeichnis	54
11	Anhang.....	59
	11.1 Abkürzungsverzeichnis.....	59
	11.2 Liste der verwendeten Materialien	61
	11.3 Danksagung	63
	11.4 Lebenslauf.....	64
	11.5 Eidesstattliche Erklärung.....	65

1 Einleitung

Die Bedeutung des Speichels und dessen unterschiedliche Funktionen werden erst in ihrem vollen Ausmaß ersichtlich, wenn eine ausreichende Speichelproduktion ausbleibt. Das subjektive Empfinden einer Mundtrockenheit wird als Xerostomie bezeichnet, während man erst nach objektiven Tests der Speichelproduktion und dadurch bewiesener Unterproduktion von einer Hyposalivation spricht [Fejerskov & Kidd 2008].

Die Xerostomie führt zu Beeinträchtigungen bei der Mastikation, im Geschmacksempfinden, beim Schlucken und auch beim Sprechen. Des Weiteren kommt es durch das Ausbleiben einer ausreichenden Befeuchtung der oralen Hart- und Weichgewebe zu Dysfunktionen wie verminderter Selbstreinigung und antibakterieller Wirkung, Remineralisierungsstörungen sowie verminderter Pufferkapazität. Darauf folgt häufig eine rasche Zerstörung der Dentition [Tschoppe & Kielbassa 2011].

Es gibt unterschiedliche Ursachen, die eine Hyposalivation hervorrufen können: das Sjögren-Syndrom, die altersbedingte (echte) Unterfunktion der Speicheldrüsen sowie das Auftreten als Nebenwirkung von zahlreichen Medikamenten. Darüber hinaus kann es infolge einer tumortherapeutischen Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich zu einer irreversiblen Schädigung der Speicheldrüsen und somit zu einer ausgeprägten Mundtrockenheit kommen [Imfeld 1984; Kielbassa et al. 2006].

Da es keine Möglichkeit einer Therapie der Ursachen gibt, versucht man durch eine symptomatische Behandlung die Symptome der betroffenen Patienten zu lindern [Meyer-Lueckel & Kielbassa 2002]. Gustatorische und mastikatorische Stimuli sowie die Einnahme von Cholinergika können eine Linderung erzielen [Sreebny 1989]. Um eine langanhaltende Befeuchtung zu erzielen, empfehlen viele Autoren die Anwendung von Speichelersatzmitteln [Meyer-Lueckel & Kielbassa 2002; Zimmermann et al. 1998]. Einige Speichelersatzmittel zeigen jedoch ein demineralisierendes Potential auf die Zahnhartsubstanzen und sind hinsichtlich Kalzium-Phosphat-Komplexen untersättigt [Tschoppe & Kielbassa 2011]. Das optimale Speichelersatzmittel sollte eine ausreichende Substantivität aufweisen, um die Symptome langanhaltend zu lindern. Außerdem sollte es weder die Zahnhartsubstanzen noch die oralen Weichgewebe schädigen. Es sollte initiale Demineralisationen remineralisieren und somit eine kariesprophylaktische Wirkung haben [Joyston-Bechal & Kidd 1987; Meyer-Lueckel & Kielbassa 2002].

In dieser Studie wurden verschiedene kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel getestet, um zu untersuchen, ob ihre remineralisierende bzw. demineralisierende Wirkung auf demineralisiertes Dentin von der Konzentration verschiedener Kalzium-Phosphat-Verbindungen beeinflusst wird. Eine besondere Bedeutung kommt der Sättigung an Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD) zu.

2 Literaturübersicht

2.1 Dentin

Das Dentin bildet den größten Teil des menschlichen Zahnes. Es umgibt die Pulpa und wird in zwei Bereiche unterteilt: Das Wurzel dentin wird von Zahnzement umhüllt, während das koronale Dentin mit dem Zahnschmelz bedeckt ist [Schroeder 1992]. Die Bestandteile sind zu 70 Gewichtsprozent (Gew.%) anorganisch und zu 20 Gew.% organisch. Der Mineralanteil besteht wie auch bei Zahnschmelz aus Hydroxylapatit, die Kristalle sind jedoch sehr viel kleiner. Die hexagonalen Dentinkristalle sind 3-30 nm breit und ca. 50 nm lang. Daraus ergibt sich eine wesentlich größere Oberfläche im Verhältnis zu der Kristallgröße und somit eine stärkere Reaktivität. Das organische Material besteht hauptsächlich aus Kollagenen, die in Form einer Tripelhelix aus drei miteinander verschlungenen Polipeptidketten vorliegen. Diese Helices sind im Durchschnitt 300 nm lang, mit einem Durchmesser von 1,5 nm. Des Weiteren enthält die organische Matrix viele nichtkollagene Bestandteile wie z. B. Phosphoproteine, Phospholipide und Proteoglykane, die ihre Eigenschaften bestimmen. Die Kollagenmatrix hält die Apatitkristalle zusammen, aufgrund dieser Struktur besteht ein Synergismus zwischen den beiden Phasen. Der Mineralanteil kann während eines pH-Wert Abfalles nur teilweise gelöst werden, während die Matrix nicht von Enzymen verdaut werden kann, wenn sie mit Apatitkristallen bedeckt ist [Fejerskov & Kidd 2008].

Dentin wird von Odontoblasten gebildet; die Odontoblastenkörper befinden sich in der Pulpa und gehören zu deren Zellen. Die Odontoblasten sind ein wesentlicher Bestandteil der Pulpa-Dentin-Einheit, die als lebendes Gewebe, das spezifische Abwehrreaktionen gegen externe Reize ausübt, aufgefasst wird [Fejerskov & Kidd 2008]. Die Odontoblasten unterhalten auch nach Abschluss der Zahnbildung den Dentinmantel physiologisch und können diesen durch sekundären und z. T. auch tertiären Dentinanbau verstärken. Ihre Fortsätze durchziehen das gesamte Dentin vom pulpanahen Prädentin bis an die Schmelz-Dentin- bzw. an die Dentin-Zement-Grenze [Schroeder 1992].

Die Dentinkanälchen sind im koronalen Bereich s-förmig gekrümmt; im Wurzelbereich verlaufen sie gradlinig nach außen. An der Grenze zur Pulpa liegt das noch nicht vollständig ausgereifte hypomineralisierte Prädentin. Darauf folgt das Zwischendentin, das zircumpulpale Dentin und schließlich das Manteldentin. Des Weiteren gibt es das peritubuläre Dentin, welches die Dentinkanälchen umgibt und das intertubuläre Dentin, welches die Dentinkanälchen voneinander trennt. Durch den Zeitpunkt der Entstehung unterscheidet man Primärdentin, welches bis zum Abschluss des Wurzelwachstums entsteht. Sekundärdentin wird im Anschluss regulär gebildet.

Tertiärdentin, auch als Reizdentin bezeichnet, entsteht aufgrund von äußeren Reizen und bildet eine lokale Abwehrbarriere [Hellwig et al. 2007].

2.1.1 Ätiologie der Karies

Die Karies ist die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanz. Die heute allgemein akzeptierte Theorie der Kariesentstehung ist die von Miller 1898 vorgestellte und später von anderen Wissenschaftlern verifizierte und erweiterte chemoparasitäre Theorie. Diese besagt, dass kariogene Mikroorganismen der Mundhöhle (Plaque) bei einem Überangebot an kariogenem Substrat organische Säuren produzieren. Wirken diese lange genug auf die Zahnhartsubstanz (Wirt) ein, so führen sie zu einer Demineralisation. Neben diesen drei Hauptfaktoren existieren zahlreiche sekundäre Faktoren (Abb. 1), die zur Entstehung und Progression einer kariösen Läsion beitragen können [Hellwig et al. 2007].

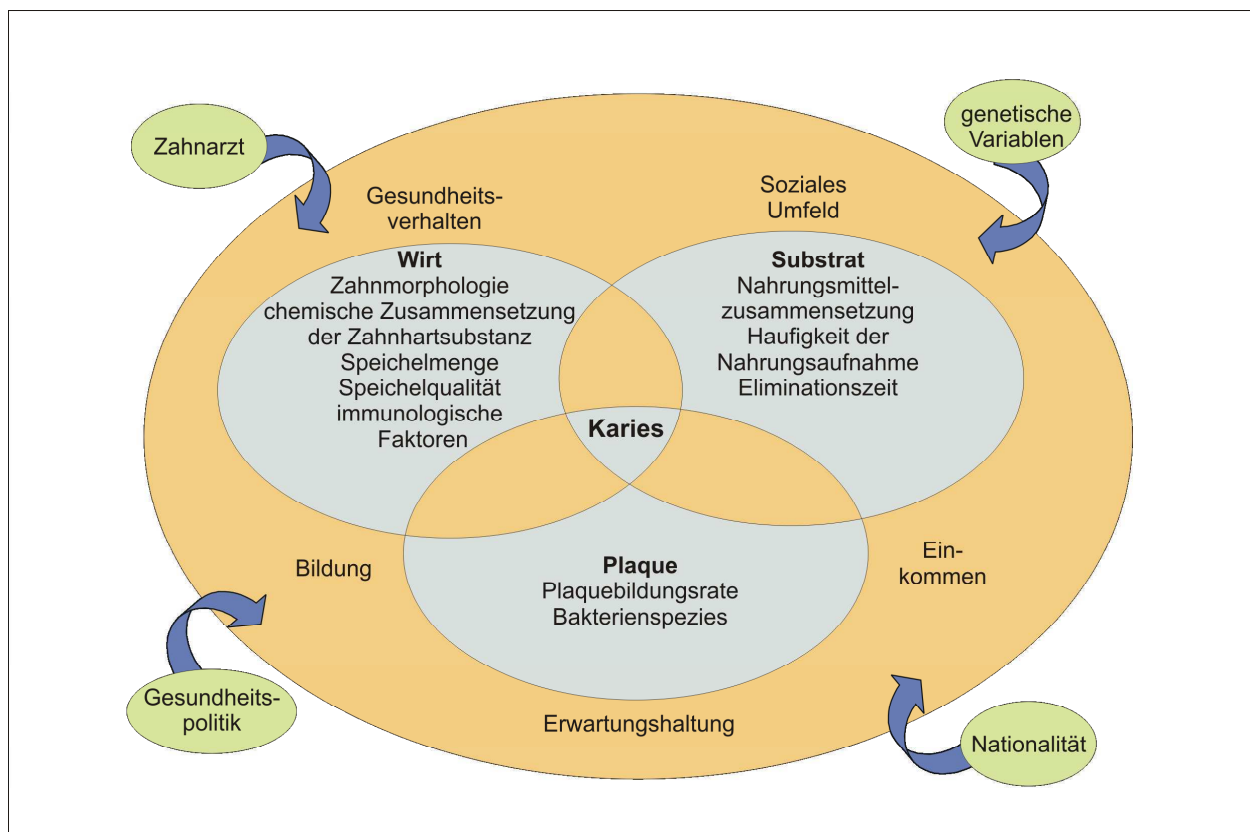


Abb. 1: Schematische Darstellung der ätiologischen Faktoren, die für die Entstehung einer Karies verantwortlich sind (Abbildung modifiziert nach [Fejerskov & Manji 1990], übernommen in Anlehnung an [Hellwig et al. 2007]).

2.1.2 Histologie der Karies

Die Dentinkaries verläuft im Manteldentin nach lateral. Sie folgt dem Verlauf der Dentinkanälchen und bildet somit eine kegelförmige Gestalt. Durch bakterielle Toxine

und Enzyme, die durch die Dentinkanäle diffundieren, beginnen die Odontoblasten mit der Produktion des Tertiärdentins an der Pulpa-Dentin-Grenze (Abb. 2).

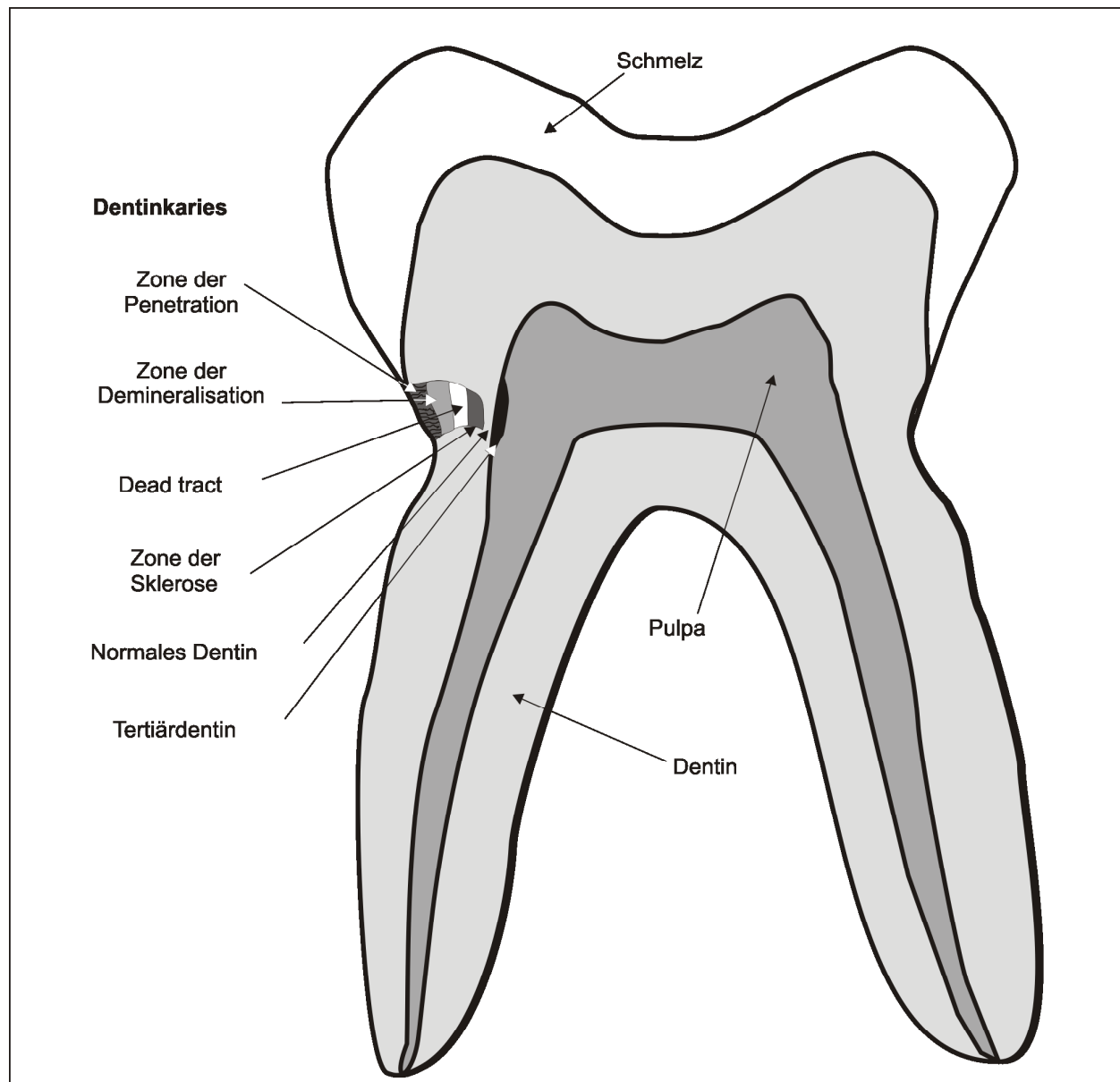


Abb. 2: Zonen der Karies

Von der Pulpa aus betrachtet folgt eine Schicht normalen Dentins, an die sich sklerotisches Dentin anschließt. Hier kommt es zu einer Obliteration der Dentinkanälchen, Anlagerungen von peritubulärem Dentin sowie zum Zurückweichen und teilweiser Mineralisation der Odontoblastenfortsätze. Es folgen der „dead tract“, in dem keine Odontoblastenfortsätze mehr existieren und die Zone der Demineralisation. Bei einer fortgeschrittenen Dentinkaries entstehen zwei weitere Zonen in der Peripherie. Hier ist zunächst die Zone der Penetration erkennbar, in der Bakterien bereits in die Dentinkanälchen eingedrungen sind. Ihre Stoffwechselprodukte führen zu ampullenförmigen Auftreibungen sowie Spalten im Bereich der Wachstumslinien. Darauf folgt die

Zone der Nekrose, in der das Dentin erweicht bzw. verflüssigt ist. Diese Masse besteht aus nekrotischem Dentin, vitalen und devitalen Mikroorganismen sowie deren Enzymen und Stoffwechselprodukten [Hellwig et al. 2007].

2.1.3 Vergleich von humaner und boviner Zahnhartsubstanz

In ihrer chemischen Zusammensetzung, der Struktur sowie der nahezu identischen physikalischen Eigenschaften entsprechen bovine Zahnhartsubstanzen weitgehend denen des Menschen [Esser 1998]. Ihr Fluoridgehalt (204 ppm) weicht jedoch von dem in humanem Zahnschmelz (1326 ppm) ab [Mellberg & Loertscher 1974]. Bovine Zähne besitzen größere Apatitkristalle und eine erhöhte Porosität [Oesterle et al. 1998].

In einer Studie über die radiologische Dichte der Zahnhartsubstanzen wurden Zahnschmelz und Dentin verschiedenen Ursprungs, human, bovin und porcine verglichen. Die humanen Zahnhartsubstanzen erreichten höhere Werte für die radiologische Dichte als diejenigen tierischen Ursprungs, jedoch konnte bei isolierter Betrachtung des Zahnschmelzes und des Dentins zwischen den bovinen und humanen Materialien kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Die porcinen Zahnhartsubstanzen hingegen hoben sich im Vergleich deutlicher in ihren Eigenschaften ab [Fonseca et al. 2004].

Eine weitere Studie, in der Anzahl und Größe der Dentinkanäle von humanem und bovinem Dentin durch Scanning in einem Elektronenmikroskop verglichen wurden, zeigte, dass es keine signifikanten Unterschiede in Anzahl und Größe der Dentinkanäle bei humanem und bovinem koronalem Dentin gibt. Das bovine Wurzeldentin hingegen zeigt eine signifikant höhere Dichte der Dentinkanäle als humanes Wurzeldentin [Schilke et al. 2000].

2.2 Hyposalivation

Der häufig verwendete Begriff Xerostomie beschreibt lediglich die subjektive Empfindung einer ungenügenden Speichelproduktion. Eine Hyposalivation besteht, wenn bei einem objektiven Test des unstimulierten Speichelflusses eine Sekretion von weniger als 0,1 ml/min festgestellt wird [Fejerskov & Kidd 2008]. Dabei weist die Speichelfließrate bei verschiedenen Individuen sehr starke Unterschiede auf und hängt von vielen Faktoren ab. Beeinflusst wird sie z. B. vom Grad der Hydratation, der Körperposition, der Aussetzung gegenüber Licht, einer vorheriger Stimulation, dem Herzrhythmus und der Größe der Speicheldrüsen [Dawes 2008]. Darüber hinaus ist die Speichelfließrate während der Nahrungsaufnahme abhängig von der jeweiligen Nahrung [Watanabe & Dawes 1988]. Des Weiteren ist eine niedrige oder hohe

Speichelsekretion weniger wichtig als der Nachweis, dass sich die Sekretion eines Individuums verändert hat. Dies erweist sich jedoch meist als schwierig, denn eine Messung der Speichelfließrate gehört nicht zu den Standarduntersuchungen. So findet die Messung zumeist erst dann statt, wenn der Patient Beschwerden äußert. Aus diesem Grund gibt es in der Regel keine Vergleichswerte, die vor dem Auftreten der Xerostomie des Patienten aufgezeichnet wurden [Edgar et al. 2004].

Eine verminderte Speichelmenge verursacht erhebliche Beschwerden und Einschränkungen der oralen Funktionen. Die Folge sind Schwierigkeiten beim Kauen, Schlucken und Sprechen. Die Patienten leiden unter Rissen in der Mundschleimhaut und der Lippen, und sie beklagen Geschmacksveränderungen [Meyer-Lueckel & Kielbassa 2002].

Durch eine bestehende Hyposalivation verändert sich die Zusammensetzung des verbleibenden Speichels. Die Viskosität nimmt zu, während die Pufferkapazität absinkt. Des Weiteren verändern sich die Elektrolytkonzentration sowie die allgemeinen und immunologischen bakteriellen Abwehrsysteme. Diese Veränderungen können zu ernsthaften Konsequenzen für die orale Gesundheit führen [Tschoppe et al. 2010].

2.2.1 Ursachen der Hyposalivation

Eine Mundtrockenheit wird häufig bei älteren Menschen festgestellt. Besonders betroffen sind hospitalisierte Patienten im hohen Alter [Pajukoski et al. 2001]. Darüber hinaus leiden viele Patienten mit fortgeschrittenem Tumorleiden unter Hyposalivation, wobei die Hauptursache die Einnahme diverser Medikamente darstellt [Davies et al. 2001; Scully 2003]. Infolge einer tumortherapeutischen Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich kommt es zu einer ausgeprägten Mundtrockenheit [Guchelaar et al. 1997].

Tabelle I Medikamente die eine Hyposalivation verursachen können

Medikamente mit anticholinergischer Wirkung	Medikamente mit sympathomimetischer Wirkung	Andere Medikamente
Atropin und Anticholinergika (muskarinartig)	Abschwellende Medikamente	Lithium
Trizyclische Antidepressiva	Bronchospasmolytikum	Omeprazol (PPI)
Antidepressiva	Appetitzügler	Oxybutynin (Parasympatholytikum)
Serotonin-Wiederaufnahmehemmer	Amphetamine	Disopyramid (Antiarrhythmikum)
Antihistaminika		Didanosin (Virostatikum)
Antiemetika		Diuretika
Antipsychotika		Proteaseinhibitoren

Hohe Bestrahlungsdosen in diesen Bereichen können jedoch nicht nur zu Hyposalivation führen, sie können auch eine Mukositis, Geschmacksverlust, Trismus sowie Osteoradionekrosen verursachen [Kielbassa 2004; Kielbassa et al. 2006]. Abgesehen von der Reduktion der produzierten Speichelmenge verändert sich der Speichel durch Radiotherapie in seiner Zusammensetzung. Das Sekret wird visköser und der pH-Wert sinkt in saure Bereiche ab [Hannig et al. 2006; Momm et al. 2005].

Das Sjögren-Syndrom ist eine weitere Ursache, die zu einer ausgeprägten Hyposalivation führt. Es handelt sich um eine chronische Autoimmunerkrankung, die sich auf die Speicheldrüsen sowie auf die Tränendrüsen auswirkt. Die erste Beschreibung dieser Erkrankung gab Mikulicz 1892 anhand des Krankheitsbildes eines 42-jährigen Mannes mit bilateraler Schwellung der Parotis und der Glandulae lacrimalis. Der Begriff Mikulicz-Syndrom war jedoch sehr unspezifisch definiert und konnte für unterschiedliche Infektionen und andere Erkrankungen verwendet werden. Es gab keine ausreichenden diagnostischen und therapeutischen Informationen. Der dänische Ophthalmologe Henrik Sjögren beschrieb 1933 19 Fälle von Mundtrockenheit mit gleichzeitigem Mangel an Tränenflüssigkeit, von denen 13 auch unter rheumatoider Arthritis litten. Sjögren führte den Begriff Keratokonjunktivitis sicca ein, um die Erkrankung von Xerophthalmia durch Vitamin A-Mangel abzugrenzen [Fox 2005]. Heute unterscheidet man zwischen zwei Formen des Sjögren-Syndroms. Die primäre Form ist definiert durch ihre zwei Leitsymptome, Keratokonjunktivitis sicca mit Austrocknen der Hornhaut und verminderter Speichelsekretion mit Mundtrockenheit. Bei der sekundären Form, auch Sicca-Syndrom genannt, besteht zusätzlich eine rheumatische Arthritis oder eine andere Kollagenose [Reichert et al. 2002].

2.2.2 Therapie der Hyposalivation

Aufgrund bisher fehlender kausaler Therapiemöglichkeiten, beschränkt sich das Behandlungsziel auf die symptomatische Erleichterung der Mundtrockenheit [Meyer-Lueckel & Kielbassa 2002].

Wenn eine Restaktivität der Speicheldrüsen vorhanden ist, kann mit Cholinergika wie Pilocarpin behandelt werden. Dabei sollte sehr vorsichtig vorgegangen werden, da systemisch wirkende Speichelstimulanzien häufig zu nachteiligen Nebenwirkungen führen [Sreebny 1989]. Als gustatorisch-mechanische Reize behelfen sich einige Patienten mit Kaugummi, Bonbons, Süßigkeiten oder Zitronensäure. Dieses führt nicht selten beim bezahnten Patienten zu Erosionen und Demineralisationen der Dentition, beim unbezahnten Patienten zu Irritationen der Mundschleimhaut. Deshalb sollten diese Stimuli in der Regel nicht empfohlen werden [van der Reijden et al. 1999].

Beim Kaugummikauen beobachtet man nach 1 Minute einen Höchstwert der Speichelflussrate (0,49 ml/min), die im Vergleich zu unstimuliertem Speichelfluss um das vier- bis 13-fache erhöht ist. Nach 10 Minuten fällt der Speichelfluss auf eine relativ konstante Menge des zwei- bis vierfachen einer unstimulierten Speichelflussrate [Rosenhek et al. 1993]. Eine weitere Therapiemöglichkeit stellt die Akupunktur dar. Durch Akupunktur können verschiedene Bereiche des Gehirns aktiviert werden, und dadurch wird eine erhöhte Speichelproduktion erzeugt [Deng et al. 2008].

Wenn jedoch nur eine sehr geringe Restaktivität der Speicheldrüsen vorhanden ist oder die Speichelproduktion vollständig zum Erliegen gekommen ist, bietet der Gebrauch von Speichelersatzmitteln eine gute Alternative (siehe Kapitel 2.4).

2.3 Der humane Speichel

Der Speichel stellt ein wichtiges natürliches Schutzsystem dar und übt zahlreiche Funktionen aus (Tab. II). Nach dem Schlucken verbleibt nur eine kleine Menge (0,8 bis 1,0 ml) in der Mundhöhle. Diese reicht aus, um die gesamte Oberfläche mit einem dünnen Speichelfilm zu benetzen. Diese Schicht verhindert ein Verkleben der Schleimhäute und bietet gleichzeitig Schutz gegen mechanische, thermische und chemische Reize. Die Gesamtflüssigkeit ist an der Reinigung und Befeuchtung der Mundhöhle sowie der Verdünnung und Auflösung von Geschmacksstoffen durch ihre Spülfunktion beteiligt [Edgar et al. 2004].

Tabelle II Speichelfunktionen

Zähne				Nahrung			Bakterien		
Befeuchtung	Remineralisation	Demineralisationschutz	Puffer-	Bolus	Geschmack	Verdauung	Anti-bakteriell	Anti-viral	Anti-fungal
Prolinreiche	Prolinreiche	Muzin	Bi-karbonat	Muzin	Zink	Amylase	Muzin	Muzin	
Glykoproteine	Proteine		Phosphat			DN-Ase	Lysozym	Cystatin	
Muzin	Statherine		Proteine			RN-Ase	Lactoferrin	Immunglobulin	
	Kalzium					Lipase	Peroxidase		
	Phosphat					Protease	Histamin		
							Agglutinin		
							Cystatin		

Im Speichel befinden sich zwei Puffersysteme, der Phosphatpuffer und der Bikarbonatpuffer. Diese dienen der Pufferung von Säuren, der Erhaltung eines neutralen pH-Wertes und wirken somit der Kariesentstehung entgegen. Ferner ist der Speichel eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung, die zusätzlich auch Fluoride und Statherine enthält. Speichel ist damit eine natürliche Remineralisationslösung. Eine

Beschichtung der oralen Oberflächen wird hauptsächlich durch das Glykoprotein Muzin gewährleistet [Edgar et al. 2004]. Die Beteiligung an der Pellicle-Bildung erfolgt durch Glycoproteine, Phosphorproteine und Lipide [Fejerskov & Kidd 2008]. Antibakterielle Aktivität sowie die Andauung von Nahrung wird durch zahlreiche Proteine erreicht (Tab. III). Durch Koagulations- und Wachstumsfaktoren wird die Wundheilung gefördert. Des Weiteren kann der Wasserhaushalt zu einem gewissen Ausmaß über die Speicheldrüsen reguliert werden [Hugger et al. 2006].

2.3.1 Kalzium-Phosphatkonzentration des menschlichen Speichels

Die Kalziumkonzentration im Speichel erhöht sich etwas von unstimulierter zu stimulierter Sekretion, bleibt jedoch meist in einem Bereich von 1-2 mmol/l. Ungefähr 20% des Kalziums sind an Statherine und prolinreiche Proteine gebunden. Der Rest kann in eine ionisierte und eine nicht ionisierte Form unterteilt werden. Unter physiologischen Bedingungen sind beide Formen in gleicher Menge vorhanden. Das Gleichgewicht der beiden Formen hängt jedoch vom pH-Wert und der Ionenstärke ab. Die freie und die ionisierte Kalziumkonzentration entsprechen bei einem bestimmten pH-Wert und einer definierten Ionenstärke der Kalziumaktivität des Speichels. Addiert man zusätzlich die gebundene Kalziummenge, so erhält man die Gesamtkonzentration an Kalzium [Fejerskov & Kidd 2008]. Das freie Kalzium ist mehr oder weniger stark an anorganische Ionen wie Phosphat und Bikarbonat sowie an kleine organische Ionen gebunden [Lagerlof & Lindqvist 1982]. Wenn der pH-Wert und die Ionenstärke bei einer hohen Speichelflussrate zunehmen, liegt mehr Kalzium in der freien Form vor [Fejerskov & Kidd 2008].

Anorganisches Phosphat ist im Speichel als Phosphorsäure (H_3PO_4), Dihydrogenphosphat (H_2PO_4^-), Hydrogenphosphat (HPO_4^{2-}) und Phosphat (PO_4^{3-}) enthalten. Auch das anorganische Phosphat liegt zu einem Teil ionisiert und zum anderen Teil gebunden vor. Je niedriger der pH-Wert ist, desto geringer ist auch die Konzentration an Phosphat (PO_4^{3-}) und desto höher ist die Konzentration an Phosphorsäure (H_3PO_4). Die Konzentration der verschiedenen Formen hängt vom pH-Wert und von einer Dissoziationskonstanten (pK) für jedes der drei Gleichgewichte des Phosphatpuffersystems ab. Die Gesamtkonzentration des anorganischen Phosphates nimmt stark ab, wenn die Speichelflussrate zunimmt. Die Konzentration kann von ca. 10 mmol/l auf 2-4 mmol/l absinken. Deshalb wird die Gesamtkonzentration an organischem Phosphat von der Speichelflussrate bestimmt, die Konzentration an Phosphat (PO_4^{3-}) wird jedoch durch den pH-Wert bestimmt. Folglich ist ein niedriger pH-Wert stärker schädigend für die Zähne als eine niedrige Gesamtkonzentration an Phosphaten im Speichel [Fejerskov & Kidd 2008].

2.3.2 Die Sättigung von Hydroxylapatit in wässrigen Lösungen

Die Sättigung einer Lösung bestimmt die Löslichkeit von HAP und anderen Kalzium-Phosphat-Verbindungen (DKPD, OKP) in einer Flüssigkeit. Definiert wird sie von dem Löslichkeitsprodukt (LP) des jeweiligen Apatitkristalles und dem Ionenprodukt (IP) der freien Ionen in der Lösung. Das IP ist das Produkt der Stoffmengenkonzentrationen aller in einem Medium durch elektrolytische Dissoziation gelöster Ionen. Das LP ist das Produkt der Ionenkonzentrationen in der gesättigten Lösung. Für reines HAP (LP_{HA}) bei 37 °C beträgt es $7,94 \times 10^{-60} \text{ mol}^9/\text{l}^9$. Die als Vorstufen des HAP zu sehenden Kalzium-Phosphat-Verbindungen OKP ($2,57 \times 10^{-12} \text{ mol}^9/\text{l}^9$) und DKPD ($2,2 \times 10^{-7} \text{ mol}^9/\text{l}^9$) weisen diesbezüglich einen niedrigeren Wert auf [ten Cate & Arends 1978]. Die genaue Bestimmung des LP der Zahnhartsubstanzkristalle ist schwierig, weil dieses HAP als nicht stöchiometrische Verbindung betrachtet wird, es liegt jedoch unter dem von HAP [Fejerskov & Kidd 2008].

Wenn das IP und das LP_{HA} einer Lösung gleich sind ($IP = LP_{HA}$), wird sie in Bezug auf HAP als gesättigt bezeichnet. Unter diesen Bedingungen ist die Anzahl der in Lösung gehenden Ionen und der an HAP bindenden Ionen gleich groß [Fejerskov & Kidd 2008]. Wenn das IP kleiner als das LP_{HA} ($IP < LP_{HA}$) ist, wird die Lösung in Bezug auf HAP als ungesättigt bezeichnet. Ist das IP größer als das LP_{HA} ($IP > LP_{HA}$), liegt eine übersättigte Lösung vor [Klimm 1997].

Zur Berechnung der Sättigung hinsichtlich verschiedener Mineralien in Lösungen, die für Mineralisationsprozesse der Zahnhartsubstanzen von Bedeutung sind, wurde von Shellis das Ionenprodukt-Programm entwickelt [Shellis 1988]. Bei der Berechnung werden auch Bestandteile der Lösungen, die das Aktivitätsprodukt beeinflussen, auch wenn sie nicht selbst an der Mineralisation beteiligt sind, mit einbezogen. Der Sättigungsgrad (DS) ist definiert durch das Ionenaktivitätsprodukt (IAP) in der Lösung und das Löslichkeitsprodukt (K_s) des Minerals. Soll beispielsweise der Sättigungsgrad von Hydroxylapatit berechnet werden, geschieht dies nach der folgenden Gleichung:

$$DS(HA) = ((Ca^{2+})_5(PO_4^{3-})_3(OH) / K_s(HA))^{1/9}$$

Liegt nach der Berechnung mit dem Ionenproduktprogramm ein Wert von $DS = 1$ vor, bedeutet das, dass die Lösung gesättigt ist und es weder zu einer Präzipitation noch zu einer Auflösung des Kristallkörpers kommt. Ist $DS > 1$, liegt eine übersättigte Lösung vor und die treibende Kraft strebt Richtung Präzipitation. Wenn $DS < 1$ ist, handelt es sich um eine untersättigte Lösung, so dass ein Kristallkörper zur Auflösung tendiert [Shellis 1988].

Tabelle III Zusammensetzung des Speichels [Edgar et al. 2004]

Bestandteile	Stimuliert	Bestandteile	Stimuliert
Wasser	99,5 %		
Festkörper	0,5 %		
Anorganisch (in mmol/l)		Organische	
Natrium	13-80	Proteine (g/l)	1,0-6,4
Kalium	13-38	Serumalbumin (mg/l)	25
Kalzium	0,2-4,7	Gammaglobulin (mg/l)	50
Magnesium	0,2-0,6	Mucoproteine (g/l)	0,45
Chloride	10-56	Amylase (g/l)	0,47
Hydrogencarbonat	4-40	Lysozym (g/l)	0,14
Phosphat	1,5-25	Glucose (mmol/l)	0,02-0,17
Thiozyanate	0,4-3,0	Lipide (mg/l)	20
Iod	2-30	Ammoniak	0,6-7,0
Fluorid	0,8-6,3		

2.3.3 Speichelproduktion

Die Speichelproduktion findet in den drei großen paarigen sowie in weiteren kleinen Speicheldrüsen statt. Die Glandulae parotidaeae sind die größten der Speicheldrüsen. Sie befinden sich in den Parotislogen. Die Glandulae submandibulares liegen im submandibularen Dreieck, und die Glandula sublinguales liegt unter der Mukosa des Mundbodens [Samandari & Mai 1995].

Die Sekretion wird sowohl durch mechanische als auch psychische Reize ausgelöst und durch das autonome Nervensystem kontrolliert. Mechanische Reize aus der Mundhöhle sowie Sinneswahrnehmungen wie Gerüche, Geschmack oder visuelle Reize werden in den jeweiligen Organen erfasst und erreichen über die afferenten Nervenbahnen die superioren und inferioren Nuclei salivatorii. Die nervale Kontrolle der Sekretion ist ein komplexes Zusammenspiel, in dem die sympathischen und parasympathischen Nervenfasern die Azinuszellen ganz unterschiedlich beeinflussen [Rice 1984]. Insgesamt wird pro Tag eine Gesamtmenge von etwa 0,7 l (0,5-1,0 l) sezerniert [Hugger et al. 2006]. Die Speichelfließrate bei mechanischer Stimulation erreicht ein durchschnittliches Maximum von 7 ml/min, während die unstimulierte Speichelproduktion bei durchschnittlich 0,3-0,4 ml/min liegt [Edgar et al. 2004].

2.3.4 Histologie der Speicheldrüsen

Die Zusammensetzung des Speichels variiert in Abhängigkeit von der produzierenden Drüse. Der Speichel aus der Gl. parotis ist serös, von wässriger Konsistenz, während die Gl. submandibularis, sublinguaris und besonders die kleinen mukösen Drüsen ein stark visköses Sekret produzieren. Dies kommt durch den hohen Glycoproteinanteil im Speichel der kleineren Drüsen. Die Histologie der Speicheldrüsen ist unterschiedlich, die Zusammensetzung hängt von der Drüsenart ab [Edgar et al. 2004].

Dennoch gibt es Gemeinsamkeiten der großen Mundspeicheldrüsen. Sie werden von einer Bindegewebskapsel umgeben, von der Bindegewebssepten ins Organinnere ziehen. Ihr Parenchym besteht aus Drüsenendstücken und Ausführungsgängen. Der produzierende Teil der Speicheldrüsen ist das Drüsenendstück, der Azinus, der aus sezernierenden Zellen besteht. Zwischen Zellbasis und Basalmembran kommen Myoepithelzellen vor [Junqueira et al. 1996]. Die Zellen im Azinus umgeben ein Lumen, von dem ausgehend die Sekretion durch das Ausführungsgangsystem verläuft (Abb. 3). In allen Speicheldrüsen existieren drei unterschiedliche Typen von Gangsystemen. Zuerst passiert die Flüssigkeit die Schaltstücke, die ein plattes bis kubisches Epithel und ein enges Lumen aufweisen [Edgar et al. 2004].

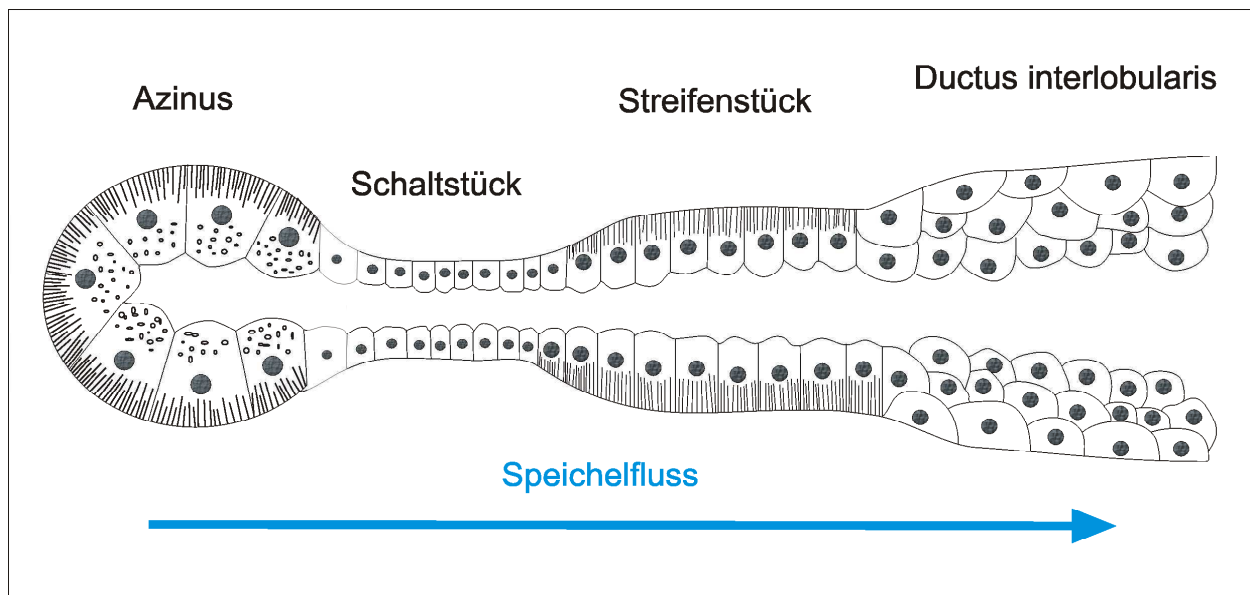


Abb. 3: Schematische Darstellung der Speicheldrüsenanteile in Anlehnung an [Junqueira et al. 1996].

Im Anschluss durchläuft sie die Streifenstücke, die ein einschichtiges iso- bis hochprismatisches Epithel enthalten. Durch Einfaltung der basalen Zellmembran und Mitochondrien in Pallisadenstellung entsteht eine basale Streifung der Zellen. Schließlich fließt das Sekret in den Ductus excretorius, dieser beginnt als Ductus interlobulares und interlobares interlobulär. Ausgekleidet wird er von einem kubischen bis hochprismatischen Epithel mit deutlichen Schlussleisten [Junqueira et al. 1996].

2.3.5 Unterschiede der großen Mundspeicheldrüsen

Die Glandula parotidea ist eine verzweigte azinöse Drüse, deren Drüsenendstück ausschließlich aus serösen Drüsenzellen besteht. Das Drüsenvolumen besteht zu 90 % aus Drüsenzellen, zu 5 % aus Streifenstücken. Den Rest bilden Ausführungsgänge, Bindegewebe, Gefäße und Nerven [Junqueira et al. 1996].

Die Glandula submandibularis ist eine verzweigte tubulo-azinöse Drüse. Es handelt sich um eine gemischte seromuköse Drüse, deren sezernierende Abschnitte sowohl aus mukösen als auch aus serösen Drüsenzellen bestehen. Es überwiegen dabei die serösen Anteile mit 80 % des Drüsenvolumens. Die Anzahl der Schalt- und Streifenstücke ist geringer als bei der Glandula parotidea [Junqueira et al. 1996].

Die Glandula sublingualis ist ebenfalls eine tubulo-azinöse Drüse. Hier überwiegen Endstücke, die ausschließlich aus mukösen Zellen bestehen und 60 % des Drüsenvolumens bilden. Seröse Zellen bilden 30 % und treten fast ausschließlich als seröse Halbmonde in mukösen Endstücken auf. Schalt- und Streifenstücke fehlen fast vollständig [Junqueira et al. 1996].

2.4 Speichelersatzmittel

Speichelersatzmittel sind dazu bestimmt, den Speichel zu ersetzen. Daher sollte dieser künstliche Speichel in seiner Beschaffenheit dem natürlichen Speichel möglichst ähnlich bzw. ebenbürtig sein oder sogar verbesserte Eigenschaften aufweisen. Das erste Speichelersatzmittel wurde 1972 entwickelt; als Basisstoff diente Carboxymethylcellulose (CMC) mit Zusätzen von Kalzium und Phosphat [Matzker & Schreiber 1972]. Später wurden auch andere Stoffe als Basis der unterschiedlichen Speichelersatzmittel verwendet, unter anderem Natrium-Carboxymethylcellulose (Na-CMC), Carboxyethylcellulose (CEC), Hydroxyethylcellulose (HEC), tierisches Muzin, Leinsamenöl, Sorbitol und Polyethylenoxid (PEO). Weitere Unterschiede der künstlichen Speichel sind Zugaben verschiedener Enzyme, organischer Stoffe und nicht zuletzt der pH-Wert [Meyer-Lueckel & Kielbassa 2002].

Eine Schwierigkeit ist es, die Substantivität des natürlichen Speichels in einer künstlichen Substanz nachzuahmen. Am besten ist dies bisher mit Speichelersatzmitteln auf Muzinbasis gelungen [Hatton et al. 1987]. Muzine sind hydrophil, sie enthalten Wasser und sind daher sehr effektiv bei der Benetzung und Aufrechterhaltung einer feuchten mukosalen Oberfläche. Dieses stellt die Voraussetzung einer subjektiv empfundenen Mundgesundheit dar [Fejerskov & Kidd 2008].

In einer Studie wurde die Substantivität von Speichelersatzlösungen auf Muzin- und CMC-Basis mit natürlichem Speichel verglichen. Die Viskosität der Lösung auf

Muzinbasis war geringer als die der CMC-Basis Lösung. Dennoch erzielte das CMC-Derivat keine gute Benetzung der oralen Hartsubstanzen, während die Muzin-Basis-Produkte eine Benetzung vergleichbar mit der des natürlichen Speichels erreichten [Hatton et al. 1987]. Allerdings zeigten die Präparate auf CMC-Basis ein besseres Remineralisationsvermögen als solche auf Muzinbasis [Gelhard et al. 1983].

Ein weiteres Problem stellt die demineralisierende Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen vieler Speichelersatzmittel dar [Kielbassa & Meyer-Lueckel 2001; Kielbassa et al. 2001; Kielbassa 1999; Meyer-Lueckel et al. 2006a]

Es ist wichtig, dass Speichel eine Zusammensetzung hat, welche die Zähne vor Demineralisationsprozessen schützt. Hier wird die Speichelaktivität von Kalzium und Phosphat wichtig, denn beide Ionen stellen einen Teil des Hydroxylapatits ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) dar. Wenn die Ionenaktivität für Kalzium, Phosphat und Hydroxyl bekannt ist, kann das Ionenaktivitätsprodukt für Hydroxylapatit (IAP_{HAP}) im Speichel mit folgender Formel berechnet werden: $\text{IAP}_{\text{HAP}} = (\text{Ca}^{2+})^{10}(\text{PO}_4^{3-})^6(\text{OH}^-)^2$. Aus dieser Formel ist ersichtlich, dass das Ionenaktivitätsprodukt mit zunehmender Aktivität der einzelnen Ionen ebenfalls zunimmt und umgekehrt. Als weiterer Faktor spielt der pH-Wert eine entscheidende Rolle. Sinkt dieser beispielsweise von pH 6 auf pH 5, so wird die Ionenaktivität der Hydroxylionen um ein 10-faches und die der Phosphationen um das 100-fache reduziert, wodurch wiederum das Ionenaktivitätsprodukt für Hydroxylapatit um ein Vielfaches abnimmt [Lagerlof 1983].

Werden zu Lösungen mit niedrigem pH-Wert oder hohem Anteil an titrierbaren Säuren Kalzium, Phosphat und Fluorid hinzugefügt, kann dies einen stabilisierenden Effekt durch die Verminderung der Löslichkeit von Apatit bewirken [Brudevold et al. 1965; Kielbassa et al. 2001; Larsen & Nyvad 1999]. Die initiale Kalzium- und Fluoridanlagerung am Zahnhartgewebe ist abhängig von der Löslichkeit des Zahnhartgewebes und der Konzentration der Fluoridionen. So ist beispielsweise bei einem pH-Wert von 5 eine geringere Konzentration der Ionen nötig, weil die Löslichkeit der Zahnhartgewebe erhöht ist, während bei einem neutralen pH-Wert eine höhere Konzentration benötigt wird. Nach der Initialisierung reichen jedoch geringere Konzentrationen für das Kristallwachstum aus [Larsen & Jensen 1994].

Lösungen, die mit Kalzium, Phosphat und Fluorid übersättigt sind, haben eine remineralisierende Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen [Kielbassa et al. 2001; Shannon & Edmonds 1978]. Es bilden sich Kalzium-Phosphat-Verbindungen, wie das Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD), die Vorstufen des stabileren Hydroxylapatit darstellen. Ihnen kommt eine entscheidende Rolle bei Remineralisationsprozessen zu [Brown 1962; Johnsson & Nancollas 1992].

In der Literatur existieren einige Studien, die sich mit dem Thema der verschiedenen Kalzium-, Phosphat-, und Fluoridkonzentrationen bei unterschiedlichen pH-Werten

befassen. In einer Studie, in der verschiedene Sättigungen von Kalzium und Phosphat in Speichersatzmitteln auf Carboxymethylcellulosebasis untersucht wurden, wurde eine signifikante Abhängigkeit des Mineralverlustes boviner Schmelzproben *in vitro* von der Konzentration an Kalzium, Phosphat und Fluorid sowie dem pH-Wert beschrieben. Mit steigendem Kalzium- und Phosphatgehalt kam es zu einem geringeren Mineralverlust, während Lösungen mit sehr hoher Konzentration an Oktakalziumphosphat eine signifikante Remineralisation erzeugten [Meyer-Lueckel et al. 2007].

In einer anderen Studie zur Untersuchung von Muzinbasisstoffen wurde eine signifikante Abhängigkeit des Mineralverlustes von der Kalziumkonzentration festgestellt, während für Phosphatkonzentration und pH-Wert diesbezüglich keine Beeinflussung nachzuweisen war. Des Weiteren zeigt diese Studie, dass Muzin in der Lage ist, eine Demineralisation teilweise zu hemmen und übersättigte Speichersatzmittel auf Muzinbasis bovinen Schmelz *in vitro* remineralisieren können [Meyer-Lueckel et al. 2006a]. In einer weiteren *in-vitro-Studie* wurde gezeigt, dass Lösungen auf Leinsamenbasis mit einer erhöhten Konzentration von Phosphat, Kalzium und Fluorid in der Lage sind, eine Demineralisation zu inhibieren [Meyer-Lueckel et al. 2006b].

Eine wichtige Bedeutung kommt der Zugabe von Fluoriden zu. Liegt eine geringe Menge von Fluoridionen in einer Lösung vor, kann Hydroxylapatit auch unterhalb seines kritischen pH-Wertes gelöst werden. Die gelösten Ionen können als Fluorapatit oder gemischt als Fluorhydroxylapatit reprecipitieren. Durch diesen Mechanismus wird einerseits ein Mineralverlust verhindert und zusätzlich die Kristallstruktur durch eine äußere fluoridreiche Schicht auf den Apatitkristallen geschützt [Caslavská et al. 1975; ten Cate 1997]. Fluoride sind in der Lage, einer Demineralisation entgegenzuwirken und Remineralisationsprozesse zu fördern [Buchalla et al. 2002; Collys et al. 1990; Fischer et al. 1995; Shannon & Edmonds 1978]. Durch Zugabe von Fluoriden in das Speichersatzmittel Oralube konnte eine Steigerung der Härte im Sinne einer Remineralisation von Zahnschmelz erreicht werden [Shannon & Edmonds 1978].

2.4.1 Subjektive Empfindung (Xerostomie) der Mundtrockenheit

Die Einschätzung der Anwender wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Vissink beschreibt in einer Studie, dass seine Patienten ein Speichersatzmittel auf Muzin-Basis im Vergleich zu einem Produkt auf CMC-Basis bevorzugen. Begründet wird diese Bewertung mit der Wirkung der Produkte. Nach der Einnahme von muzinhaltigen Speichersatzmitteln besteht eine stärkere Verbesserung der oralen Funktion. Die zuvor beklagten Schwierigkeiten beim Sprechen, Schlucken, der Mastikation und

während des Schlafens wurden deutlich gelindert. Auch die Substantivität muzinhaltiger Produkte wurde als besser beurteilt. Nach Einnahme hält die Wirkung 30 Minuten an und erfordert somit eine Gesamtmenge von 40 ml pro Tag, während die künstlichen Speichelersatzmittel auf CMC-Basis nur 10 Minuten in der Mundhöhle verbleiben und hier eine tägliche Menge von 150 ml benötigt wird. Aufgrund der längeren Wirkung der muzinhaltigen Speichelersatzmittel war eine seltenere Einnahme erforderlich, dadurch wurde im sozialen Umfeld weniger Aufmerksamkeit erregt [Vissink et al. 1983]. S'Gravensmade kam zu einem sehr ähnlichen Ergebnis, auch in ihrer Studie bevorzugten die Anwender ein Speichelersatzmittel auf Muzinbasis gegenüber dem auf CMC-Basis. Das Muzinbasisprodukt konnte geschluckt werden, seine Wirkung in der Mundhöhle hielt länger an, es ist geschmacklos oder schmeckt gut, es kam zu keiner Akkumulation in der Mundhöhle, und eine geringere Menge pro Tag war ausreichend [s'Gravenmade et al. 1974].

Im Gegensatz zu den beiden obengenannten Studien zeigte eine aktuelle Studie, dass die meisten Patienten ein Spray auf CMC-Basis im Vergleich zu Produkten auf Cellulosegel-, Öl- oder Muzin-Basis aufgrund des Geschmackes und der leichteren Anwendbarkeit bevorzugen [Momm et al. 2005].

3 Ziel der Arbeit und Arbeitshypothese

Für Patienten, die unter einer Hyposalivation leiden, werden zahlreiche kommerzielle Speichelersatzmittel angeboten. Die künstlichen Speichel sollen die Beschwerden lindern, indem sie die zahlreichen Funktionen des natürlichen Speichels ersetzen. Aktuell gibt es bislang nur wenige Studien, die sich mit der mineralisierenden Wirkung der verschiedenen, kommerziell erhältlichen Speichelersatzmittel auf die Zahnhartsubstanzen beschäftigen. Der größte Teil der Hyposalivationspatienten ist bereits im fortgeschrittenen Alter und weist dadurch meist freiliegende Zahnhälse sowie Abrasionen und Erosionen der Zähne auf. Aus diesem Grund liegt es nahe, auch den Effekt der Speichelersatzmittel auf Dentin zu untersuchen. Ein Speichelersatzmittel sollte keine negativen Auswirkungen auf die oralen Hart- und Weichgewebe verursachen. Wünschenswert wären zudem eine Förderung von Remineralisationsprozessen sowie die Fähigkeit, im gesamten Mundraum einen konstanten neutralen pH-Wert zu erzeugen beziehungsweise diesen nach einem pH-Abfall schnell zu neutralisieren.

Das Ziel dieser Studie war, die mineralisierende Wirkung verschiedener handelsüblicher Speichelersatzmittel auf demineralisiertes bovines Dentin *in vitro* zu untersuchen und die von ihnen erzeugten Effekte zu vergleichen.

Die in dieser Studie zu überprüfende Nullhypothese besagte, dass die verschiedenen Speichelersatzmittel sich hinsichtlich ihrer mineralisierenden Wirkung auf demineralisierte, bovine Dentinproben *in vitro* nicht unterscheiden. Als Arbeitshypothese wurde angenommen, dass die untersuchten Speichelersatzmittel unterschiedliche Auswirkungen auf den Mineralgehalt und die Läsionstiefen von demineralisierten bovinen Dentinproben haben. Unter diesem Aspekt wurde für übersättigte Lösungen hinsichtlich Oktakalziumphosphat eine remineralisierende Wirkung erwartet, während für gesättigte Produkte eine neutrale und für untersättigte Produkte eine demineralisierende Wirkung auf die Dentinproben angenommen wurde.

4 Material und Methoden

4.1 Herstellung der Dentinproben

Zur Herstellung der Dentinproben wurden zunächst ca. 200 Rinderzähne (mittlere Oberkiefer-Incisivi) extrahiert (Schlachthof, Anklamer Fleisch und Wurstwaren, Anklam, Deutschland). Diese wurden sorgfältig von Geweberesten sowie der Pulpa befreit und gereinigt. Anschließend wurden jeweils vier Proben Dentin (max. 5 mm × 3 mm × 3 mm) aus einem bovinen Zahn gewonnen (Abb. 4). Dies geschah unter ständiger Wasserkühlung mittels einer Bandsäge (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Darauf folgte die manuelle Politur der Oberfläche mittels Poliermaschine (Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland) und Schleifpapier aufsteigender Körnung (Körnung 1200, 2400, 4000; Exakt). Die Umdrehungszahl der Poliermaschine betrug 300 U/min. Anschließend wurden jeweils vier Proben mit Hilfe von Silikonformen in einen Kunststoffblock (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) eingebettet. Eine zweite Politur der Oberfläche erfolgte an dem gesamten Block. Danach wurden die Proben bis zum Beginn des Versuches in Aqua dest. (Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) gelagert.

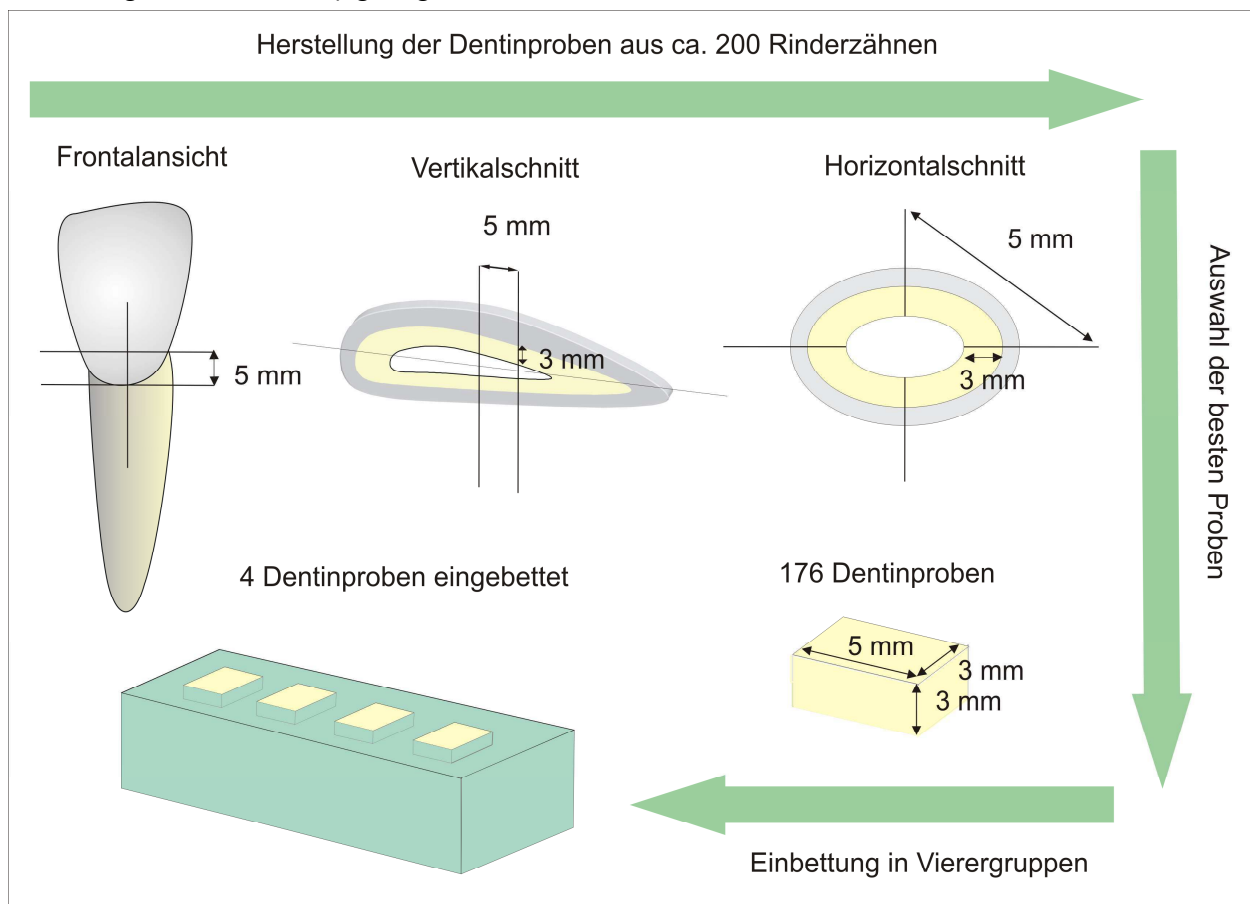


Abb. 4: Herstellung der Proben und Einbettung in Kunststoff

4.2 Demineralisation der Dentinproben

Bevor die Probenblöcke der Demineralisationslösung ausgesetzt werden konnten musste der gesunde Bereich für den späteren Vergleich sowie zwei weitere kleine Bereiche zur Unterscheidung der einzelnen Felder mit Nagellack (Express Finish, Maybelline, New York, USA) abgedeckt werden (Abb. 5).

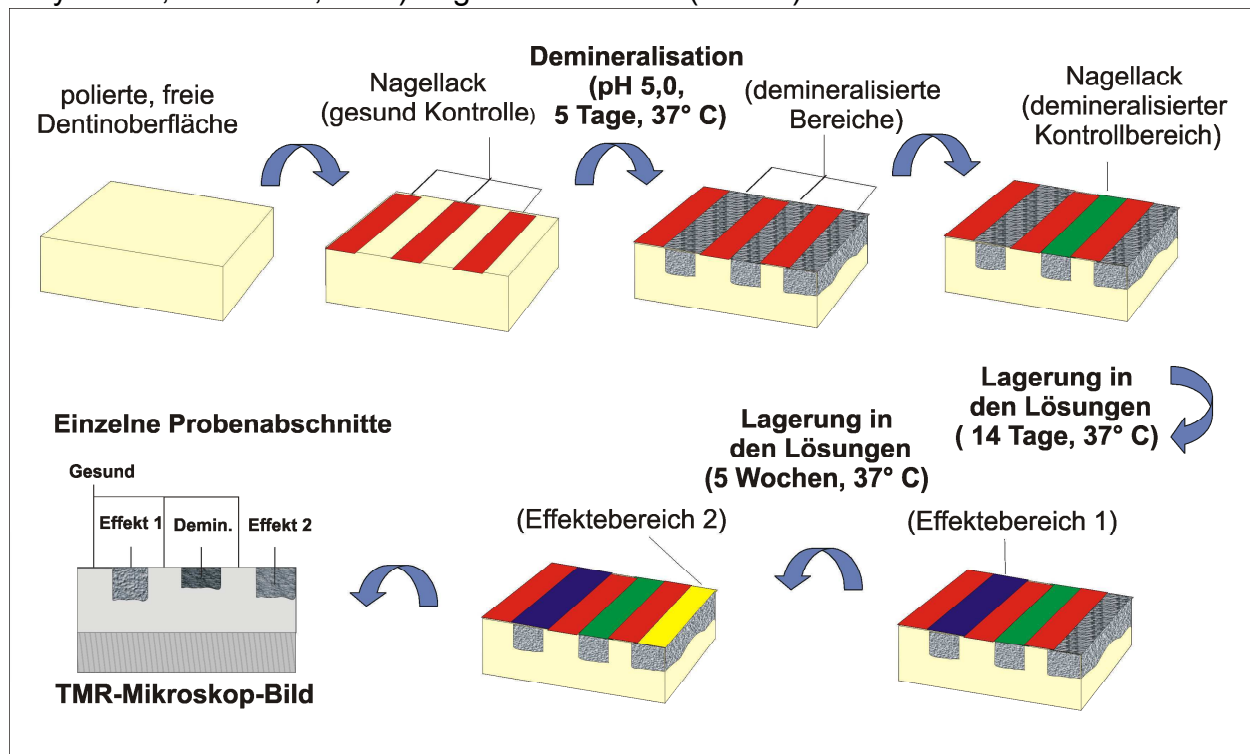


Abb. 5: Schematische Darstellung der Probenaufteilung

Nun wurden die Blöcke für fünf Tage in einer Demineralisationslösung, die in Anlehnung an ten Cate hergestellt wurde, bei 37 °C und einem pH-Wert von 5 in einem Brutschrank (Venticell 404, MMM Medcenter, Planegg, Deutschland) gelagert [ten Cate et al. 1998].

Tabelle IV Zusammensetzung der Demineralisationslösung für bovines Dentin. Lösung für 5 Liter (pH 5,0)

Bestandteile	Form	Menge	Hersteller
F ⁻	0,1 M Standardlsg	0,53 ml	Orion/Thermo Electron Company, Beverly, USA
Ca ²⁺	2,2 mM CaCl ₂ PO ₄ × 2H ₂ O	1616,6 mg	Merck, Darmstadt, Deutschland
PO ₄ ³⁺	2,2 mM KH ₂ PO ₄	1500 mg	Merck, Darmstadt, Deutschland
CH ₃ COOH	50 mM Essigsäure	14,3 ml	Merck, Darmstadt, Deutschland
KOH ad pH 5,0	10 M	ca. 23,5-24 ml	Merck, Darmstadt, Deutschland

Der pH-Wert der Lösung wurde alle 24 Stunden überprüft (GMH 3510; Greisinger Electronic, Regenstauf, Deutschland) und bei Abweichungen neu eingestellt. Dafür wurde, je nach Abfall oder Anstieg des Wertes, 1 molare Kalilauge (10 M; Merck, Darmstadt, Deutschland) oder 10%ige Salzsäure (Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) verwendet. Nach Abschluss der Demineralisation wurde das Kontrollfeld für die Demineralisation ebenfalls mit Nagellack (Express Finish, Maybelline) abgedeckt (Abb. 5).

4.3 Lagerung der Dentinproben in den Speichersatzlösungen

Jeweils vier Blöcke à vier Proben wurden in einem Kunststoffblock (Technovit 4071; Heraeus Kulzer) zusammengefasst (Abb. 6).

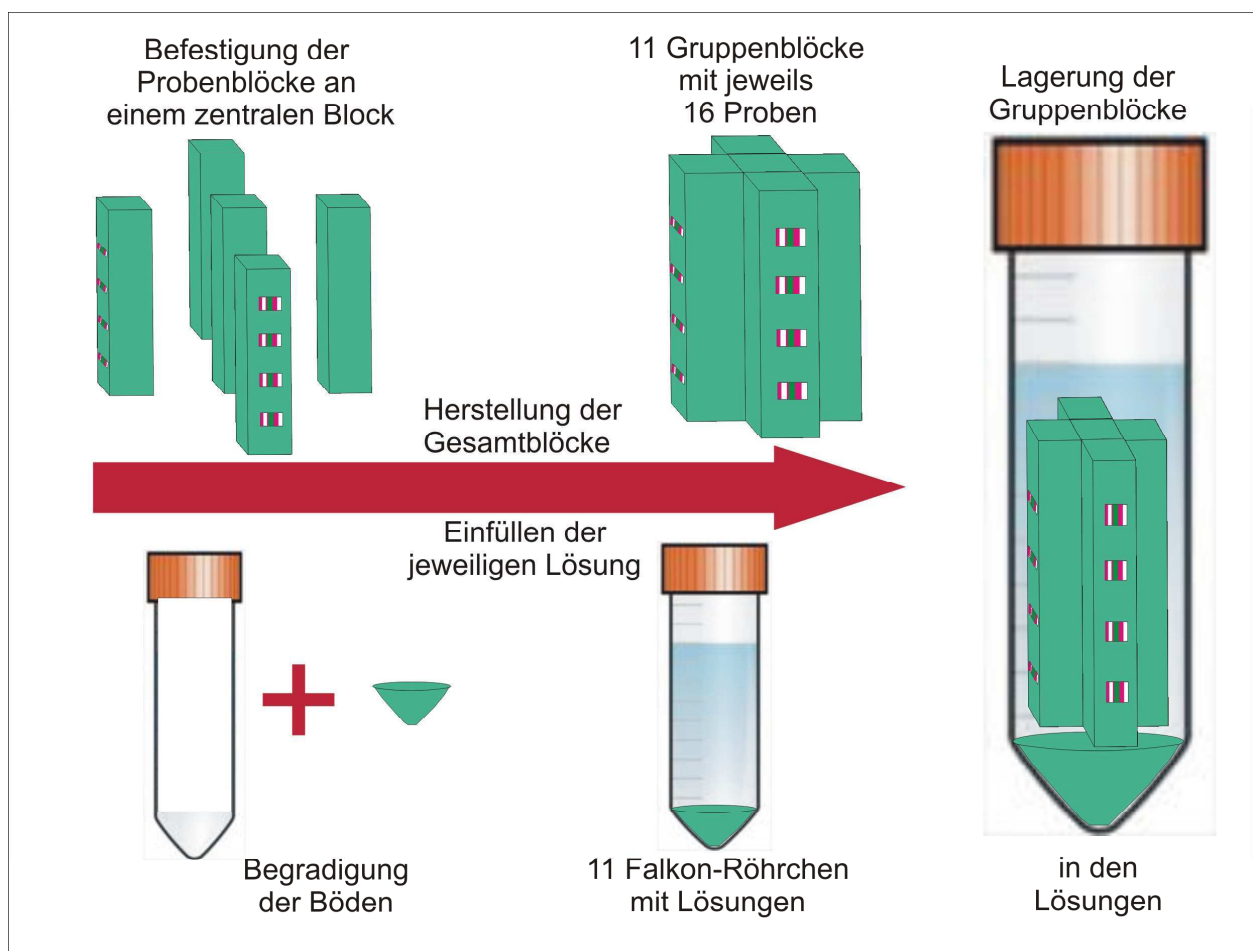


Abb. 6: Schematische Darstellung der Probenlagerung in den Speichersatzmitteln

Es wurden elf Falkon-Röhrchen (Probenröhrchen 50 ml; VWR, Darmstadt, Deutschland) mit Kunststoff (Technovit 4071; Heraeus Kulzer) befüllt, um am Boden eine ebene Fläche zu erzeugen (Abb. 6). Jedes der Röhrchen (Probenröhrchen 50 ml; VWR) diente zur Aufnahme einer Probengruppe. Die Probenröhrchen wurden mit einem wasserfesten Stift beschriftet. Da die Speichersatzmittel für den Untersucher

verblindet waren, konnten für die Beschriftung keine Herstellernamen verwendet werden. Jede Lösung bekam einen Buchstaben von A-K zugeordnet. Anschließend wurden die elf Blöcke à 16 Proben auf die elf Röhren verteilt und mit der entsprechenden Lösung befüllt (Tab. V und VI). Durch diese Methode der Lagerung wurde ein 100%iger Kontakt der einzelnen Probenoberflächen mit den Speichelersatzmitteln sowie der Remineralisationslösung bei minimaler Quantität der Lösungen (ca. 20 ml) erzeugt.

Tabelle V Bestandteile und Konzentration der 10 Speichelersatzmittel

Name	Basis-Stoff	PH-Wert	CaCl ₂ (mg/l)	F ⁻ (mg/l)	K ₂ HPO ₄ (mg/l)	KH ₂ PO ₄ (mg/l)	Weitere Bestandteile
Artisal	Na-CMC*	6,7	166	-	802	326	KCl, NaCl, MgCl ₂ , Parahydroxybenzoat, Sorbit
A.S. Saliva Orthana	Muzin	6,7	150	4,2	350	-	NaCl, MgCl ₂ , Sorbitol, Kaliumthiozyanat, Pfefferminze
Glandosane	Na-CMC	5,1	148	-	348	-	KCl, Salzsäure, NaCl, Sorbinsäure, MgCl ₂ , Sorbitol
Mouth Kote	Muzin	3,1	-	-	-	-	Xylitol, Sorbitol
Oralube	Sorbitol	6,9	60	2,3	665	-	KCl, NaCl, MgCl ₂ , Methylhydroxybenzoat
Saliva natura	Polysaccharid	6,0	-	-	-	-	Sorbitol, Xylitol, Natriumhydroxid, Natriumbenzoat
Saliva natura modifiziert	Polysaccharid	5,9	463	-	292	457	Sorbitol, Xylitol, Natriumhydroxid, Natriumbenzoat
Saseem	Xylitol	5,5	Ja	Ja	-	ja	Dexpanthenol, NaCl, Carrageenan, KCl, MgCl, Kaliumsorbat, Sorbinsäure
TMP Tüshaus	Ptyalin	4,7	Ja	-	Ja	-	KCl, MgCl ₂ , NaCl, Sorbidex
Xerostom	Xylitol	5,0	-	-	-	-	Betain, Olivenöl

Legende: * Na-CMC: Natrium-Carboxymethylcellulose

Es folgte für zwei Wochen die Inkubation in einem Brutschrank (Venticell 404, MMM Medcenter) bei konstant 37 °C. Nach Ablauf der zwei Wochen wurde das Effektfeld 1 mit Nagellack abgedeckt (Abb. 5), und es folgte eine weitere dreiwöchige Inkubationszeit zu gleichen Bedingungen. Während der gesamten fünf Wochen wurden alle 48 Stunden die Probenblöcke aus den Röhren entnommen und mit Aqua dest. (Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi) abgespült. Anschließend wurden das jeweilige Speichelersatzmittel und die Remineralisationslösung erneuert.

Tabelle VI Zusammensetzung der Remineralisationslösung [Buskes et al. 1985]

Stoff	Konzentration(mmol/l)	Menge
CaCl ₂ × 2H ₂ O	1,5	0,221 g/l
KH ₂ PO ₄	0,9	0,1224 g/l
HEPES* 1 M	20	20 ml
HCl ad pH 7,0	10%	~3,5 ml
Aqua dest.	-	ad 5 l

Legende: *HEPES: Hydroxyethylpiperazinethansulfonsäure

Des Weiteren wurde alle sieben Tage der pH-Wert gemessen (GMH 3510; Greisinger Electronic). Bis zur Auswertung wurden die Proben in Aqua dest. (Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi) gelagert.

4.4 Vorbereitung der Dentinproben für die Mikroradiografie

Die Probenblöcke wurden mit der Bandsäge (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau) getrennt, sodass sich jede Probe in einem einzelnen kleinen Kunststoffwürfel befand (Abb. 7).

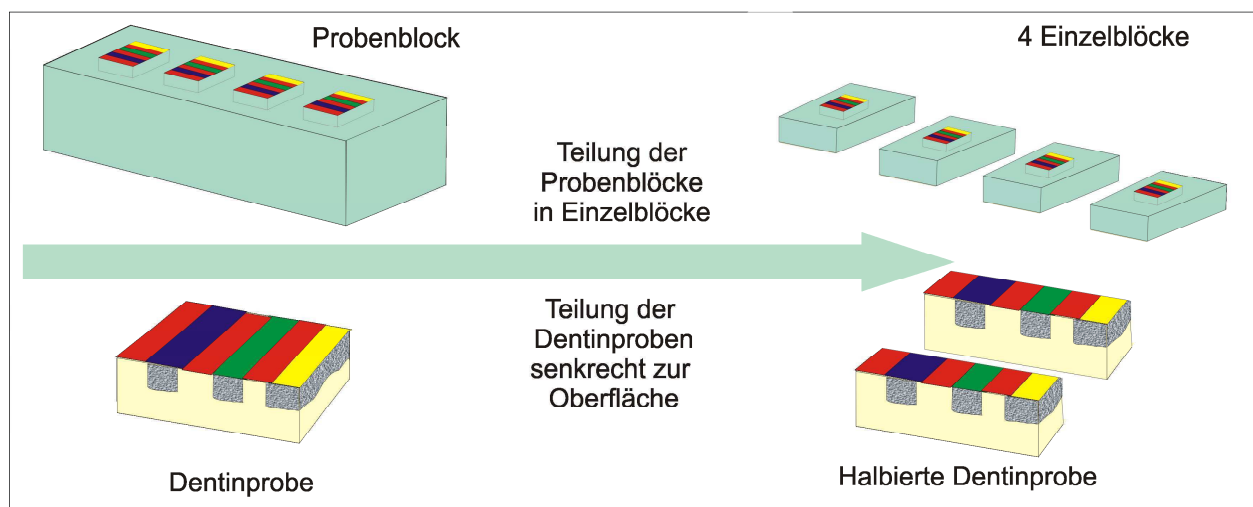


Abb. 7: Schematische Darstellung der Probenvorbereitung für die anschließende Dünnschliffherstellung

Anschließend wurden diese Würfel beschriftet und in der Probenmitte senkrecht zur Oberfläche halbiert (Abb. 7). Eine Hälfte kam zur Lagerung erneut in Aqua dest., die andere Hälfte wurde an der rauhen Schnittstelle manuell mit einer Poliermaschine (Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler) und Schleifpapier aufsteigender Körnung (Körnung 1200, 2400, 4000; Exakt) poliert. Mit der auf Hochglanz polierten Schnittstelle nach unten wurden jeweils vier Proben mit Sekundenkleber (Henry Schein, Melville, USA) auf einem Objektträger (Plexiglas-Objektträger (25 × 75 × 2 mm³), Diaplust, Oststeinbeck, Deutschland) fixiert, wobei der Sekundenkleber nur leicht die Kunststofffassung

benetzte und nicht die Probe selbst, um ein späteres Ablösen der Probe zu ermöglichen (Abb. 8).

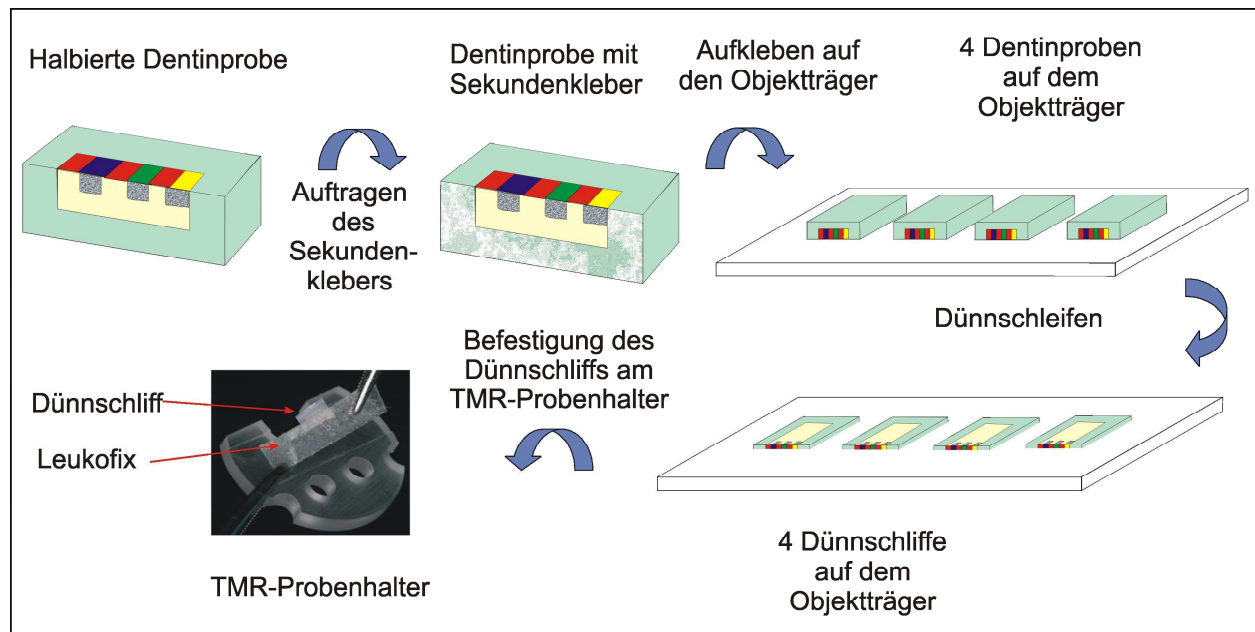


Abb. 8: Schematische Darstellung der Dünnschliffherstellung

Mit der Bandsäge wurden die Proben auf eine Dicke von ca. 400 μm gesägt und im Anschluss mit einer Mikroschleifapparatur (Exakt Mikroschleifsystem 400 CS; Exakt) und Schleifpapier aufsteigender Körnung (Körnung 1200, 2400, 4000; Exakt) dünn geschliffen. Die Dünnschliffe hatten nun eine Dicke von ca. 100 μm ($\pm 10 \mu\text{m}$). Dies wurde mit einem digitalen Mikrometer (Bügel-Messschraube, Digimatic MDC-Lite, Mitutoyo, Kawasaki, Japan) bei einer Genauigkeit von 1 μm überprüft. Anschließend wurden die Dentinproben mittels Skalpell (Feathers, Osaka, Japan) von der verbliebenen Kunststofffassung befreit und mit einem kleinen Streifen Leukofix (BSN medical Hamburg, Deutschland) auf einem TMR-Probenhalter (Charité Facility Management, Mechanische Werkstätten (Campus Benjamin Franklin), Berlin, Deutschland) fixiert. Das Leukofix wurde beschriftet und der Probenhalter in Aqua dest. (Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi) aufbewahrt. Dieser Arbeitsschritt musste schnell ausgeführt werden, da die Dünnschliffe innerhalb weniger Minuten austrocknen und somit schrumpfen würden, wodurch die Proben nicht mehr für eine Auswertung herangezogen werden könnten.

4.5 Transversale Mikroradiografie

Zur Anfertigung der Mikroradiogramme wurden hochauflösende, holographische Spezialfilme (High speed holographic Film, SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland) verwendet. Diese wurden in einer Länge für jeweils 32 Aufnahmen unter Lichtausschluss auf eine Filmrolle aufgespult. Diese Filmrollen wurden beschriftet und in ein

Kameragehäuse eingesetzt, das anschließend verschlossen wurde, um eine frühzeitige Belichtung zu verhindern (Abb. 9). Nun wurde der Film drei Einheiten vorgespult, um den belichteten Teil des Filmes, der durch das Einsetzen entstand, weiterzuspulen.

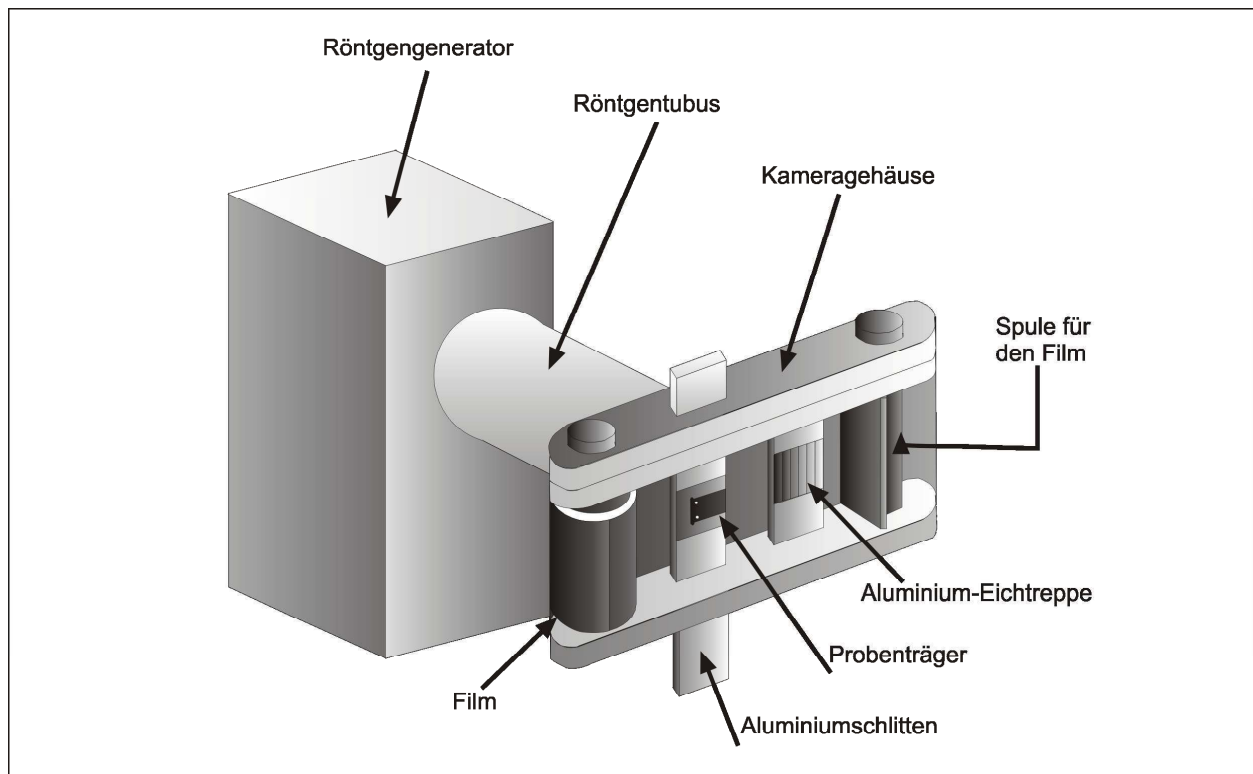


Abb. 9: Schematische Darstellung der Geräteanordnung bei der Mikroradiografie

Die Dünnschliffe, die sich in den Probenhaltern befanden, wurden vor der Aufnahme getrocknet und mit einer dünnen Schicht Ethylenglycol (99+% spectrophotometric grade, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) bestrichen, welches sie vor eventuellem Austrocknen schützte. Nun wurde ein Probenträgerhalter in einem Aluminiumschlitten nach oben geschoben, um den Probenhalter mit Dünnschliff darin zu platzieren. Anschließend wurde der Aluminiumschlitten bis zum Anschlag in das Kameragehäuse zurückgeschoben. Die Probe war somit parallel zum Film angeordnet, auf der linken Seite befand sich eine Aluminiumeichtreppe, die bei der späteren Auswertung des Films zur Ermittlung der Graustufen benötigt wurde (Abb. 9). Dentinprobe und Eichtreppe wurden zusammen auf den Film projiziert. Der Röntgentubus (Feinstruktur-Feinfokus-Röntgenröhre (FF), Type: PW 2213/20, Panalytical, Kassel, Deutschland) eines Röntgenstrahlgenerators (PW 1730/10, Philips, Eindhoven, Niederlande) war an das Kameragehäuse gekoppelt. Für die Untersuchungen der Dentinproben wurden an der Röntgenröhre eine Röhrenspannung von 20 kV, ein Röhrenstrom von 10 mA und eine Belichtungszeit von fünf Sekunden gewählt. Nach dem Einschalten wurden aus der vertikal montierten Röntgenröhre, einer Kupferanode mit Nickelfilterung Röntgenstrahlen emittiert, welche die Dentinprobe durchdrangen und den Röntgenfilm belichteten. Nach jeder Aufnahme wurde der Film eine Einheit weitergedreht und der

Vorgang mit der nächsten Dentinprobe wiederholt. Nach 32 Aufnahmen wurde der Film im Kameragehäuse zurückgespult, entnommen und entwickelt.

4.6 Vorgehensweise bei der mikroradiografischen Auswertung

Nach Entwicklung des mikroradiografischen Filmes wurden die vier Bereiche der Einzelaufnahmen mittels eines Durchlichtmikroskopes (60318; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), an das eine Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan) angeschlossen war, dargestellt und auf einen angeschlossenen Computer übertragen. Zuerst wurde das Mikroskop gekühlt und das Objektiv 16/0.32 gewählt. Mit einer speziellen TMR-Software (Transversal Micro Radiography für Windows, Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande) wurde ein Bild im gesunden Bereich gemacht und dann mithilfe der mit abgebildeten Aluminiumtreppe als „step wedge“ Bilder der verschiedenen Graustufen. Diese Werte sind für die spätere computergestützte Berechnung von Mineralverlust (Vol.%) und Läsionstiefe notwendig. Nun wurden die einzelnen Bereiche (Gesund, Demineralisiert, Effekt 1, Effekt 2) gespeichert. Dieses Vorgehen wurde für alle Probenaufnahmen wiederholt.

4.7 Statistische Auswertung

Bei der statistischen Auswertung waren die Proben immer noch für den Untersucher verblindet. Die Endblindung durch den Studienleiter, in welcher Speichlersatzlösungen die jeweiligen Probengruppen gelagert waren, erfolgte nach Abschluss der statistischen Auswertung. Die in der mikroradiografischen Auswertung ermittelten Werte für Mineralverlust (ΔZ) und Läsionstiefe (L_t) wurden um den projektionsbedingten Fehlerwert von Mineralverlust und Läsionstiefe im gesunden Bereich (g) korrigiert [$(\Delta Z_d - \Delta Z_g)$, $(\Delta Z_{e1} - \Delta Z_g)$, $(\Delta Z_{e2} - \Delta Z_g)$, $(L_{t_d} - L_{t_g})$, $(L_{t_{e1}} - L_{t_g})$, $(L_{t_{e2}} - L_{t_g})$]. Des Weiteren wurde die Veränderungen der Mineralgehalte ($\Delta\Delta Z$) sowie die Veränderungen der Läsionstiefen (ΔL_t) nach Einwirken der Lösungen für zwei ($\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 1}}$; $\Delta L_{t_{\text{Effekt 1}}}$) und fünf ($\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$; $\Delta L_{t_{\text{Effekt 2}}}$) Wochen im Vergleich zu den Werten nach Demineralisation berechnet. Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe der SPSS-Software (Statistical Package for Social Sciences, Version 11.5.1; SPSS, München, Deutschland). Die Gesamtheit der Variablen wurde auf Normalverteilung untersucht (Kolmogorov-Smirnov-Test) sowie einer einfaktoriellem Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen. Mittels des post-hoc Tests nach Tukey wurden die Einzelvergleiche zwischen den Gruppen ermittelt. Um den Mineralverlust und die Läsionstiefe der Proben nach Demineralisation sowie Mineralverlust und Läsionstiefe nach Einwirkung der verschiedenen Speichlersatzlösungen innerhalb der einzelnen Proben zu vergleichen, wurde der

gepaarte *t*-Test verwendet. Die daraus ermittelten Werte wurden mit dem Bonferroni Faktor ($\times 11$) korrigiert. Bei allen Tests wurde das Signifikanzniveau mit 5% festgelegt.

4.8 Ermittlung der Phosphat- und Kalziumkonzentration

Mit Hilfe der Anionenchromatographie unter Verwendung eines Ionenchromatographen (761 Compact IC mit Autosampler; Metrohm, Filderstadt, Deutschland) wurde die Phosphatkonzentration ermittelt. Eluenkonzentrat (Merck) wurde den Lösungen zugeführt. Es folgte die Filtration durch 0,2 μm CME-Spritzenfilter (Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland). Danach erfolgte jeweils eine Doppelbestimmung. Aufgrund der stark variierenden Phosphatkonzentrationen wurden die meisten Probelösungen für die IC Untersuchungen unterschiedlich verdünnt. Xerostom und Mouth Kote konnten jedoch unverdünnt vermessen werden. Für die anderen Produkte wurde immer 1 ml für die Verdünnung benutzt. So wurden Artisial und Oralube auf 100 ml, A.S Saliva Orthana und Glandosane auf 50 ml und Saseem auf 25 ml verdünnt.

Die Methode der optischen Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP OES Optima 2100 DV; Perkin Elmer Fremont, USA) wurde zur Bestimmung der Kalziumkonzentration angewandt. Die Produkte Saseem und Oralube sind stark viskös und enthalten einen hohen Anteil organischer Matrix, deshalb wurden sie durch Mikrowellenaufschluss mit Salpetersäure (Suprapur; Merck) in Lösung überführt. Für beide Produkte wurden 2,5 ml mit 5 ml Salpetersäure aufgeschlossen und auf 50 ml verdünnt. Vor der Messung wurde 1 ml Xerostom auf 50 ml verdünnt. Für Glandosane und Artisial wurden jeweils 3 ml auf 50 ml verdünnt und 1 ml von A.S Saliva Orthana wurde auf 100 ml verdünnt. Diese Verdünnungen waren aufgrund der stark unterschiedlichen Kalziumkonzentrationen erforderlich. Für Mouth Kote erfolgte keine Verdünnung. Die Lösungen waren mit Salpetersäure (Suprapur; Merck) angesäuert und wurden durch 0,2 μm CME-Spritzenfilter (Carl Roth) filtriert. Auch hier wurde jeweils eine Doppelbestimmung vorgenommen.

Das Produkt TMP Tüshaus wurde vom Hersteller wegen nachgewiesener bakterieller Verunreinigung vom Markt genommen (<http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=3198>). Der Bestand wurde während des Versuches vollständig verbraucht und konnte deshalb nicht nachuntersucht werden.

4.9 Bestimmung der Sättigung der verwendeten Speichelersatzmittel

Die Berechnung der Sättigung erfolgte hierbei mit dem Ionenprodukt-Programm nach *Shellis* [Shellis 1988]. Bei bekanntem pH-Wert kann in wässriger Lösung die Sättigung für Kalzium-Phosphat-Komplexe [Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD), Oktakalziumphosphat (OKP), Hydroxylapatit (HAP)] berechnet werden. Das Ionenprodukt-

Programm wurde entwickelt, um die Sättigung in Lösungen hinsichtlich verschiedener Mineralien, die für Mineralisationsprozesse der Zahnhartsubstanzen von Bedeutung sind, zu berechnen. Der Sättigungsgrad (DS) ist definiert durch das Ionenaktivitätsprodukt (IAP) in der Lösung und das Löslichkeitsprodukt (K_s) des Minerals.

$$DS (HA) = ((Ca^{2+})_5(PO_4^{3-})_3(OH) / K_s(HA))^{1/9}$$

Die zur Berechnung des Sättigungsgrades hinsichtlich der Kalzium-Phosphat-Komplexe verwendete Gleichung ist anhand des Beispiels für Hydroxylapatit dargestellt [Shellis 1988].

5 Ergebnisse

5.1 Quantitative Auswertung Mineralverlust

Nach Lagerung der Proben in den Lösungen und Anfertigung der Dünnschliffe für die TMR-Auswertung waren von den 176 verwendeten Proben 20 Proben massiv beschädigt und konnten daher nicht für die TMR-Auswertung verwendet werden. Die Schädigung der Proben war bedingt durch starke Erosionen, die während der Lagerung in den Speichelersatzmitteln entstanden sowie durch Lockerung und damit verbundenem Verlust der Proben während der Dünnschliffherstellung. Es verblieben 156 Proben für die Auswertung. Von insgesamt 16 Proben pro Gruppe konnten von AS Saliva Orthana, Glandosane, Saseem und TMP Tüshaus 16 Proben, von der Remineralisationslösung und mod. Saliva Natura 15 Proben, von Artisal, Oralube, Saliva Natura und Xerostom 14 Proben, von Mouth Kote 6 Proben für die TMR-Auswertung verwendet werden.

Die *in vitro* gelagerten Dentinproben (n=156) entwickelten durch die Demineralisation über fünf Tage Läsionen mit intakten Oberflächenschichten (Abb. 10).

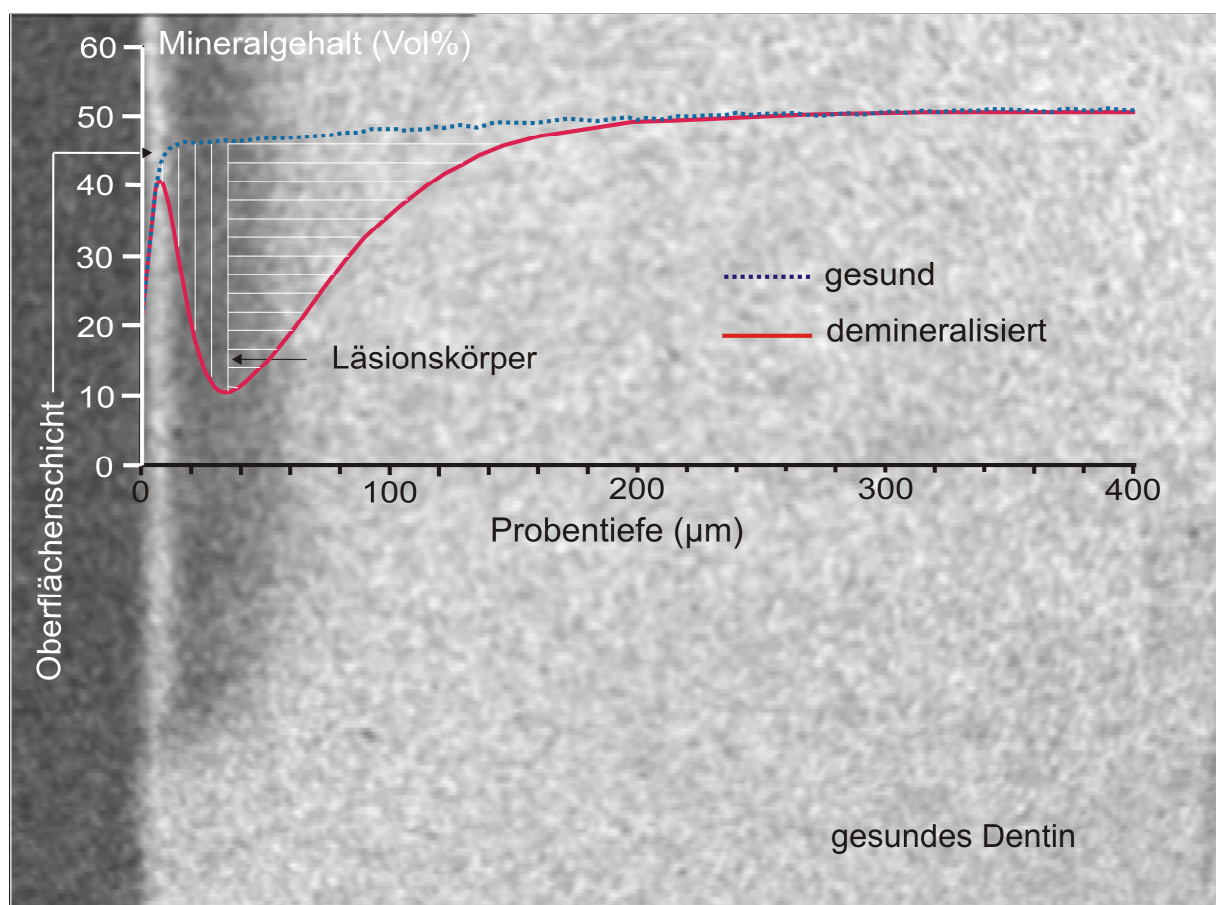


Abb.10: TMR-Bild einer Dentinprobe nach Demineralisation

Die Oberflächen wiesen eine höhere Mineralisation auf als die Läsionskörper. Die demineralisierten Bereiche zeigten für ΔZ_{Demin} einen Mittelwert von $3080 \text{ Vol. \%} \times \mu\text{m}$. Die Mittelwerte für ΔZ_{Demin} , waren für alle Gruppen nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,109$; ANOVA). Die Abbildung (Abb. 11) stellt die Veränderungen des Mineralgehaltes der Dentinproben nach Lagerung in den verschiedenen Speichlersatzmitteln für zwei Wochen sowie für fünf Wochen mittels Konfidenzintervallen (CI 95%) dar.

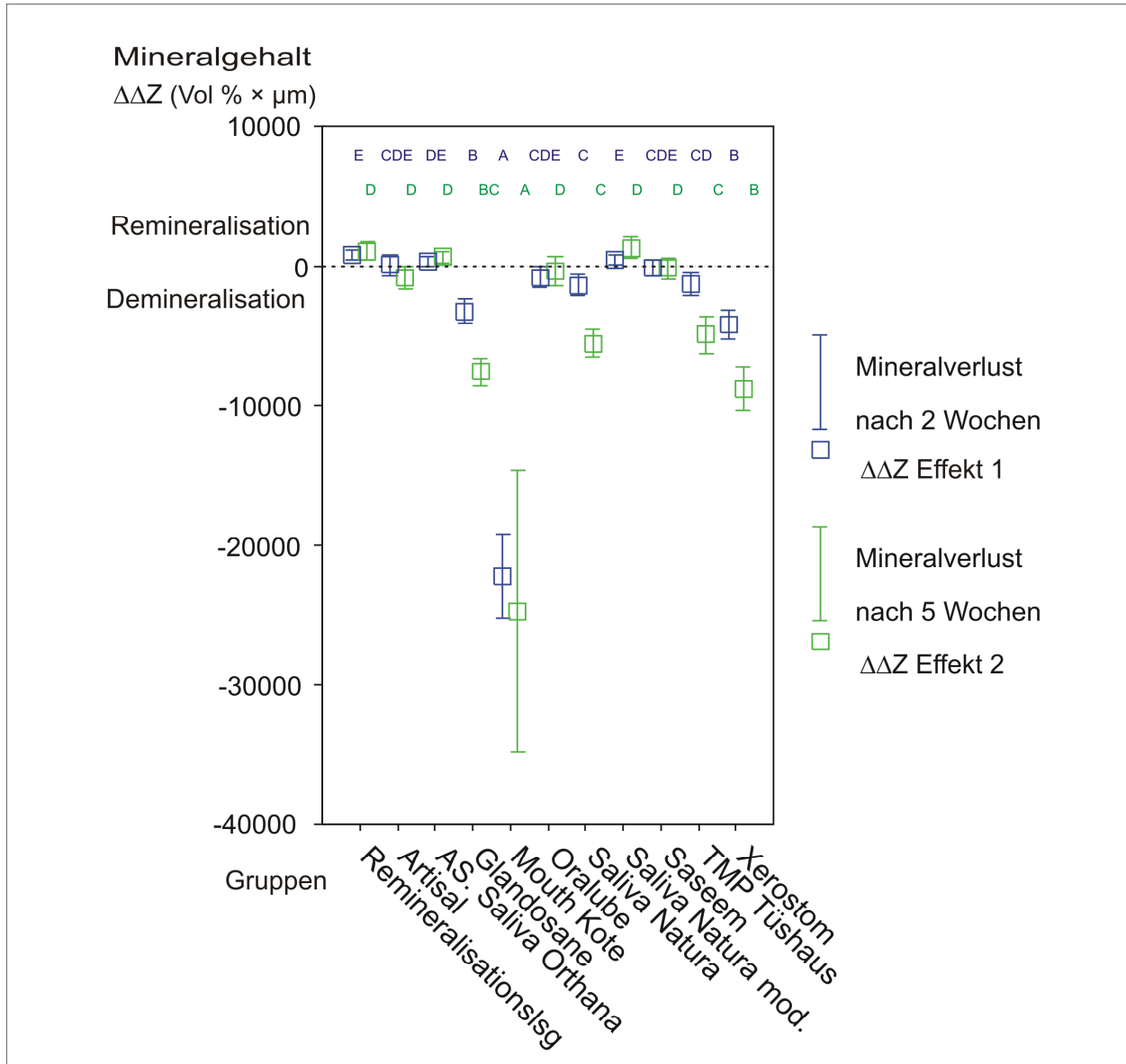


Abb.11: Veränderung des Mineralgehaltes (in $\text{Vol. \%} \times \mu\text{m}$) nach zweiwöchiger ($\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 1}}$) und fünfwöchiger ($\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$) Lagerung in den Speichlersatzmitteln (ANOVA, Tukey). Gruppen mit gleichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$; Tukey post-hoc Test).

Nach zwei Wochen Lagerung zeigten die Proben der Mouth Kote Gruppe einen signifikant größeren Mineralverlust im Vergleich zu allen anderen Gruppen ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey post-hoc Test; Abb. 11). Auch die Dentinproben von Glandosane und

Xerostom wiesen im Vergleich zu den übrigen Untersuchungsgruppen signifikant größere Mineralverluste auf ($p < 0,05$). Die Proben aus den Gruppen Saliva Natura und TMP Tüshaus zeigten im Vergleich zu den Proben der Remineralisationslösung und der Gruppe mod. Saliva Natura einen signifikant höheren Mineralverlust ($p < 0,05$; ANOVA). Es konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Mineralverlustes zwischen den Proben der Remineralisationslösung, Artisal, AS Saliva Orthana, Oralube, mod. Saliva Natura und Saseem festgestellt werden ($p > 0,05$; ANOVA).

Nach fünf Wochen Lagerung zeigten die Proben der Mouth Kote Gruppe einen signifikant größeren Mineralverlust im Vergleich zu allen anderen Gruppen ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey post-hoc Test; Abb. 11). Bei den Dentinproben der Gruppen Glandosane, Saliva Natura, TMP Tüshaus und Xerostom wurde ein signifikant höherer Mineralverlust als in allen anderen Gruppen mit Ausnahme der Mouth Kote Gruppe festgestellt ($p < 0,05$; ANOVA). Zwischen den Proben der Remineralisationslösung, Artisal, AS Saliva Orthana, Oralube, mod. Saliva Natura und Saseem wurden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Mineralverlustes festgestellt ($p > 0,05$; ANOVA).

Tabelle VII Mittelwerte (MW) und Konfidenzintervalle (95 % KI) des Mineralverlustes (ΔZ ; Vol. % $\times \mu\text{m}$) nach In-vitro-Demineralisation (ΔZ_{Demin}) und Lagerung in verschiedenen Speichlersatzlösungen für 2 ($\Delta Z_{\text{Effekt 1}}$) und 5 Wochen ($\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$)

Produkt	ΔZ Demin		ΔZ Effekt 1			ΔZ Effekt 2		
	MW	95%KI	MW	95%KI	P	MW	95%KI	P
Remin.-lösung	3158	2690-3626	2374	1941-2808	0,011	2066	1497-2634	0,022
Artisal	3144	2497-3792	3047	2228-3866	1	3920	3102-4738	0,605
AS.Saliva Orthana	2816	2386-3247	2427	2090-2764	0,33	2145	1694-2594	0,033
Glandosane	3353	2916-3790	6597	5789-7407	0,011	10939	9699-12179	0,011
Mouth Kote	3793	2439-5147	25987	22759-29215	0,011	28557	19401-37714	0,011
Oralube	3368	2702-4034	4130	2960-5301	0,605	3724	2384-5064	1
Saliva Natura	2922	2394-3451	4286	3564-5008	0,022	8470	7615-9326	0,011
mod. Saliva natura	2821	2281-3361	2386	1932-2840	1	1508	906-2109	0,022
Saseem	2797	2249-3345	2960	2257-3663	1	2930	2091-3768	1
TMP Tüshaus	3208	2842-3573	4498	3574-5421	0,033	8141	6720-9563	0,011
Xerostom	2500	2071-2930	6701	5482-7920	0,011	11312	9881-12742	0,011

Legende: ΔZ = Mineralgehalt; Demin = nach Demineralisation; Effekt 1 = nach 2 Wochen Lagerung in den Speichlersatzmitteln; Effekt 2 = nach 5 Wochen Lagerung in den Speichlersatzmitteln. Signifikanten Mineralgehaltveränderungen ($p > 0,05$) sind fett hervorgehoben.

Durch die Lagerung der Proben für zwei Wochen in Glandosane, Mouth Kote, Saliva Natura, TMP Tüshaus sowie Xerostom kam es zu einem signifikanten Mineralverlust der Proben im Vergleich zu den Werten nach Demineralisation ($p < 0,05$; t-Test bei

gepaarten Stichproben; Tab. VII). Die Inkubation der Proben in der Remineralisationslösung führte zu einem signifikanten Mineralgewinn im Vergleich zu den Anfangswerten ($p = 0,011$). Die Proben der anderen Gruppen zeigten nach zwei Wochen keine signifikante Veränderung im Mineralgehalt verglichen mit den Werten nach Demineralisation ($p > 0,05$).

Nach fünf Wochen Lagerung wiesen nicht nur die Proben der Remineralisationslösung sondern auch die aus AS, Saliva Orthana und mod. Saliva Natura einen signifikanten Mineralgewinn im Vergleich zu den Ausgangswerten auf ($p < 0,05$, t-Test bei gepaarten Stichproben, Tab. VII). Ein signifikanter Mineralverlust im Vergleich zu den Werten nach Demineralisation war bei den Dentinproben der Gruppen von Glandosane, Mouth Kote, Saliva Natura, TMP Tüshaus sowie Xerostom zu erkennen ($p < 0,05$). Die Lagerung in Artisal, Oralube und Saseem führte zu keiner signifikanten Mineralgehaltveränderung ($p > 0,05$).

5.2 Quantitative Auswertung der Läsionstiefe

Die demineralisierten Bereiche zeigten für die Läsionstiefe $L_{t_{Demin}}$ einen Mittelwert von 134 μm . Die Mittelwerte für die Läsionstiefe $L_{t_{Demin}}$ waren für alle Gruppen nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,408$; ANOVA; Tukey post-hoc Test).

Die Abbildung (Abb. 12) zeigt die Veränderungen der Läsionstiefen der Proben nach Lagerung in den Speichelersatzmitteln für zwei Wochen und für fünf Wochen mittels Konfidenzintervallen (CI 95%).

Nach zwei Wochen zeigten die Dentinproben aus der Mouth Kote Gruppe eine signifikante Zunahme der Läsionstiefe im Vergleich zu allen anderen Gruppen ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey; Abb. 12). Die Proben der Gruppen Glandosane und Xerostom zeigten im Vergleich zu den Proben der Remineralisationslösung und Artisal eine signifikante Zunahme der Läsionstiefe ($p < 0,05$). Die Proben der anderen Gruppen zeigten im Vergleich keine signifikanten Unterschiede der Läsionstiefen ($p > 0,05$).

Im Anschluss an eine fünf Wochen lange Inkubation in Mouth Kote wurde eine signifikant größere Läsionstiefe dieser Proben im Vergleich zu allen anderen festgestellt ($p = 0,011$; ANOVA, Tukey post-hoc Test; Abb. 12). In Glandosane, Saliva Natura, TMP Tüshaus und Xerostom gelagerte Dentinproben ließen eine signifikante Zunahme der Läsionstiefe im Vergleich zu den anderen Proben mit Ausnahme der Mouth Kote Proben erkennen ($p < 0,05$). Die Proben der Remineralisationslösung, Artisal, AS, Saliva Orthana, Oralube, mod. Saliva Natura sowie Saseem zeigten keine signifikanten Unterschiede der Läsionstiefen untereinander ($p > 0,05$).

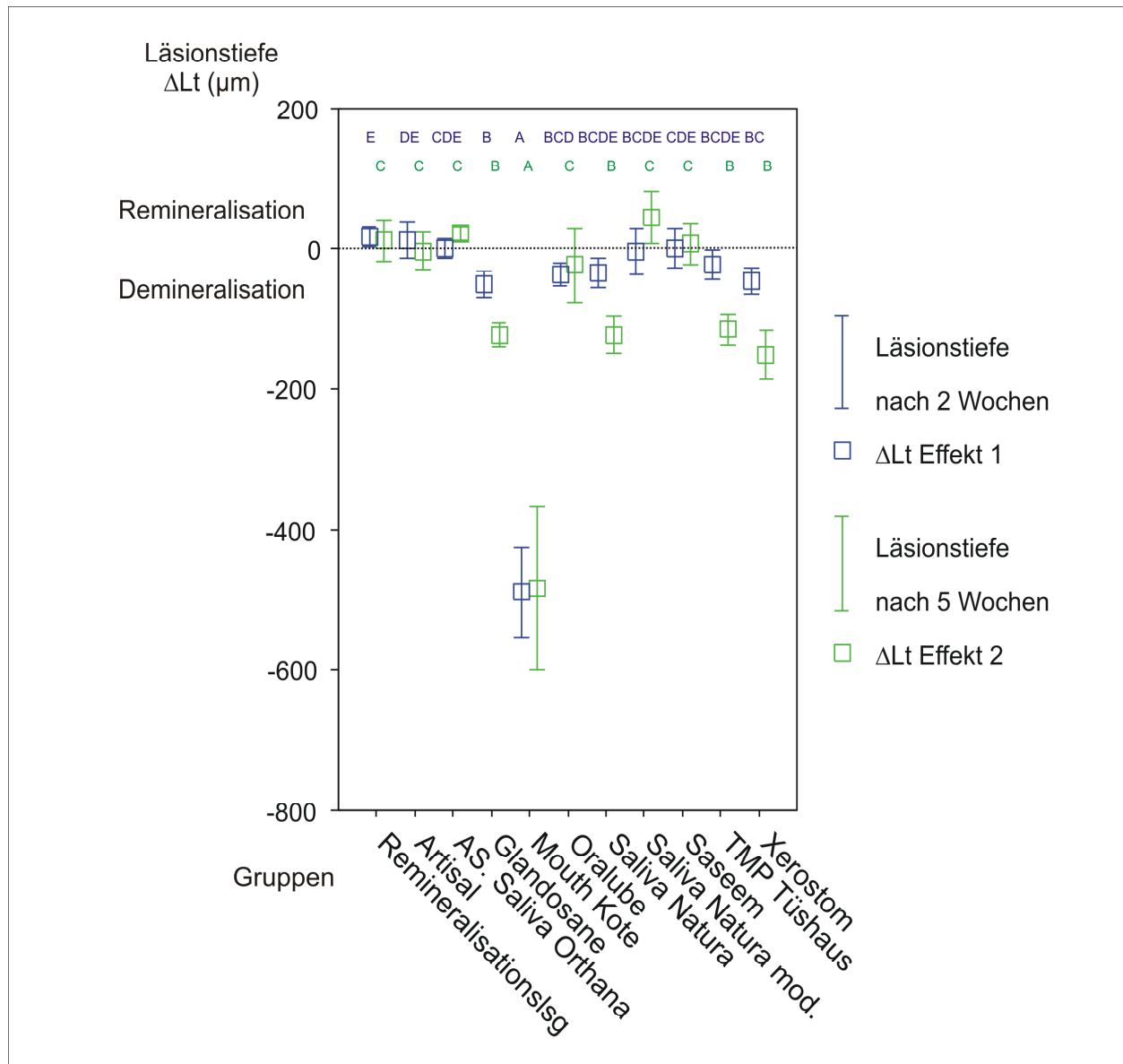


Abb. 12: Veränderung der Läsionstiefe (in μm) nach zweiwöchiger ($\Delta\text{Lt}_{\text{Effekt1}}$) und fünföchiger ($\Delta\text{Lt}_{\text{Effekt2}}$) Lagerung in den Speichelersatzmitteln im Vergleich zur Demineralisation (ANOVA, *Tukey*). Gruppen mit gleichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$; *Tukey* post-hoc Test).

Im Anschluss an zwei Wochen Inkubation in Glandosane, Mouth Kote, Oralube, Saliva Natura und Xerostom ließen die Proben eine signifikante Zunahme der Läsionstiefe im Vergleich zu den Werten vor Demineralisation erkennen ($p < 0,05$, t-Test bei gepaarten Stichproben; Tab. VIII). Alle anderen Proben zeigten keine signifikanten Veränderungen der Läsionstiefe im Vergleich zu den Anfangswerten ($p > 0,05$).

Tabelle VIII Mittelwerte (MW) und Konfidenzintervalle (95 % KI) der Läsionstiefe (in μm) nach In-vitro-Demineralisation (Lt_{Demin}) und Lagerung in verschiedenen Speicheleratzlösungen für 2 ($Lt_{\text{Effekt 1}}$) und 5 Wochen ($Lt_{\text{Effekt 2}}$)

Produkt	Lt-Demin		Lt- Effekt 1			Lt -Effekt 2		
	MW	95%KI	MW	95%KI	P	MW	95%KI	P
Remin.lösung	130	111-149	115	98-131	0,385	119	92-146	1
Artisal	136	107-165	124	100-148	1	140	118-161	1
AS.SalivaOrthana	117	106-129	117	101-133	1	97	88-105	0,011
Glandosane	141	124-158	192	175-209	0,011	264	239-289	0,011
Mouth Kote	132	96-168	622	540-704	0,011	616	521-710	0,011
Oralube	134	114-154	172	147-196	0,011	158	106-211	1
Saliva Natura	122	104-139	157	134-179	0,033	244	218-271	0,011
mod. Saliva natura	150	115-184	154	129-179	1	106	79-133	0,264
Saseem	134	113-154	133	114-151	1	127	104-151	1
TMP Tüshaus	149	133-165	172	152-193	0,308	263	239-288	0,011
Xerostom	130	109-150	176	154-198	0,011	280	258-303	0,011

Legende: Lt = Läsionstiefe; Demin = nach Demineralisation; Effekt 1 = nach 2 Wochen Lagerung in den Speicheleratzmitteln; Effekt 2 = nach 5 Wochen Lagerung in den Speicheleratzmitteln; Die Signifikanten Veränderungen der Läsionstiefe ($< 0,05$) sind fett hervorgehoben.

Nach fünf Wochen Lagerung in AS. Saliva Orthana kam es zu einer signifikanten Reduktion der Läsionstiefe im Vergleich zur Läsionstiefe der demineralisierten Proben ($p = 0,011$, t-Test bei gepaarten Stichproben; Tab. VIII). Im Gegensatz dazu war eine signifikante Zunahme der Läsionstiefe im Vergleich zu den Werten nach Demineralisation bei den Proben der Gruppen Glandosane, Mouth Kote, Saliva Natura, TMP Tüshaus und Xerostom zu erkennen ($p < 0,05$). Die in der Remineralisationslösung, Artisal, Oralube, mod. Saliva Natura sowie in Saseem gelagerten Proben zeigten nach fünf Wochen keinen signifikanten Unterschied der Läsionstiefe im Vergleich zu den Werten nach Demineralisation ($p > 0,05$).

5.3 Qualitative Auswertung

Der strukturelle Aufbau der verschiedenen Bereiche der Dentinproben (gesund, demineralisiert und nach Lagerung in den Speicheleratzlösungen für zwei und fünf Wochen) wird anhand von drei Grafiken veranschaulicht. Abb. 13 ist eine Darstellung des Mittelwertgraphen für die Bereiche gesund und demineralisiert aller verwendeten Proben zu entnehmen. Sie gibt einen Überblick über den jeweils vorliegenden Mineralgehalt in Vol. % in Abhängigkeit von der Probtiefe. Die Mittelwertgraphen der

Abb. 14 und 15 enthalten die Werte aller Proben der jeweiligen Gruppe nach Lagerung in den verschiedenen Speichersersatzmitteln sowie die Werte nach Demineralisation.

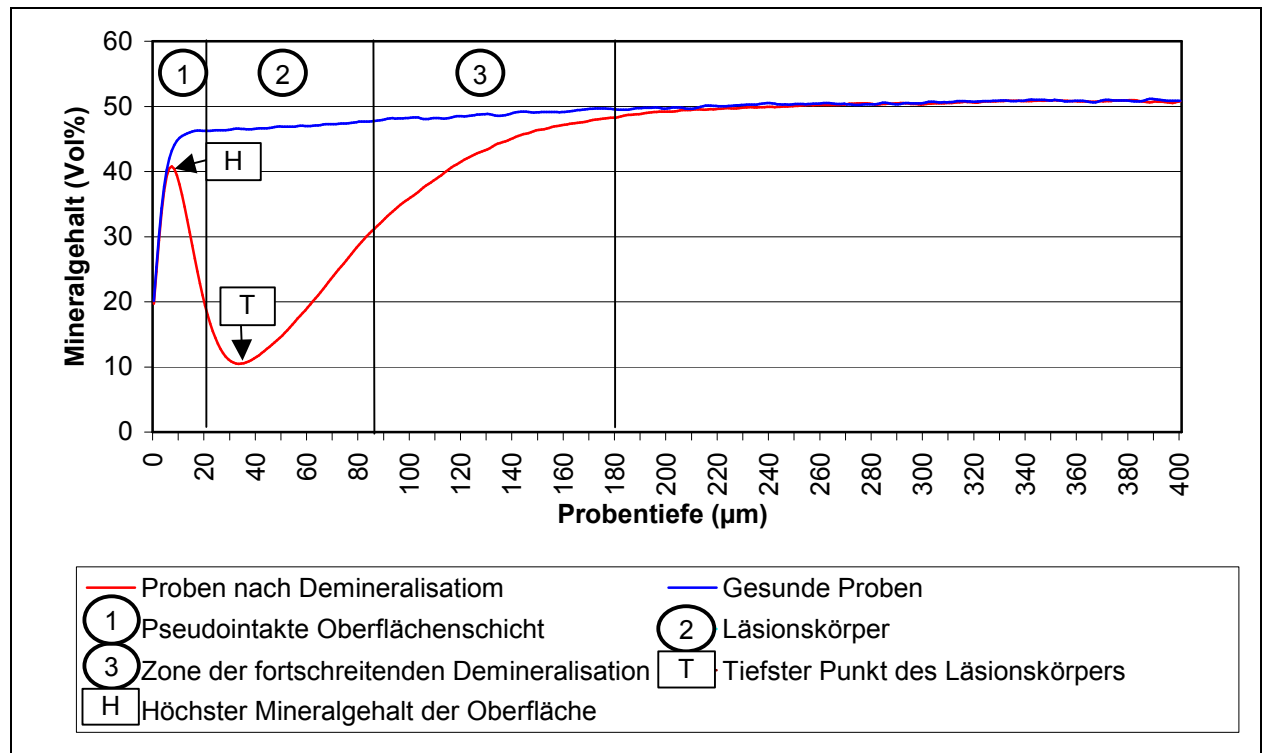


Abb. 13: Darstellung der Probenbereiche gesund und demineralisiert aller verwendeten Proben mittels Mittelwertgraphen.

Die Proben wurden für fünf Tage in der Demineralisationslösung gelagert, um eine künstliche Initialkaries zu erzeugen. Der Mittelwertgraph für die demineralisierten Proben beinhaltet die für eine initiale kariöse Läsion typischen Bereiche, eine pseudointakte Oberflächenschicht, den Läsionskörper sowie die Zone der fortschreitenden Demineralisation, die in eine gesunde Dentinoberfläche übergeht. Der Mineralgehalt steigt innerhalb der pseudointakten Oberfläche an, bis er sein Maximum erreicht. Anschließend sinkt der Mineralgehalt innerhalb des Läsionskörpers. Im weiteren Verlauf steigt der Mineralgehalt an und geht nach der Zone der fortschreitenden Demineralisation in gesunde Dentinoberfläche über. Die Fläche zwischen den Graphen der demineralisierten Probenbereiche und dem des gesunden Bereiches stellt den Mineralverlust dar, der durch die Demineralisationslösung erzeugt wurde.

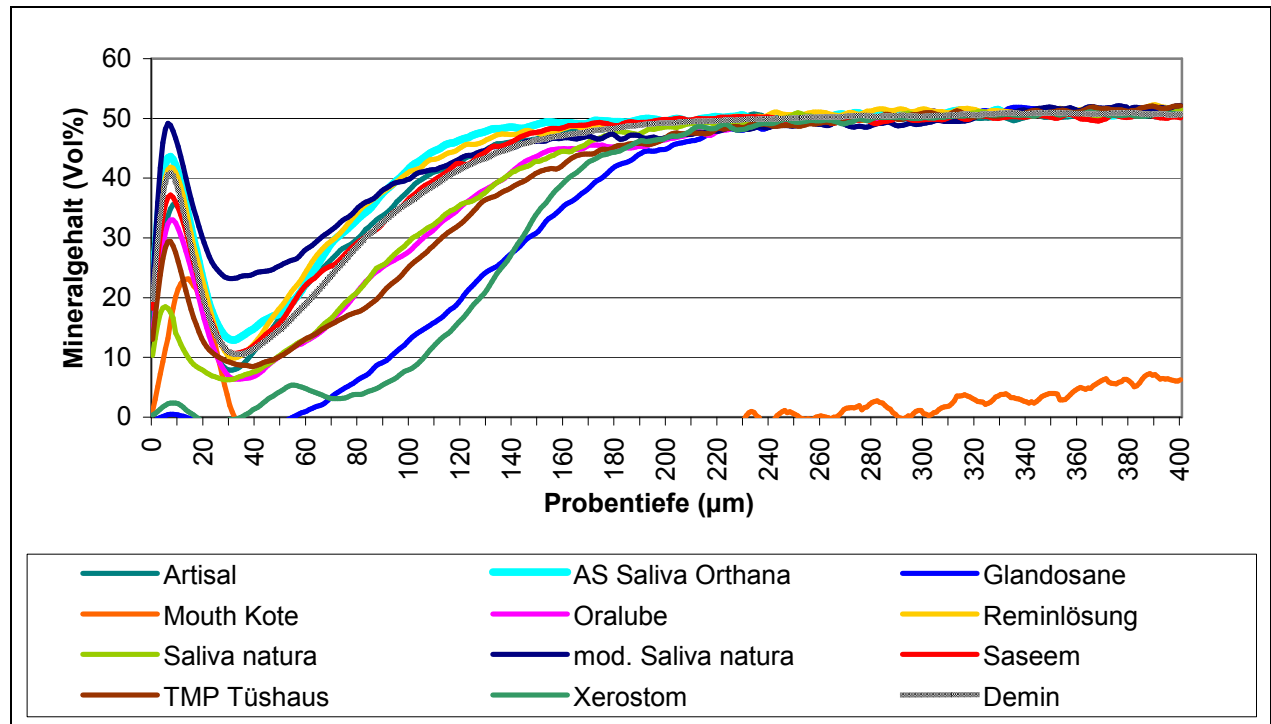


Abb. 14: Darstellung der Effektbereiche nach Einwirken der verwendeten Lösungen für 2 Wochen.

Nach zweiwöchiger Lagerung in den verschiedenen Speichelersatzmitteln blieb bei den meisten Proben der strukturelle Aufbau der initialen Läsionskaries mit pseudointakter Oberfläche, Läsionskörper und Zone der fortschreitenden Demineralisation grundlegend erhalten. Eine Darstellung des Mineralgehaltes nach Einwirken der Lösungen in Abhängigkeit von der Probertiefe ist Abb. 14 zu entnehmen. Sie lässt sich wie folgt interpretieren:

Die Proben der Gruppen Xerostom und Glandosane haben die pseudointakte Oberfläche fast vollständig verloren. Im Läsionskörper folgt ein vollständiger Mineralverlust, der sich für die Glandosan Proben doppelt soweit in die Probertiefe erstreckt als für die Xerostom Proben. Mit zunehmender Probertiefe nimmt der Mineralgehalt zu und geht in gesundes Dentin über.

Einen ähnlichen Verlauf zeigen die Proben der Mouth Kote Gruppe. In der pseudointakten Oberfläche ist ein deutlicher Mineralverlust zu erkennen, der jedoch geringer ist als bei den beiden zuvor genannten Gruppen. Auch bei diesen Proben folgt im Läsionskörper ein vollständiger Mineralverlust, der weit in die Probertiefe verläuft. Im Anschluss ist ein leichter Mineralanstieg zu erkennen, der jedoch nicht den durchschnittlichen Mineralgehalt von gesundem Dentin erreicht. Es kann davon ausgegangen werden, dass der Mineralverlust sich noch weiter in tiefere Bereiche der Proben ausdehnt, die jenseits der von uns gemessenen Grenzbereiche liegen.

Bei den Proben, die für zwei Wochen in Xerostom, Glandosane und Mouth Kote gelagert wurden, kam es zu einem starken Mineralverlust im Vergleich mit dem Mineralgehalt nach Demineralisation.

Die Mittelwertgraphen für die Gruppen Artisal, Oralube, Saliva Natura und TMP Tüshaus zeigten ebenfalls einen Mineralverlust in der pseudointakten Oberfläche sowie im Läsionskörper. Der typische Aufbau einer initialkariösen Läsion blieb jedoch erhalten. Unter dem Einfluss dieser vier Substanzen kam es zu einem geringeren Mineralverlust im Vergleich zu den Werten nach Demineralisation als bei Xerostom, Glandosane und Mouth Kote.

Die Proben der Saseem Gruppe verloren wenig ihres Mineralgehaltes in der pseudointakten Oberfläche, der Läsionskörper blieb im Vergleich zu den Proben nach Demineralisation unverändert. Nach Lagerung in der Remineralisationslösung war ein schwacher Anstieg des Mineralgehaltes in der pseudointakten Oberfläche zu erkennen, am tiefsten Punkt des Läsionskörpers kam es zu einem geringen Verlust. Darüber hinaus kam es zu einer Abnahme der Läsionstiefe.

Im Gegensatz zu den Auswirkungen der zuvor beschriebenen Gruppen kam es durch Lagerung der Proben in AS Saliva Orthana und mod. Saliva Natura zu einem Mineralgewinn in allen Abschnitten. Der höchste Punkt der Oberfläche stieg für AS Saliva Orthana und für mod. Saliva Natura an. An dem tiefsten Punkt des Läsionskörpers sowie in der Zone der fortschreitenden Demineralisation kam es zu einem Mineralgewinn.

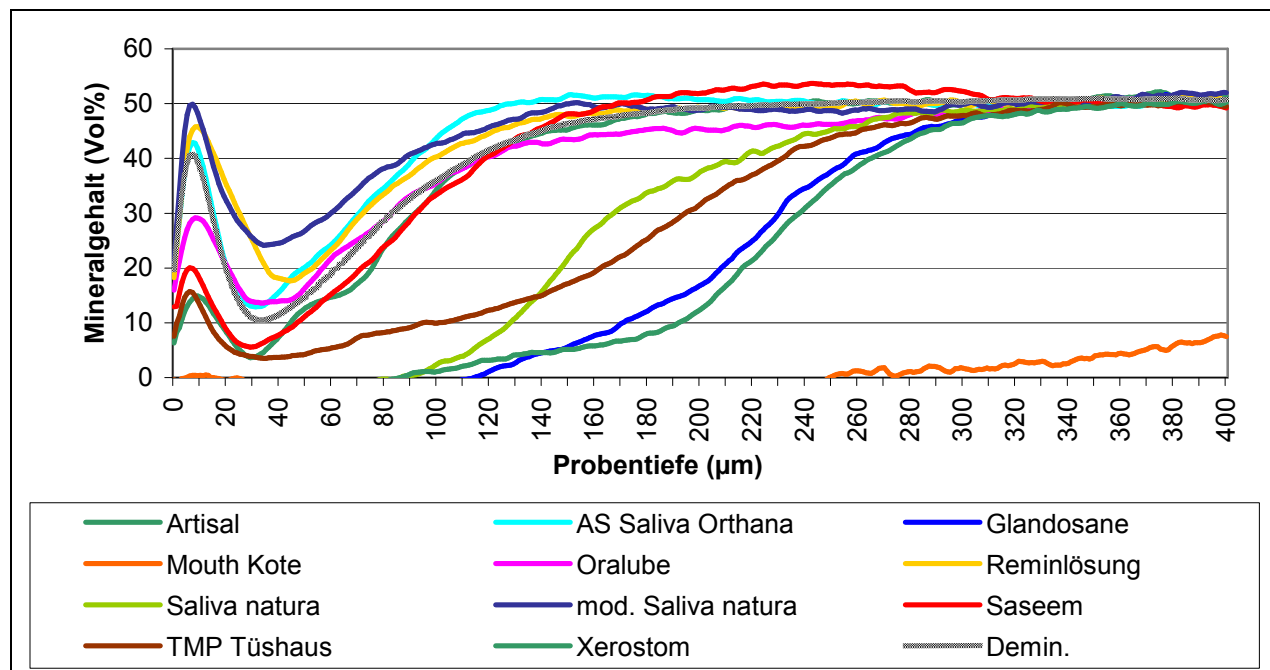


Abb. 15: Darstellung der Effektbereiche nach Einwirken der verwendeten Lösungen für 5 Wochen.

Im Anschluss an die Lagerung für fünf Wochen in Mouth Kote war ein deutlich stärkerer Mineralverlust als nach zwei Wochen festzustellen. An der Oberfläche verblieb ein kleiner Bereich mit einem geringen Mineralgehalt, darauf folgt ein langer Abschnitt mit vollständigem Mineralverlust. Bei erhöhter Probertiefe kam es zu einem leichten Mineralanstieg, der jedoch nicht den Mineralgehalt von gesundem Dentin erreichte. Es kann davon ausgegangen werden, dass der Mineralverlust sich noch weiter in tiefere Bereiche ausdehnte, die die Grenze des von uns gemessenen Bereichs überschritt.

Im Anschluss an die Lagerung der Proben in Glandosane, Saliva Natura und Xerostom für fünf Wochen kam es zu einem vollständigen Mineralverlust der Oberfläche, darauf folgt ein Mineralanstieg, der sich im weiteren Probenverlauf fortsetzt und in gesundes Dentin übergeht. Die Werte dieser Gruppen zeigten eine deutliche Demineralisation nach Einwirkung der verschiedenen Lösungen für fünf Wochen.

Die Mittelwertgraphen der Proben von Artisal, Saseem und TMP Tüshaus zeigten für alle drei Gruppen einen Mineralverlust an der Oberfläche sowie am tiefsten Punkt des Läsionskörpers. Die weiteren Verläufe waren jedoch unterschiedlich. Bei den Artisalproben stieg der Mineralgehalt an und ging über den Bereich steigender Demineralisation in gesundes Dentin über. Der Mineralgehalt der Proben der Saseem Gruppe stieg ebenfalls an, ging allerdings nach dem Bereich der steigenden Demineralisation zunächst in einen hypermineralisierten Bereich über. Erst im Anschluss an diese Zone war das gesunde Dentin erkennbar. Der Mittelwertgraph der TMP Tüshaus Proben zeigte ebenfalls einen Mineralgewinn. Die Kurve verlief jedoch sehr viel flacher und zeigte im Vergleich zu den Werten nach zwei Wochen einen deutlichen Mineralverlust des Läsionskörpers und der Zone der fortschreitenden Demineralisation. Der Graph ging erst bei erhöhter Probertiefe in gesundes Dentin über.

Bei den Proben der Oralube Gruppe war ebenfalls ein Mineralverlust der Oberfläche zu beobachten; jedoch zeigte sich am tiefsten Punkt des Läsionskörpers ein deutlicher Mineralgewinn.

Nach fünfwöchiger Lagerung der Proben in AS Saliva Orthana blieb der Mineralgehalt der Oberfläche und des tiefsten Punktes des Läsionskörpers im Vergleich zu den nach zwei Wochen erhobenen Werten unverändert. Im Bereich der fortschreitenden Demineralisation kam es jedoch zu einem Anstieg des Mineralgehaltes bis hin zu einer leichten Hypermineralisation, die im Anschluss in den gesunden Dentinbereich übergeht.

Durch Lagerung in der Remineralisationslösung sowie in mod. Saliva Natura kam es nach fünf Wochen zu einem deutlichen Mineralgewinn in allen zuvor demineralisierten Bereichen.

Die Lösungen AS Saliva Orthana, mod. Saliva natura und die Remineralisationslösung bewirkten einen Mineralgewinn, wobei der stärkste Mineralgewinn durch mod. Saliva natura hervorgerufen wurde.

5.4 Ionenkonzentration und Sättigung der verwendeten Speichlersatzmittel

Die Berechnung der Sättigung hinsichtlich HAP, OKP, DKPD und CaF_2 der Speichlersatzmittel erfolgte mit dem Ionenprodukt-Programm nach *Shellis* [Shellis 1988].

Tabelle IX Sättigung von Kalzium-Phosphat-Verbindungen (HAP, OKP, DKPD, CaF_2) der in der vorliegenden Studie verwendeten Speichlersatzmittel, ermittelt durch Berechnung und Herstellerangaben

Sättigung		A.S. Saliva Orthana	Artisal	Glandosane	Mouth Kote	Orallube	Reminlösung	Saliva natura	mod. Saliva natura	Saseem	TMP Tüshaus	Xerostom
Hersteller- angaben	HAP	14,01	4,54	0,79	k.A.	9,76	-	0,11	-	k.A.	k.A.	k.A.
	OKP	2,92	1,14	0,128	k.A.	2,12	-	0,03	-	k.A.	k.A.	k.A.
	DKPD	1,54	0,69	0,22	k.A.	1,13	-	0,01	-	k.A.	k.A.	k.A.
	CaF_2	-	0,84	-	k.A.	0,47	-	0,01	-	k.A.	k.A.	k.A.
Berechnung	HAP	16,24	8,91	0,98	-	9,19	14,12	0,11	7,06	1,21	-	-
	OKP	3,37	2,01	0,34	-	2,29	2,39	0,03	1,87	0,4	-	-
	DKPD	1,82	1,12	0,27	-	1,52	0,89	0,01	1,31	0,3	-	-
	CaF_2	-	-	-	-	-	-	0,01	0,63	-	-	-
Hersteller- angaben und Berechnung	HAP	18,92	8,89	0,72	-	7,77	-	0,11	-	0,88	-	-
	OKP	2,89	2	0,25	-	1,95	-	0,03	-	0,3	-	-
	DKPD	1,53	1,12	0,2	-	1,28	-	0,01	-	0,22	-	-
	CaF_2	-	1,32	-	-	0,51	-	0,01	-	-	-	-
PH-Wert		6,83	6,13	5,24	3,05	6,26	7,03	5,89	5,95	5,37	4,65	4,89

Legende: k. A.: keine Angaben des Herstellers; die pH-Wert Angabe bezieht sich auf den Mittelwert aller gemessenen Werte während des Versuchs

Von allen in der vorliegenden Studie verwendeten Speichlersatzmitteln wurde eine Bestimmung der Kalzium- und Phosphatkonzentrationen durchgeführt (Tab. X).

Tabelle X Ionenkonzentration von Kalzium und Phosphat der in der vorliegenden Studie verwendeten Speichelersatzmittel, ermittelt durch Messung und Herstellerangaben

Ionen- konzentration in mmol		A.S. Saliva Orthana	Artisal	Glandosane	Mouth Kote	Orallube	Reminlösung	Saliva natura	mod. Saliva natura	Saseem	TMP Tushaus	Xerostom
Hersteller- angaben	Ca	1,13	1,02	1,01	k.a.	1,2	-	0,03	-	k.a.	k.a.	k.a.
	PO ₄	7,01	2,02	2,57	k.a.	3,82	-	0,02	-	k.a.	k.a.	k.a.
Messung	Ca	1,13	6,175	1,0	0,03	1,605	1,5	0,03	3,15	0,975	-	1,735
	PO ₄	6,795	1,37	2,03	-	6,81	0,9	0,02	5,04	2,02	-	-

Legende: k. A.: keine Angaben des Herstellers

6 Diskussion

Die angenommene Arbeitshypothese dieser Studie, die aussagt, dass kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel einen signifikanten Einfluss auf demineralisiertes bovines Dentin haben, kann bestätigt werden. Unter diesem Aspekt kam es durch übersättigte Lösungen hinsichtlich OKP und DKPD zu einer Remineralisation, während gesättigte Produkte eine neutrale und untersättigte Produkte eine demineralisierende Wirkung auf die Dentinproben hatten.

In der vorliegenden Studie wurden demineralisierte bovine Dentinproben verwendet, die über die Zeiträume von zwei Wochen und fünf Wochen in elf verschiedenen Speichelersatzlösungen gelagert wurden. Die verschiedenen Lagerungszeiten von zwei und fünf Wochen wurden gewählt, um kurzfristige Effekte von langfristigen Effekten unterscheiden zu können.

Der verwendete Versuchsaufbau simuliert einen sehr intensiven Kontakt zwischen Zahnhartsubstanz und Speichelersatzmittel, der in diesem Ausmaß unter klinischen Bedingungen nicht zu erwarten ist. Die Menge des artifiziellen Speichels, die eingenommen wird, richtet sich jedoch nach dem Bedarf des Patienten und unterliegt damit keiner Tageshöchstdosis [Kielbassa et al. 2001]. Bei Patienten mit einer ausgeprägten Hyposalivation ist eine schützende Wirkung durch den Speichel nicht zu erwarten [Ben-Aryeh et al. 1975; Dreizen et al. 1976]. Deshalb ist anzunehmen, dass die Anwendung eines Speichelersatzmittels über einen langen Zeitraum zu ähnlichen wie in dieser Untersuchung erzeugten Effekten führt.

Die in dieser Studie verwendeten Dentinproben stammten von schlachtfrischen Rindern. Für eine optimale Nachahmung klinischer Bedingungen wären menschliche Zähne gleichen Ursprungs sowie Alters das Mittel der Wahl gewesen. Die Beschaffung humaner Zähne für eine experimentelle Untersuchung ist jedoch schwierig und zwangsläufig mit Unterschieden in Alter, Zusammensetzung und Zeitraum zwischen Extraktion und Verwendung im Versuch verbunden, so dass große Variabilitäten bei den Versuchsergebnissen die Folge wären. Die Rinderzahnhartsubstanz ist nicht durch unterschiedliche äußere Einflüsse vorgeschädigt, sodass von einer uniformen Reaktionsfähigkeit ausgegangen werden kann [Mellberg 1992]. Die chemische Zusammensetzung boviner Zahnhartsubstanz sowie ihre radiologische Dichte entspricht weitgehend der menschlichen [Esser 1998; Fonseca et al. 2004]. Des Weiteren eignen sie sich aufgrund ihrer Größe und leichten Verfügbarkeit hervorragend zur Anfertigung ausreichend großer Probenquader. Daher sind Rinderzähne eine gute Wahl zur Substitution humaner Zahnhartsubstanz [Kielbassa & Meyer-Lueckel 2001].

In der vorliegenden Studie wurde kein pH-Cycling verwendet. Das pH-Cycling beinhaltet einen Versuchsaufbau, bei dem ein Probenkörper abwechselnd zwei

verschiedenen Lösungen mit unterschiedlichen pH-Werten ausgesetzt wird und somit ein abwechselnder pH-Wert vorliegt. Dieses System eignet sich gut zur Untersuchung von De- und Remineralisationsprozessen, die den natürlichen Ablauf in der Mundhöhle nachahmen sollen [Brandt 1998; ten Cate et al. 1998; ten Cate & Duijsters 1982]. Bei einem gesunden Menschen ist durch die normale Speichelsekretion immer ein hinsichtlich HA, OKP, DKPD übersättigtes Milieu vorhanden. Hierdurch kann der durch die Aufnahme von Nahrung oder sauren Getränken verursachte pH-Wert Abfall und somit die Phase der Demineralisation (d.h. Zeit der Untersättigung hinsichtlich HA) ausgeglichen werden. Da in dieser Studie jedoch Speichelersatzmittel untersucht wurden, die ihre Anwendung bei Patienten mit einer Hyposalivation finden, muss ein Fehlen der natürlichen Remineralisationslösung Speichel vorausgesetzt werden. Ziel war es, den Effekt der Speichelersatzmittel auf die Zahnhartsubstanz unberührt von anderen parallel beeinflussenden Faktoren zu untersuchen. Aufgrund dieser Aspekte wurde von einem pH-Cycling-Modell Abstand genommen. Es könnte jedoch interessant sein, in zukünftigen Studien durch ein pH-Cycling-Modell die Wirkung eines Speichelersatzmittels im direkten Vergleich mit der des natürlichen Speichels als Remineralisationslösung zu untersuchen.

Die elf unterschiedlichen Versuchslösungen, deren Mineralisationswirkung auf bovine Dentinproben *in vitro* untersucht wurde, variierten wesentlich in ihren Bestandteilen. Sie enthielten diverse Basisstoffe, unterschiedliche pH-Werte sowie unterschiedlich hohe Konzentrationen an Kalzium und Phosphat. Somit waren die Lösungen unter-, ge- oder übersättigt hinsichtlich HA, OKP, DKPD.

In der Literatur wurde vielfach beschrieben, dass mit Kalzium und Phosphat übersättigte Lösungen eine remineralisierende Wirkung auf die Zahnhartsubstanzen haben können [Hara et al. 2008; Kielbassa et al. 2001; Shannon & Edmonds 1978]. Es bilden sich Kalzium-Phosphat-Verbindungen wie das OKP und DKPD, die Vorstufen des stabileren Hydroxylapatit darstellen. Ihnen kommt eine entscheidende Rolle bei Remineralisationsprozessen zu [Brown 1962; Johnsson & Nancollas 1992]. Die Sättigung einer Lösung hinsichtlich Kalzium-Phosphat-Verbindungen sollte mindestens 1 betragen und somit eine übersättigte Lösung darstellen, um eine Remineralisation zu bewirken [Larsen & Pearce 2003; Shellis 1988].

Die auf den Erkenntnissen der oben erwähnten Studien modifizierte Saliva naturalis-Lösung bestätigt diese Theorien. Das modifizierte Speichelersatzmittel im vorliegenden Versuchsaufbau war hinsichtlich HAP, OKP und DKPD übersättigt. Nach fünf Wochen Lagerung kam es zu einem signifikanten Mineralgewinn [Tschoppe et al. 2009a; Tschoppe et al. 2009b]. Die Remineralisation ist durch die Übersättigung an Kalzium-Phosphat-Komplexen zu erklären [Hara et al. 2008]. Die treibende Kraft der Lösung strebt Richtung Präzipitation [Shellis 1988].

Im Gegensatz dazu verursachte das Herstellerprodukt Saliva natura eine starke Demineralisation der Dentinproben. Es kam nach zwei und nach fünf Wochen zu erheblichen Mineralverlusten und Vergrößerungen der Läsionstiefen, wie sie auch schon von anderen Autoren beschrieben wurden [Tschoppe et al. 2009a; Tschoppe et al. 2009b; Tschoppe et al. 2007]. Saliva natura war hinsichtlich OKP, HAP, DKPD untersättigt, jedoch nur geringfügig saurer als die modifizierte Lösung. Dieses Ergebnis unterstützt die Aussage, dass eine Remineralisation von der Sättigung hinsichtlich OKP, HAP, DKPD abhängig ist. Es wurden zwei Lösungen mit denselben Bestandteilen mit Ausnahme der Sättigung hinsichtlich OKP, HAP, DKPD untersucht. Die übersättigte Lösung bewirkte eine Remineralisation, während die untersättigte Lösung eine starke Demineralisation verursacht hat.

Eine wichtige Bedeutung kommt der Zugabe von Fluoriden zu. Fluoride sind in der Lage, einer Demineralisation entgegenzuwirken und Remineralisationsprozesse zu fördern [Buchalla et al. 2002; Collys et al. 1990; Fischer et al. 1995; Shannon & Edmonds 1978]. Wenn eine geringe Menge von Fluoridionen in einer Lösung ist, kann Hydroxylapatit auch unterhalb seines kritischen pH-Wertes gelöst werden. Die gelösten Ionen können als Fluorapatit oder gemischt als Fluorhydroxylapatit repräzipitieren [ten Cate 1997]. Durch diesen Mechanismus wird einerseits ein Mineralverlust verhindert und zusätzlich die Kristallstruktur durch eine äußere fluoridreiche Schicht auf den Apatitkristallen geschützt [Caslavaska et al. 1975; Fischer et al. 1995; ten Cate 1997].

Durch Zugabe von Fluoriden in das Speichersatzmittel Oralube konnte eine Steigerung der Härte im Sinne einer Remineralisation von Zahnschmelz erreicht werden [Shannon & Edmonds 1978]. In einer weiteren Studie wurde ein signifikanter Mineralgewinn und Abnahme der Läsionstiefe von Dentinproben beobachtet [Meyer-Luckel 2000]. In dieser Studie kam es zu keinem Mineralgewinn durch die Lagerung in Oralube. Nach zwei Wochen kam es sogar zu einer signifikanten Erhöhung der Läsionstiefe der Dentinproben. Dieses Ergebnis überrascht, denn das Speichersatzmittel war im Bezug auf OKP und DKPD übersättigt und beinhaltete Fluoride bei annähernd neutralem pH-Wert. Hier ist die angewandte Methode kritisch zu betrachten, da die ausgewerteten Proben ($n = 14$) ein breites Konfidenzintervall besaßen. Es müssen eventuelle Artefakte bei der Herstellung der Dünnschliffe mit berücksichtigt werden. Daher wäre interessant, in weiteren Studien zu ergründen, ob durch eine längere Kontaktzeit mit Oralube nicht doch eine Remineralisation zu beobachten wäre, da die Vorraussetzungen für eine Remineralisation grundsätzlich gegeben sind.

Eine weitere wichtige Variable der Speichersatzmittel stellt ihr Basisstoff dar. Es existieren viele verschiedene Basisstoffe in kommerziell erhältlichen Speichersatzmitteln. Die am häufigsten verwendeten sind Muzin und CMC. In dieser

Studie wurden neben diesen beiden Stoffen auch Lösungen auf Xylitol-, Sorbitol-, Ptyalin- und Polysaccharidbasis verwendet.

Muzin zeigt eine bessere Benetzung der Oberflächen als CMC [Hatton et al. 1987]. Diese Eigenschaft lässt sich durch die Herabsetzung der Oberflächenspannung durch Muzine erklären. Sie bilden einen idealen Feuchtigkeitsfilm auf der Mund- und Rachenschleimhaut, der lange Zeit haftet ohne dabei zu verkleben [Nieuw Amerongen et al. 1987]. Präparate auf CMC-Basis zeigen hingegen ein besseres Remineralisationsvermögen als solche auf Muzinbasis. Dies kann einerseits an der unterschiedlichen Viskosität der beiden Stoffe liegen, des Weiteren hat Muzin eine höhere Affinität zu Kalziumionen als CMC. Dadurch stehen bei Produkten auf Muzinbasis weniger freie Kalziumionen für eine Remineralisation zur Verfügung [Gelhard et al. 1983]. Generell erscheinen niedrig-visköse Lösungen auf CMC- oder Muzinbasis positive Eigenschaften auf die Integrität des Zahnschmelzes zu haben [Meyer-Lueckel & Kielbassa 2002].

Sorbitol hat eine höhere Affinität zu Kalziumionen als Xylitol und bildet deshalb leichter Komplexe. Der Zusatz von Sorbitol kann einen negativen Effekt auf die Steigerung der Mikrohärtigkeit haben [Vissink et al. 1985]. Xylitol senkte das Remineralisationspotential weniger als Sorbitol. Es reduziert durch Beeinflussung des Transportes von gelöstem Zahnschmelz aus der Läsion in die Lösung die Löslichkeit des Zahnschmelzes in saurer Umgebung. Dies geschieht durch Herabsetzung des Diffusionskoeffizienten von Kalzium und Phosphat [Arends et al. 1984].

Das Speichelersatzmittel A.S Saliva Orthana auf Muzinbasis ist im Bezug auf HAP, OKP und DKPD übersättigt und enthält nach unseren Messungen die höchste Fluoridkonzentration der in der vorliegenden Studie verwendeten Lösungen bei annähernd neutralem pH-Wert. Es war daher nicht überraschend, dass es nach Einwirken dieses Präparates zu einem signifikanten Mineralgewinn und Rückgang der Läsionstiefe kam [Joyston-Bechal & Kidd 1987]. Diese Remineralisation entstand jedoch erst nach fünf Wochen Lagerung. Als Begründung lässt sich hierfür die mit der längeren Kontaktzeit verbundene verstärkte Diffusion der Ionen entlang des Konzentrationsgradienten vom Speichelersatzmittel zum Zahn anführen. Des Weiteren kam es in der Tiefe der Dentinproben zu einer leichten Hyperremineralisation (siehe Qualitative Auswertung, Abb. 15) wie es bereits von anderen Autoren beschrieben wurde [Arends et al. 1997; Mukai et al. 2001]. Demineralisiertes Dentin, welches anschließend remineralisiert wird, zeigt häufig Hyperremineralisationen. Nach einer Hyperremineralisation kann der Mineralgehalt von Dentin (48-50 Vol%) in und auf der Läsion erheblich erhöht sein. Es wurden Mineralgehalte von 90 Vol% und mehr beobachtet [Arends et al. 1997].

Das Na-CMC-Basisprodukt Artisal ist ebenfalls annähernd pH-neutral und hinsichtlich HAP, OKP und DKPD übersättigt, es sind jedoch keine Fluoride enthalten. Durch die Lagerung in diesem Präparat kam es zu keinen signifikanten Veränderungen im Mineralgehalt der Proben. Die Übersättigung an Kalzium-Phosphat-Verbindungen hat wahrscheinlich einer Demineralisation entgegengewirkt. Das Ausbleiben einer Remineralisation könnte zum einen am Fehlen der Fluoridionen liegen. Des Weiteren enthält Artisal Zusätze von Sorbitol, die wie zuvor erwähnt, negativen Einfluß auf Remineralisationsprozesse haben können. Dieses Ergebnis stimmt mit früheren Studien überein, in denen ebenfalls keine signifikante Mineralgehaltsveränderung von Dentinproben durch Artisal beschrieben wurde [Kielbassa & Meyer-Lueckel 2001; Meyer-Lueckel et al. 2002].

Einige der hier getesteten Lösungen wiesen einen sauren pH-Wert unterhalb des für die Zahnhartsubstanzen kritischen Wertes von 5,5 auf und waren im Bezug auf Kalzium-Phosphat-Verbindungen untersättigt. Durch die Lagerung in diesen Mitteln kam es, wie zu erwarten war, zu erheblichen Mineralverlusten und Erhöhungen der Läsionstiefen der Dentinproben. Diese Beobachtung lässt sich bei Betrachtung der folgenden Aspekte nachvollziehen. In saurer Umgebung ist eine höhere Ionenkonzentration notwendig als bei neutralen, die Zahnhartsubstanz umgebenden Lösungen um einer Demineralisation entgegenzuwirken. Dabei ist insbesondere der pH-Wert die treibende Kraft für Auflösung und Präzipitation von Hydroxylapatit [Edgar et al. 2004]. Wenn das Ionenaktivitätsprodukt einer Lösung kleiner ist als das Löslichkeitsprodukt und somit eine untersättigte Lösung vorliegt, kann es zu Demineralisationen kommen [Fejerskov & Kidd 2008]. Zu diesen Lösungen gehören: Glandosane [Kielbassa & Meyer-Lueckel 2001; Meyer-Lueckel et al. 2002; Tschoppe et al. 2008], Mouth Kote, TMP Tüshaus und Xerostom.

Die auffälligste Wirkung hatte die Lösung Mouth Kote auf die Dentinproben. Es kam zu starken Mineralverlusten und einer erheblichen Vergrößerung der Läsionstiefe. Die Erosionen waren so stark ausgeprägt, dass sie bei Betrachtung der Dentinproben mit dem bloßen Auge zu erkennen waren. Die Effektbereiche einiger Proben erstreckten sich so weit in die Tiefe, dass eine Unterbrechung des Probenkörpers erkennbar war. Aus diesem Grund beträgt die Anzahl der durch TMR-Mikroradiografie ausgewerteten Proben von ursprünglich $n = 16$, nur noch $n = 6$. Bei den zehn verlorenen Proben war eine Dünnschliffherstellung nicht möglich. Dieser ausgeprägte Mineralverlust lässt sich einerseits durch den sauren pH-Wert der Lösung von 3,05 erklären. Des Weiteren war die Lösung im Bezug auf Kalzium und Phosphat untersättigt, sodass eine Berechnung der HAP-, DKPD- und OKP-Konzentration nicht möglich war.

Mit der limitierten Aussagekraft einer In-vitro-Studie lässt sich abschließend zusammenfassen, dass die Speichelersatzmittel Glandosane, Mouth Kote, Saliva

Natura, TMP Tüshaus und Xerostom nicht für die Anwendung beim bezahnten Patienten geeignet sind. Ein Speichelersatzmittel sollte pH-neutral sein und eine Sättigung bzw. Übersättigung von Kalzium und Phosphat aufweisen, wenn es bei bezahnten Patienten zum Einsatz kommt. Eine Zugabe von Fluoriden scheint aus kariesprophylaktischer Sicht ebenfalls sinnvoll.

7 Schlussfolgerungen

Im Falle der Verabreichung eines Speichelersatzmittels sollte zumindest bei bezahnten Patienten darauf geachtet werden, dass durch die langfristige Anwendung keine Schädigung der Dentition entsteht. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der vorliegenden Studie sollte von Präparaten, die einen niedrigen pH-Wert haben und hinsichtlich HA, OKP, DKPD übersättigt sind, abgeraten werden. Zu dieser Gruppe gehören die Speichelersatzmittel Glandosane, Mouth Kote, TMP Tüshaus und Xerostom.

Zur Linderung der bei einer Hyposalivation auftretenden Beschwerden sollten Präparate, die einen neutralen pH-Wert und eine Übersättigung an Kalzium-Phosphat-Verbindungen sowie Fluoriden aufweisen, zur Anwendung kommen. Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass Produkte, die hinsichtlich Hydroxylapatit, Oktakalziumphosphat und Dikalziumphosphatdihydrat (HAP, OKP, DKPD > 1) übersättigt waren, einer Demineralisation entgegenwirken und Remineralisationsprozesse fördern. Diese übersättigten Lösungen waren die Remineralisationslösung (OKP), die Speichelersatzmittel Artisial (OKP und DKPD), A.S Saliva Orthana (OKP und DKPD), Oralube (OKP und DKPD), Saliva natura modifiziert (OKP und DKPD) und Saseem (HAP). Remineralisierende Wirkungen zeigten A.S Saliva Orthana, Saliva natura modifiziert und die Remineralisationslösung.

Von allen kommerziell erhältlichen, in dieser Studie verwendeten Speichelersatzmitteln kommt A.S Saliva Orthana den Anforderungen an ein ideales Speichelersatzmittel am nächsten. Des Weiteren könnte das Präparat Saliva natura, wenn es in einer nach dem Vorbild dieser Studie modifizierten Version erhältlich wäre, eine gute Alternative darstellen.

8 Zusammenfassung

Problemstellung: Die Anwendung von Speichelersatzmitteln ist ein weit verbreitetes Therapiemittel zur Linderung der Beschwerden, die durch eine Hyposalivation verursacht werden. **Zielsetzung:** Das Ziel dieser Studie war, die remineralisierende Wirkung handelsüblicher Speichelersatzmittel auf bovine demineralisierte Dentinproben *in vitro* zu untersuchen, wobei insbesondere die Sättigungsgrade hinsichtlich OKP und DKPD untersucht werden sollten. **Material und Methoden:** Für die Untersuchung wurden 176 Dentinproben aus Rinderfrontzähnen hergestellt. Nach Politur der Oberflächen, Einbettung in Kunstharzblöcke und Abdeckung eines Kontrollbereichs mit Nagelack wurden die Proben in einer Demineralisationslösung bei 37 °C gelagert (5 Tage; pH = 5,5). Die Gruppen (n = 16) wurden für zwei (Effekt 1) bzw. fünf (Effekt 2) Wochen in Artisial, A.S Saliva Orthana, Glandosane, Mouth Kote, Oralube, Saliva natura, mod. Saliva natura, Saseem, TMP Tüshaus, Xerostom und einer Remineralisationslösung (Positivkontrolle) gelagert. Nach Abschluss der Lagerung wurden Dünnschliffe angefertigt. Der Mineralverlust (ΔZ) und die Läsionstiefe (Lt) wurden mikroradiografisch ausgewertet. Des Weiteren wurden die Kalzium- und Phosphatkonzentrationen der Lösungen bestimmt und die Sättigungen hinsichtlich Hydroxylapatit (HAP), Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD) berechnet. **Ergebnisse:** Glandosane, Mouth Kote, TMP Tüshaus und Xerostom verursachten signifikante Zunahmen der Mineralverluste und Steigerungen der Läsionstiefen. Oralube verursachte nur eine signifikante Erhöhung der Läsionstiefe ($\Delta Lt_{\text{Effekt 1}}$). Durch Lagerung in Artisial und Saseem kam es zu keinen signifikanten Veränderungen hinsichtlich Mineralverlust und Läsionstiefe. Durch Einwirken von mod. Saliva natura $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$ und der Remineralisationslösung $\Delta Z_{\text{Effekt 1}}/\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$ kam es zu einem signifikanten Mineralgewinn. Die Lagerung in A.S Saliva Orthana $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}/Lt_{\text{Effekt 2}}$ bewirkte einen signifikanten Mineralgewinn und Verringerung der Läsionstiefe ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey post-hoc Test). **Schlussfolgerungen:** Produkte mit niedrigem pH-Wert und niedrigen Sättigungen hinsichtlich verschiedener Kalzium-Phosphat-Verbindungen führten zu Demineralisationen, während ein neutraler pH-Wert und insbesondere Übersättigung hinsichtlich OKP und DKPD für die Hemmung einer fortschreitenden Demineralisation sowie für eine Remineralisation verantwortlich zu sein scheinen.

Schlagwörter: Speichelersatzmittel, Dentin, Hyposalivation, Mikroradiographie

Klinische Bedeutung: Die Präparate, die im vorliegenden Versuchsaufbau zu Demineralisationen führten sollten keine Anwendung bei bezahnten Patienten finden. A.S Saliva Orthana und mod. Saliva natura sind bzw. wären aus zahnmedizinischer Sicht eine gute Wahl.

9 Abstract

Statement of problem: Artificial saliva substitutes are considered a widely spread treatment option to relieve the symptoms of xerostomia. **Objectives:** The aim of this study was to evaluate the effects of commercially available saliva substitutes on predemineralised bovin dentin *in vitro*, in particular analyzing the effect of the degree of saturation in respect of calcium-containing compounds. **Materials and methods:** For the experiment, 176 bovine dentin specimens were prepared. After polishing the surfaces, embedding in epoxy resin and covering a control part with nail polish, the specimens were stored in a demineralising solution for five days at 37 °C (pH = 5.5). We prepared thin sections (100 µm) of the specimens after the individual groups (n = 16) had been stored for two (effect 1) or five (effect 2) weeks in Artisial, A.S Saliva Orthana, Glandosane, Mouth Kote, Oralube, Saliva natura, modified Saliva natura, Saseem, TMP Tüshaus, Xerostom and a remineralisation solution (positive control). We then measured and analyzed the mineral loss (ΔZ) and lesion depth (LD) by means of contact microradiography. Furthermore, the calcium and phosphate ratios of all solutions were determined and the degree of saturation with respect to dicalcium phosphate dihydrate (DCPD), octacalcium phosphate (OCP) and hydroxyapatite (HAP) were calculated. **Results:** This study showed that Glandosane, Mouth Kote, TMP Tüshaus and Xerostom induced significantly increased $\Delta Z_{\text{effect 1}}/\Delta Z_{\text{effect 2}}$ and $LD_{\text{effect 1}}/LD_{\text{effect 2}}$ values ($p < 0,05$; ANOVA, *Tukey* post-hoc test). Oralube induced a significant increase of $\Delta LD_{\text{Effekt 1}}$, whereas no significant changes in mineral loss or lesion depth were observed after storage in Artisial and Saseem. A significant decrease in mineral loss was detected with modified Saliva natura by $\Delta Z_{\text{effect 2}}$, and with the remineralisation solution by $\Delta Z_{\text{effect 1}}/\Delta Z_{\text{effect 2}}$. A.S Saliva Orthana induced a significant decrease in mineral loss and lesion depth by $\Delta Z_{\text{effect 2}}$ and $LD_{\text{effect 2}}$, ($p < 0,05$; ANOVA, *Tukey* post-hoc-test). **Conclusions:** Products with low pH values and low saturations with respect to calcium-containing compounds induce a considerable demineralisation, whereas a neutral pH value and in particular a high saturation with respect to OCP and DCPD seem to inhibit demineralisation and enable remineralisation.

Keywords: Saliva substitute, dentin, xerostomia, microradiography, OCP saturation

Clinical significance: Our results suggest that solutions inducing demineralisation should not be used for the dentate patient, whereas A.S Saliva Orthana and Saliva natura modified are recommended from the dentist's point of view.

10 Literaturverzeichnis

- Arends J, Christoffersen J, Schuthof J, Smits MT. Influence of xylitol on demineralization of enamel. *Caries Res* 1984;18:296-301.
- Arends J, Ruben JL, Inaba D. Major topics in quantitative microradiography of enamel and dentin: R parameter, mineral distribution visualization, and hyper-remineralization. *Adv Dent Res* 1997;11:403-14.
- Ben-Aryeh H, Gutman D, Szargel R, Laufer D. Effects of irradiation on saliva in cancer patients. *Int J Oral Surg* 1975;4:205-10.
- Brandt M. Entwicklung, Bau und Erprobung eines automatischen pH-cycling-Systems. Zahnmed Diss, Halle-Wittenberg 1998:
- Brown W, Smith, JP, Lehr, JR, Frazier, AW. Octacalcium phosphate and hydroxyapatite. *Nature* 1962;196:1048-1054.
- Brudevold F, Gron P, McCann H. Physico-Chemical Aspects of the Enamel-Saliva System. *Adv Fluorine Res* 1965;21:63-78.
- Buchalla W, Attin T, Schulte-Monting J, Hellwig E. Fluoride uptake, retention, and remineralization efficacy of a highly concentrated fluoride solution on enamel lesions in situ. *J Dent Res* 2002;81:329-33.
- Buskes JA, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Res* 1985;19:490-6.
- Caslavska V, Moreno EC, Brudevold F. Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch Oral Biol* 1975;20:333-9.
- Collys K, Slop D, de Langhe L, Coomans D. A comparison of the influence of lanthanum and fluoride on de- and remineralization of bovine enamel in vitro. *J Dent Res* 1990;69:458-62.
- Davies AN, Broadley K, Beighton D. Xerostomia in patients with advanced cancer. *J Pain Symptom Manage* 2001;22:820-5.
- Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc* 2008;139 Suppl:18S-24S.
- Deng G, Hou BL, Holodny AI, Cassileth BR. Functional magnetic resonance imaging (fMRI) changes and saliva production associated with acupuncture at LI-2 acupuncture point: a randomized controlled study. *BMC Complement Altern Med* 2008;8:37.
- Dreizen S, Brown LR, Handler S, Levy BM. Radiation-induced xerostomia in cancer patients. Effect on salivary and serum electrolytes. *Cancer* 1976;38:273-8.
- Edgar M, Dawes C, O'Mullane D. Saliva and oral health. (3 ed.) British Dental Association, London 2004:
- Esser M, Tinschert, J, Marx, R. Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnarztl Z* 1998;53:713-717.
- Fejerskov O, Kidd E. Dental Caries. (3 ed.) Blackwell Munksgaard Ltd, Oxford 2008:
- Fejerskov O, Manji F. Risk assessment in dental caries. In: Bader JD: Risk assessment in dentistry. Chapel Hill, NC: University of North Carolina Dental Ecology, 1990:215-217.
- Fischer C, Lussi A, Hotz P. [The cariostatic mechanisms of action of fluorides. A review]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1995;105:311-7.

- Fonseca RB, Haiter-Neto F, Fernandes-Neto AJ, Barbosa GA, Soares CJ. Radiodensity of enamel and dentin of human, bovine and swine teeth. *Arch Oral Biol* 2004;49:919-22.
- Fox RI. Sjogren's syndrome. *Lancet* 2005;366:321-31.
- Gelhard TB, Fidler V, s-Gravenmade EJ, Vissink A. Remineralization of softened human enamel in mucin- or CMC-containing artificial salivas. *J Oral Pathol* 1983;12:336-41.
- Guchelaar HJ, Vermes A, Meerwaldt JH. Radiation-induced xerostomia: pathophysiology, clinical course and supportive treatment. *Support Care Cancer* 1997;5:281-8.
- Hannig M, Dounis E, Henning T, Apitz N, Stosser L. Does irradiation affect the protein composition of saliva? *Clin Oral Investig* 2006;10:61-5.
- Hara AT, Karlinsey RL, Zero DT. Dentine remineralization by simulated saliva formulations with different Ca and Pi contents. *Caries Res* 2008;42:51-6.
- Hatton MN, Levine MJ, Margarone JE, Aguirre A. Lubrication and viscosity features of human saliva and commercially available saliva substitutes. *J Oral Maxillofac Surg* 1987;45:496-9.
- Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. (4 ed.) Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, München 2007:
- Hugger A, Türp J, Kerschbaum T. Orale Physiologie. (1 ed.) Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin 2006:
- Imfeld T. [Oligosialia and xerostomia. I. Basic principles, epidemiology, etiology, pathology]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984;94:741-54.
- Johnsson MS, Nancollas GH. The role of brushite and octacalcium phosphate in apatite formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992;3:61-82.
- Joyston-Bechal S, Kidd EA. The effect of three commercially available saliva substitutes on enamel in vitro. *Br Dent J* 1987;163:187-90.
- Junqueira L, Carneiro J, Schiebler T. Histologie. (4 ed.) Springer-Verlag, Heidelberg 1996:
- Kielbassa AM. Radiotherapy of the Head and Neck. Implications for Dentists, Ear-Nose-Throat Physicians, and Radiologists. Schlütersche, Hannover 2004:
- Kielbassa AM, Hellwig E, Meyer-Lueckel H. Effects of irradiation on in situ remineralization of human and bovine enamel demineralized in vitro. *Caries Res* 2006;40:130-5.
- Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H. [Effects of saliva substitutes and mouthwash solutions on dentin]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2001;111:1060-6.
- Kielbassa AM, Shohadai SP, Schulte-Monting J. Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel. *Support Care Cancer* 2001;9:40-7.
- Kielbassa AM, Shohadai SP. Die Auswirkung von Speichelersatzmitteln auf die Läsionstiefe von demineralisiertem Schmelz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1999;54:757-763.
- Klimm W. (1997). Kariologie. München: Carl Hanser.
- Lagerlof F. Effects of flow rate and pH on calcium phosphate saturation in human parotid saliva. *Caries Res* 1983;17:403-11.
- Lagerlof F, Lindqvist L. A method for determining concentrations of calcium complexes in human parotid saliva by gel filtration. *Arch Oral Biol* 1982;27:735-8.
- Larsen MJ, Jensen SJ. Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arch Oral Biol* 1994;39:23-7.

- Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res* 1999;33:81-7.
- Larsen MJ, Pearce EI. Saturation of human saliva with respect to calcium salts. *Arch Oral Biol* 2003;48:317-22.
- Matzker J, Schreiber J. [Synthetic saliva in the treatment of hyposialies, especially in radiation sialadenitis]. *Z Laryngol Rhinol Otol* 1972;51:422-8.
- Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 1992;71 Spec No:913-9.
- Mellberg JR, Loertscher KL. Comparison of in vitro fluoride uptake by human and bovine enamel from acidulated phosphate-fluoride solutions. *J Dent Res* 1974;53:64-7.
- Meyer-Lueckel H. Die Auswirkung von Speichelersatz- und Mundspüllösungen auf gesundes und demineralisiertes Dentin. Eine In-vitro-Untersuchung. Zahnmed Diss, Freiburg 2000:
- Meyer-Lueckel H, Chatzidakis AJ, Kielbassa AM. Effect of various calcium/phosphates ratios of carboxymethylcellulose-based saliva substitutes on mineral loss of bovine enamel in vitro. *J Dent* 2007;35:851-7.
- Meyer-Lueckel H, Hopfenmuller W, von Klinggraff D, Kielbassa AM. Microradiographic study on the effects of mucin-based solutions used as saliva substitutes on demineralised bovine enamel in vitro. *Arch Oral Biol* 2006a;51:541-7.
- Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. [Use of saliva substitutes in patients with xerostomia]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2002;112:1037-58.
- Meyer-Lueckel H, Schulte-Monting J, Kielbassa AM. The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 2002;8:192-8.
- Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Kielbassa AM. Effect of various $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ concentrations of linseed-based saliva substitutes on enamel in vitro. *J Oral Rehabil* 2006b;33:760-6.
- Momm F, Volegova-Neher NJ, Schulte-Monting J, Guttenberger R. Different saliva substitutes for treatment of xerostomia following radiotherapy. A prospective crossover study. *Strahlenther Onkol* 2005;181:231-6.
- Mukai Y, Lagerweij MD, ten Cate JM. Effect of a solution with high fluoride concentration on remineralization of shallow and deep root surface caries in vitro. *Caries Res* 2001;35:317-24.
- Nieuw Amerongen AV, Oderkerk CH, Driessen AA. Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. *Caries Res* 1987;21:297-309.
- Oesterle LJ, Shellhart WC, Belanger GK. The use of bovine enamel in bonding studies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;114:514-9.
- Pajukoski H, Meurman JH, Halonen P, Sulkava R. Prevalence of subjective dry mouth and burning mouth in hospitalized elderly patients and outpatients in relation to saliva, medication, and systemic diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;92:641-9.
- Reichert P, Hausamen J-E, Neukam F, Schliephake H, Schmelzeisen R. Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin 2002:Vol-1:
- Rice DH. Advances in diagnosis and management of salivary gland diseases. *West J Med* 1984;140:238-49.

- Rosenhek M, Macpherson LM, Dawes C. The effects of chewing-gum stick size and duration of chewing on salivary flow rate and sucrose and bicarbonate concentrations. *Arch Oral Biol* 1993;38:885-91.
- Samandari F, Mai JK. Funktionelle Anatomie. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin 1995:
- Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol* 2000;45:355-61.
- Schroeder H. Orale Strukturbiologie. (4 ed.) Thieme Verlag, Stuttgart-New York 1992:
- Scully C. Drug effects on salivary glands: dry mouth. *Oral Dis* 2003;9:165-76.
- s'Gravenmade EJ, Roukema PA, Panders AK. The effect of mucin-containing artificial saliva on severe xerostomia. *Int J Oral Surg* 1974;3:435-9.
- Shannon IL, Edmonds EJ. Effect of fluoride concentration on rehardening of enamel by a saliva substitute. *Int Dent J* 1978;28:421-6.
- Shellis RP. A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. *Comput Appl Biosci* 1988;4:373-9.
- Sreebny LM. Recognition and treatment of salivary induced conditions. *Int Dent J* 1989;39:197-204.
- ten Cate JM. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci* 1997;105:461-5.
- ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. II. Determination of activation energy and reaction order. *Caries Res* 1978;12:213-22.
- ten Cate JM, Damen JJ, Buijs MJ. Inhibition of dentin demineralization by fluoride in vitro. *Caries Res* 1998;32:141-7.
- ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982;16:201-10.
- Tschoppe P, Kielbassa AM. Wenn der Speichel versiegt – Speichelersatzmittel als Therapiemöglichkeit? *Quintessence Int* 2011;62(4):449-455.
- Tschoppe P, Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H. Evaluation of the remineralizing capacities of modified saliva substitutes in vitro. *Arch Oral Biol* 2009a;54:810-6.
- Tschoppe P, Kielbassa AM, Toll R, Meyer-Lueckel H. [Modification of the mineralizing capacity of a saliva substitute (saliva natura) on enamel in vitro]. *Laryngorhinootologie* 2009b;88:717-22.
- Tschoppe P, Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. Effect of carboxymethylcellulose-based saliva substitutes on predemineralised dentin evaluated by microradiography. *Arch Oral Biol* 2008;53:250-6.
- Tschoppe P, Meyer-Lueckel H, Toll R, Kielbassa AM. [In vitro analysis of a new saliva substitute (Saliva natura) on enamel and dentin]. *Laryngorhinootologie* 2007;86:723-7.
- Tschoppe P, Wolgin M, Pischon N, Kielbassa AM. Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health. *Quintessence Int* 2010;41:321-33.
- van der Reijden WA, Vissink A, Veerman EC, Amerongen AV. Treatment of oral dryness related complaints (xerostomia) in Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 1999;58:465-74.
- Vissink A, Gravenmade EJ, Gelhard TB, Panders AK, Franken MH. Rehardening properties of mucin- or CMC-containing saliva substitutes on softened human enamel. Effects of sorbitol, xylitol and increasing viscosity. *Caries Res* 1985;19:212-8.

Vissink A, s-Gravenmade EJ, Panders AK, Vermey A, Petersen JK, Visch LL, Schaub RM. A clinical comparison between commercially available mucin- and CMC-containing saliva substitutes. *Int J Oral Surg* 1983;12:232-8.

Watanabe S, Dawes C. The effects of different foods and concentrations of citric acid on the flow rate of whole saliva in man. *Arch Oral Biol* 1988;33:1-5.

Zimmermann JS, Wilhelm R, Niehoff P, Schneider R, Kovacs G, Kimmig B. [Prevention and therapy of acute radiation injuries of the skin and mucosa. I. Results of a German multicenter questionnaire]. *Strahlenther Onkol* 1998;174:142-8.

11 Anhang

11.1 Abkürzungsverzeichnis

Aqua dest.	Destilliertes Wasser
$\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$	Kalziumchlorid
CEC	Carboxyethylcellulose
CMC	Carboxymethylcellulose
Demin	Demineralisation
DKPD	Dikalziumphosphatdihydrat
F^-	Fluorid
g	Gramm
Gew %	Gewichtsprozent
Gil.	Glandulae
h	Stunde
HAP	Hydroxylapatit
HCl	Salzsäure
HEC	Hydroxyethylcellulose
HEPES	4-2-Hydroxyethyl-1-piperazinethansulfonsäure
K_2HPO_4	Dikaliumhydrogenphosphat
KCl	Kaliumchlorid
KH_2PO_4	Kaliumdihydrogenphosphat
KI	Konfidenzintervall
KOH	Kaliumhydroxid
Lsg.	Lösung
Lt	Läsionstiefe
mg	Milligramm
MgCl_2	Magnesiumchlorid
MHDP	Methylhydroxydiphosphonat
Min	Mineralgehalt

ml	Milliliter
mM	Millimol
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
Nr.	Nummer
OKP	Oktakalziumphosphat
POE	Polyethylenoxid
Remin-Lsg.	Remineralisationslösung
SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TMR	Transversale Mikroradiografie
Vol. %	Volumenprozent

11.2 Liste der verwendeten Materialien

In dieser Studie kamen die im Folgenden aufgeführten Geräte und Materialien zur Anwendung. Neben dem Handelsnamen des Produktes sind der Hersteller sowie das Herkunftsland angefügt. Es wird darauf hingewiesen, dass geschützte Namen in dieser Untersuchung nicht zusätzlich gekennzeichnet sind. Daher kann aus dem Fehlen einer Kennzeichnung nicht geschlossen werden, dass es sich um einen freien Warennamen handelt.

- Mat. 1** A. S Saliva Orthana; A. S. Pharma, Polgate, Großbritannien
- Mat. 2** Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
- Mat. 3** Artisial; Laboratories Dexo. S. A., Saint-Cloud, Frankreich
- Mat. 4** Bandsäge, Exakt 300cl; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 5** Brutschrank, Venticell 404; MMM Medcenter GmbH, Planegg, Deutschland
- Mat. 6** Bügel-Messschraube, Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan
- Mat. 7** Kalzium; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 8** CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan
- Mat. 9** CME-Spritzenfilter 0,2 µm; Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
- Mat. 10** Durchlichtmikroskop, Axioskop 2; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
- Mat. 11** Eluentkonzentrat, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 12** Emissionsspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP OES Optima 2100 DV); Perkin Elmer, Fremont, USA
- Mat. 13** Essigsäure (CH₃COOH); Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 14** Ethylenglycol 99+% spectrophotometric grade; Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
- Mat. 15** Exakt Mikroschleifsystem 400 CS; chu. Exakt Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 16** Falcon, 1ml; Becton Dickinson Labware; Franklin Lakes, New Jersey, USA
- Mat. 17** Falkon-Röhrchen, Probenröhrchen 50 ml; VWR, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 18** Film (High speed holographic Film) SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland
- Mat. 19** Fluorid; Orion/Thermo Electron Company, Beverly, USA
- Mat. 20** Glandosane; cell pharm, Hannover, Deutschland
- Mat. 21** Ionenchromatographen, 761 Compact IC mit Autosampler; Metrohm, Filderstadt, Deutschland
- Mat. 22** Kalilauge, 10 M; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 23** Leukofix; BSN medical, Hamburg, Deutschland
- Mat. 24** Mouth Kote; Parnell Pharmaceuticals, San Rafael, USA

- Mat. 25** Nagellack, Express Finish; Maybelline, New York, USA
- Mat. 26** Oralube; Orion Laboratories, Balcatta, Australien
- Mat. 27** PH-Meter, GMH 3510; Greisinger Electronic, Regenstauf, Deutschland
- Mat. 28** Phosphat; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 29** Plexiglas-Objektträger (25×75×2 mm); Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland
- Mat. 30** Poliermaschine, Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland
- Mat. 31** Röntgenröhre, Feinstruktur-Feinfokus-Röntgenröhre (FF); Type: PW 2213/20; Panalytical, Kassel, Deutschland
- Mat. 32** Röntgenstrahlgenerator PW 1730/10; Philips, Eindhoven, Niederlande
- Mat. 33** Saliva natura; medac GmbH, Wedel, Deutschland
- Mat. 34** Salpetersäure Suprapur; Merck, Darmstadt, Deutschland
- Mat. 35** Salzsäure 10%; Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
- Mat. 36** Saseem; Pohl Boskamp, Hohenlockstedt, Deutschland
- Mat. 37** Schleifpapier mit Körnung 1200, 2400, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland
- Mat. 38** Sekundenkleber, Henry Schein, Melville, USA
- Mat. 39** Skalpell; Feather, Osaka, Japan
- Mat. 40** SPSS (Statistical Package for Social Sciences); Version 11.5.1; SPSS, München, Deutschland
- Mat. 41** Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland
- Mat. 42** TMP Tüshaus; Medical Produkte GmbH, Velen-Ramsdorf, Deutschland
- Mat. 43** TMR-Probenhalter; Charité Facility Management GmbH; Mechanische Werkstätten (Campus Benjamin Franklin), Berlin, Deutschland
- Mat. 44** Transversal Micro Radiography (TMR) für Windows; Version 2.0.27.2; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande

11.3 Danksagung

Ganz herzlich möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. Dr. h. c. Andrej M. Kielbassa, bedanken, der es mir ermöglicht hat, diese Dissertation zu erstellen.

Der nächste Dank gilt meinem Betreuer, Herrn Oberarzt Dr. P. Tschoppe, für die engagierte und hilfreiche Betreuung während der Planung und Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Herrn R. Toll aus der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie, Charité Centrum 3 für Zahn-, Mund und Kieferheilkunde, Charité - Universitätsmedizin Berlin gilt ein Dank für die freundliche Unterstützung während des experimentellen Teils dieser Arbeit.

Ein weiterer Dank gilt Dr. H. Wetzel vom Fraunhofer-Institut für angewandte Polymerforschung in Potsdam für die Bestimmung einiger Konzentrationen der untersuchten Speichelersatzmittel.

Ebenfalls danke ich Zahnärztin S. Schattman für ihre Geduld und die ständige Unterstützung sowie Motivation beim Erstellen der Arbeit.

Vielen Dank an Ärztin M. Wismach für die Unterstützung insbesondere bei der englischen Sprache.

Merci à Laurent pour son soutien et sa confiance en moi.

Abschließend danke ich meinen Eltern von ganzem Herzen für ihre Unterstützung und den Zuspruch während der Erstellung der Dissertation.

11.4 Lebenslauf

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

11.5 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Serina Wismach, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „In-vitro-Studie über die Wirkung von Speichelersatzmitteln auf artifizielle, bovine Dentinläsionen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum: 21. Februar 2012

Unterschrift