

Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin  
aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie  
Leiter: Prof. Dr. A. M. Kielbassa

**In-vitro-Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher  
Elektrolytkonzentrationen potentieller, muzinbasierender  
Speichelersatzlösungen auf demineralisierten, bovinen Schmelz**

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde  
der Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von  
Herrn Dietrich von Klinggräff  
aus Preetz

Referent: Prof. Dr. A. M. Kielbassa

Koreferent: Prof. Dr. W. Hinkelbein

Gedruckt mit Genehmigung der Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 22.09.2006

## Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>6</b>
<b>2.</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>7</b>
2.1	Aufbau und Zusammensetzung von humanem und bovinem Schmelz	7
2.2	Grundlagen der allgemeinen Kariesätiologie	8
2.3	Zusammensetzung und Funktion von Speichel	10
2.4	Aufbau der Speicheldrüsen mit physiologischen Grundlagen der Speichelsekretion	13
2.5	Speicheldrüsenerkrankungen und Sekretionsstörungen	15
2.6	Ätiologie und Pathogenese der Xerostomie	17
2.7	Die Strahlenkaries und Möglichkeiten der Prophylaxe	21
2.8	Therapiemöglichkeiten bei Xerostomie	23
2.9	Speichelersatzmittel	26
2.10	Das rheologische Verhalten von Speichelersatzmitteln	28
2.11	Die Wirkung von Speichelersatzmitteln auf die Zahnhartsubstanz	30
2.12	Muzine	31
2.13	Die Wirkung unterschiedlicher Elektrolyte auf die Zahnhartsubstanz	34
<b>3.</b>	<b>Ziel der Untersuchung</b>	<b>36</b>
<b>4.</b>	<b>Material und Methode</b>	<b>37</b>
4.1	Präparation der Schmelzproben	37
4.2	Demineralisation der Proben	38
4.3	Ansetzen der unterschiedlichen Lösungen	39
4.4	Durchführen des Hauptversuches sowie des Zusatzversuches	39
4.5	Vorbereitung der Proben für die Mikroradiografie	39
4.6	Das Prinzip der Transversalen Mikroradiografie (TMR)	42
4.7	Herstellen der Mikroradiogramme	43
4.8	Mikroradiografische Auswertung	44
4.9	Kalziummessungen	44
4.10	Statistische Auswertung	45

<b>5.</b>	<b>Ergebnisse</b>	
5.1	Quantitative Auswertung des Hauptversuches	<b>46</b>
5.1.1	Auswertung des Mineralverlustes	<b>46</b>
5.1.2	Auswertung der Läsionstiefe	<b>48</b>
5.2	Ergebnisse zum Einfluss unterschiedlicher Faktoren auf den Mineralverlust und die Läsionstiefe im Hauptversuch	<b>51</b>
5.2.1	Ergebnisse zum Einfluss unterschiedlicher Kalzium- und Phosphatkonzentrationen auf den Mineralverlust	<b>51</b>
5.2.2	Ergebnisse zum Einfluss unterschiedlicher Kalzium- und Phosphatkonzentrationen auf die Läsionstiefe	<b>53</b>
5.2.3	Ergebnisse zum Einfluss unterschiedlicher Fluoridkonzentrationen und der pH-Werte auf den Mineralverlust	<b>54</b>
5.3	Ergebnisse des Zusatzversuches	<b>55</b>
5.4	Ergebnisse der Kalziumkonzentrationsmessungen	<b>55</b>
5.5	Qualitative Auswertung	<b>56</b>
<b>6.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>58</b>
<b>7.</b>	<b>Schlussfolgerung</b>	<b>63</b>
<b>8.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>64</b>
8.1	Zusammenfassung (deutsch)	<b>64</b>
8.2	Summary	<b>65</b>
<b>9.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>66</b>
<b>10.</b>	<b>Anhang</b>	<b>78</b>
	Materialliste	<b>78</b>
	Danksagung	<b>80</b>
	Curriculum Vitae	<b>81</b>

## 8.) Zusammenfassung

### 8.1 Zusammenfassung (deutsch)

**Ziel der Untersuchung:** An Muzin gebundene Sialinsäuren sowie enthaltene Proteine sind dafür bekannt, Kalzium zu binden. Hierdurch könnte das Remineralisationspotential kalziumenthaltender, muzinbasierter Speichelersatzmittel gehemmt werden. Daher war es das Ziel dieser Untersuchung, den Effekt der Zugabe unterschiedlicher Kalziumphosphatkonzentrationen in Muzin enthaltenden Speichelersatzlösungen auf demineralisierten bovinen Schmelz *in vitro* zu evaluieren.

**Material und Methode:** Bovine Schmelzproben wurden in Kunstharz eingebettet (Technovit 4071; Kulzer; Wehrheim, Deutschland) und bis zu einer Körnung von 4000 poliert. Partiiell wurden die Probenoberflächen mit Nagellack abgedeckt (Kontrolle) und für 14 (19 Gruppen; n = 10) bzw. 28 Tage (3 Gruppen; n = 9) demineralisiert (37 °C; pH 5,0). Nach der Demineralisation wurden die Proben muzinbasierten Lösungen (30 g/l) unterschiedlicher Sättigungen mit einer Konzentration von 0,1 mM NaF, 0-20 mM CaCl<sub>2</sub> und 0-52 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> bei zwei unterschiedlichen pH-Werten (5,5 oder 6,5) 14 Tage lang ausgesetzt. Eine fluoridfreie Lösung sowie das kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel Saliva Orthana® (Orthana, Kastrup, Copenhagen Denmark) dienten der Kontrolle. Die Differenzen bezüglich des Mineralverlustes ( $\Delta\text{Min}$ ) zwischen den Werten vor (min.d) und nach der Lagerung (min.e) in den unterschiedlichen Lösungen wurden anhand von Dünnschliffen (100  $\mu\text{m}$ ) mikroradiografisch ausgewertet.

**Ergebnisse:** Das Allgemeine Lineare Modell zeigte für  $\Delta\text{Min}$  ein signifikante Abhängigkeit vom Kalziumgehalt ( $p = 0,006$ ), nicht aber vom Phosphatgehalt ( $p = 0,081$ ) sowie dem pH-Wert ( $p = 0,114$ ). Nur in der Gruppe der höchsten Sättigung in Bezug auf Hydroxylapatit war min.e im Vergleich zu min.d signifikant reduziert ( $p < 0,05$ ; t-Test).

**Schlussfolgerung:** Muzinbasierte Speichelersatzmittel sind bei einer adäquaten Zusammensetzung in der Lage, bovinen Zahnschmelz *in vitro* zu remineralisieren.

## 8.2 Summary

**Objective:** Sialic acids and proteins bound to mucin are known to complex calcium, a mechanism that might hamper remineralisation of calcium-containing mucin-based saliva substitutes. Thus, the aim of this investigation was to evaluate the effects of adding various calcium phosphate concentrations to mucin-containing solutions on demineralised bovine enamel *in vitro*.

**Design:** Bovine specimens were prepared, embedded in epoxy resin, and polished up to 4000 grit. Subsequently, the specimens' surfaces were partly covered with nail varnish, thus serving as control of sound enamel, and demineralised (37 °C; pH 5.0) either for 14 (19 groups; n = 10) or 28 days (3 groups; n = 9), respectively. After demineralisation the specimens were exposed to mucin-based solutions (30 g/l) with various saturations with respect to apatites containing 0.1 mM NaF, CaCl<sub>2</sub> (0-20 mM), and KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0-52 mM) at two different pH values (5.5 or 6.5). A fluoride-free solution as well as the commercially available saliva substitute Saliva Orthana<sup>®</sup> (Orthana, Kastrup, Copenhagen Denmark) served as control. The differences in mineral loss ( $\Delta$ Min) between the values prior to (min.d) and after the storage (min.e) in the various solutions were evaluated from microradiographs of thin sections (100  $\mu$ m). Results: The general linear model revealed a significant dependency for  $\Delta$ Min on 'calcium' (p=0.006) but not on 'phosphate' (p=0.081) or 'pH' (p=0.114). Min.e was only significantly reduced compared to min.d in the group with the highest saturation with respect to hydroxyapatite (p < 0.05; t-test).

**Conclusion:** With an adequate composition mucin-based saliva substitutes are capable to remineralise bovine enamel *in vitro*.

## Curriculum Vitae

### Persönliche Daten:

Name: Dietrich von Klinggräff  
Geburtsdatum: 27.10.1973  
Geburtsort: Preetz/Schleswig-Holstein  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: verheiratet, eine Tochter  
Anschrift: Charité - Campus Benjamin Franklin  
Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Zahnärztliche Chirurgie, Oralmedizin und Röntgenologie  
Aßmannshauer Str. 4-6, D-14197 Berlin  
Dietrich.Klinggraeff@charite.de

### Schulbildung:

1980-1981 Grund- und Hauptschule Raisdorf/ Schleswig-Holstein  
1981-1984 Friedrich-Ebert- Grund- und Hauptschule/ Preetz  
1984-1993 Friedrich-Schiller-Gymnasium Preetz

### Wehrdienst:

1993-1995 Bundeswehr mit Ausbildung zum Reserveoffizier (ROA)  
1996 Beförderung zum Leutnant der Reserve

### Hochschulbildung:

1996-1999 Studium der Medizin in Heidelberg  
1999-2003 Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin  
April 2000 Naturwissenschaftliche Vorprüfung  
August 2002 Zahnärztliche Vorprüfung  
März- April 2004 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin  
seit Mai 2004 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung für Oralmedizin, Zahnärztliche Chirurgie und Röntgenologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin

## Erklärung

„Ich, Dietrich von Klinggräff, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: [In-vitro-Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Elektrolytkonzentrationen potentieller, muzinbasierender Speichelersatzlösungen auf demineralisierten, bovinen Schmelz] 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.“

27.04.2006

Dietrich von Klinggräff