

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

DISSERTATION

Einfluss von kommerziell erhältlichen Speichelersatzmitteln auf
demineralisierten bovinen Schmelz in vitro

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Sandra Krüger

aus Ludwigsfelde

Gutachter: 1. Prof. Dr. A. M. Kielbassa
2. Prof. Dr. H.-G. Schaller
3. Prof. Dr. P.-G. Jost-Brinkmann

Datum der Promotion: 19.11.2010

Alex und meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	2
2.1. Zahnschmelz	2
2.1.1. Eigenschaften.....	2
2.1.2. Chemische Zusammensetzung.....	2
2.1.3. Histologischer Aufbau.....	3
2.2. Grundlagen der Kariesentstehung	4
2.2.1. Ätiologie der initialen Schmelzkaries	4
2.2.2. Histologie der initialen Schmelzkaries	5
2.2.3. Demineralisations- und Remineralisationsprozesse am Zahnschmelz	6
2.2.4. Effekte von Kalzium- und Phosphationen.....	7
2.2.5. Fluoridwirkung am Zahnschmelz.....	8
2.3. Speichel	9
2.3.1. Physiologische Grundlagen und Zusammensetzung des Speichels.....	9
2.3.2. Funktionen des Speichels	10
2.4. Hyposalivation und Xerostomie	11
2.4.1. Ätiologie und Symptomatik.....	12
2.4.2. Auswirkungen der Hyposalivation	12
2.4.3. Therapiemöglichkeiten	13
2.5. Speichelersatzmittel	14
2.5.1. Eigenschaften und Einteilung	14
2.5.2. Studienüberblick zur Wirkung verschiedener Speichelersatzmittel.....	15
3. Ziel der Arbeit	19
4. Material und Methoden	20
4.1. Herstellung der Schmelzproben	20
4.2. Demineralisation der Schmelzproben	21
4.3. Lagerung der Proben in den Speichelersatzmitteln	22
4.4. Herstellung der Dünnschliffe für die transversale Mikroradiografie	26
4.5. Transversale Mikroradiografie (TMR)	27

4.5.1. Mikroradiografische Untersuchung und Auswertung	28
4.5.2. Statistische Auswertung	29
4.6. Bestimmung der Kalzium- und Phosphatkonzentrationen	29
4.7. Berechnung der Sättigungen der verwendeten Speichersatzmittel..	30
5. Ergebnisse.....	31
5.1. Ermittlung der Ionenkonzentrationen und Sättigungen	31
5.2. Quantitative Auswertung Mineralverlust	32
5.3. Quantitative Auswertung Läsionstiefe.....	36
5.4. Struktureller Aufbau der Schmelzproben nach Demineralisation und Lagerung in den verschiedenen Speichersatzmitteln.....	39
6. Diskussion	46
7. Schlussfolgerungen.....	51
8. Zusammenfassung.....	52
9. Abstract.....	53
10. Literaturverzeichnis	54
11. Anhang.....	60
11.1. Abkürzungsverzeichnis.....	61
11.2. Liste der verwendeten Materialien	62
11.3. Danksagung	64
11.4. Lebenslauf.....	65
11.5. Eidesstattliche Erklärung.....	66

1. Einleitung

Der Begriff Xerostomie beschreibt die subjektiv empfundene Trockenheit der Mundschleimhäute. Diese oft mit einer Hyposalivation einhergehende Symptomatik kann Ausdruck verschiedener Erkrankungen sein oder aber als Nebenwirkung verschiedener Medikamente in Erscheinung treten [Sreebny 1996, Stratmann & Mokrys 2000]. Tumortherapeutische Bestrahlungen im Kopf-Halsbereich, aber auch eine physiologisch altersbedingte Abnahme der Speicheldrüsenfunktion können ebenfalls eine Xerostomie verursachen.

Natürlicher Speichel trägt wesentlich zum Schutz der oralen Schleimhäute und der Zahnhartsubstanzen (Pufferung von Säuren und Remineralisation) bei. Durch die fehlende bzw. eingeschränkte Speichelproduktion geht diese Schutzfunktion verloren und es kommt häufig zu einer raschen Zerstörung der Dentition [Imfeld 1995]. Diese steht besonders mit einer Strahlentherapie im Zusammenhang und wird daher auch als „Strahlenkaries“ bezeichnet [Kielbassa 2004]. Sie zeigt sich in großflächigen Demineralisationen der sonst weitgehend kariesresistenten Glattflächen mit kreidig-opaken Verfärbungen und kann in kurzer Zeit zum Verlust aller Zähne führen [Kielbassa 2004, Kielbassa et al. 2006].

Die Hyposalivation und ihre negativen Auswirkungen auf die Zahnhartsubstanzen stellen den Zahnarzt oftmals vor therapeutische Probleme. Aufgrund fehlender kausaler Therapiemöglichkeiten stellen kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel oft die einzige Therapiemöglichkeit dar, um die Beschwerden zu lindern [Hahnel et al 2008, Meyer-Lückel 2000]. Speichelersatzmittel sind für den Patienten meist unkompliziert in der Handhabung. Sie sollten allerdings nicht nur die subjektiven Symptome lindern, sondern auch zu keiner weiteren Schädigung des Zahnschmelzes führen. Im Zusammenhang mit ihrer Verwendung wurden in früheren Studien jedoch häufig Demineralisationseffekte am Zahnschmelz beschrieben [Joyston-Bechal & Kidd 1987, Kielbassa & Shohadai 1999, Kielbassa et al. 2001]. Aus heutiger zahnmedizinischer Sicht sollten Speichelersatzmittel jedoch remineralisierende Eigenschaften besitzen.

Das Ziel der vorliegenden In-vitro-Studie war, die Auswirkungen von unterschiedlichen kommerziell erhältlichen Speichelersatzmitteln auf zuvor demineralisierten bovinen Zahnschmelz zu untersuchen.

2. Literaturübersicht

2.1. Zahnschmelz

2.1.1. Eigenschaften

Zahnschmelz, das härteste im menschlichen Körper vorkommende Gewebe, dient der Nahrungszerkleinerung und als Schutz des darunterliegenden weicheren Dentins. Seine Härte liegt im Durchschnitt zwischen 272 KHN (Knoop-Härte Nummer) an der Schmelz-Dentin-Grenze und 400 KHN an der Schmelzoberfläche [Meredith et al. 1996]. Der Schmelz bedeckt das Dentin von der Schmelz-Zement-Grenze bis zur Kronenspitze und gibt der Zahnkrone seine charakteristische Form und Farbe.

Während der Amelogenese wird der Zahnschmelz von den Ameloblasten gebildet. Diese produzieren eine Schmelzmatrix, die zunächst überwiegend aus nicht kollagenen Proteinen sowie aus Kohlenhydraten und Lipiden besteht. Erst während der präeruptiven Schmelzreifung wird diese Schmelzmatrix mineralisiert und reift aus. Die dabei entstehenden Kristallstrukturen wachsen durch weitere Mineralisationsprozesse, wobei Mikroporen zwischen den Kristallen sowie Ionendefekte in den Gitterstrukturen verbleiben. Diese Defekte werden erst nach Durchbruch des Zahnes in die Mundhöhle innerhalb der posteruptiven Schmelzreifung durch Aufnahme von Kalzium und Phosphat ausgeglichen [Fejerskov & Kidd 2008].

Schmelz ist für Ionen, Wasser, Alkohol und Farbstoffe begrenzt durchlässig. So können Reaktionen, wie beispielsweise der Einbau von Fluoriden stattfinden, obwohl der gefäßlose Zahnschmelz keinen eigenen Stoffwechsel besitzt [Hoffmann-Axthelm 1995].

2.1.2. Chemische Zusammensetzung

Ausgereifter Schmelz besteht zu 95 Gewichtsprozent (Gew.-%) aus anorganischen Strukturen wie Kalzium, Phosphat, Karbonat, Magnesium und Natrium, wobei Kalzium und Phosphat als Apatitverbindungen den Hauptbestandteil bilden. Diese Apatitverbindungen (Hydroxylapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$) liegen in einem Verhältnis von 1:1,2 vor und bilden kleine Kristalle. Es kommt aber dabei auch zur Bildung von nicht-stöchiometrischem Hydroxylapatit [Schumacher & Schmidt 1990]. Durch interne Substitutionsreaktionen, die Defizite der Kalzium-, Phosphat- und Hydroxylionen durch beispielsweise Karbonat und Fluorid ausgleichen, kann es zur Ausbildung von fluoridiertem Hydroxylapatit oder Fluorapatit kommen. Diese Verbindungen besitzen stabilere Kristallgitterstrukturen als Hydroxylapatit. Der Einbau von Karbonat verringert jedoch die Resistenz gegenüber einem kariösen Angriff [Nikiforuk & McLeod 1962]. Die

restlichen Schmelzbestandteile bestehen zu 5 Gew.-% aus Wasser und organischen Strukturen, wie Proteinen und Lipiden [Fejerskov & Kidd 2008].

Das Wasser liegt in zwei verschiedenen Formen vor. Ungefähr 75 % bilden die kristalline Hydratationsschale, während der übrige Teil (ca. 25 %) hauptsächlich lose an organische Materie gebunden ist [Gwinnett 1992]. Beim Erwärmen kann dieses lose gebundene Wasser verdampfen. Durch Feuchtigkeitzufuhr kann es wieder aufgenommen werden. Physikalische Phänomene bei der Kariesentstehung bzw. Kariesprävention können so erklärt werden [Dibdin 1972]. Der Zahnschmelz wirkt hierbei wie ein Molekularsieb, bei dem Ionen sowohl in den Schmelz eingebaut als auch herausgelöst werden können.

2.1.3. Histologischer Aufbau

Charakteristisch für den Zahnschmelz sind die Apatitkristalle, die ihm sein glasähnliches transluzentes Aussehen verleihen (Abb. 1, links). Ungefähr hundert dieser Kristalle bilden ein Schmelzprisma. Jeder einzelne Kristall ist von einer Hydratationsschale und von einer Protein- und Lipidschicht umgeben (Abb. 1, Mitte).

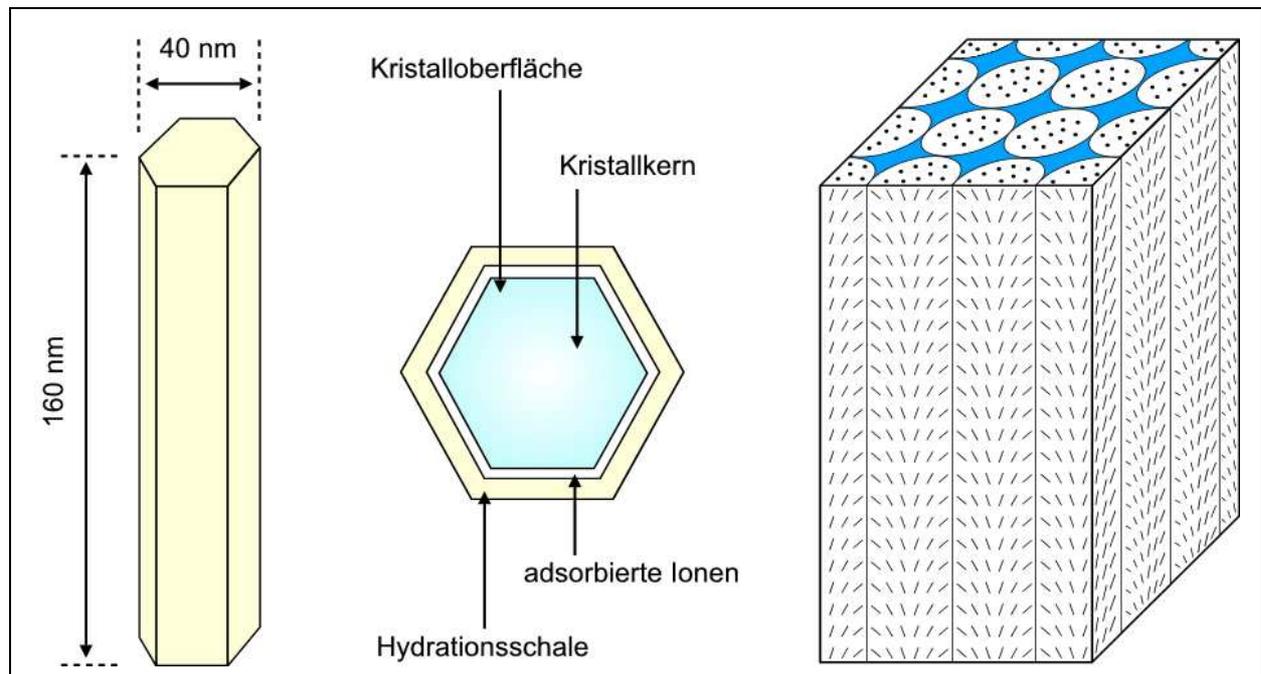


Abb. 1: Maße und Aufbau eines Hydroxylapatitkristalls; Schmelzausschnitt mit klassischer Prismenstruktur (modifiziert nach [Hellwig et al. 2007])

Die Schmelzkristalle sind im Prismenzentrum parallel zur Prismenlängsachse angeordnet und fächern sich zur Peripherie immer weiter auf (Abb. 1, rechts). Die Schmelzprismen werden von einer interprismatischen Substanz umgeben, welche aus ungeordneten Schmelzkristallen besteht.

2.2. Grundlagen der Kariesentstehung

2.2.1. Ätiologie der initialen Schmelzkaries

Miller beschrieb schon im Jahr 1898 in seiner chemoparasitären Theorie, dass die Ursache der Kariesentstehung Mikroorganismen in der Mundhöhle sind, die bei ausreichender Zufuhr von kariogenem Substrat organische Säuren bilden.

Eine weiterführende Arbeit zur Kariesätiologie [Keyes 1962] ging davon aus, dass es nur zur Entstehung einer kariösen Läsion kommt, wenn die drei Faktoren Mikroorganismus (speziell säurebildende Bakterien), der Wirtsorganismus (Zähne) und Substrat (Zucker) vorhanden sind (Abb. 2).

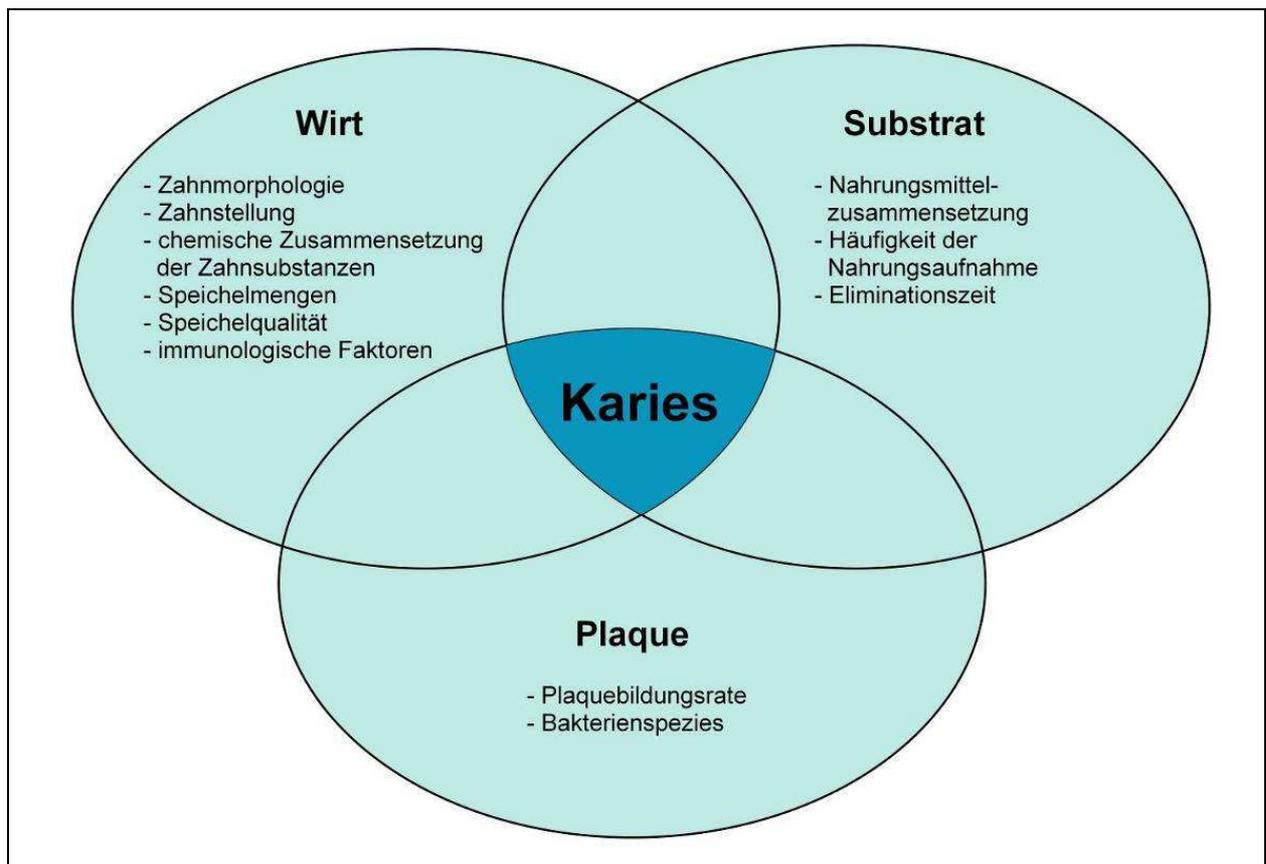


Abb. 2: Faktoren der Kariesentstehung (in Anlehnung an [Keyes 1962])

Diese drei Hauptfaktoren wurden von *König* um den Faktor „Zeit“ ergänzt, dessen Theorie heute allgemein akzeptiert wird [König 1987]. Daneben beeinflussen noch weitere Nebenfaktoren, wie die Speichelfließrate, die Speichelzusammensetzung, der pH-Wert des Speichels und seine Pufferkapazität, Dauer und Häufigkeit der Substratzufuhr und anatomische Besonderheiten, wie Zahnfehlstellungen, die Kariesentstehung. Wirken beispielsweise die entstandenen Säuren ausreichend lange auf die Zahnhartsubstanzen und sinkt der pH-Wert unter eine kritische Grenze von 5,2 - 5,7 bei Schmelz und 6,2 - 6,7 bei Dentin, so kommt es zur Demineralisation der Zahnhartsubstanzen [Fejerskov & Kidd 2008].

2.2.2. Histologie der initialen Schmelzkaries

Die initiale Schmelzkaries tritt klinisch als kreidige bis opake Veränderung der Schmelzoberfläche in Erscheinung. Diese als „White-Spot“ bezeichnete Läsion kann oberflächlich leicht aufgeraut sein, die Oberflächenkontinuität ist aber noch nicht unterbrochen [Fejerskov & Kidd 2008].

In polarisationsmikroskopischen Dünnschliffen stellt sich die Schmelzkaries in Abhängigkeit vom Imbibitionsmedium meist in vier Zonen dar, die jeweils unterschiedliche Mineral- und Porenvolumina aufweisen (Abb. 3).

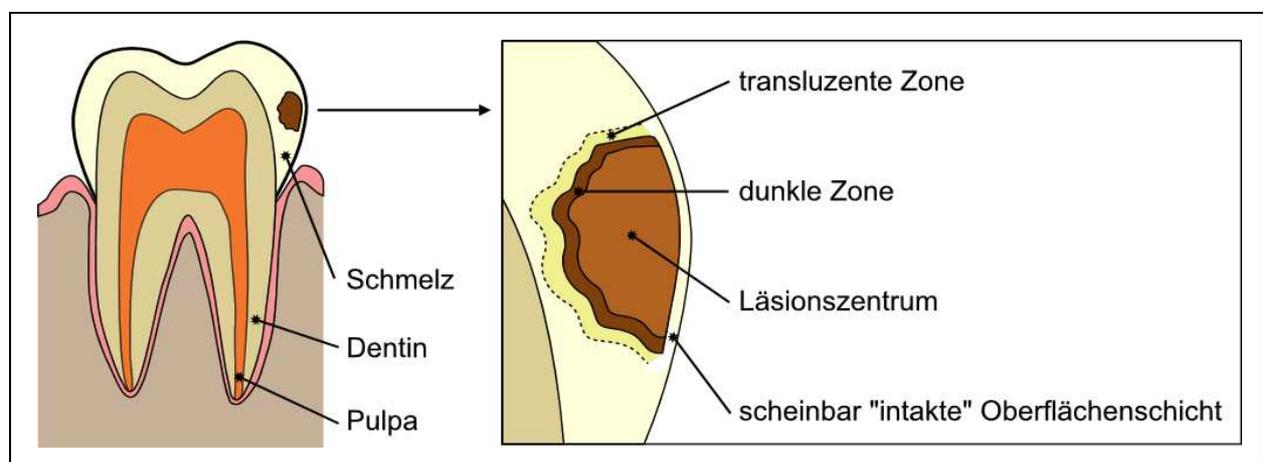


Abb. 3: Histologische Zonen der initialen Schmelzkaries (nach [Fejerskov & Kidd 2008])

Zunächst findet man an der Schmelzoberfläche die pseudointakte Oberflächenschicht, welche meist unversehrt erscheint, jedoch einen Mineralverlust von 1 - 10 % und ein Porenvolumen bis 5 % aufweist. Im Vergleich dazu besitzt gesunder Zahnschmelz ein Porenvolumen von ungefähr 0,1 % [Darling et al. 1961, Silverstone 1973].

Darauf folgt das Läsionszentrum bzw. der Läsionskörper als Zone des größten Mineralverlustes mit einem Porenvolumen zwischen 5 - 25 % (Abb. 3). Die Retzius-Streifung ist in diesem Bereich im Vergleich zu gesundem Zahnschmelz hervorgehoben. Dem Läsionskörper schließt sich nach innen die dunkle Zone mit einem Porenvolumen von 2 - 4 % an (Abb. 3). Die transluzente Zone stellt die innerste Zone der initialen Schmelzkaries dar (Abb. 3). Sie besitzt ein Porenvolumen von ca. 1 % und wird auch als Zone der fortschreitenden Demineralisation bezeichnet [Fejerskov & Kidd 2008].

Halten die Demineralisationsprozesse weiter an, kommt es auch zur Demineralisation des Dentins.

2.2.3. Demineralisations- und Remineralisationsprozesse am Zahnschmelz

Die Karies ist eine Erkrankung der Zahnhartsubstanzen, bei denen das Gleichgewicht zwischen Remineralisations- und Demineralisationsprozessen in Richtung Demineralisation verschoben ist [Edgar et al. 2004, Featherstone 2004] (Abb. 4).

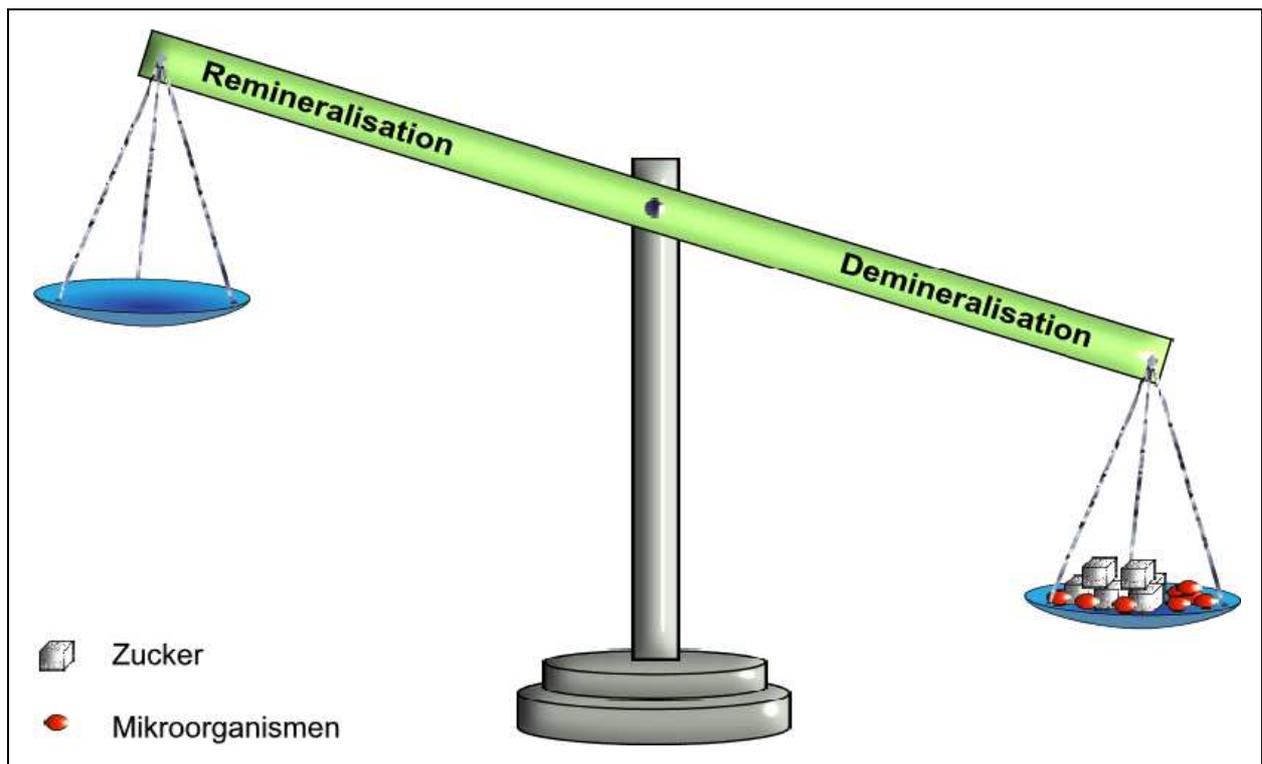


Abb. 4: Verschiebung des Gleichgewichtes zwischen Demineralisation und Remineralisation in Richtung Demineralisation, wenn ausreichend Zucker, Zeit und Mikroorganismen für die Säureproduktion zur Verfügung stehen (in Anlehnung an [David 1997]).

Karies entsteht bevorzugt in Zahnbereichen, die der natürlichen Selbstreinigung durch Zunge, Wange und Speichel nicht zugänglich sind (Abb. 5). Diese Prädilektionsstellen sind Zahnfissuren und -grübchen, die Region unterhalb des Approximalkontaktes, das zervikale Drittel der Zahnkrone sowie freiliegende Wurzeloberflächen. Im Gegensatz dazu treten kariöse Läsionen bei Patienten mit einer Hyposalivation an untypischen Stellen wie den Glattflächen auf [Imfeld 1984].

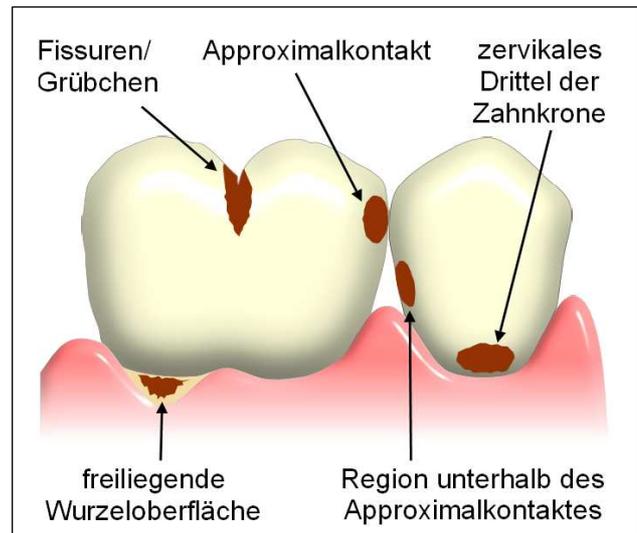


Abb. 5: Prädilektionsstellen für Karies

Zunächst befindet sich auf dem Zahnschmelz ein sogenanntes erworbenes Schmelzoberhäutchen, auf dem sich eine Plaque aus Speise- und Zellresten, Mikroorganismen und Speichelbestandteilen entwickelt. Die in der Plaque befindlichen Mikroorganismen produzieren aus Kohlenhydraten, die mit der Nahrung aufgenommen wurden, organische Säuren. Diese Säuren sind für die ablaufenden Demineralisationsprozesse verantwortlich [Fejerskov & Kidd 2008]. Ein Teil dieser Säuren dissoziiert und führt zu interprismatischen Auflösungserscheinungen an der Zahnoberfläche. Es entsteht ein Konzentrationsgefälle, infolge dessen die Säuren durch die interprismatischen Bereiche weiter in den Schmelz diffundieren. Die hinein diffundierten Säuren dissoziieren langsam im Schmelzinneren und geben dabei Wasserstoffionen ab. Diese greifen die Kristallstruktur des Schmelzes an und lösen Kalzium-, Phosphat-, Fluorid-, Karbonat-, Hydroxid- und Magnesium-Ionen aus dem Kristallgitter. Die gelösten Ionen diffundieren über die Hydratationsschalen der Schmelzkristalle und wandern entsprechend ihrem Konzentrationsgradienten an die Schmelzoberfläche. Solange ausreichend Säuren produziert werden, finden die oben genannten Demineralisationsprozesse kontinuierlich statt [Fejerskov & Kidd 2008].

2.2.4. Effekte von Kalzium- und Phosphationen

Die bei einem Säureangriff im Schmelzinneren gelösten Kalzium- und Phosphationen diffundieren an die Schmelzoberfläche. Dabei nimmt ihre Diffusionsgeschwindigkeit Richtung Speichel und Plaque ab. Die Ionen repräzipitieren dabei auf ihrer Diffusionsstrecke nach außen und lagern sich in geschädigte Kristallstrukturen ein oder bilden neue Kristalle (CaHPO_4). Dieser Prozess führt zur Ausbildung einer pseudointakten Schmelzoberflächenschicht [Fejerskov & Kidd 2008].

Neben den im Speichel ständig vorhandenen Kalzium- und Phosphationen können auch die Kalzium- und Phosphationen, die während der Demineralisation aus der Zahnoberfläche verloren gehen, während der Remineralisationsphase wieder eingelagert werden [Lagerlof & Oliveby 1994].

2.2.5. Fluoridwirkung am Zahnschmelz

Fluoride spielen bei der Kariesprophylaxe eine entscheidende Rolle. Die antikariogene Wirkung gegenüber den Zahnhartsubstanzen beruht dabei zum einen auf einer Verminderung der Säurelöslichkeit [McCann 1968], zum anderen hemmen Fluoride die Demineralisation [Ten Cate & Duijsters 1983] und fördern die Remineralisation [Fischer et al. 1995, Moreno et al. 1977].

Besteht schon eine initiale Schmelzläsion, kann in diese erheblich mehr Fluorid aufgenommen werden als in gesunden Schmelz. Durch die porösere Struktur des demineralisierten Zahnschmelzes vergrößern sich die Schmelzoberfläche und damit auch die Kontaktfläche. Dadurch ist eine bessere Fluoridaufnahme möglich. Gleichzeitig wird auf demineralisiertem Zahnschmelz auch eine Vergrößerung der Kalziumfluorid-(CaF₂)-Deckschicht beschrieben [Koulourides et al. 1974, Hellwig & Klimek 1984].

Nach Fluoridapplikation kommt es, abhängig von der Konzentration und dem pH-Wert der Fluoridlösung, zu einem Kalziumfluoridniederschlag oder einer Repräzipitation von fluoridiertem Hydroxylapatit auf der Schmelzoberfläche. Aus diesem Repräzipitat diffundieren jedoch kleine Fluoridmengen in den oberflächlichen Schmelz. Die Fluoridionen verteilen sich dabei in der Flüssigkeit zwischen den Kristallen. Entweder sie verbleiben unspezifisch gebunden in der Hydratationsschale um die Kristalle oder sie umgeben die Kristalle mit einer Schicht aus adsorbierten Ionen [Hellwig & Klimek 1984]. Dem Hydroxylapatit werden so fluorapatitähnliche Eigenschaften gegeben, die bei einem kariösen Säureangriff die Kristalle vor Auflösungserscheinungen schützen. Auch durch die fluoridreichen Hydratationsschalen werden die Kristallstrukturen zusätzlich vor Demineralisation geschützt [Fischer et al. 1995].

Fluoride fördern zudem die Remineralisation von demineralisiertem Schmelz [Bowen & Hewitt 1984]. So konnte nachgewiesen werden, dass die im Schmelz vorliegenden Kalzium-Phosphat-Phasen sich hinsichtlich ihrer Stabilität, Löslichkeit und Remineralisationseigenschaften unterscheiden. Zunächst bilden Kalzium- und Phosphationen bei einem pH-Wert von 7,4 die stabile Hydroxylapatitstruktur des Zahnschmelzes. Zur Auflösung von Hydroxylapatit kommt es ab einem pH-Wert von 5,2 - 5,7 [Fejerskov & Kidd 2008]. Sind Fluoride vorhanden, kommt es zum Umbau der Kristalle und zur Bildung von größeren stabileren Kristallen [Arends & Ten Cate 1981,

König 1987]. Der hierbei entstehende Fluorapatit ist bei einem Säureangriff wesentlich resistenter, da er bis zu einem pH-Wert von 4,6 stabil bleibt [McCann 1968]. Folglich geht Fluorapatit bei sinkendem pH-Wert später in Lösung und wird bei Neutralisation als erste Kalzium-Phosphat-Phase wieder gebildet. Demnach fördert und beschleunigt die Anwesenheit von Fluoriden die Remineralisation [Fischer et al. 1995, Moreno et al. 1977].

Die schützenden Fluoridionen müssen aber in ausreichender Menge vorliegen, da bei einem Fluoriddefizit die Kristalloberfläche trotz fest eingebauter Fluoridionen aufgelöst werden kann [Arends & Christoffersen 1990]. Man sollte aus diesem Grund entweder häufig kleine Fluoridmengen oder aber eine größere Menge als Depot auf die Zahnoberfläche applizieren, da die physiologische Speichelfluoridkonzentration von 0,01 - 0,05 ppm nicht ausreicht, um eine Remineralisation zu fördern.

2.3. Speichel

2.3.1. Physiologische Grundlagen und Zusammensetzung des Speichels

Der Speichel, ein wichtiges Schutzsystem für Zähne und Mundschleimhaut, wird in den drei großen paarigen Speicheldrüsen, Glandulae parotis, Glandulae sublinguales und Glandulae submandibulares sowie in den kleinen in der ganzen Mundhöhle verteilten Speicheldrüsen gebildet. Die Glandula (Gl.) parotis produziert einen rein serösen Speichel. Gl. sublingualis und Gl. submandibularis sind mukoseröse Drüsen, während die kleinen Speicheldrüsen einen überwiegend mukösen Speichel sezernieren [Reinert & Machtens 2007].

Die Speicheldrüsensekretion wird sowohl über den sympathischen wie auch den parasympathischen Teil des autonomen Nervensystems gesteuert [Reuther & Kübler 2002]. Die Zusammensetzung des Speichels ist von der Speicheldrüse und dem Speichelstimulationsgrad abhängig. Der Gesamtspeichel besteht zu 99,5 % aus Wasser und enthält durchschnittlich 5 g/l organische und anorganische Substanzen. Zu den organischen Bestandteilen zählen Proteine, Glykoproteine (Muzine) und Enzyme. Als anorganische Bestandteile sind Natrium, Kalium, Kalzium, Chlorid, Bikarbonat, Phosphat und Fluorid enthalten [Chiappin et al. 2007].

Eine Stimulation des Speichels findet hauptsächlich durch äußere Reize, wie Geruchs- und Geschmacksempfindungen und durch mechanische Reize bei Kaubewegungen statt. Dieser wässrige amylasereiche Reizspeichel wird vorrangig von den Glandulae (Gll.) parotis gebildet. Daneben besteht eine kontinuierliche Ruhesekretion, die einem zirkadianen Rhythmus unterliegt, frei von äußeren Einflüssen ist und hauptsächlich über

die GII. sublinguales und submandibulares sezerniert wird [Deetjen & Speckmann 1999, Reuther & Kübler 2002]. Der Ruhespeichel besitzt einen durchschnittlichen pH-Wert von 5,5 - 6. Stimulierter Speichel hingegen besitzt einen durchschnittlichen pH-Wert von 7,6 - 7,8 [Probst et al. 2008]. Bei normaler Funktion der Speicheldrüsen beträgt die durchschnittliche Fließrate für unstimulierten Speichel 0,1 - 1 ml/min, bei Speichelstimulation kann sie Werte zwischen 0,5 - 3,5 ml/min erreichen [Chiappin et al. 2007].

2.3.2. Funktionen des Speichels

Die vielfältigen Funktionen der Speichelbestandteile sind in Abbildung 6 dargestellt.

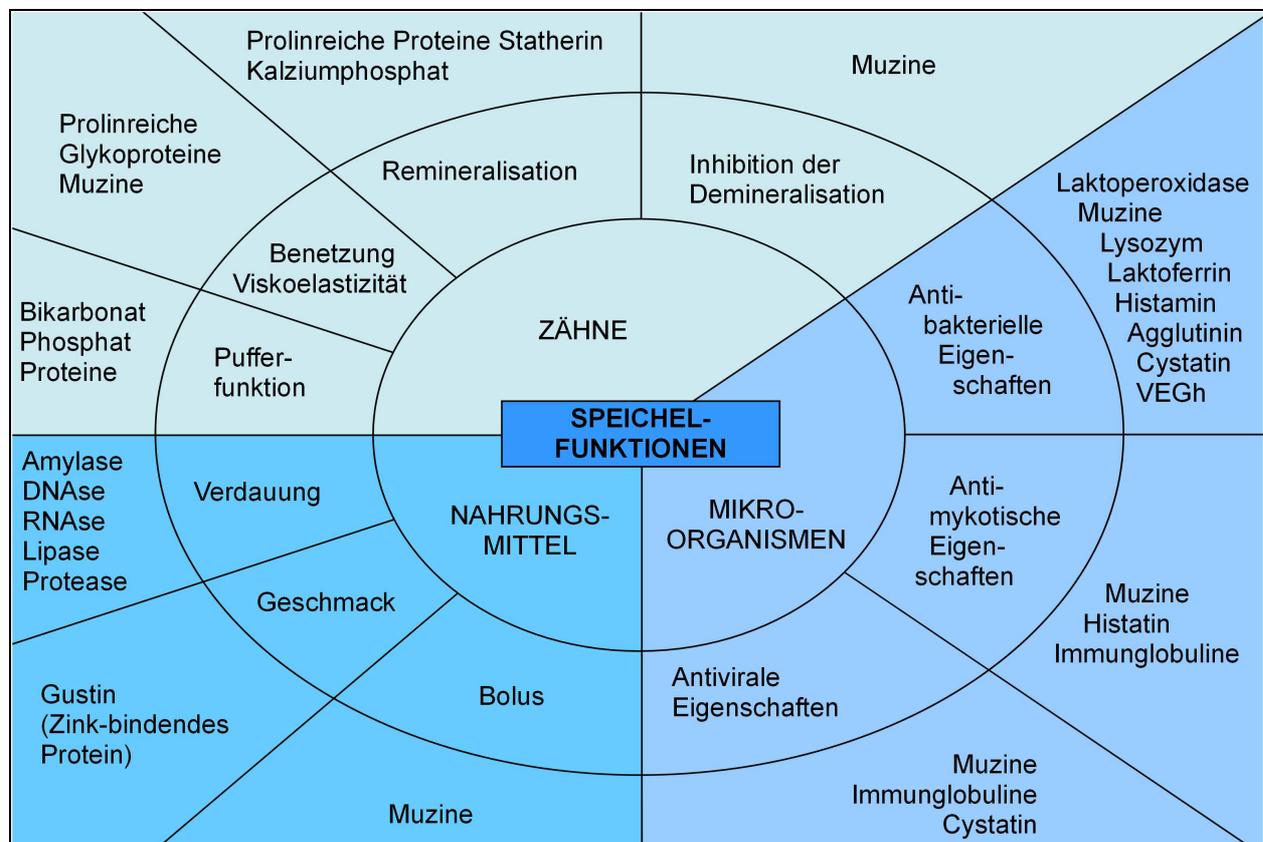


Abb. 6: Die verschiedenen Speichelfunktionen (nach [Nieuw Amerongen et al. 2004])

Der Speichel verfügt über ein Hydrogenkarbonat- und ein Phosphat-Puffersystem. Die Puffersysteme des Speichels sind für eine schnelle Neutralisation des pH-Wertes nach der Nahrungsaufnahme verantwortlich. Sie verkürzen die direkte Einwirkzeit von Nahrungssäuren auf die Zahnhartsubstanzen und somit die Demineralisation. Der Hydrogenkarbonat-Puffer spielt hierbei die wichtigste Rolle bei der Neutralisation. Das Hydrogenkarbonat entstammt hauptsächlich aus den GII. parotis und den GII.

submandibuläres und wird bei erhöhtem Speichelfluss vermehrt gebildet. Es bildet mit Säure die schwache Kohlensäure, die leicht in Wasser und Kohlendioxid zerfällt.

Es konnte jedoch gezeigt werden, dass Speichel auch remineralisierende Eigenschaften auf frühe Schmelzläsionen besitzt [Amaechi & Higham 2001]. Der den Zahnschmelz umgebende Speichel stellt eine mit Mineralien übersättigte Lösung dar, wodurch es zu einem ständigen Austausch von Ionen zwischen Speichel und Schmelz kommt. Prolinreiche Proteine (PRPs) und Statherine verhindern durch die Bindung an Kalzium eine spontane Ausfällung von Kalziumphosphatsalzen und so stehen nach einer Demineralisation ausreichend Kalzium und Phosphationen für eine Remineralisation des Schmelzes zu Verfügung. Daneben wird auch Fluorid, welches die Demineralisation hemmt und die Remineralisation fördert, aus dem Speichel in den Schmelz eingebaut [Arends & Christoffersen 1990, Dowd 1999].

Die Beschichtung aller Oberflächen mit im Speichel enthaltenen Muzinen bewirkt einen mechanischen und chemischen Schutz von Zähnen und Mundschleimhaut. Außerdem bilden die Muzine eine Barriere, die vor eindringenden Bakterien und Viren schützt. Auch das Sprechen und Schlucken wird durch die Muzinbeschichtung unterstützt [Kielbassa 2004].

Die antibakterielle Funktion der verschiedenen Speichelkomponenten bzw. die direkten Hemmeinflüsse auf Bakterien, Viren und Pilze tragen zur Aufrechterhaltung des ökologischen Gleichgewichtes in der Mundhöhle bei [Reuther & Kübler 2002].

Eine weitere Funktion des Speichels ist die Andauung von Nahrungsbestandteilen. Das wichtigste Andauungsenzym des Speichels ist hierbei die α -Amylase. Sie stammt zu 80 % aus den Gll. parotis und ist für den Abbau von Stärke und Glykogen in der Mundhöhle verantwortlich [Reinert & Machtens 2007, Reuther & Kübler 2002].

Auch die Geschmackswahrnehmung wird durch den Speichel wesentlich beeinflusst. Durch Verdünnung und Auflösung durch die Speichelkomponenten wird die Nahrung erst geschmacklich aufgeschlossen [Reinert & Machtens 2007].

2.4. Hyposalivation und Xerostomie

Die Hyposalivation bezeichnet die Sekretion objektiv zu geringer Speichelmengen. Diese Unterproduktion lässt sich mittels Sialometrie objektiv messen. Der Begriff Xerostomie hingegen bedeutet soviel wie „trockener Mund“ und beschreibt die subjektiv empfundene Trockenheit der Mundschleimhäute und Lippen. Die Xerostomie ist häufig mit einer Hyposalivation verbunden [Tschoppe et al. 2010].

Bei Untersuchungen zu den physiologischen Aspekten der Xerostomie konnte festgestellt werden, dass die Betroffenen erst über eine Mundtrockenheit klagen, wenn ihre Ruhespeichelfließrate um mehr als die Hälfte verringert ist [Dawes 1987].

2.4.1. Ätiologie und Symptomatik

Die Hyposalivation tritt oft als Symptom bei verschiedenen Stoffwechselerkrankungen (z. B. Diabetes mellitus) oder auch bei rheumatischen Erkrankungen (z. B. Sjögren-Syndrom) in Erscheinung. In den meisten Fällen wird Mundtrockenheit durch die Einnahme von Medikamenten (z. B. Antihistaminika, Antihypertonika, Psychopharmaka) ausgelöst bzw. verstärkt. Diese Nebenwirkung ist insgesamt bei mehr als 400 Medikamenten bekannt [Sreebny & Schwarz 1986]. Eine Hyposalivation kann aber auch Folge von chronisch-entzündlichen Speicheldrüsenerkrankungen sein oder durch Abflussstörungen, bedingt durch Speichelsteine, hervorgerufen werden.

Vor allem bei tumortherapeutischen Bestrahlungen im Kopf-Hals-Bereich ist die Symptomatik der Mundtrockenheit sehr häufig zu beobachten. Bei der Bestrahlung wird das Drüsengewebe oftmals irreversibel geschädigt, was zu einer dauerhaften Mundtrockenheit führt [Kielbassa 2004]. Die Beschwerden der betroffenen Patienten sind sehr vielfältig und oft unterschiedlich ausgeprägt. Die Schleimhäute sind meist glanzlos und atrophisch, die Lippen rissig und spröde. Der Speichel ist oftmals reduziert und zähflüssig. Zudem fehlt der typische Flüssigkeitssee auf dem Mundboden. Neben einer eingeschränkten Kau- bzw. Schluckfunktion klagen die Betroffenen auch oftmals über Geschmacks- und Sprechstörungen. Durch die häufig auftretende Mukositis kommt es zu einem schmerzhaften Brennen an Mundschleimhaut und Zunge. Oft entwickelt sich ein starker Foetor ex ore. Bei herausnehmbarem Zahnersatz kommt es meist zu einem Verlust der Haftfähigkeit und zu schmerzhaften Druckstellen der Prothesen auf der Schleimhaut, die bis zur Prothesenunverträglichkeit führen können [Imfeld 1984].

2.4.2. Auswirkungen der Hyposalivation

Aufgrund der vorangehend geschilderten Symptomatik betreiben die Patienten meist eine eingeschränkte Mundhygiene, die zu einem Ungleichgewicht der physiologischen oralen Mikroflora führt und somit die Genese von bakteriellen, viralen und mykotischen Schleimhautinfektionen fördert. Eine erhöhte Prävalenz von Gingivitiden und Parodontitiden ist daher bei diesen Patienten beobachtet worden [Imfeld 1984].

Durch die fehlende bzw. eingeschränkte protektive Funktion des Speichels (Pufferung von Säuren und Remineralisation) bei Hyposalivation kommt es zu einer raschen Zerstörung der Dentition, die bis zu 15-mal schneller verläuft als bei gesunden Probanden [Imfeld 1995]. Diese Komplikation steht besonders häufig mit einer Strahlentherapie in Zusammenhang und wird deshalb auch als „Strahlenkaries“ bezeichnet. Sie zeigt sich in großflächigen Demineralisationen der sonst weitgehend kariesresistenten Glattflächen mit kreidig-opaken Verfärbungen und kann innerhalb kurzer Zeit zum vollständigen Verlust aller Zähne führen [Kielbassa 2004, Kielbassa et al. 2006].

2.4.3. Therapiemöglichkeiten

Bei Patienten mit anhaltender Hyposalivation wird zwischen einer kausalen und einer symptomatischen Therapie unterschieden. Bei der Kausaltherapie versucht man die Ursache der Hyposalivation zu finden und zu beseitigen. Die Therapiemöglichkeiten sind jedoch sehr beschränkt. Deshalb ist meist nur eine symptomatische Therapie möglich, welche die Symptome behandelt und deren Ziel allein die Besserung der Beschwerden ist. Hierbei erfolgt, vorausgesetzt eine Restaktivität der Speicheldrüsen ist vorhanden, eine systemische oder gustatorisch-mechanische Stimulation der Speicheldrüsen [Guchelaar et al. 1997, Imfeld 1984, Roberts 1977, Sreebny 1989].

Systemisch wirkende Speichelstimulantien, wie beispielsweise Pilocarpin führen über eine Stimulation des parasympathischen Systems zu einer erhöhten Speichelfließrate und lindern so die Symptome der Mundtrockenheit [Davies 1997, Davies et al. 1998, Rieke et al. 1995]. Diese Medikamentengruppe bleibt aber aufgrund einer Reihe von unerwünschter Nebenwirkungen (z. B. Hypotonie, Bronchokonstriktion) und Kontraindikationen auf einen engen Patientenkreis beschränkt [Guchelaar et al. 1997, Imfeld 1984].

Eine gustatorisch-mechanische Stimulation erfolgt über das Kauen von fester Kost, z. B. Rohkost. Auch intensive Geschmacksreize (scharfes Essen) beugen dem Trockenheitsgefühl im Mund vor, sollten jedoch wegen der ohnehin schon angegriffenen Schleimhaut nicht zu oft verwendet werden. Regelmäßiges Trinken von Wasser oder Tee oder das Lutschen von Bonbons werden häufig empfohlen. Hierbei ist aber das demineralisierende Potential von sauren Nahrungsmitteln zu beachten und entsprechend darauf hinzuweisen. Das Kauen von zuckerfreiem Kaugummi hat sich als Therapieform bewährt [Itthagarun & Wei 1997]. Es dient nicht nur der Speichelstimulation; Kaugummi ist zudem auch als Träger für pharmakologisch aktive Substanzen wie Fluoride oder Chlorhexidin geeignet.

Ist die Restaktivität der Speicheldrüsen zu gering oder ganz erloschen, helfen meist nur noch Mundspüllösungen oder Speichelersatzmittel. Diese sollten jedoch keine Zusätze wie Alkohol oder Geschmackszusätze enthalten, da sie die schon geschwächte Mundschleimhaut zusätzlich irritieren und bei einem hohen Säuregehalt auch schädlich für die Zahnhartsubstanzen sein können. Ein Nachteil von Mundspüllösungen wie auch von reinem Trinkwasser ist die geringe Substantivität, was nur zu einer kurz anhaltenden Besserung der Symptome führt und eine wiederholte Anwendung erfordert.

Aufgrund dieser Anwendungsprobleme wurden Anfang der 70er Jahre Speichelersatzmittel entwickelt. Diese versuchen die Eigenschaften von natürlichem Speichel nachzuahmen und so die bisherigen Schwierigkeiten in der Handhabung zu verringern. Ferner gibt es heutzutage auch spezielle Prothesen, die über ein Reservoir kontinuierlich Speichelersatzmittel abgeben und den Betroffenen vor allem nachts Linderung verschaffen [Guchelaar 1997, Imfeld 1984].

2.5. Speichelersatzmittel

2.5.1. Eigenschaften und Einteilung

Speichelersatzmittel werden heute vorwiegend in der palliativen Therapie bei sehr stark reduziertem bzw. vollständig versiegttem Speichelfluss eingesetzt. Ihre Entwicklung beruhte vor allem auf den bis dahin unzureichenden Therapiemöglichkeiten mit Mundspüllösungen, da deren viskoelastische Eigenschaften mit denen des natürlichen Speichels nicht annähernd korrelierten. Ziel war es, ein Therapiemittel zu entwickeln, das wichtige Eigenschaften des natürlichen Speichels, wie dessen rheologisches Verhalten besser simulieren konnte.

Idealerweise ermöglichen Speichelersatzmittel eine anhaltende Benetzung der Zahnhartsubstanz und der Mundschleimhaut und mildern damit die Symptome der Mundtrockenheit. Sie sollten zudem einen neutralen pH-Wert besitzen, um zusätzliche Schädigungen der Zahnhartgewebe und Irritationen der Mundschleimhaut zu vermeiden. Von einem Speichelersatzmittel wird aus heutiger zahnmedizinischer Sicht nicht nur eine langanhaltende Befeuchtung der oralen Schleimhäute, sondern auch eine remineralisierende Wirkung erwartet [Hahnel 2008, Kielbassa & Shohadai 1999].

Bis zur Entwicklung von komplexeren Speichelersatzmitteln Anfang der 70er Jahre wurden zur Therapie der Hyposalivation unter anderem reizlose Mundwasser, natriumbikarbonathaltige Lösungen, Olivenöl, Salzwasser und Chlorhexidin eingesetzt [Kielbassa 2004]. 1972 wurde das erste Speichelersatzmittel auf Basis von Carboxymethylcellulose (CMC) entwickelt [Matzker & Schreiber 1972]. CMC wurde hier

als Dickungsmittel eingesetzt, um eine längere Beschichtung der Mundschleimhaut zu erreichen. Jedoch war dessen Viskosität gegenüber natürlichem Speichel wesentlich höher. Nachfolgenden Produkten wurde meist Sorbitol zur Verbesserung der Oberflächenaktivität und zur Süßung zugesetzt. Die Kombination von CMC und Sorbitol führte jedoch auch zu einer erhöhten Viskosität des Präparates im Vergleich zu natürlichem Speichel [Levine et al. 1987]. Es folgten in den darauffolgenden Jahrzehnten weitere Produkte auf Basis von tierischem Muzin, Leinsamenöl, Natrium-Carboxymethylcellulose (Na-CMC), Carboxyethylcellulose (CEC), Hydroxyethylcellulose (HEC) oder Polyethylenoxid (PEO), die sich durch unterschiedliche pH-Werte und Zusätze, wie beispielsweise Enzyme, voneinander unterschieden [Gelhard et al. 1983, Thomson et al. 2006, Vissink et al. 1986]. Eine größere Annäherung an die Viskosität des natürlichen Speichels stellten die entwickelten Produkte auf Muzin-Basis dar. Die im humanen Speichel vorkommenden Muzine bewirken eine Herabsetzung der Oberflächenspannung, was zu einer länger anhaltenden Befeuchtung der Mundschleimhaut beiträgt. Die in den Speichelersatzmitteln verwendeten tierischen Muzine zeigten dem natürlichen Speichel ähnliche viskoelastische Eigenschaften [Hatton et al. 1987, Levine 1993, Vissink et al. 1984, Vissink et al. 1986]. So konnte in Studien nachgewiesen werden, dass Speichelersatzmittel auf Muzin-Basis im Vergleich zu Produkten auf CMC-Basis sowohl auf poliertem Schmelz als auch auf oraler Mukosa gute befeuchtende Eigenschaften aufwiesen [Vissink et al. 1986]. Auch Polyethylenoxid (PEO) offenbarte ähnliche viskoelastische Eigenschaften wie natürlicher Speichel [Roberts 1982] und konnte im Vergleich zu einem Präparat auf CMC-Basis die Symptome der Xerostomie im klinischen Versuch besser lindern [Marks & Roberts 1983]. Wegen Problemen in der technischen Herstellung wurde ein Präparat auf PEO-Basis bisher jedoch nicht kommerziell vertrieben.

2.5.2. Studienüberblick zur Wirkung verschiedener Speichelersatzmittel

Speichelersatzmittel wurden bisher auf ihre viskoelastischen Eigenschaften, die subjektive Verbesserung der Symptome der Xerostomie und ihr De- und Remineralisationsverhalten untersucht. In Tabelle 1 sind einige In-vitro-Studien aufgelistet, die sich mit dem Einfluss von Speichelersatzmitteln auf Zahnhartsubstanzen beschäftigt haben.

Tab. 1: Auswahl von bisherigen Studien, die sich mit dem Einfluss von kommerziell erhältlichen Speichelersatzmitteln auf Zahnhartsubstanzen beschäftigt haben

Studien	Speichelersatz	Material und Methode	Ergebnisse
Shannon et al. (1977)	VA-Oralube	Demineralisation von 15 Humanzähnen, Mikrohärtbestimmung	Steigerung der Mikrohärtigkeit durch Prototyp
Shannon et al. (1978)	VA-Oralube	Demineralisation von Schmelzproben, anschließend Lagerung in Lösungen mit 6 versch. Fluoridkonzentrationen, Mikrohärtbestimmung	Optimale Steigerung der Mikrohärtigkeit bei einer Fluoridkonzentration von 2 ppm
Joyston-Bechal & Kidd (1987)	Saliva Orthana Glandosane Luborant	Demineralisation von Humanzähnen, nach Lagerung in Speichelersatzstoffen, Läsionstiefenbestimmung	Reduktion der Läsionstiefe bei Lagerung in Saliva Orthana und Luborant
Smith et al. (2001)	Saliva Orthana Glandosane Luborant	Bestimmung der durch das Speichelersatzmittel hervorgerufenen Löslichkeit von Hydroxylapatit	Signifikante Mengen an gelöstem Phosphat nach Lagerung in Glandosane
Kielbassa et al. (2001)	Saliva medac Glandosane Meridol Biotene Oralube Artisal Mineralwasser	2 Gruppen (demineralisiert und gesund) boviner Schmelz, 14-tägige Lagerung in Speichelersatzmitteln, Läsionstiefen- und Mineralgehaltbestimmung mittels Mikroradiografie	Signifikanter Mineralverlust und Läsionstiefenerhöhung in beiden Gruppen durch Glandosane und Biotene, Remineralisation der zuvor demineralisierten Proben durch Oralube und ein fluoridreiches Mineralwasser
Meyer-Lückel et al. (2002)	Saliva medac Glandosane Oralbalance Biotene, Artisal Oralube, Meridol Mineralwasser	7-tägige Lagerung von vorher demineralisiertem bovinen Dentin, Läsionstiefen- und Mineralgehaltbestimmung mittels Mikroradiografie	Signifikanter Mineralverlust und Erhöhung der Läsionstiefe der Proben durch Glandosane, Biotene, Rückgang der Läsionstiefe und Anstieg des Mineralgehaltes durch Oralube
Tschoppe et al. (2009a)	Saliva natura, 3 modifizierte Saliva natura-Lösungen	2- bzw. 5-wöchige Lagerung von vorher demineralisierten Schmelzproben in Saliva natura, drei Saliva natura-Lösungen mit unterschiedlichen Sättigungen an Oktakalziumphosphat und Dikalziumphosphatdihydrat, Läsionstiefen- und Mineralgehaltbestimmung	Remineralisationseffekt durch modifizierte Lösung mit einem Sättigungsgrad von 2 für Oktakalziumphosphat, eine höhere oder niedrigere Sättigung konnte keine gesteigerte remineralisierende Wirkung hervorrufen

Der menschliche Speichel ist eine mit Kalzium- und Phosphationen gesättigte Lösung mit annähernd neutralem pH-Wert. Die wenigsten Präparate enthalten dem Speichel vergleichbare Konzentrationen an Kalzium, Phosphat oder Fluorid und zeigten in bisherigen Studien meist unzureichende remineralisierende Eigenschaften. Vielmehr wurde bei vielen Speichelersatzmitteln eine nicht zu vernachlässigende

demineralisierende Wirkung auf den Zahnschmelz beobachtet [Kielbassa et al. 2001, Kielbassa & Shohadai 1999, Meyer-Lückel et al. 2006a, Meyer-Lückel et al. 2006b, Meyer-Lückel et al. 2006c]. So konnte bei dem in Kliniken in Deutschland und Europa weit verbreiteten CMC-basierten Produkt Glandosane ein stark demineralisierender Effekt festgestellt werden [Meyer-Lückel et al. 2002]. Dieses Ergebnis wurde neben dem sauren pH-Wert vor allem auf den geringen Kalzium- und Phosphatgehalt und die Abwesenheit von Fluorid zurückgeführt.

In-vitro-Studien mit dem Speichelersatzmittel Artisial zeigten keine weitere Demineralisation von Schmelz und Dentin [Joyston-Bechal & Kidd 1987, Kielbassa & Shohadai 1999, Kielbassa et al. 2001, Meyer-Lückel et al. 2002].

Eine nennenswerte remineralisierende Wirkung konnte bei Oralube festgestellt werden. Das auf CMC basierende Produkt zeigte in mehreren In-vitro-Versuchen sowohl bei Schmelz- als auch bei Dentinläsionen eine signifikante Verringerung der Läsionstiefe und einen signifikanten Mineralgewinn [Kielbassa et al. 2001, Meyer-Lückel et al. 2002]. Dessen hoher Gehalt an Fluorid- und Kalziumionen führt zur Verschiebung des Lösungsgleichgewichtes in Richtung Hydroxylapatit, wodurch eine Remineralisation des Läsionskörpers oder auch eine Kalziumphosphatpräzipitation an der Läsionsoberfläche stattfinden können [Larsen & Bruun 1994].

Weiterhin wurde herausgefunden, dass das Remineralisationspotential bei Zusätzen von Muzin und CMC aufgrund deren hoher Viskosität und einer daraus resultierenden niedrigeren Diffusionsrate deutlich sinkt [Featherstone 1984]. Diese Aussage steht jedoch zu den Ergebnissen mit Oralube im Widerspruch. Beide Basisstoffe sind in der Lage, Komplexe mit Kalzium und Phosphat zu bilden. Muzin scheint jedoch eine höhere Affinität zu Kalzium als CMC zu haben. Damit können weniger Kalziumionen an der Remineralisation teilnehmen [Vissink et al. 1984].

Weitere Studien untersuchten die Wirkung von unterschiedlichen Ionenkonzentrationen bzw. Sättigungen hinsichtlich Oktakalziumphosphat, Hydroxylapatit sowie Fluorapatit auf Schmelz [Meyer-Lückel et al. 2006a; Meyer-Lückel et al. 2006b] und Dentin [Meyer-Lückel und Kielbassa 2006; Meyer-Lückel et al. 2006c]. Die Ergebnisse zeigten, dass auf Leinsamenextrakt basierende Lösungen nur bei einem sehr hohen Gehalt an Kalzium und Phosphat eine remineralisierende Wirkung auf Schmelz [Meyer-Lückel et al. 2006b] bzw. eine neutrale Wirkung auf Dentin [Meyer-Lückel et al. 2006c] haben. Muzin-basierte Speichelersatzlösungen hingegen benötigten niedrigere Kalzium- und Phosphatkonzentrationen, um eine Demineralisation von Schmelz [Meyer-Lückel et al. 2006a] und Dentin [Meyer-Lückel & Kielbassa 2006] zu inhibieren.

Aktuelle Studien belegen, dass eine Remineralisation bei Modifizierung des Sättigungsgrades von Oktakalziumphosphat und Dikalziumphosphatdihydrat mit dem

verwendeten polysaccharid-basierten Speichelersatzmittel Saliva natura möglich ist. Dabei zeigte die modifizierte Lösung bei bovinem Schmelz remineralisierende Eigenschaften bei einem Sättigungsgrad (OKP) = 2 [Tschoppe et al. 2009a]. Bei bovinem Dentin konnte eine remineralisierende Wirkung bei einem Sättigungsgrad (OKP) = 2 und einem Sättigungsgrad (DKPD) = 1,4 beobachtet werden, welche jedoch mit einem höheren Sättigungsgrad nicht gesteigert werden konnte [Tschoppe et al. 2009b].

3. Ziel der Arbeit

Aufgrund bisher fehlender kausaler Therapiemöglichkeiten bei einer Hyposalivation ist die Verwendung von Speichelersatzmitteln eine weit verbreitete und anerkannte Therapiemethode. Speichelersatzmittel stellen oftmals die einzige Möglichkeit dar, um die Symptome der Hyposalivation zu lindern. Sie sollten heute möglichst viele Eigenschaften des natürlichen Speichels nachahmen, pH-neutral sein und zumindest kein demineralisierendes Potential gegenüber Zahnhartsubstanzen aufweisen. Aus zahnmedizinischer Sicht wäre ein remineralisierender Effekt wünschenswert. Im Zusammenhang mit der direkten Verwendung von kommerziell erhältlichen Speichelersatzmitteln werden jedoch häufig Demineralisationseffekte am Zahnschmelz beschrieben. In der verfügbaren Literatur gibt es bisher nur wenige Studien, die sich mit dem Einfluss von kommerziell erhältlichen Speichelersatzmitteln bzw. mit deren Sättigungen an Fluorid, Phosphat und Kalzium und deren Einfluss auf das Remineralisationsverhalten von Zahnschmelz auseinander gesetzt haben.

Ziel dieser Studie war, die Wirkung von unterschiedlichen kommerziell erhältlichen Speichelersatzprodukten auf demineralisierten bovinen Zahnschmelz *in vitro* zu untersuchen.

Jeder demineralisierte, zwei Wochen bzw. fünf Wochen in einem der getesteten Speichelersatzmittel gelagerte Schmelzprobenbereich wurde mit der transversalen Mikroradiografie auf die Parameter Mineralverlust und Läsionstiefe hin untersucht. Der gesunde Schmelzprobenbereich diente als Kontrolle. Als Zieleffekte wurden die Veränderungen von Mineralgehalt und Läsionstiefe im Vergleich zu den demineralisierten Ausgangswerten ermittelt.

Die Nullhypothese ging davon aus, dass die getesteten Speichelersatzmittel sich nicht signifikant hinsichtlich ihrer mineralisierenden Eigenschaften auf demineralisierten Schmelz unterscheiden. Als einseitige Arbeitshypothese wurde in der vorliegenden Studie angenommen, dass die unterschiedlichen Speichelersatzmittel unterschiedliche Auswirkungen auf den Mineralgehalt und die Läsionstiefe von bovinem Zahnschmelz haben, wobei die mit Oktakalziumphosphat und Dikalziumphosphatdihydrat gesättigten Produkte eine remineralisierende Wirkung besitzen sollten, während die untersättigten Speichelersatzmittel neutrale Eigenschaften bzw. auch demineralisierende Effekte hervorrufen können.

4. Material und Methoden

4.1. Herstellung der Schmelzproben

Zur Herstellung der Schmelzproben wurden 110 frisch extrahierte, klinisch gesunde bovine Unterkieferfrontzähne verwendet (Abb. 7). Nach einer vorsichtigen Säuberung wurden diese bis zum Versuchsbeginn in physiologischer Kochsalzlösung (Natriumchlorid 0,9 %; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) gelagert.

Aus den Labialflächen der extrahierten Zähne wurden jeweils zwei Schmelzproben (6 mm × 4 mm × 3 mm) unter permanenter Wasserkühlung herauspräpariert (Bandsäge Exakt Trennschleifsystem 300 CL; Exakt, Norderstedt, Deutschland). Aufgrund makroskopischer Defekte (z. B. Sprünge, Risse, Verfärbungen) wurden von den 220 Schmelzproben 55 Proben aussortiert.

Von den 165 verbliebenen Schmelzproben wurden jeweils fünf Proben mittels Silikonformen in Kunstharz (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) eingebettet, wobei die Schmelzoberflächen von Kunststoff frei blieben. Im Anschluss wurden die freien Schmelzoberflächen der eingebetteten Proben mit einer Poliermaschine (Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland) und Schleifpapier in aufsteigender Körnung (1200, 2400, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland) poliert und parallelisiert, wobei die Umdrehungszahl 300 U/min betrug.

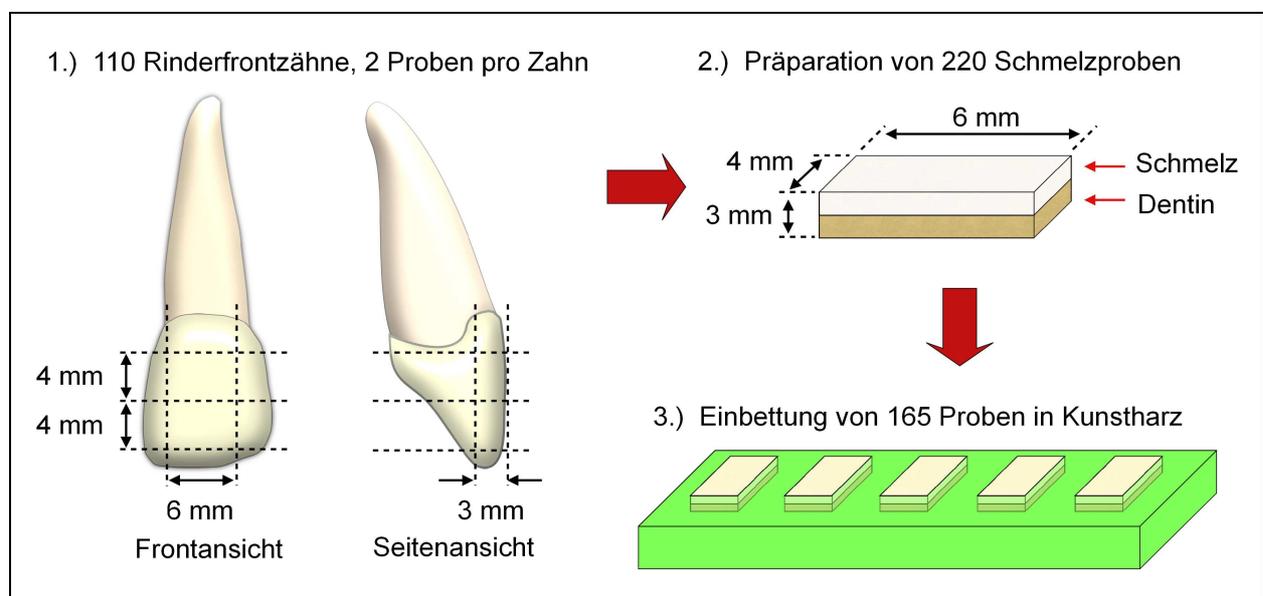


Abb. 7: Herstellung der Schmelzproben

Die so vorbereiteten Proben wurden nun mit Nagellack (Wet'n`Wild Crystal Nail Color; Markwins, New York, USA) in verschiedene Bereiche eingeteilt. Diese Felder, die aus

zwei schmalen und einer dickeren Markierung bestanden, dienten als Kontrolle der gesunden Schmelzoberfläche. Auf den so markierten Schmelzproben verblieben am Ende drei ungeschützte freie Bereiche (siehe Abb. 8). Bis zur Weiterverarbeitung erfolgte die Aufbewahrung der Proben in Aqua dest. (Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) im Wärmeschrank (Venticell; MMM Group, Planegg, Deutschland) bei 100 % Luftfeuchtigkeit und 37 °C.

4.2. Demineralisation der Schmelzproben

Die so vorbereiteten Schmelzproben wurden anschließend 14 Tage bei 37 °C bei 100 % Luftfeuchtigkeit im Wärmeschrank (Venticell; MMM Group) in einer Demineralisationslösung bei pH 4,95 [Buskes et al. 1985] (Tab. 2) gelagert. Bei diesem Vorgang wurde eine Läsionstiefe von ungefähr 100 µm erreicht.

Tab. 2: Zusammensetzung der Demineralisationslösung für bovinen Schmelz [Buskes et al. 1985]

Stoff	Konzentration (mmol/l)	Molare Masse (g/mol)	Menge
CaCl ₂ × 2H ₂ O	3	147,02	2,205 g
KH ₂ PO ₄	3	136,09	2,041 g
MHDP	0,006	176,00	0,00528 g
CH ₃ COOH	50	60,05	15,012g
KOH 10M**	46	56,11	ca. 23ml
Aqua dest.		18	ad 5l

* MHDP Stammlösung: 5,28 mg MHDP auf 99,95 g Aqua dest.

** KOH 10 M: 56,11 g KOH auf 100 ml Aqua dest.

Der pH-Wert wurde einmal täglich mit einem pH-Meter bestimmt (GMH 3510; Greisinger Electronic, Regenstauf, Deutschland) und bei einer Abweichung vom Sollwert, pH 4,95, angepasst. Bei erhöhtem pH-Wert wurde Salzsäure (2 M; Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) und bei einem niedrigeren pH-Wert Kaliumhydroxid (10 M; Merck, Darmstadt, Deutschland) unter permanentem manuellen Rühren solange hinzu pipettiert, bis der Sollwert, pH 4,95, wieder eingestellt war.

Nach der zweiwöchigen Lagerung der Proben in der Demineralisationslösung wurde eine weitere Probenoberfläche (Kontrolle Demineralisation) mit Nagellack (Wet'n`Wild Crystalic Nail Color; Markwins) abgedeckt (Abb. 8).

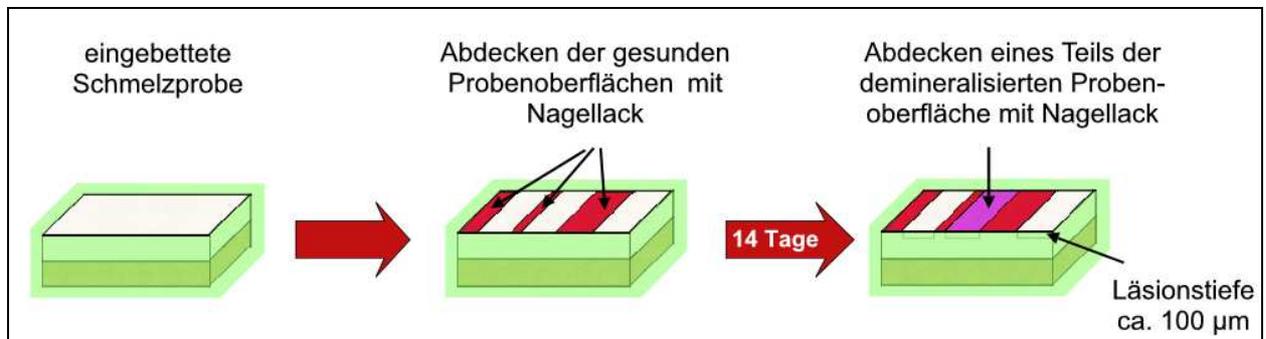


Abb. 8: Demineralisation der bovinen Schmelzproben

4.3. Lagerung der Proben in den Speichersatzmitteln

Zunächst wurden 11 Falcon-Röhrchen (Probenröhrchen 50 ml; VWR, Darmstadt, Deutschland) vorbereitet und deren Boden mit einem Kunstharz (Technovit 4071; Heraeus Kulzer) ausgegossen, um Unebenheiten auszugleichen (Abb. 9).

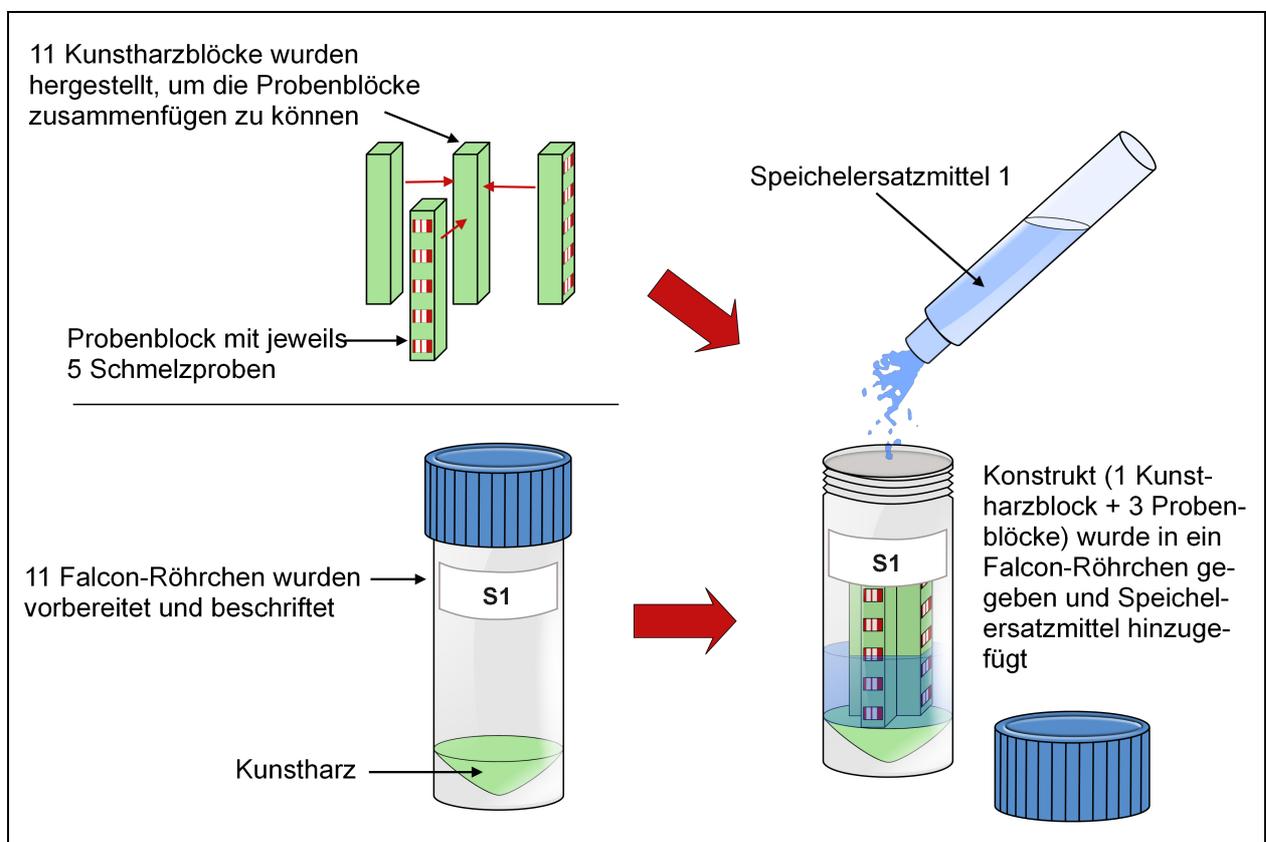


Abb. 9: Schematische Darstellung der Versuchsvorbereitung

Danach wurden 11 Kunstharzblöcke mittels einer Silikonform hergestellt. Anschließend wurden jeweils drei von den schon vorbereiteten Probenblöcken mit jeweils fünf Schmelzproben an drei Flächen des Kunstharzblockes geklebt (Dentalkleber Omnident; Rodgau, Deutschland). Die nun mit dem Kunstharzblock verbundenen drei Probenblöcke mit insgesamt 15 Schmelzproben wurden dann in die vorbereiteten Falcon-Röhrchen gegeben (Abb. 9).

Im Anschluss wurde pro Röhrchen die Remineralisationslösung (Tab. 3) bzw. eines der zehn zu testenden Speichelersatzmittel (ca. 20 ml) hinzugegeben (Abb. 10; Tab. 4).

Tab. 3: Zusammensetzung der Remineralisationslösung für bovinen Schmelz [Buskes et al. 1985]

Stoff	Konzentration (mmol/l)	Menge
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	1,5	0,221 g/l
KH_2PO_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

* HEPES: Hydroxyethylpiperazinethansulfonsäure

Die Röhrchen wurden daraufhin im Wärmeschrank (Venticell; MMM Group) bei einer konstanten Temperatur von 37 °C gelagert. Alle zwei Tage wurden die Röhrchen aus dem Brutschrank genommen, mit destilliertem Wasser abgespült und die alten Speichelersatzlösungen gegen frische Lösungen ausgetauscht. Alle sieben Tage wurde jeweils der pH-Wert (GMH 3510; Greisinger) gemessen und protokolliert (Anhang 1).

Tab. 4: Getestete Speichelersatzmittel; Bestandteile und Konzentrationen

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

* Na-CMC: Natrium-Carboxymethylcellulose

Nach zweiwöchiger Lagerung in den Speichelersatzmitteln wurden die Probenblöcke entnommen und mit Aqua dest. (Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi) abgespült. Anschließend wurde auf den Schmelzproben wieder eine Probenoberfläche mit Nagellack (Wet'n`Wild Crystalic Nail Color; Markwins) abgedeckt (Abb. 8) und die Proben abermals für drei Wochen mit den vorstehend beschriebenen Wechselintervallen in den Speichelersatzmitteln gelagert.



Abb. 10: Verwendete kommerziell erhältliche Speichersatzmittel

Nach Ablauf der dreiwöchigen Lagerungszeit wurden die Probenblöcke aus den Lösungen genommen und mit Aqua dest. (Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi) abgespült. Die letzte Probenoberfläche (Effektfläche 2: fünf Wochen) wurde nicht mehr mit Nagellack abgedeckt (Abb. 11).

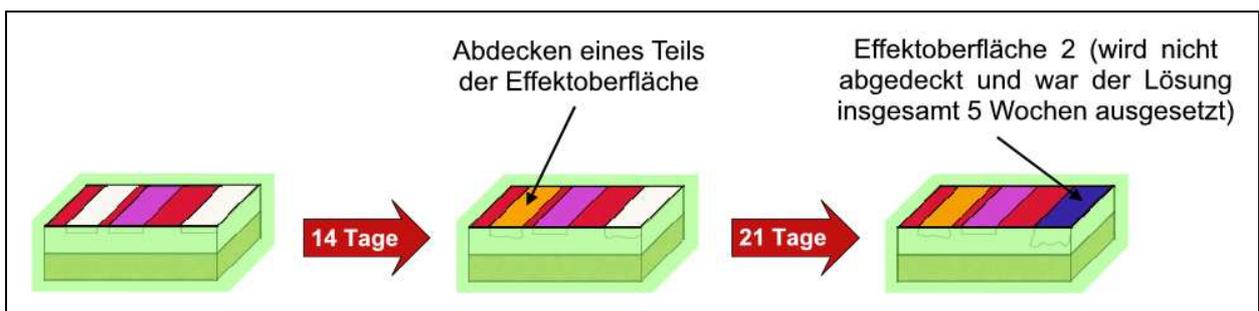


Abb. 11: Die zuvor demineralisierten Proben (lila) wurden zunächst zwei Wochen in den Testlösungen gelagert, dann wurde ein weiterer Teil der Schmelzoberfläche (orange) abgedeckt und die Proben für weitere drei Wochen in die Testlösungen gelegt (blau).

Bis zur weiteren Auswertung wurden die Probenblöcke in Kochsalzlösung (0,9 % Natriumchlorid; Fresenius Kabi) bei Raumtemperatur gelagert.

Vor der weiteren Auswertung wurden die 11 Gruppen vom Studienleiter verblindet.

4.4. Herstellung der Dünnschliffe für die transversale Mikroradiografie

Um ein Herausspringen der Proben aus den Probenklötzchen beim Dünnschleifen zu vermeiden, wurde eine Schicht lichthärtender Kunststoff (Tetric flow; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) auf die vorher mit Nagellack abgedeckte Probenoberflächen aufgetragen und mit einer Polymerisationslampe (Curing Light XL 1500; 3M Espe, Neuss, Deutschland) ausgehärtet. Mit einer Bandsäge (Exakt 300 CL; Exakt, Norderstedt, Deutschland) wurden die Probenblöcke zwischen den fünf Schmelzproben zersägt. Die Schmelzproben wurden dann senkrecht zur Oberfläche in Längsrichtung geteilt, wobei nur jeweils eine Hälfte für die transversale Mikroradiografie verwendet wurde. Die andere Probenhälfte wurde als Reserve in Kochsalzlösung gelagert. Anschließend wurde die Schnittfläche mit einem Schleifpapier in aufsteigender Körnung (1200, 2400, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland) an einer Poliermaschine (Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland) geglättet und poliert. Der halbierte Probenblock wurde dann mit der geglätteten Schnittfläche auf einem Objektträger aus Plexiglas (Diaplas, Oststeinbeck, Deutschland) mittels Dentalkleber (Omnident, Rodgau, Deutschland) befestigt, wobei nur der äußere Kunststoffmantel kleinflächig benetzt wurde und die eigentliche Probe unbenetzt blieb, um ein späteres Ablösen der Probe vom Objektträger sicherzustellen. Mit einer diamantierten 200 µm dicken Bandsäge (Exakt 300 CL; Exakt) wurde dann unter ständiger Wasserkühlung nochmals ein Sägeschnitt durchgeführt, sodass nur noch eine ungefähr 300 µm dicke Probe auf dem Objektträger verblieb. Die Vorschubkraft des Probentisches betrug 50 g, die Bandlaufgeschwindigkeit der Säge war auf 200 m/min eingestellt.

Im Anschluss daran erfolgte dann die endgültige Herstellung der Dünnschliffe. Dazu wurden die Proben auf dem Objektträger in einer Mikroschleifapparatur (Exakt Mikroschleifsystem 400 CS; Exakt, Norderstedt, Deutschland) mit gewässertem Schleifpapier in aufsteigender Körnung (1200, 2400, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland) weiter bis zu einer definitiven Probendicke von 100 [10] µm (Mittelwert [Standardabweichung]) poliert und parallelisiert. Anschließend erfolgte eine Kontrolle der Probendicke mittels Digitalmikrometer (Bügelmessschraube Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan) bei einer Genauigkeit von 1 µm. Die Dünnschliffe wurden abschließend mit einem Skalpell (Feather, Osaka, Japan) aus dem Kunststoffmantel und von dem Objektträger gelöst und mit einem Leukofix-Streifen (BSN medical, Hamburg, Deutschland) auf dem TMR-Probenhalter (Plano, Wetzlar, Deutschland) befestigt und bis zur transversalen Mikroradiografie in einer Kochsalzlösung (0,9 % Natriumchlorid; Fresenius Kabi) bei Raumtemperatur aufbewahrt.

4.5. Transversale Mikroradiografie (TMR)

Bei der transversalen Mikroradiografie wurden die Aufnahmen der Schmelzproben in einem linsenlosen Kameragehäuse vorgenommen, welches mit der „Objektivseite“ an den Röntgentubus eines Röntgenstrahlgenerators (PW 1730; Phillips, Eindhoven, Niederlande) gekoppelt war (Abb. 12).

Im Kameragehäuse befand sich auf Höhe des Films eine Aluminiumeichtreppe, die aus zehn Stufen mit jeweils 1 mm Breite bestand. Ein Aluminiumschlitten, der den TMR-Probenhalter während der Aufnahme in exakt gleicher Position zur Aluminiumeichtreppe hielt, befand sich rechts neben dieser (Abb. 12).

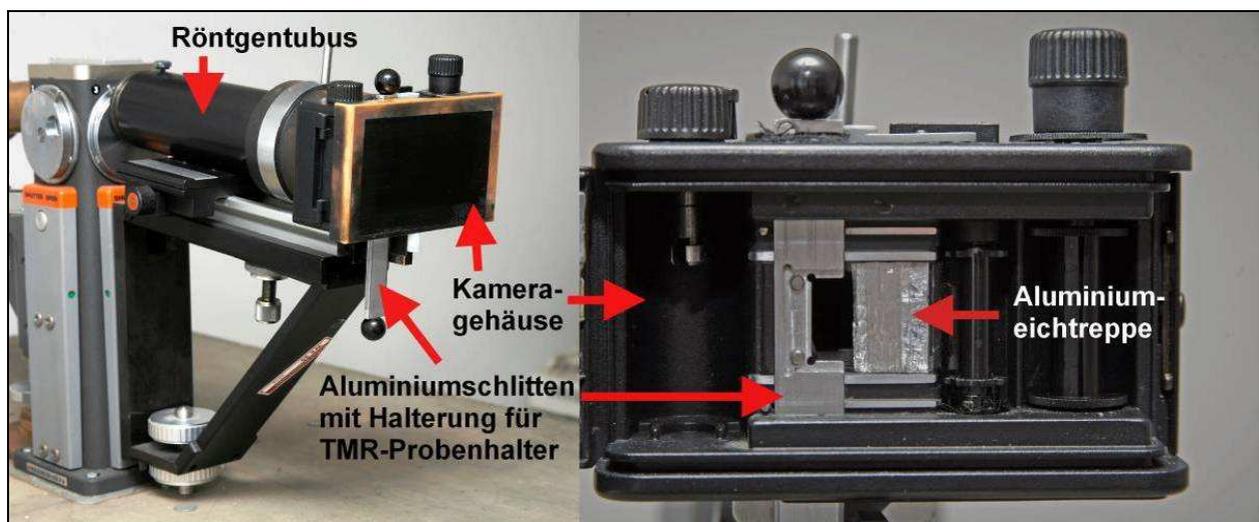


Abb. 12: Verwendete Apparatur für die transversale Mikroradiografie

Für die Anfertigung der Mikroradiogramme wurde ein holografischer, hochauflösender Spezialfilm (high speed holographic film SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland) verwendet, welcher in einer lichtundurchlässigen Kassette auf eine handelsübliche Filmrolle manuell aufgespult worden war. Nach Einlegen des Filmes und Schließen des Kameragehäuses konnte der Aluminiumschlitten nach oben herausgezogen werden und der Probenhalter mit dem fixierten Dünnschliff in den dafür vorgesehenen Probenträger eingelegt werden. Anschließend wurde der Aluminiumschlitten wieder vorsichtig in das Kameragehäuse auf seine Ausgangsposition zurückgeschoben.

Für die Mikroradiografie der Schmelzproben wurden folgende Werte am Röntgengerät eingestellt: eine Röntgenspannung von 20 kV, ein Röntgenstrom von 20 mA und eine Belichtungszeit von 10 Sekunden. Die Röntgenröhre bestand aus einer Kupferanode mit Nickelfilterung. Nach dem Einschalten der vertikal montierten Röhre wurden Röntgenstrahlen emittiert, welche die Schmelzprobe parallel zur behandelten Oberfläche und senkrecht zur Schnittebene durchdrangen und den Film belichteten.

Daneben wurde auch die Aluminiumtreppe auf jedem Röntgenbild abgelichtet, welche für die spätere TMR-Auswertung als Kalibrierhilfe benutzt wurde. Nach jeder Aufnahme wurde der Film manuell weitergedreht. Anschließend wurde der Aluminiumschlitten, ohne den Film zu belichten, wieder herausgezogen, die Probe entnommen, eine neue eingelegt und der Schlitten wieder sorgfältig in das Kameragehäuse zurückgeschoben.

Nach Anfertigung der Mikroradiogramme wurden die Dünnschliffe von den Probenhaltern gelöst, auf einem Objektträger (Diaplug) fixiert und anschließend wieder in Kochsalzlösung (0,9 % Natriumchlorid; Fresenius Kabi) aufbewahrt.

4.5.1. Mikroradiografische Untersuchung und Auswertung

Nach der Filmentwicklung wurden die mikroradiografischen Einzelbilder mit einem Durchlichtmikroskop (Axioskop 2; Zeiss, Oberkochen, Deutschland), welches mit einer Videokamera (CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan) verbunden war, digitalisiert und die Daten auf einen angeschlossenen Computer übertragen. Mittels einer speziellen TMR-Software (Transversal Micro Radiography für Windows, Version 2.0.27.02; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Niederlande) erfolgte für jeden einzelnen Probenabschnitt die densitometrische Berechnung des Mineralverlustes (ΔZ) und der Läsionstiefe (Lt) der einzelnen Probenabschnitte (gesund: ΔZ_{Gesund} , Lt_{Gesund} ; demineralisiert: ΔZ_{Demin} , Lt_{Demin} ; Lagerung für zwei Wochen: $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$, $Lt_{\text{Effekt 2}}$; Lagerung für fünf Wochen: $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$, $Lt_{\text{Effekt 5}}$).

Bei jeder Probe wurde eine Adjustierung der Lichtintensität in einem gesunden Probenbereich vorgenommen, anschließend wurde zur Kalibrierung bei 16-facher Vergrößerung jede der zehn Stufen der Aluminiumtreppe gescannt und im Programm gespeichert. Danach wurden die verschieden behandelten Schmelzbereiche „Kontrolle Gesund“, „Kontrolle Demineralisation“, „Effekt 2 Wochen“, und „Effekt 5 Wochen“ der Probe eingescannt und ebenfalls im Programm abgespeichert.

Im Vergleich zu den im TMR-Programm gespeicherten Daten Dicke, Röntgenabsorption und Grauwerte der einzelnen Stufen der Aluminiumtreppe konnte mit den Grauwerten aus jedem einzelnen Probenbereich der Mineralverlust (Vol.-%) als Funktion der Probtiefe (μm) automatisch berechnet werden. Auch war es möglich, den gesamten Mineralverlust einer Probe (Vol.-% $\times \mu\text{m}$) durch Integration von Läsionstiefe (μm) und Mineralgehalt (Vol.-%) zu ermitteln.

Mit der TMR-Software wurde von jedem vorher gescannten und abgespeicherten gesunden und demineralisierten Bereich und den beiden Effektbereichen (zwei- bzw. fünfwöchige Lagerung in den Speichelersatzmitteln) einer Probe in einem Diagramm

eine Kurve erstellt. Dabei wurde der Mineralgehalt (Vol.-%, y-Achse) gegen die Probertiefe (μm , x-Achse) aufgetragen.

Die Koordinaten der ermittelten Kurven wurden in ein Textdokument und anschließend in eine Tabellenkalkulationssoftware (Office Excel 2003; Microsoft Deutschland, Unterschleißheim, Deutschland) übertragen. Diese wurden dann zur Erstellung der Mittelwertgrafiken zusammengefasst.

4.5.2. Statistische Auswertung

Vor der Untersuchung der Schmelzproben wurden alle Gruppen für den Untersucher verblindet. Im Rahmen der mikroradiografischen Auswertung wurden Mineralverlust (Min) und Läsionstiefe (Lt) der demineralisierten (d) Proben bzw. der für zwei Wochen (e2) und für fünf Wochen (e5) in verschiedenen Speichelersatzmitteln gelagerten Proben ermittelt. Anschließend wurden diese Werte um den projektionsbedingten Fehlerwert von Mineralverlust und Läsionstiefe im gesunden Bereich (g) korrigiert [(Min d - Min g), (Min e2 - Min g), (Min e5 - Min g), (Lt d - Lt g), (Lt e2 - Lt g), (Lt e5 - Lt g)].

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der SPSS-Software (Statistical Package for Social Sciences, Version 11.5.1; SPSS, München, Deutschland). Alle Variablen wurden auf Normalverteilung untersucht (Kolmogorov-Smirnov-Test) und einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen. Die Einzelvergleiche zwischen den Gruppen erfolgten mit dem Post-hoc-Test nach *Tukey*. Der Vergleich zwischen den Mineralverlusten und Läsionstiefen nach Demineralisation und den Mineralverlusten bzw. den Läsionstiefen nach Einwirkung der verwendeten Lösungen innerhalb einer Probe erfolgte mittels gepaartem *t-Test*. Die Ergebnisse des *t-Testes* wurden mit dem *Bonferroni*-Faktor ($\times 11$) korrigiert. Das Signifikanzniveau wurde bei allen Tests jeweils mit 5 % festgelegt.

Nach Abschluss der statistischen Auswertung wurde eine Entblindung der Gruppen durch den Studienleiter vorgenommen.

4.6. Bestimmung der Kalzium- und Phosphatkonzentrationen

Für die Kalziumbestimmung wurde die Methode der optischen Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP OES Optima 2100 DV; Perkin Elmer, Fremont, USA) verwendet. Aufgrund der sehr hohen Viskosität der Proben Saseem und Oralube (und dem damit verbundenen sehr hohen Anteil organischer Matrix) mussten diese beiden Proben mittels Mikrowellenaufschluss mit Salpetersäure (Suprapur; Merck, Darmstadt, Deutschland) in Lösung überführt werden. Jeweils 2,5 ml der Proben wurden

mit 5 ml Salpetersäure aufgeschlossen und auf 50 ml verdünnt. Die Probe Mouth Kote konnte unverdünnt untersucht werden. Da die weiteren Proben sehr verschiedene Kalzium-Gehalte aufwiesen, wurden die Proben unterschiedlich verdünnt. Jeweils 3 ml der Proben Glandosane und Artisial sowie 1 ml der Probe Xerostom wurden auf 50 ml verdünnt und 1 ml von A.S Saliva Orthana wurde auf 100 ml verdünnt und anschließend vermessen. Die Probenlösungen waren mit Salpetersäure (Suprapur; Merck) angesäuert und durch 0,2 µm CME-Spritzenfilter (Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) filtriert. Jede Probe wurde zweimal aufgeschlossen bzw. verdünnt und vermessen.

Die Phosphatkonzentration wurde mittels Anionenchromatographie unter Verwendung eines Ionenchromatographen (761 Compact IC mit Autosampler; Metrohm, Filderstadt, Deutschland) bestimmt. Die Probenlösungen wurden mit Eluenkonzentrat (Merck) versetzt und durch 0,2 µm CME-Spritzenfilter (Carl Roth) filtriert. Die Bestimmungen erfolgten jeweils als Doppelbestimmung. Auch für die IC Untersuchungen mussten die Lösungen aufgrund der sehr verschiedenen Phosphatgehalte unterschiedlich verdünnt werden: jeweils 1 ml von Saseem wurde auf 25 ml, A.S Saliva Orthana und Glandosane auf 50 ml sowie Artisial und Oralube auf 100 ml verdünnt. Die Proben Xerostom und Mouth Kote wurden unverdünnt vermessen.

Der Speichelersatz TMP Tüshaus konnte nicht nachuntersucht werden, da er während des Versuches vollständig verbraucht wurde und der Hersteller das Produkt zwischenzeitlich wegen nachgewiesener bakterieller Verunreinigung (<http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=3198>) vom Markt genommen hatte.

4.7. Berechnung der Sättigungen der verwendeten Speichelersatzmittel

Für wässrige Lösungen kann die Sättigung hinsichtlich verschiedener Kalzium-Phosphat-Komplexe [Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD), Oktakalziumphosphat (OKP), Hydroxylapatit (HAP)] berechnet werden, wenn der pH-Wert bekannt ist. Die Berechnung der Sättigung erfolgte hierbei mit dem Ionenprodukt-Programm nach *Shellis* [Shellis 1988].

5. Ergebnisse

5.1. Ermittlung der Ionenkonzentrationen und Sättigungen

Nach Beendigung des Versuches wurden bei allen verwendeten Speichlersatzmitteln die enthaltenen Kalzium- und Phosphatkonzentrationen ermittelt (Tab. 5).

Tab. 5: Ionenkonzentrationen der getesteten Speichlersatzmittel laut eigener Messung (nur Kalzium und Phosphat) sowie laut Herstellerangaben

Produkt	Ionenkonzentration (mmol) eigene Messung		pH (Stabw.)	Ionenkonzentration (mmol) laut Hersteller	
	Ca	PO ₄		Ca	PO ₄
Artisial	1,13	6,795	6,83 (0,10)	1,13	7,01
A.S Saliva Orthana	6,175	1,37	6,13 (0,07)	1,02	2,01
Glandosane	1,00	2,03	5,24 (0,07)	1,01	2,57
Mouth Kote	0,03	--	3,05 (0,05)	k. A.	
Oralube	1,605	6,81	6,26 (0,07)	1,20	3,82
Remin-Lsg.	1,5	0,9	7,03 (0,05)		
Saliva natura	0,03	0,02	5,89 (0,09)	0,03	0,02
Saliva natura modifiziert	3,15	5,04	5,95 (0,04)		
Saseem	0,975	2,02	5,37 (0,12)	k. A.	
TMP Tüshaus	nicht mehr erhältlich		4,65 (0,08)	k. A.	
Xerostom	1,735		4,89 (0,10)	k. A.	

k. A.: keine Angaben des Herstellers. Die pH-Wert-Angabe bezieht sich auf den Mittelwert aller gemessenen Werte während des Versuches. In Klammern ist die Standardabweichung (Stabw.) angegeben.

Die Berechnung der Sättigung erfolgte mit dem Ionenprodukt-Programm nach *Shellis* [Shellis 1988]. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tab. 6: Mit dem Ionenprodukt-Programm [Shellis 1988] berechnete Sättigungen der kommerziell erhältlichen Speicheleratzmittel laut eigener Berechnung sowie laut Hersteller

Produkt	pH	Sättigung eigene Berechnung				Sättigung laut Hersteller				Sättigung eigene Berechnung und Herstellerangaben			
		HAP	OKP	DKPD	CaF ₂	HAP	OKP	DKPD	CaF ₂	HAP	OKP	DKPD	CaF ₂
Artisial	6,83	16,24	3,37	1,82	-	14,01	2,92	1,54	-	18,92	2,89	1,53	-
A.S Saliva Orthana	6,13	8,91	2,01	1,12	-	4,54	1,14	0,69	0,84	8,89	2,00	1,12	1,32
Glandosane	5,24	0,98	0,34	0,27	-	0,79	0,28	0,22	-	0,72	0,25	0,20	-
Mouth Kote	3,05	-	-	-	-		k. A.			-	-	-	-
Oralube	6,26	9,19	2,29	1,52	-	9,76	2,12	1,13	0,47	7,77	1,95	1,28	0,51
Remin-Lsg.	7,03	14,12	2,39	0,89	-								
Saliva natura	5,89	0,11	0,03	0,01	0,01	0,11	0,03	0,01	0,01	0,11	0,03	0,01	0,01
Saliva natura modifiziert	5,95	7,06	1,87	1,31	0,63								
Saseem	5,37	1,21	0,40	0,30	-		k. A.			0,88	0,30	0,22	
TMP Tüshaus	4,65	keine Berechnung erfolgt, da nicht mehr erhältlich					k. A.						
Xerostom	4,89	-	-	-	-		k. A.			-	-	-	-

k. A.: keine Angaben des Herstellers verfügbar

5.2. Quantitative Auswertung Mineralverlust

Nach Lagerung in den Speicheleratzmitteln und bei der Vorbereitung der Dünnschliffe für die transversale Mikroradiografie waren 38 der insgesamt 165 bei dem Versuch verwendeten Proben aufgrund massiver Schädigungen (Erosionen bis ins Dentin und damit nicht mehr mit TMR auswertbar, Lockerung bzw. Verlust der Proben aus den Kunstharzblöcken) nicht mehr verwertbar und konnten somit nicht in die Auswertung mit

einbezogen werden. Es verblieben somit 127 Proben zur Auswertung. Von insgesamt 15 Proben je zu testendem Produkt waren bei Saseem und A.S Saliva Orthana 14 Proben, bei Artisial 13, bei Glandosane und Xerostom jeweils 12, bei Saliva natura, TMP Tüshaus und der Remineralisationslösung jeweils 11 Proben, bei Oralube und Saliva natura modifiziert jeweils 10 und bei Mouth Kote 9 Proben auswertbar. Alle *in vitro* demineralisierten Schmelzproben ($n = 127$) entwickelten oberflächlich intakt erscheinende Läsionen, deren oberste Schicht eine höhere Mineralisation aufwies als der Läsionskörper. Die demineralisierten Bereiche zeigten für ΔZ_{Demin} einen Mittelwert von $2128 \text{ Vol.-%} \times \mu\text{m}$ bei einem Konfidenzintervall (KI) von 2115/2141. Die Mittelwerte für ΔZ_{Demin} waren für alle Gruppen nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,278$; ANOVA).

In der folgenden Abbildung (Abb. 13) wird der Mineralverlust der Schmelzproben nach zwei Wochen und nach fünf Wochen mittels Konfidenzintervallen (KI 95 %) dargestellt. Nach zweiwöchiger Lagerung zeigten die in Mouth Kote gelagerten Proben im Vergleich zu allen anderen Gruppen einen signifikanten Mineralverlust ($p < 0,05$; ANOVA, *Tukey* Post-hoc Test). Zwischen den anderen Speichelersatzstoffen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p > 0,05$). Auch nach fünf Wochen Lagerung unterschieden sich die in Mouth Kote gelagerten Schmelzproben bezüglich des Mineralverlustes signifikant von denen in den anderen Speichelersatzmitteln gelagerten Proben ($p < 0,05$). Die Schmelzproben von Glandosane und Xerostom zeigten, außer im Vergleich zu den Proben von Saliva natura, eine signifikante Abnahme des Mineralgehaltes ($p < 0,05$). Kein signifikanter Unterschied bezüglich des Mineralverlustes der Schmelzproben konnte zwischen Saliva natura modifiziert, Saseem, Artisial, A.S Saliva Orthana, Oralube und der Remineralisationslösung (Kontrollgruppe) festgestellt werden ($p > 0,05$).

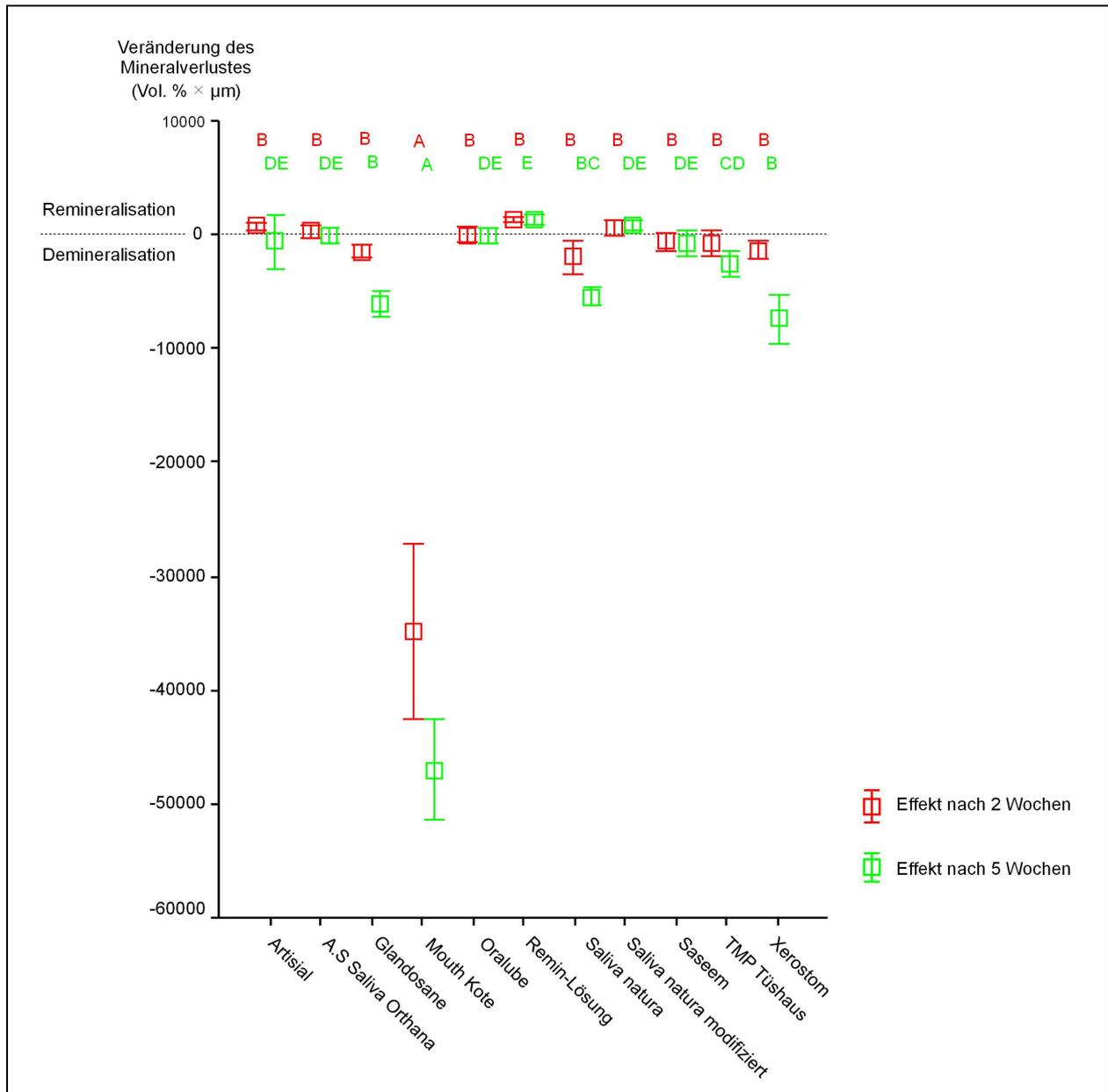


Abb. 13: Veränderung des Mineralgehaltes (in Vol.-% × µm) nach zweiwöchiger ($\Delta Z_{\text{Effekt } 2}$) und fünfwöchiger ($\Delta Z_{\text{Effekt } 5}$) Lagerung in den Speichelerersatzmitteln (ANOVA, *Tukey*). Gruppen mit gleichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$; *Tukey* Post-hoc-Test).

Tabelle 7 zeigt die mittleren Mineralverluste mit den dazugehörigen Konfidenzintervallen (95 %) der einzelnen Gruppen vor (ΔZ_{Demin}) sowie nach zwei ($\Delta Z_{\text{Effekt } 2}$) bzw. fünf Wochen ($\Delta Z_{\text{Effekt } 5}$) Lagerung in den verschiedenen Speichelerersatzmitteln. Die Analyse erfolgte mittels adjustiertem gepaarten *t*-Test (*Bonferroni*-Faktor × 11). Eine signifikante Abnahme des Mineralverlustes im Vergleich zu den Ausgangswerten nach Demineralisation konnte bei den Proben der Remineralisationslösung und Artisial

festgestellt werden (jeweils $p = 0,011$; gepaarter t -Test). Im Gegensatz dazu kam es bei den Schmelzproben, die für zwei Wochen in Mouth Kote und in Glandosane gelagert wurden, zu einer signifikanten Zunahme des Mineralverlustes (jeweils $p = 0,011$). Alle anderen Proben wiesen nach zweiwöchiger Lagerung in den Speichersatzmitteln keinen signifikanten Unterschied im Bezug auf den Mineralverlust im Vergleich zum Ausgangswert auf ($p > 0,05$).

Tab. 7: Mittelwerte (MW) und Konfidenzintervalle (95 % KI) des Mineralverlustes (ΔZ ; Vol.-% $\times \mu\text{m}$) nach In-vitro-Demineralisation (ΔZ_{Demin}) und Lagerung in verschiedenen Speichersatzlösungen für zwei ($\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$) und 5 Wochen ($\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$)

Speichersatzmittel	ΔZ_{Demin}		$\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$		Effekt ₂	$\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$		Effekt ₅
	MW	95 % KI	MW	95 % KI	p	MW	95 % KI	p
Artisial	2108	2078/ 2139	1255	885/ 1625	0,011	2622	193/ 5051	1
A.S Saliva Orthana	2137	2099/ 2176	1754	1115/ 2393	1	2109	1382/ 2836	1
Glandosane	2157	2104/ 2209	3660	3062/ 4257	0,011	8272	7176/ 9368	0,011
Mouth Kote	2112	2084/ 2140	36773	29049/ 44497	0,011	48868	445300/ 53207	0,011
Oralube	2107	2076/ 2138	2026	1383/ 2670	1	2129	1432/ 2825	1
Remineralisationslösung	2113	2069/ 2158	714	481/ 947	0,011	742	233/ 1252	0,011
Saliva natura	2124	2075/ 2173	3994	2522/ 5466	0,198	7501	6706/ 8296	0,011
Saliva natura modifiziert	2101	1994/ 2207	1336	673/ 2000	0,451	1205	743/ 1667	0,033
Saseem	2162	2127/ 2198	2694	1969/ 3419	1	2793	1608/ 3978	1
TMP Tüshaus	2161	2117/ 2205	2744	1635/ 3852	1	4617	3583/ 5651	0,011
Xerostom	2119	2079/ 2160	3410	2587/ 4232	0,055	9419	7313/ 11526	0,011

Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Werten nach Demineralisation (ΔZ_{Demin}) und nach Lagerung in verschiedenen Speichersatzlösungen für zwei ($\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$) und fünf Wochen ($\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$) innerhalb jeder Gruppe ($n = 9 - 14$) mittels gepaartem t -Test. Die nicht signifikanten p-Werte ($p > 0,05$) sind rot hervorgehoben.

Nach fünf Wochen zeigten neben den in Mouth Kote und Glandosane gelagerten Schmelzproben auch die Proben von Saliva natura, Xerostom und TMP Tüshaus einen signifikanten Mineralverlust im Vergleich zu den Ausgangswerten nach Demineralisation (jeweils $p = 0,011$; gepaarter *t-Test*). Eine signifikante Abnahme des Mineralverlustes im Vergleich zu den ΔZ_{Demin} konnte sowohl bei den Proben der Remineralisationslösung (Kontrollgruppe) als auch bei denen in Saliva natura modifiziert eingelegten Proben beobachtet werden (jeweils $p = 0,011$). Keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Mineralverlustes nach fünfwöchiger Lagerung im Vergleich zu den Ausgangswerten nach Demineralisation wurden bei Artisial, A.S Saliva Orthana, Oralube und Saseem festgestellt ($p > 0,05$).

Weder Saseem, noch A.S Saliva Orthana oder Oralube wiesen über die gesamte Zeit ($\Delta Z_{\text{Effekt 2}}$ und $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$) einen signifikanten Mineralverlust im Vergleich zu den Ausgangswerten ΔZ_{Demin} auf ($p > 0,05$).

5.3. Quantitative Auswertung Läsionstiefe

Die demineralisierten Bereiche zeigten für die Läsionstiefe L_{Demin} einen Mittelwert von $93 \mu\text{m}$ (KI 92/95). L_{Demin} zeigte zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,112$; ANOVA).

In Abbildung 14 sind die Läsionstiefen der Schmelzproben nach zwei Wochen und nach fünf Wochen mittels Konfidenzintervallen (95 %) dargestellt. Nach zweiwöchiger Lagerung zeigten die in Mouth Kote gelagerten Proben im Vergleich zu allen Gruppen eine signifikante Zunahme der Läsionstiefe ($p < 0,05$; ANOVA, *Tukey Post-hoc-Test*). Die Remineralisationslösung und Saliva natura modifiziert führten hingegen im Vergleich zu allen anderen Speichelersatzmitteln zu einer signifikanten Abnahme der Läsionstiefe. Die übrigen Speichelersatzmittel unterschieden sich hinsichtlich der Läsionstiefe nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$).

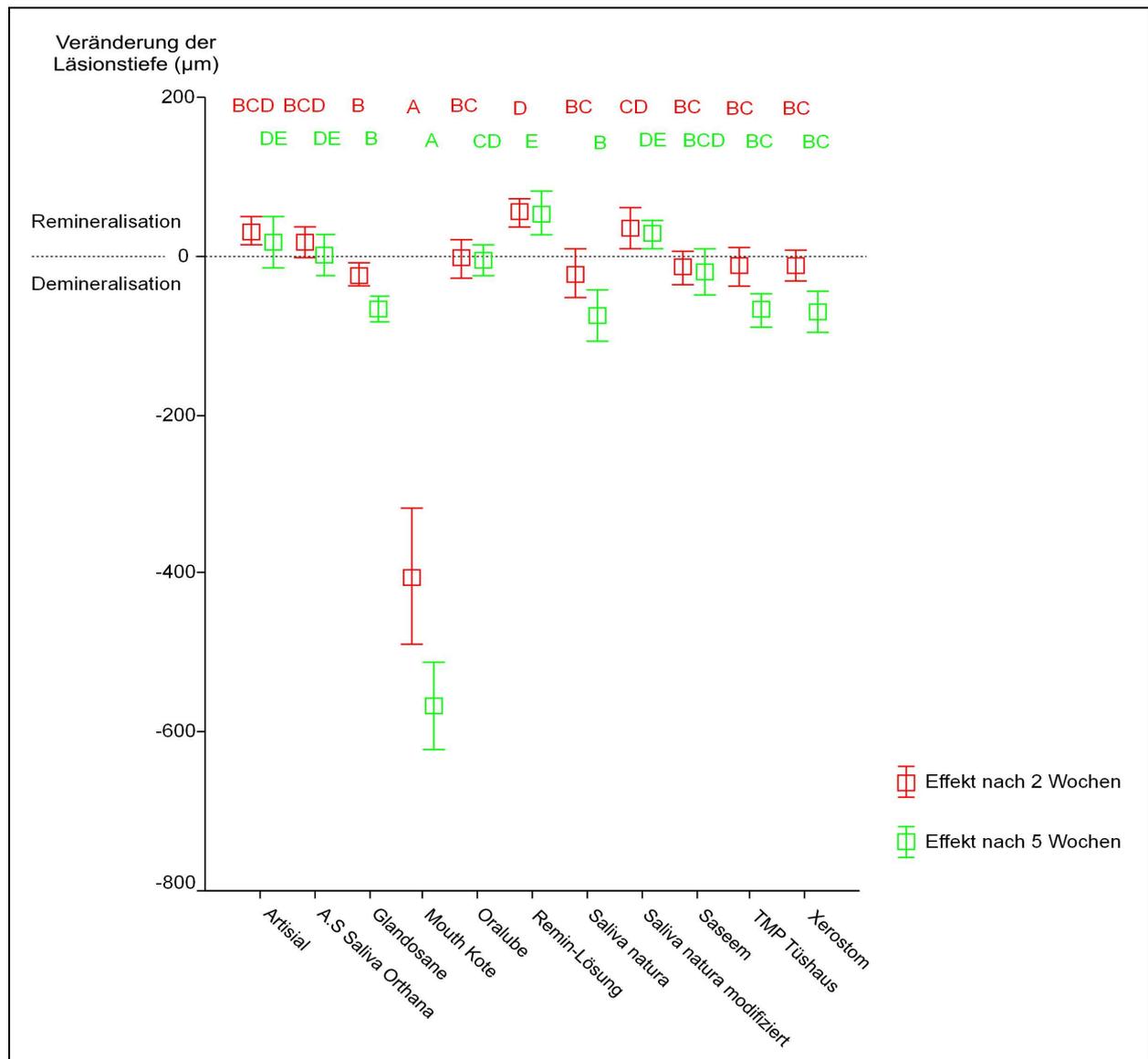


Abb. 14: Veränderung der Läsionstiefe (in μm) nach zweiwöchiger ($L_{\text{Effekt } 2}$) und fünfwöchiger ($L_{\text{Effekt } 5}$) Lagerung in den Speichlersatzmitteln im Vergleich zur Demineralisation (ANOVA, *Tukey*). Gruppen mit gleichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$; *Tukey* Post-hoc-Test).

Auch nach fünf Wochen Lagerung unterschieden sich die in Mouth Kote gelagerten Schmelzproben hinsichtlich der Läsionstiefenzunahme signifikant ($p < 0,05$; ANOVA, *Tukey* Post-hoc-Test) von den in den anderen Speichlersatzmitteln gelagerten Proben. Die Schmelzproben von Saliva natura modifiziert, Artisial und A.S Saliva Orthana zeigten, außer zu den Proben von Oralube und der Remineralisationslösung, eine signifikant stärkere Reduktion in Bezug auf die Läsionstiefe ($p < 0,05$) im Vergleich zu allen anderen Speichlersatzstoffen. Die in der Remineralisationslösung gelagerten Schmelzproben wiederum unterschieden sich im Hinblick auf die Läsionstiefe, außer

von Saliva natura modifiziert, Artisial und A.S Saliva Orthana, signifikant von allen anderen Gruppen ($p < 0,05$). Kein signifikanter Unterschied bezüglich der Läsionstiefe konnte zwischen Saliva natura, Saseem, TMP Tüshaus, Xerostom und Glandosane festgestellt werden ($p > 0,05$).

Tabelle 8 zeigt die mittleren Läsionstiefen mit den dazu gehörigen Konfidenzintervallen (95 %) der einzelnen Gruppen vor Demineralisation ($L_{t_{Demin}}$) und nach zwei Wochen ($L_{t_{Effekt\ 2}}$) bzw. nach fünf Wochen ($L_{t_{Effekt\ 5}}$) Lagerung in den verschiedenen Speichelersatzmitteln. Die Analyse erfolgte mittels adjustiertem gepaarten *t-Test* (*Bonferroni-Faktor* $\times 11$).

Eine signifikante Abnahme der Läsionstiefe im Vergleich zu den Ausgangswerten konnte nach 2 Wochen bei den Proben der Remineralisationslösung ($p = 0,011$; *t-Test*) und Artisial ($p = 0,033$) festgestellt werden. Im Gegensatz dazu kam es bei den Schmelzproben, die für zwei Wochen in Mouth Kote und in Glandosane gelagert wurden, zu einer signifikanten Zunahme der Läsionstiefe im Vergleich zu den Ausgangswerten ($p = 0,011$; $p = 0,022$). Alle anderen Proben wiesen nach zweiwöchiger Lagerung in den Speichelersatzstoffen keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zum Ausgangswert auf ($p > 0,05$).

Nach fünf Wochen zeigten neben den Schmelzproben, die in Mouth Kote und Glandosane gelagert wurden, auch die Proben von Saliva natura, Xerostom und TMP Tüshaus im Vergleich zu den Ausgangswerten nach Demineralisation eine signifikante Zunahme der Läsionstiefe (jeweils $p = 0,011$; *t-Test*). Eine signifikante Abnahme der Läsionstiefe im Vergleich zum Ausgangswert $L_{t_{Demin}}$ konnte hingegen einzig bei den Proben, die in der Remineralisationslösung (Kontrollgruppe) lagerten, beobachtet werden (jeweils $p = 0,011$). Keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Läsionstiefe nach fünfwöchiger Lagerung im Vergleich zu den Ausgangswerten nach Demineralisation wurden bei Saliva natura modifiziert, Artisial, A.S Saliva Orthana, Oralube und Saseem festgestellt ($p > 0,05$).

Weder Saliva natura modifiziert, Saseem, noch A.S Saliva Orthana oder Oralube wiesen über die gesamte Zeit eine signifikante Veränderung der Läsionstiefe im Vergleich zum Ausgangswert $L_{t_{Demin}}$ auf ($p > 0,05$).

Tab. 8: Mittelwerte (MW) und Konfidenzintervalle (95 % KI) der Läsionstiefe (in μm) nach In-vitro-Demineralisation (L_{Demin}) und Lagerung in verschiedenen Speichersatzlösungen für zwei ($L_{\text{Effekt 2}}$) und fünf Wochen ($L_{\text{Effekt 5}}$)

Speichersatzmittel	L_{Demin}		$L_{\text{Effekt 2}}$		Effekt_2	$L_{\text{Effekt 5}}$		Effekt_5
	MW	95 % KI	MW	95 % KI	p	MW	95 % KI	p
A.S Saliva Orthana	92	86/99	78	61/94	1	92	70/115	1
Artisial	93	87/100	64	49/79	0,033	78	48/108	1
Glandosane	94	87/99	120	108/131	0,022	163	148/178	0,011
Mouth Kote	98	91/105	502	415/588	0,011	665	608/721	0,011
Oralube	90	84/96	95	75/115	1	97	78/116	1
Remineralisationslösung	98	95/100	40	23/58	0,011	42	14/71	0,011
Saliva natura	86	79/93	108	81/135	1	160	130/191	0,011
Saliva natura modifiziert	93	85/100	57	33/82	0,165	65	49/81	0,099
Saseem	92	89/95	107	86/127	1	112	84/141	1
TMP Tüshaus	97	91/102	108	86/129	1	163	142/185	0,011
Xerostom	95	89/101	105	88/122	1	163	139/186	0,011

Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Werten nach Demineralisation (L_{Demin}) und nach Lagerung in verschiedenen Speichersatzlösungen für zwei ($L_{\text{Effekt 2}}$) und fünf Wochen ($L_{\text{Effekt 5}}$) innerhalb jeder Gruppe ($n = 9 - 14$) mittels gepaartem t -Test und Bonferroni-Korrektur. Die nicht signifikanten p -Werte ($p > 0,05$) sind rot hervorgehoben.

5.4. Struktureller Aufbau der Schmelzproben nach Demineralisation und Lagerung in den verschiedenen Speichersatzmitteln

Abbildung 15 zeigt die Mittelwertgrafien der gesunden und demineralisierten Bereiche aller Proben. Der Mittelwertgraf aller unbehandelten gesunden Proben (grün) wies einen geringfügigen oberflächlichen Mineralverlust auf, der auf projektionsbedingte Artefakte zurückzuführen war.

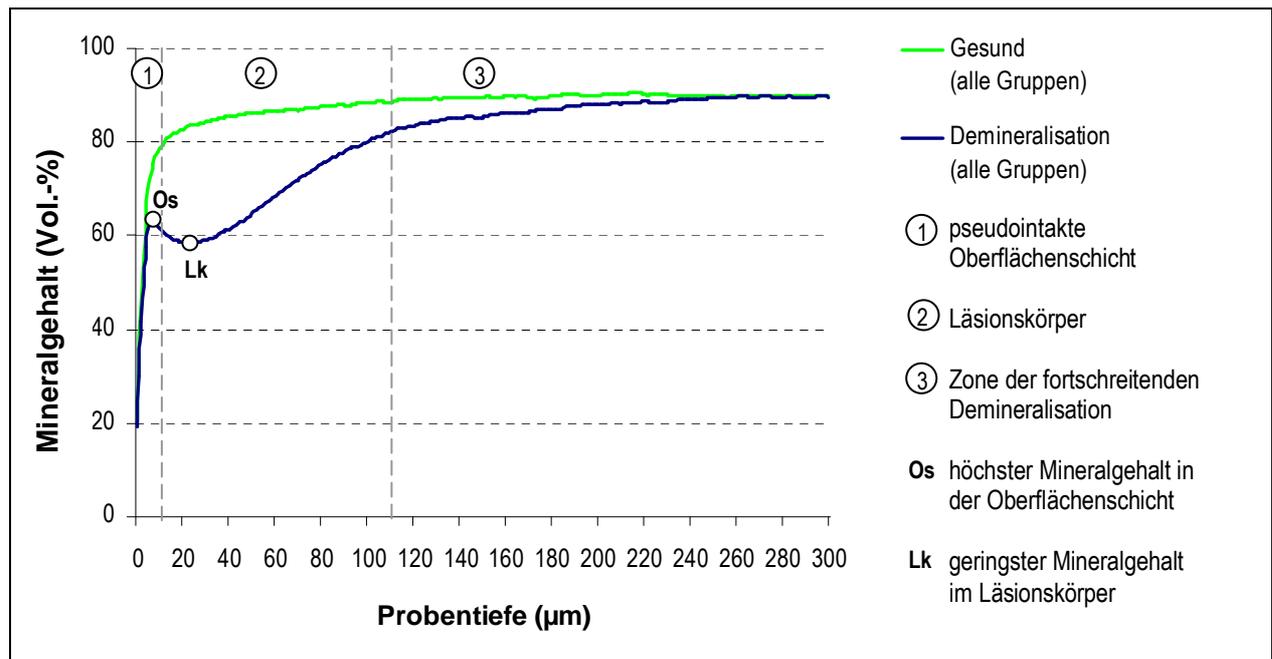


Abb. 15 : Mineralgehalt-Kurven der gesunden Proben (grün) und nach zweiwöchiger Demineralisation (blau). Es sind die Mittelwerte aller Proben ($n = 127$) der jeweiligen Gruppen ($n = 11$) gegen die Probertiefe aufgetragen.

Nach zweiwöchiger Demineralisation (blau) war das typische Erscheinungsbild einer initialkariösen Läsion mit pseudointakter Oberflächenschicht (1), Läsionskörper (2) sowie der Zone der fortschreitenden Demineralisation (3) mit Übergang in den gesunden Schmelzbereich erkennbar. Dabei stieg der Mineralgehalt innerhalb der pseudointakten Oberflächenschicht von der Schmelzoberfläche bis zu einer Probertiefe von $7 \mu\text{m}$ (Punkt Os) an und sank anschließend mit zunehmender Probertiefe auf den geringsten Mineralgehalt innerhalb des Läsionskörpers (Punkt Lk, $23 \mu\text{m}$). Danach nahm der Mineralgehalt mit zunehmender Probertiefe wieder zu und ging über die Zone der fortschreitenden Demineralisation in den gesunden Schmelzbereich über. Die Fläche zwischen den Mittelwertgrafiken der gesunden und demineralisierten Proben kann als Maß für den Mineralverlust der Proben nach Demineralisation über 14 Tage angesehen werden.

In Abbildung 16 sind die Mittelwertgrafiken jeweils nach zweiwöchiger Lagerung in den verschiedenen Speichelersatzmitteln und in der Remineralisationslösung dargestellt.

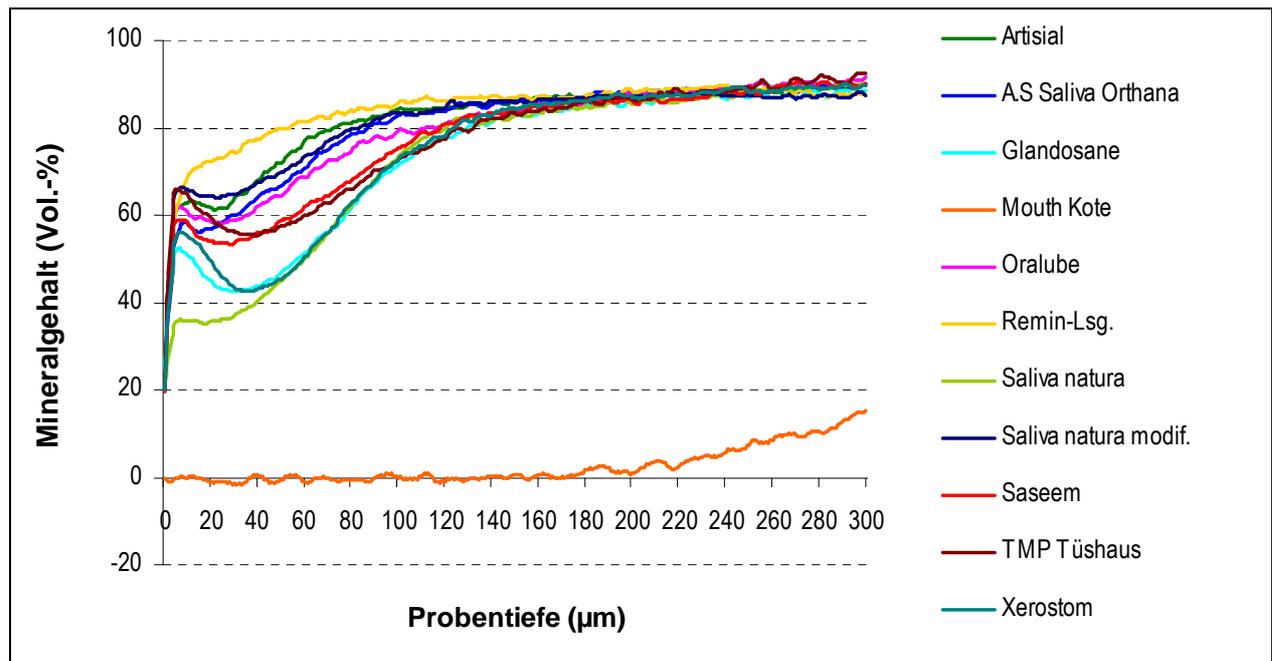


Abb. 16: Mineralgehalt-Kurven nach zweiwöchiger Lagerung in den verschiedenen Speichersatzmitteln. Es sind die Mittelwerte aller Proben ($n = 127$) der jeweiligen Gruppen ($n = 11$) gegen die Probentiefe aufgetragen.

Nach Lagerung in den Speichersatzmitteln blieb bei allen Proben, außer bei denen, die in Mouth Kote, Saliva natura und in der Remineralisationslösung lagerten, der strukturelle Aufbau der initialkariösen Läsion grundlegend erhalten. Dabei unterschieden sich die Kurven der Proben, die in der Remineralisationslösung, in Saliva natura modifiziert und in Artisial gelagert wurden von den restlichen Kurven. Eine Verbreiterung der pseudointakten Oberflächenschicht, Mineraleinlagerungen im Bereich des Läsionskörpers und der Zone der fortschreitenden Demineralisation führten nach Lagerung in Saliva natura modifiziert und Artisial allgemein zur Abflachung der Kurven sowie zu einer Verkleinerung des Läsionskörpers. Die mit Saliva natura modifiziert (dunkelblau) behandelten Proben zeigten neben denen, die in der Remineralisationslösung (gelb) gelagert wurden, innerhalb der Oberflächenschicht den höchsten Mineralgehalt mit 66,27 Vol.-%. Der abgeflachte Graf von Saliva natura modifiziert deutet auf einen Mineralgewinn im Sinne einer Remineralisation hin. Der Mittelwertgraf von Artisial (dunkelgrün) wies im Vergleich zum Mittelwertgraf der Demineralisation (Abb. 15, blau) keinen Anstieg und damit keinen Mineralgewinn in der pseudointakten Oberflächenschicht auf, jedoch zeigte sich eine Zunahme des Mineralgehaltes in den tieferen Probenschichten im Bereich des Läsionskörpers und der Zone der fortschreitenden Demineralisation. Die Kurve der Remineralisationslösung zeigte nicht den typischen Verlauf einer initialkariösen Läsion, sondern wies einen stetig

ansteigenden Mineralgehalt bei zunehmender Probertiefe auf, der in den gesunden Schmelzbereich übergang. Dies deutet ebenfalls auf eine Remineralisation hin (gelb).

Die Mittelwertgraf von A.S Saliva Orthana (marineblau) und Oralube (pink) zeigten einen ähnlichen Verlauf wie der Mittelwertgraf der Demineralisation (Abb. 15, blau) und damit das typische Bild einer initialkariösen Läsion. Demnach kam es hier zu keinen Veränderungen des Mineralgehaltes oder Läsionstiefe.

Der Mittelwertgraf von Saseem (rot) wies bei einem verringerten Mineralgehalt in allen Zonen im Vergleich zur Demineralisationskurve (Abb. 15, blau) den typischen Verlauf einer initialkariösen Läsion auf.

Die mit TMP Tüshaus behandelten Proben (braun) zeigten im Vergleich zu den demineralisierten Proben zunächst einen erhöhten Mineralgehalt in der pseudointakten Oberfläche von 65,97 Vol.-%, jedoch mit 55,37 Vol.-% einen verringerten Mineralgehalt im Bereich des Läsionskörpers.

Der Mittelwertgraf von Glandosane (türkis) wies zwar das typische Verlaufsmuster einer initialkariösen Läsion auf, jedoch war der Mineralgehalt in der Oberflächenschicht verringert (52,2 Vol.-%) und der Bereich des Läsionskörpers verbreitert. Die Abnahme des Mineralgehaltes und die Läsionstiefenzunahme lassen auf eine voranschreitende Demineralisation der Proben unter Einfluss von Glandosane schließen. Einen ähnlichen Verlauf zeigte die Kurve von Xerostom (mintgrün). Der Mineralgehalt in der pseudointakten Oberflächenschicht lag bei 55,87 Vol.-%, war aber im Vergleich gegenüber dem Mineralgehalt der Demineralisationskurve verringert (Abb. 15; blau). Der Mittelwertgraf von Saliva natura (hellgrün) zeigte nicht mehr den typischen Verlauf der initialkariösen Läsion. Weder eine pseudointakte Oberflächenschicht noch ein Läsionskörper waren zu erkennen. Dies weist auf einen oberflächlichen und inneren Mineralverlust im Sinne einer Erosion hin. Auch die Kurve von Mouth Kote wies einen untypischen Verlauf auf (orange). Bis zu einer Probertiefe von ca. 175 µm war der Mineralgehalt nicht messbar. In diesem Bereich sind die Proben nicht mehr vorhanden gewesen. Bis zu einer Probertiefe von 300 µm nahm der Mineralgehalt bis auf 15,31 Vol.-% zu. Da die Proben über die gesamte mit dem TMR-Programm darstellbare Distanz erodiert waren, ist davon auszugehen, dass sich die Erosionen noch in tiefere Bereiche ausdehnten, die mit dem TMR-Programm nicht mehr erfassbar waren.

Abbildung 17 zeigt die Mittelwertgraf der einzelnen Effektbereiche nach fünfwöchiger Lagerung in den verschiedenen Speichelersatzmitteln.

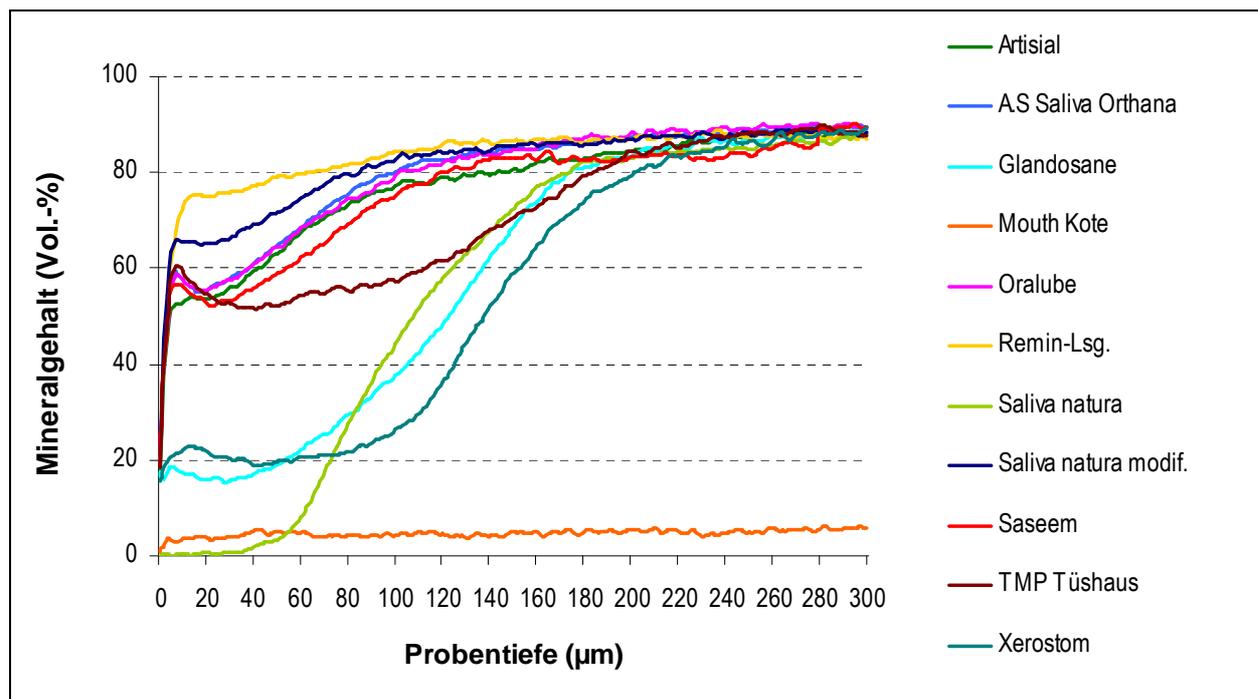


Abb. 17: Mineralgehalt-Kurven nach fünfwöchiger Lagerung in den verschiedenen Speicheleratzmitteln. Es sind die Mittelwerte aller Proben ($n = 127$) der jeweiligen Gruppen ($n = 11$) gegen die Probentiefe aufgetragen.

Nach der Lagerung in den Speicheleratzmitteln blieb der strukturelle Aufbau der initialkariösen Läsion bei den Proben, die in Oralube, A.S Saliva Orthana, TMP Tüshaus, und Saseem lagerten, weitestgehend erhalten. Alle anderen Speicheleratzmittel zeigten abweichende Kurven. Dabei unterschieden sich die Kurven der Remineralisationslösung und von Saliva natura modifiziert dahingehend von den restlichen Kurven, als dass sie einen größeren Mineralgehalt als der Mittelwertgraf der Demineralisation (Abb. 15, blau) aufwiesen. Der Graf der Remineralisationslösung (gelb) zeigte jedoch keine Veränderungen zu dem Grafen nach zweiwöchiger Lagerung. Somit kann davon ausgegangen werden, dass eine weitere Remineralisation nicht mehr stattgefunden hat. Von allen Proben zeigten die mit Saliva natura modifiziert (dunkelblau) behandelten Proben innerhalb der Oberflächenschicht weiterhin den höchsten Mineralgehalt mit 65,68 Vol.-%. Außerdem konnte eine geringfügige Abflachung des Mittelwertgrafens festgestellt werden, was auf fortschreitende Mineraleinlagerungen und eine Verkleinerung des Läsionskörpers hindeutet und damit eine fortschreitende Remineralisation darstellt.

Die Kurve von Artisial (dunkelgrün) wies im Vergleich zu der Kurve nach zweiwöchiger Lagerung (Abb. 16, dunkelgrün) beträchtliche Unterschiede auf. Der Mineralgehalt an der Schmelzoberfläche nahm auf 52,57 Vol.-% ab. Eine pseudointakte Oberflächenschicht und ein Läsionskörper waren nicht mehr zu erkennen. Dies lässt auf

einen Einbruch der Probenoberfläche und eine voranschreitende Demineralisation schließen.

Die Grafen von A.S Saliva Orthana und Oralube zeigten einen ähnlichen Verlauf wie der Mittelwertgraf der Demineralisation. Der Mittelwertgraf des Speichelersatzmittels Oralube (pink) zeigte annähernd den Verlauf der Demineralisationskurve (Abb. 15, blau) und damit das typische Bild einer initialkariösen Läsion. Der Mineralgehalt der pseudointakten Oberflächenschicht fiel auf 58,61 Vol.-%, innerhalb des Läsionskörpers bis auf 55,8 Vol.-% und stieg dann mit zunehmender Probentiefe wieder an. Es kam demnach zu einem fortschreitenden, jedoch geringfügigen Mineralverlust in der pseudointakten Oberflächenschicht. Keine Veränderungen des Mineralgehaltes und der Läsionstiefe zeigten die Proben des Speichelersatzmittels A.S Saliva Orthana (marineblau). Hier kam es weder zu Mineraleinlagerungen im Sinne einer Remineralisation noch zu Mineralverlusten im Sinne einer Demineralisation.

Die Kurve von Saseem (rot) wies weiterhin das typische Verlaufsmuster einer initialkariösen Läsion auf und zeigte bis auf einen geringen Mineralverlust keine bedeutenden Veränderungen im Vergleich zur Kurve nach zweiwöchiger Lagerung (Abb. 16).

Der Mittelwertgraf von TMP Tüshaus (braun) zeigte in der pseudointakten Oberflächenschicht im Vergleich zur Kurve nach zweiwöchiger Lagerung (Abb. 16) kaum Veränderungen. Der Läsionskörper und die Zone der fortschreitenden Demineralisation waren jedoch verbreitert, was auf eine Zunahme der Läsionstiefe und eine Abnahme des Mineralgehaltes im Probeninneren hindeutet.

Der Mittelwertgraf von Glandosane (türkis) wies im Vergleich zum Mittelwertgraf nach zweiwöchiger Lagerung (Abb. 16) signifikante Veränderungen in Bezug auf den Mineralgehalt und die Läsionstiefe auf. Der Mineralgehalt an der Schmelzoberfläche verringerte sich signifikant von 52,2 Vol.-% auf 18,39 Vol.-%). Die deutliche Abnahme des Mineralgehaltes und die weitere Zunahme der Läsionstiefe lassen auf fortschreitende Demineralisationsprozesse schließen.

Einen ähnlichen Verlauf im Vergleich zum Mittelwertgraf nach zweiwöchiger Lagerung zeigte von Xerostom (mintgrün). Der Mineralgehalt in der pseudointakten Oberflächenschicht sank von 55,87 Vol.-% auf 22,73 Vol.-%. Läsionskörper und Zone der fortschreitenden Demineralisation waren vergrößert. Dies deutet auf eine voranschreitende Demineralisation und eine Vergrößerung der Läsion hin.

Die Kurve von Saliva natura (hellgrün) zeigte nicht mehr den typischen Verlauf einer initialkariösen Läsion. Weder eine pseudointakte Oberflächenschicht noch ein Läsionskörper waren erkennbar. Bis zu einer Probentiefe von ca. 40 µm war der

Mineralgehalt nicht messbar. Dies deutet auf einen oberflächlichen Probenverlust im Sinne einer Erosion und damit auf voranschreitende Demineralisationsprozesse hin. Auch die Kurve von Mouth Kote wies einen untypischen Verlauf auf (orange). Im gesamten Messbereich zeigte der Graf einen Mineralgehalt von 3 - 4 Vol.-%. Diese Werte sind auf Artefakte zurückzuführen und lassen den Schluss zu, dass im gesamten Messbereich durch die fortschreitende Demineralisation keine Proben mehr vorhanden waren. Auch hier ist anzunehmen, dass die Demineralisationen der Proben wesentlich tiefer gingen, jedoch mit der TMR-Software nicht mehr messbar waren.

6. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden ausschließlich Schmelzproben von Rinderfrontzähnen verwendet. Rinderschmelz ist dem menschlichen Schmelz in seiner chemischen Zusammensetzung sehr ähnlich und im Vergleich zu humanem Schmelz nicht so inhomogen, da äußere Faktoren, wie Ernährungsverhalten, Alter oder Fluoridierungsmaßnahmen keinen starken Variationen und somit Einflüssen unterliegen. Man kann hier von einer uniformen Reaktionsfähigkeit der Proben ausgehen [Esser et al. 1998]. Deshalb eignet sich boviner Zahnschmelz insbesondere im Rahmen von Untersuchungen zum Demineralisationsverhalten sehr gut zur Substitution von humanem Zahnschmelz, da bei bovinem Zahnschmelz eine gleichmäßigere Demineralisation der Proben beobachtet werden konnte [Mellberg 1992]. Aufgrund der Verfügbarkeit, Größe und der kaum gewölbten Oberfläche sind Rinderfrontzähne ausgezeichnet für die Herstellung von planen Probenkörpern geeignet, wie sie für die transversale Mikroradiografie notwendig sind.

In der vorliegenden Studie erfolgte nach Einbettung der bovinen Schmelzproben in Kunstharz die Parallelisierung und Politur der Schmelzoberflächen mittels Schleifpapier in aufsteigender Körnung. Ziel dieser Vorbehandlung war eine Standardisierung der Probenoberfläche, wobei gleichzeitig oberflächliche Verunreinigungen beseitigt wurden, die zu Problemen bei der Auswertung hätten führen können [Mellberg 1992]. Die Entfernung dieser oberflächlichen Schicht scheint dabei im Vergleich zu einer nicht abradierten Oberfläche keinen wesentlichen Einfluss auf die anschließende künstliche Demineralisation zu nehmen [Featherstone & Mellberg 1981]. Dies konnte auch für nicht-bestrahlten bovinen Schmelz nachgewiesen werden [Kielbassa et al. 2006]. Um vergleichbare initialkariöse Läsionen zu erhalten, wurden die Schmelzproben aller Gruppen für 14 Tage gemeinsam in einer Demineralisationslösung bei pH 4,95 gelagert [Buskes et al. 1985].

Die zuvor demineralisierten Schmelzproben wurden anschließend verschiedenen Speichelersatzlösungen über einen Zeitraum von zwei bzw. fünf Wochen ausgesetzt. Die unterschiedlichen Lagerungszeiten von zwei und fünf Wochen wurden gewählt, um kurzfristige oberflächliche Effekte von langfristigen tiefergehenden Effekten unterscheidbar zu machen. Die gewählte dauerhafte Lagerung entspricht einem äußerst intensiven Kontakt, der unter klinischen Bedingungen nicht zu erwarten ist. Die untersuchten Speichelersatzmittel werden unter normalen Umständen nur bei Bedarf angewendet, unterliegen aber selbst bei bestimmungsgemäßem Gebrauch keiner Tageshöchstdosis. Bei ausgeprägter Hyposalivation ist eine schützende Wirkung durch den patienteneigenen Speichel nicht zu erwarten, da der pH-Wert des Speichels ausgehend von 6,8 auf unter 5 sinkt [Ben-Aryeh et al. 1975, Dreizen et al. 1976]. So

kann davon ausgegangen werden, dass ähnliche Effekte, wie sie in der vorliegenden In-vitro-Studie beobachtet wurden, auch unter klinischen Bedingungen bei kontinuierlichem Gebrauch sehr wahrscheinlich sind. Hier könnten weiterführende In-vivo- oder In-situ-Studien Aufschluss bringen.

Neben dem hier gewählten „permanenten“ Modell gibt es „pH-cycling“-Modelle, bei denen die Zahnhartsubstanzen abwechselnd verschiedenen Lösungen mit unterschiedlichem pH-Wert ausgesetzt sind. Der Vorteil eines zirkulierenden pH-Wertes liegt in der besseren Nachahmung der In-vivo-Verhältnisse [Herkströter et al. 1991]. Mit dem vorliegenden Modell wird allerdings eine potentielle Veränderung der Proben hinsichtlich Mineralgehalt und Läsionstiefe effizienter und nach kürzerer Versuchsdauer erreicht. Insofern handelt es sich hier um ein „best-case-Szenario“, wie es zur Evaluierung der untersuchten Effekte weit verbreitet ist [Kielbassa et al. 2009].

In der vorliegenden Studie wurden neben der mikroradiografischen Auswertung auch eine Berechnung der Sättigungen der Speichersatzstoffe hinsichtlich Kalzium, Phosphat und Fluorid durchgeführt. So ist bekannt, dass Zugaben von Kalzium, Phosphat und Fluorid einen remineralisierenden Effekt hervorrufen können. Frühere Untersuchungen konnten zeigen, dass die Übersättigung eines Speichersatzmittels mit Kalzium- und Phosphationen die Remineralisation der Zahnhartsubstanzen erhöht [Gelhard et al. 1983, Kielbassa et al. 2001, Meyer-Lückel & Kielbassa 2006, Meyer-Lückel et al. 2002, Shannon et al. 1977, Shannon et al. 1978]. Auch eine Fluoridzugabe ist für die Erhaltung der Kristallstrukturen wesentlich [Meyer-Lückel & Kielbassa 2006, Shannon et al. 1978]. Weitere In-vitro-Studien, die sich mit den kinetischen Aspekten des Mineralisationsverhaltens beschäftigten, belegten, dass der Haupteinflussfaktor für die De- und Remineralisation der Sättigungsgrad hinsichtlich der Kalzium-Phosphat-Komplexe ist [Chow 2001]. So zeigten mit Apatit gesättigte wässrige Lösungen eine remineralisierende Wirkung [Larsen & Pearce 2003]. Speziell Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD) gelten als entscheidende Vorstufen für das während der Remineralisation auftretende stabilere Hydroxylapatit (HAP) [Brown et al. 1962, Johnsson & Nancollas 1992]. Um jedoch eine Remineralisation hervorzurufen, sollte der Grad der Sättigung eines Speichersatzmittels bezogen auf Oktakalziumphosphat (OKP) größer als 1,0 sein (Meyer-Lückel et al. 2006c). Dies entspricht einer an OKP gesättigten Lösung. Neben der Sättigung mit OKP beeinflussen auch die Eigenschaften der jeweiligen Lösung, wie pH-Wert, Temperatur sowie Zusammensetzung und Konzentrationen der enthaltenen Ionen, die Umwandlung von Oktakalziumphosphat zu Apatit und auch deren Rückreaktion [Feagin et al. 1972, Meyer & Nancollas 1972, Nancollas & Mohan 1970]. Jedoch können die Sättigungsgrade von HAP, DKPD und OKP nicht immer als alleinige Vorhersage für eine Remineralisation

gelten, da neben den Sättigungen auch der in dem Speichersatzmittel verwendete Basisstoff eine wesentliche Rolle spielt.

Die auf den Erkenntnissen der oben erwähnten Studien modifizierte Saliva natura-Lösung bestätigt diese Theorien. So war das modifizierte Speichersatzmittel hinsichtlich Hydroxylapatit (HAP), Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD) übersättigt. Nach zweiwöchiger Wochen Lagerung zeigten die Proben einen deutlichen Rückgang des Mineralverlustes und der Läsionstiefe. Nach fünf Wochen war eine signifikante Abnahme des Mineralverlustes zu beobachten.

Im Gegensatz dazu war das Herstellerprodukt Saliva natura hinsichtlich OKP, HAP, DKPD untersättigt, jedoch nur geringfügig saurer als die modifizierte Lösung. In einer früheren Studie zeigte dieses Produkt nach zweiwöchiger Lagerung neutrale Effekte auf Schmelz [Tschoppe et al. 2007]. Diese Aussage kann die vorliegende Arbeit bestätigen. Nach einer weiteren dreiwöchigen Lagerung in Saliva natura kam es zu einer signifikanten Vergrößerung der Läsionstiefe und des Mineralverlustes, wie sie auch schon in einer anderen Studie beobachtet wurde [Tschoppe et al. 2009a]. Die Demineralisation könnte an der mit der längeren Kontaktzeit verbundenen verstärkten Diffusion der Ionen entlang des Konzentrationsgradienten vom Zahn in Richtung Speichersatzmittel liegen.

Im Gegensatz zu früheren Studien, bei denen zwar ein signifikanter remineralisierender Effekt, jedoch kein signifikanter Läsionstiefenrückgang festgestellt wurde [Kielbassa & Meyer-Lückel 2001, Kielbassa & Shohadai 1999, Kielbassa et al. 2001; Meyer-Lückel et al. 2002], zeigte Artisial in der vorliegenden Arbeit nach zwei Wochen einen signifikanten Rückgang von Läsionstiefe und Mineralverlust. Dieser in Frankreich vertriebene Speichersatzstoff auf Na-CMC-Basis war mit HAP, OKP und DKPD übersättigt, enthielt jedoch kein Fluorid. Die Sättigung mit HAP war im Vergleich zu allen anderen getesteten Speichersatzmitteln außer der Remineralisationslösung relativ hoch. Nach weiteren drei Wochen Lagerungszeit kam es jedoch zu stärkeren Demineralisationsprozessen, obwohl sich der pH-Wert während des Versuches nicht nennenswert veränderte. Die plötzlich voranschreitende Demineralisation könnte auch hier zum einen an der mit der verlängerten Kontaktzeit verbundenen verstärkten Diffusion der Ionen entlang des Konzentrationsgradienten vom Zahn in Richtung Speichersatzmittel liegen. Zum anderen könnte auch die Abwesenheit von Fluoriden und deren hemmender Einfluss auf eine beginnende Demineralisation dieses Ergebnis herbeigeführt haben. Ferner ist hier auch die Methode kritisch zu sehen, da die ausgewerteten Proben ($n = 14$) ein breites Konfidenzintervall besaßen. Hier müssen eventuelle Artefakte bei der Herstellung der Dünnschliffe mit berücksichtigt werden.

Einige der getesteten Speichersatzmittel waren untersättigt und besaßen einen pH-Wert, der wesentlich niedriger als der bekannte Grenzwert von 5,5 für die Demineralisation von Zahnschmelz war. Zu diesen Mitteln zählten Mouth Kote, Glandosane, TMP-Tüshaus, und Xerostom, die alle zu einer signifikanten Zunahme des Mineralverlustes und der Läsionstiefe nach einer längeren Lagerungszeit von fünf Wochen führten. Bei dem in Deutschland weit verbreiteten Speichersatzmittel Glandosane waren die Konzentrationen von Kalzium und Phosphat verhältnismäßig niedrig. Das auf Na-CMC basierende Produkt war nach eigenen Messungen mit Kalzium und Phosphat untersättigt. Die bei den in Glandosane gelagerten Schmelzproben aufgetretene signifikante Zunahme des Mineralverlustes und der Läsionstiefe stützen somit frühere Studien, die Demineralisationen der Zahnhartsubstanzen beobachtet konnten [Meyer-Lückel et al. 2002]. Die auffälligsten Effekte ergaben sich bei den Schmelzproben, die in Mouth Kote gelagert wurden. Hier zeigten sich schon nach zweiwöchiger Lagerung massive Demineralisationserscheinungen mit großflächigen Erosionen. Die mikroradiografischen Aufnahmen nach Exposition zeigten stark erodierte Proben ohne pseudointakte Oberflächenschicht und aufgelöste tiefere Probenbereiche. Dies erscheint wenig überraschend, da in diesem Produkt laut eigener Messung nur geringe Konzentrationen an Kalzium, jedoch weder Phosphat noch Fluorid enthalten waren, sodass eine Sättigung mit HAP und OKP nicht messbar war. Zusätzlich lag der pH-Wert mit 3,05 weit unter dem für Schmelz kritischen Bereich von 5,2 - 5,7 [Fejerskov & Kidd 2008].

Bei dem Speichersatzmittel Xerostom unterschied sich der in der Studie gemessene pH-Wert des Speichersatzmittels von dem, den der spanische Hersteller angab. Die Ermittlung der Ionenkonzentrationen ergab eine geringe Kalziumkonzentration, jedoch war Phosphat nicht enthalten. Somit war eine Sättigung mit Phosphaten nicht berechenbar.

Die in der Studie getesteten Lösungen Saseem, Oralube und A.S Saliva Othana führten zu keinen signifikanten Abweichungen im Mineralgehalt und in der Läsionstiefe. Bei A.S Saliva Orthana lässt sich dies neben der Übersättigung mit HAP, OKP und DKPD mit dem annähernd neutralen pH-Wert erklären. Die Löslichkeit von Apatit wird bei annähernd neutralem pH-Wert stark herabgesetzt, sodass keine bedeutende Demineralisation zu erwarten ist [Larsen und Bruun 1994]. Zudem waren laut Hersteller auch Fluoride enthalten, die einer Demineralisation zusätzlich entgegengewirkt haben könnten. Ein weiterer Grund für die fehlende remineralisierende Wirkung der hochgesättigten Lösung könnte die hohe Kalziumkonzentration sein, die nach eigener Messung fast sechsmal höher war als die vom Hersteller angegebene Konzentration und die möglicherweise zu einer spontanen Präzipitation führte [Larsen & Jensen 1986]. Dabei fallen leicht lösliche Kalziumphosphate wie OKP früher als Hydroxylapatit aus

und blockieren dadurch die Oberflächenschicht [Nancollas & Tomazic 1974, Silverstone et al. 1981]. Bei Saseem, dessen pH-Wert an der Grenze für eine Demineralisation des Schmelzes lag, schienen die enthaltenen Mengen an Kalzium, Phosphat und Fluorid einem weiteren Demineralisationsprozess entgegengewirkt zu haben. Da der Speichelersatz jedoch keine mit Phosphat und Kalzium übersättigte Lösung darstellte, war ein Remineralisationsverhalten nicht zu beobachten. Bei Oralube wurde im Vergleich zu den Angaben des Herstellers während des Versuches eine fast doppelt so hohe Phosphatkonzentration gemessen. Dieses Speichelersatzmittel zeigte jedoch trotz einer Übersättigung mit OKP, HAP und DKPD, einem annähernd neutralen pH-Wert und Fluoridzusatz keine signifikante Verringerung des Mineralverlustes und der Läsionstiefe, wie sie in einer früheren Studie beobachtet wurden [Meyer-Lückel 2000].

Somit kann die in der Studie angenommene Arbeitshypothese, wonach kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel einen signifikanten Einfluss auf bovinen Zahnschmelz haben, bestätigt werden.

Abschließend ist zu sagen, dass bei Anwendung von Speichelersatzmitteln bei bezahnten Patienten darauf zu achten ist, dass das verwendete Produkt möglichst eine pH-neutrale mit Kalzium und Phosphat übersättigte Lösung darstellt. Ein Fluoridzusatz bei Speichelersatzmitteln, die bei bezahnten Patienten Anwendung finden, scheint als weitere kariesprophylaktische Maßnahme sinnvoll. Die Produkte Mouth Kote, Saliva natura, Glandosane, Xerostom und TMP Tüshaus, die in dieser Untersuchung zu einem signifikanten Mineralverlust und einer signifikanten Zunahme der Läsionstiefe in den Schmelzproben geführt haben, sollten zumindest bei bezahnten Patienten nicht zur Anwendung kommen.

7. Schlussfolgerungen

Kommerziell erhältliche Speichelersatzmittel sind heute ein wesentlicher Bestandteil bei der symptomatischen Behandlung der Hyposalivation, da aufgrund der Ätiologie dieser Erkrankung oftmals eine kausale Therapie nicht möglich ist.

Auf dem internationalen Markt werden heute viele verschiedene Speichelersatzprodukte zur Behandlung der Hyposalivation angeboten. Sie unterscheiden sich im Hinblick auf ihre Zusammensetzung in vielfältiger Weise voneinander. Neben verschiedenen Basisstoffen und unterschiedlichen pH-Werten sind auch die Zusatzstoffe und ihre Konzentrationen an Kalzium, Phosphat und Fluorid sehr unterschiedlich.

Die Forderung, dass ein Speichelersatzmittel neben einem annähernd neutralen pH-Wert vor allem eine mit Kalzium und Phosphat übersättigte Lösung darstellen sollte, konnten nicht alle getesteten Produkte erfüllen. Speichelersatzprodukte wie Mouth Kote, Xerostom, Glandosane oder TMP Tüshaus, die hinsichtlich Hydroxylapatit (HAP), Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD) übersättigt waren und gleichzeitig einen niedrigeren pH-Wert besaßen, zeigten vor allem nach der längeren Lagerungszeit der Schmelzproben eine Zunahme des Mineralverlustes und der Läsiontiefe.

So konnte die vorliegende Studie zeigen, dass Zusätze an Kalzium und Phosphat, wenn sie in ausreichender Menge vorhanden waren, dem Demineralisationsprozess entgegenwirken können. Vor allem eine Übersättigung hinsichtlich Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD), die als Vorstufen von Hydroxylapatit gelten, konnten den Remineralisationsprozess fördern bzw. eine weitere Demineralisation verhindern. Übersättigt (OKP, DKPD, HAP > 1) waren neben der Remineralisationslösung (nur OKP) die Speichelersatzmittel Saseem (nur HAP), Artisial (OKP und DKPD) Saliva natura modifiziert (OKP und DKPD), A.S Saliva Orthana (OKP und DKPD) und Oralube (OKP und DKPD). Dabei zeigten nur Saliva natura modifiziert, die Remineralisationslösung und Artisial remineralisierende Effekte. Weder A.S Saliva Orthana, Oralube noch Saseem demineralisierten weiter.

Inwieweit die Ergebnisse dieser In-vitro-Studie unter realen Therapiebedingungen zu beobachten sind, sollten zukünftige In-vivo- oder In-situ-Untersuchungen zeigen.

8. Zusammenfassung

Problemstellung: Speichelersatzmittel stellen oft die einzige Therapie dar, um die Symptome bei Hyposalivation zu lindern. Bisher existieren jedoch wenige Studien, die deren Wirkungen auf die Zahnhartsubstanzen untersucht haben. **Zielsetzung:** Ziel dieser In-vitro-Studie war, die Effekte von kommerziellen Speichelersatzmitteln auf demineralisierten bovinen Zahnschmelz zu untersuchen. **Material und Methoden:** Bovine Schmelzproben wurden demineralisiert (14 Tage, 37° C, pH 4,95), in 11 Gruppen (n = 9 - 14/Gruppe) aufgeteilt und 2 bzw. 5 Wochen in Artisial, A.S Saliva Orthana, Glandosane, Mouth Kote, Oralube, Saliva natura, Saliva natura modifiziert, einer Remineralisationslösung (Positivkontrolle), Saseem, TMP Tüshaus und Xerostom gelagert. Bei allen Produkten wurden Kalzium- und Phosphatkonzentration bestimmt und die Sättigungen hinsichtlich Hydroxylapatit (HAP), Oktakalziumphosphat (OKP) und Dikalziumphosphatdihydrat (DKPD) berechnet. Anschließend angefertigte Dünnschliffe (100 µm) wurden mikroradiografisch auf Veränderungen des Mineralverlustes ($\Delta\Delta Z$) und der Läsionstiefe (ΔLt) untersucht. **Ergebnisse:** Mouth Kote (OKP, DKPD, HAP < 1) verursachte im Vergleich zu allen anderen Lösungen einen signifikanten Anstieg von $\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 2}}/\Delta\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$ und $\Delta Lt_{\text{Effekt 2}}/\Delta Lt_{\text{Effekt 5}}$ ($p < 0,05$; ANOVA, *Tukey*), während Saliva natura modifiziert (OKP, DKPD, HAP > 1) eine signifikante Abnahme von $\Delta Lt_{\text{Effekt 2}}/\Delta Lt_{\text{Effekt 5}}$ zeigte ($p < 0,05$). Weder A.S Saliva Orthana, Oralube noch Saseem wiesen im Vergleich zu $\Delta Z_{\text{Demin}}/Lt_{\text{Demin}}$ signifikante Veränderungen von $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}/\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$ und $Lt_{\text{Effekt 2}}/Lt_{\text{Effekt 5}}$ auf ($p > 0,05$, *t-Test*). Artisial (OKP, DKPD, HAP > 1) verursachte im Vergleich zu $\Delta Z_{\text{Demin}}/Lt_{\text{Demin}}$ einen signifikanten Rückgang von $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}/Lt_{\text{Effekt 2}}$ ($p < 0,05$), während bei Mouth Kote und Glandosane eine signifikante Zunahme von $\Delta Z_{\text{Effekt 2}}/Lt_{\text{Effekt 2}}$ zu beobachten war ($p < 0,05$). Saliva natura modifiziert zeigte im Vergleich zu $\Delta Z_{\text{Demin}}/Lt_{\text{Demin}}$ eine signifikante Abnahme von $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}$ ($p < 0,05$), jedoch keine signifikante Veränderung von $Lt_{\text{Effekt 2}}/Lt_{\text{Effekt 5}}$ ($p > 0,05$). Mouth Kote, Glandosane, TMP Tüshaus, Xerostom und Saliva natura (alle OKP, DKPD, HAP < 1) wiesen eine signifikante Zunahme von $\Delta Z_{\text{Effekt 5}}/Lt_{\text{Effekt 5}}$ auf ($p < 0,05$). **Schlussfolgerungen:** Die getesteten Produkte unterscheiden sich hinsichtlich ihrer pH-Werte, Kalzium-, Phosphat- und Fluoridkonzentration. Lösungen mit annähernd neutralem pH-Wert und einer Übersättigung hinsichtlich OKP, HAP und DKPD scheinen eine fortschreitende Demineralisation zu stoppen bzw. eine Remineralisation hervorzurufen.

Schlagwörter: Speichelersatzmittel, Hyposalivation, Sättigung, Demineralisation, Remineralisation, Hydroxylapatit, Oktakalziumphosphat, Dikalziumphosphatdihydrat

Klinische Bedeutung: Zahlreiche Speichelersatzmittel führten in dieser In-vitro-Studie zu weiteren Demineralisationen und sollten deshalb zumindest bei bezahnten Patienten nicht angewendet werden. Saliva natura modifiziert verursachte eine Remineralisation und ist daher bei bezahnten Patienten zu empfehlen.

9. Abstract

Statement of problem: Saliva substitutes often are considered as the only treatment option to relieve the symptoms of patients suffering from hyposalivation. Currently, there are numerous commercial products available, but there is only scanty information on the effects on the tooth surfaces. **Objective:** The aim of this study was to investigate their effects of commercially available saliva substitutes on demineralized bovine enamel (subsurface lesions) *in vitro*. **Materials and methods:** Bovine enamel specimens were demineralized (14 days, 37 °C, pH 4.95). Subsequently, the specimens were divided into 11 groups (n = 9-14/group) and stored for 2 and 5 weeks in various saliva substitutes [Artisial, A.S Saliva Orthana, Glandosane, Mouth Kote, Oralube, Saliva natura, Saliva natura modified, Saseem, TMP Tüshaus, Xerostom and a remineralizing solution (positive control)]. The concentrations of calcium and phosphate of all tested products were determined and their saturations with respect to hydroxyapatite (HAP), octacalcium phosphate (OCP), and dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) were calculated. The differences in mineral loss ($\Delta\Delta Z$) and lesion depth (ΔLD) after storage in the various solutions were evaluated from microradiographs of thin sections (100 μm). **Results:** Mouth Kote (OCP, DCPD, HAP < 1) revealed a significant increase in $\Delta\Delta Z_{\text{effect 2}}/\Delta\Delta Z_{\text{effect 5}}$ compared to all other solutions ($p < 0.05$; ANOVA, *Tukey*). Saliva natura modified (OCP, DCPD, HAP > 1) revealed a significant decrease in $\Delta LD_{\text{effect 2}}/\Delta LD_{\text{effect 5}}$ compared to all other solutions ($p < 0.05$). Neither Saseem and A.S Saliva Orthana nor Oralube revealed significant differences in $\Delta Z_{\text{effect 2}}/\Delta Z_{\text{effect 5}}$ and $LD_{\text{effect 2}}/LD_{\text{effect 5}}$ compared to $\Delta Z_{\text{demin}}/LD_{\text{demin}}$ ($p > 0.05$; *t-test*). Artisial (OCP, DCPD, HAP > 1) showed a significant decrease in $\Delta Z_{\text{effect 2}}$ und $LD_{\text{effect 2}}$ compared to $\Delta Z_{\text{demin}}/LD_{\text{demin}}$ ($p < 0.05$) whereas Mouth Kote and Glandosane showed a significant increase in $\Delta Z_{\text{effect 2}}$ und $LD_{\text{effect 2}}$ ($p < 0.05$). Saliva natura modified revealed a significant decrease in $\Delta Z_{\text{effect 5}}$ compared to ΔZ_{demin} ($p < 0.05$), but no difference in $LD_{\text{effect 5}}$ ($p > 0.05$). A significant increase in $\Delta Z_{\text{effect 5}}$ und $LD_{\text{effect 5}}$ ($p < 0.05$) was observed in Mouth Kote, Glandosane, TMP Tüshaus, Xerostom and Saliva natura (all OCP, DCPD, HAP < 1) compared to $\Delta Z_{\text{demin}}/LD_{\text{demin}}$. **Conclusions:** The tested saliva substitutes differed in their pH and concentrations of calcium, phosphates and fluorides. Products with a nearly neutral pH and a supersaturation of OCP, HAP, and DCPD seem to stop the demineralization process and have positive effects on remineralization.

Keywords: xerostomia, saliva substitutes, saturation, demineralization, remineralization, hydroxyapatite, octacalcium phosphate, dicalcium phosphate dihydrate

Clinical significance: Various saliva substitutes revealed a significant mineral loss and a significant increase in lesion depth in this *in vitro* study and should not be applied by dentate patients. Modified Saliva natura remineralized subsurface lesions and can be recommended for dentate patients.

10. Literaturverzeichnis

1. Amaechi BT, Higham SM. In vitro remineralization of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent* 2001;29:371-376.
2. Arends J, Christoffersen J. Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. *J Dent Res* 1990;69:601-605.
3. Arends J, Gelhard T, Schuthof J, Jongebloed W. Enamel remineralization using an amine-fluoride containing tooth paste - a pilot study in vivo. *Dtsch Zahnärztl Z* 1983;38:27-30.
4. Arends J, Ten Cate JM. Tooth enamel remineralization. *J Crystal Growth* 1981;53:135-147.
5. Ben-Aryeh H, Gutman D, Szargel R, Laufer D. Effects of irradiation on saliva in cancer patients. *Int J Oral Surg* 1975;4:205-210.
6. Bowen WH, Hewitt MJ. Effect of fluoride on extracellular polysaccharide production by streptococcus mutans. *J Dent Res* 1974;53:627-629.
7. Brown WE, Smith JP, Lehr JR, Frazier AW. Octacalcium phosphate and hydroxyapatite. *Nature* 1962;196:1048-1054.
8. Buskes JA, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Res* 1985;19:490-496.
9. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta* 2007;383:30-40.
10. Chow LC. Solubility of calcium phosphates. *Monogr Oral Sci* 2001;18:94-111.
11. Darling AI, Mortimer KV, Poole DF, Ollis WD. Molecular sieve behaviour of normal and carious human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1961;5:251-273.
12. David G. Antimikrobielle Wirkstoffe in der Zahnheilkunde. *Bayer Zahnärztebl* 1997;12:36-38.
13. Davies AN. Saliva substitutes or stimulants? *Palliat Med* 1997;11:254-255.
14. Davies AN, Daniels C, Pugh R, Sharma K. A comparison of artificial saliva and pilocarpine in the management of xerostomia in patients with advanced cancer. *Palliat Med* 1998;12:105-111.
15. Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance and the sensation of dry mouth in man. *J Dent Res* 1987;66:648-653.
16. Deetjen P, Speckmann EJ. *Physiologie*. 3. Auflage. Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore 1999.
17. Dibdin GH. The stability of water in human dental enamel studied by proton nuclear magnetic resonance. *Arch Oral Biol* 1972;17:433-437.
18. Dowd FJ. Saliva and dental caries. *Dent Clin North Am* 1999;43:579-597.
19. Dreizen S, Brown LR, Handler S, Levy BM. Radiation-induced xerostomia in cancer patients. Effect on salivary and serum electrolytes. *Cancer* 1976;38:273-278.

20. Edgar WM, Dawes C, O'Mullane DM (eds.). *Saliva and Oral Health*. 3rd edition. British Dental Association, London 2004.
21. Esser M, Tinschert J, Marx R. Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1998;53:713-717.
22. Feagin FF, Gonzalez M, Jeansonne BG. Kinetic reactions of calcium, phosphate, and fluoride ions at the enamel surface-solution interface. *Calcif Tissue Res* 1972;10:113-127.
23. Featherstone JD. Diffusion phenomena and enamel caries development. In: Guggenheim B (ed.). *Cariology today*. Karger, Basel 1984.
24. Featherstone JD. The continuum of dental caries - evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004;83 Spec No C:39-42.
25. Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981;15:109-114.
26. Fejerskov O, Kidd EA. *Dental Caries: The Disease and its Clinical Management*. 2nd edition. Blackwell-Munksgaard, Oxford 2008.
27. Fischer C, Lussi A, Hotz P. Kariostatische Wirkungsmechanismen der Fluoride. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1995;105:311-317.
28. 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;12:336-341.
29. Guchelaar HJ, Vermes A, Meerwaldt JH. Radiation-induced xerostomia: pathophysiology, clinical course and supportive treatment. *Support Care Cancer* 1997;5:281-288.
30. Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. *Oper Dent* 1992;5:10-17.
31. Hahnel S. Speichelersatzmittel in der Behandlung von Xerostomie. *Quintessenz* 2009;60:963-969.
32. 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;45:496-499.
33. Hellwig E, Klimek J. Fluoridverlust aus demineralisiertem Schmelz nach Applikation verschieden konzentrierter NaF- und NaF-MFP-Lösungen im künstlichen Mund. *Dtsch Zahnärztl Z* 1984;39:892-898.
34. Hellwig E, Klimek J, Attin T. *Einführung in die Zahnerhaltung*. Elsevier Verlag, München 2007.
35. Herkströter FM, Witjes M, Arends J. Demineralization of human dentine compared with enamel in a pH-cycling apparatus with a constant composition during de- and remineralization periods. *Caries Res* 1991;25:317-322.
36. Hoffmann-Axthelm W. *Lexikon der Zahnmedizin*. Quintessenz Verlag, Berlin 1995.
37. Imfeld T. Oligosialie und Xerostomie I: Basis, Beispiele, Epidemiologie, Etiologie, Pathologie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984;94:741-754.
38. Imfeld T. Oligosialie und Xerostomie II: Diagnose, Prophylaxe und Behandlung. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984;94:1083-1096.

39. Imfeld T. Reduzierter Speichelfluß: Ursachen, Folgen und Diagnose. In: Reduzierter Speichelfluß und Mundtrockenheit: Herausforderung zur Zusammenarbeit in der Kariesprophylaxe. MSC Medizinischer Creativ Service GmbH, München 1995.
40. Itthagarun A, Wei SH. Chewing gum and saliva in oral health. *J Clin Dent* 1997;8:159-162.
41. Johnsson MS, Nancollas GH. The role of brushite and octacalcium phosphate in apatite formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992;3:61-82.
42. Joyston-Bechal S, Kidd EA. The effect of three commercially available saliva substitutes on enamel in vitro. *Br Dent J* 1987;163:187-190.
43. Keyes PH. Recent advances in dental caries research. Bacteriology. Bacteriological findings und biological implications. *Int Dent J* 1962;12:443-458.
44. Kielbassa AM (Hrsg.). Strahlentherapie im Kopf-Halsbereich. Implikationen für Zahnärzte, HNO-Ärzte und Radiotherapeuten. Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover 2004.
45. Kielbassa AM, Hellwig E, Meyer-Lückel H. Effects of irradiation on in situ remineralization of human and bovine enamel demineralized in vitro. *Caries Res.* 2006;40:130-135.
46. Kielbassa AM, Hinkelbein W, Hellwig E, Meyer-Lückel H. Radiation-related damage in dentition. *Lancet Oncol* 2006;7:326-335.
47. Kielbassa AM, Meyer-Lückel H. Die Auswirkungen von Speichelersatzmitteln und Mundspüllösungen auf Dentin. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2001;111:1060-1066.
48. Kielbassa AM, Shohadai SP. Die Auswirkungen von Speichelersatzmitteln auf die Läsionstiefe von demineralisiertem Schmelz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1999;54:757-763.
49. Kielbassa AM, Shohadai SP, Schulte-Mönting J. Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel. *Support Care Cancer* 2001;9:40-47.
50. Kielbassa AM, Tschoppe P, Hellwig E, Wrbas KT. Effects of regular and whitening dentifrices on remineralization of bovine enamel in vitro. *Quintessence Int.* 2009;40:103-112.
51. König KG. Karies und Parodontopathien. Ätiologie und Prophylaxe. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1987.
52. Koulourides T, Phantumvanit P, Munksgaard EC. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. *J Oral Pathol* 1974;3:185-196.
53. Lagerlof F, Oliveby A. Caries-protective factors in saliva. *Adv Dent Res* 1994;8:229-238.
54. Larsen MJ, Bruun C. Caries chemistry and fluoride mechanisms of action. In: Thylstrup A, Fejerskov O (eds.). *Textbook of clinical cariology*. 2nd edition. Munksgaard, Kopenhagen 1994:231-257.
55. Larsen MJ, Jensen SJ. Solubility study of the initial formation of calcium orthophosphates from aqueous solutions at pH 5-10. *Arch Oral Biol* 1986;31:565-572.

56. Larsen MJ, Pearce EI. Saturation of human saliva with respect to calcium salts. *Arch Oral Biol* 2003;48:317-322.
57. Levine MJ, Aguirre A, Hatton MN, Tabak LA. Artificial salivas: present and future. *J Dent Res* 1987;66:693-698.
58. Levine MJ. Development of artificial salivas. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4:279-286.
59. Marks NJ, Roberts BJ. A proposed new method for the treatment of dry mouth. *Ann R Coll Surg Engl* 1983;65:191-193.
60. Matzker J, Schreiber J. Synthetischer Speichel zur Therapie der Hyposalivation, insbesondere der radiogenen Sialadenitis. *Z Laryngol Rhino Otol* 1972;51:422-428.
61. McCann HG. The solubility of fluorapatite and its relationship to that of calciumfluoride. *Arch Oral Biol* 1968;13:987-1001.
62. Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 1992;71:913-919.
63. Meredith N, Sherriff M, Setchell DJ, Swanson SAV. Measurement of the microhardness and Young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. *Arch Oral Biol* 1996;41:539-545.
64. Meyer JL, Nancollas GH. The effect of pH and temperature on the crystal growth of hydroxyapatite. *Arch Oral Biol* 1972;17:1623-1627.
65. Meyer-Lückel H. Die Auswirkung von Speichelersatz- und Mundspüllösungen auf gesundes und demineralisiertes Dentin. Eine In-vitro-Untersuchung. *Zahnmed Diss, Freiburg* 2000.
66. Meyer-Lückel H, Hopfenmüller W, von Klinggräff 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;51:541-547.
67. Meyer-Lückel H, Kielbassa AM. Influence of calcium phosphates added to mucin-based saliva substitutes on bovine dentin. *Quintessence Int* 2006;37:537-544.
68. Meyer-Lückel H, Schulte-Mönting J, Kielbassa AM. The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 2002;8:192-198.
69. Meyer-Lückel 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;33:760-766.
70. Meyer-Lückel H, Tschoppe P, Kielbassa AM. Linseed-based saliva substitutes and their effect on mineral dissolution of predemineralized bovine dentin in vitro. *J Dent* 2006c; 34:751-756.
71. Moreno EC, Kresak M, Zahradnik RT. Physicochemical aspects of fluoride-apatite systems relevant to the study of dental caries. *Caries Res* 1977;11(Suppl 1):142-171.
72. Nancollas GH, Mohan MS. The growth of hydroxyapatite crystals. *Arch Oral Biol* 1970;15:731-745.

73. Nancollas GH, Tomazic B. Growth of calcium phosphate on hydroxyapatite crystals. Effect of supersaturation and ionic medium. *J Phys Chem* 1974;78:2218-2225.
74. Nieuw Amerongen AV, Bolscher JGM, Veerman ECI. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res* 2004;38:247-253.
75. Nikiforuk G, McLeod IM, Burgess RC, Grainger RM, Brown HK. Fluoride-carbonate relationship in dental enamel. *J Dent Res* 1962;41:1477.
76. Pharmazeutische Zeitung. Arzneimittelkommission (AMK)-Meldungen vom 12. Juni 2007. Betreff: Chargenrückruf TMP Tüshaus (Accessed on 11/02/2009 at <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=3198>.)
77. Probst R, Grevers G, Iro H. Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2008;120-125.
78. Reinert S, Machtens E. Speicheldrüsenerkrankungen. In: Horch H (Hrsg.). Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. Elsevier Verlag, München 2007;642-647.
79. Reuther JF, Kübler NR. Erkrankungen der Speicheldrüsen. In: Schwenzer N, Ehrenfeld M (Hrsg.). Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde. Band 2, Spezielle Chirurgie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2002;23-25.
80. Rieke JW, Hafermann MD, Johnson JT, LeVeque FG, Iwamoto R, Steiger BW, Muscoplat C, Gallagher SC. Oral pilocarpine for radiation-induced xerostomia: integrated efficacy and safety results from two prospective randomized clinical trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;31:661-669.
81. Roberts BJ. A study of the viscosity of saliva at different shear rates in dentate and edentulous patients. *J Dent* 1977;5:303-309.
82. Roberts BJ. Help for the dry mouth patient. *J Dent* 1982;10:226-231.
83. Schumacher GH, Schmidt H. Anatomie und Biochemie der Zähne. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart/New York 1990.
84. Shannon IL, McCrary BR, Starcke EN. A saliva substitute for use by xerostomic patients undergoing radiotherapy to the head and neck. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977;44:656-661.
85. Shannon IL, Trodahl JN, Starcke EN. Remineralization of enamel by a saliva substitute designed for use by irradiated patients. *Cancer* 1978;41:1746-1750.
86. Shellis RP. A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. *Comput Appl Biosci* 1988;4:373-379.
87. Silverstone LM. Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev* 1973;3:100-160.
88. Silverstone LM, Wefel JS, Zimmerman BF, Clarkson BH, Featherstone MJ. Remineralization of natural and artificial lesions in human dental enamel in vitro. Effect of calcium concentration of the calcifying fluid. *Caries Res* 1981;15:138-157.
89. Smith G, Smith AJ, Shaw L, Shaw MJ. Artificial saliva substitutes and mineral dissolution. *J Oral Rehabil* 2001;28:728-731.
90. Stratmann U, Mokrys K. Mundtrockenheit 1. Teil - Ursachen und Symptomatik. *Zahnärztl Mitt* 2000;21:62-64.

91. Stratmann U, Mokrys K. Mundtrockenheit 2. Teil - Diagnostik und Therapiekonzepte. Zahnärztl Mitt 2000;22:42-45.
92. Sreebny LM: Xerostomia: Diagnosis, management and clinical complications. Thanet Press, Margate 1996.
93. Sreebny LM, Schwartz SS. A reference guide to drugs and dry mouth. Gerodontology 1986;5:75-99.
94. Sreebny LM. Recognition and treatment of salivary induced conditions. Int Dent J 1989;39:197-204.
95. Ten Cate JM, Duijsters PPE. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. Caries Res 1983;17:193-199.
96. Thomson WM, Lawrence HP, Broadbent JM, Poulton R. The impact of xerostomia on oral-health-related quality of life among younger adults. Health Qual Life Outcomes 2006;4:86.
97. Tschoppe P, Meyer-Lückel H, Toll R, Kielbassa AM. In-vitro-Studie zur Untersuchung eines neuen Speichelersatzmittels (Saliva natura) auf Schmelz und Dentin. Laryngorhinootologie 2007;86:723-727.
98. Tschoppe P, Kielbassa AM, Toll R, Meyer-Lückel H. Modification of the mineralizing capacity of a saliva substitute (Saliva natura) on enamel in vitro. Laryngorhinootologie 2009a;88:717-722.
99. Tschoppe P, Kielbassa AM, Meyer-Lückel H. Evaluation of the remineralizing capacities of modified saliva substitutes in vitro. Arch Oral Biol 2009b;54:810-816.
100. Tschoppe P, Wolgin M, Pischon N, Kielbassa AM. Etiologic factors of hyposalivation and consequences of oral health. Quintessence Int 2010;41:321-333.
101. Vissink A, De Jong HP, Busscher HJ, Arends J, s'Gravenmade EJ. Wetting properties of human saliva and saliva substitutes. J Dent Res 1986;65:1121-1124.
102. Vissink A, s'Gravenmade EJ, Panders AK, Olthof A, Vermey A, Huisman MC, Visch LL. Artificial saliva reservoirs. J Prosthet Dent 1984;52:710-715.

11. Anhang

pH-Wert Messung	1. Tag	7. Tag	14. Tag	21. Tag	28. Tag	pH (Stabw.)
Artisial	6,9	6,94	6,69	6,82	6,78	6,83 (0,10)
A.S Saliva Orthana	6,1	6,06	6,16	6,11	6,24	6,13 (0,07)
Glandosane	5,3	5,26	5,13	5,28	5,24	5,24 (0,07)
Mouth Kote	3,1	3,09	3,08	3,00	2,99	3,05 (0,05)
Oralube	6,2	6,24	6,31	6,36	6,19	6,26 (0,07)
Remineralisations- lösung	7,1	7,07	7,00	6,98	6,99	7,03 (0,05)
Saliva natura	6,0	5,95	5,76	5,87	5,86	5,89 (0,09)
Saliva natura modifiziert	5,9	5,88	5,72	5,89	5,87	5,95 (0,04)
Saseem	5,5	5,45	5,20	5,33	5,35	5,37 (0,12)
TMP Tüshaus	4,7	4,47	4,60	4,60	4,60	4,65 (0,08)
Xerostom	5,0	4,98	4,76	4,85	4,87	4,89 (0,10)

Die pH-Wert-Angabe bezieht sich auf den Mittelwert aller gemessenen Werte während des Versuches. In Klammern ist die Standardabweichung (Stabw.) angegeben.

Anhang 1: pH-Messwerte während des Versuches

11.1. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
CaCl ₂	Kalziumchlorid
CEC	Carboxyethylcellulose
CMC	Carboxymethylcellulose
DKPD	Dikalziumphosphatdihydrat
F ⁻	Fluorid
Gll.	Glandulae
HAP	Hydroxylapatit
HEC	Hydroxyethylcellulose
HCl	Salzsäure
HEPES	Hydroxyethylpiperazinethansulfonsäure
K ₂ HPO ₄	Dikaliumhydrogenphosphat
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
KI	Konfidenzintervall
KOH	Kaliumhydroxid
Lt	Läsionstiefe
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MHDP	Methylhydroxydiphosphonat
Min	Mineralgehalt
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
POE	Polyethylenoxid
OKP	Oktakalziumphosphat
Remin-Lsg.	Remineralisationslösung
Stabw.	Standardabweichung
TMR	Transversale Mikroradiografie
Tab.	Tabelle

11.2. Liste der verwendeten Materialien

1. Aqua dest. Ampuwa Spüllösung; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
2. Artisial; Laboratories Dexo, Saint-Cloud, Frankreich
3. A.S Saliva Orthana; A.S. Pharma, Polgate, Großbritannien
4. Bandsäge Exakt 300 CL; Exakt, Norderstedt, Deutschland
5. Bügelmessschraube Digimatic MDC-Lite; Mitutoyo, Kawasaki, Japan
6. CCD-Videokamera Modul XC 77CE; Sony, Tokio, Japan
7. CME-Spritzenfilter; Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
8. Dentalkleber; Omnident, Rodgau, Deutschland
9. Durchlichtmikroskop Axioskop 2; Zeiss, Oberkochen, Deutschland
10. Emissionsspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP OES Optima 2100 DV); Perkin Elmer, Fremont, USA
11. Essigsäure (CH₃COOH) 100 %; Merck, Darmstadt, Deutschland
12. Falcon Probenröhrchen 50 ml; VWR, Darmstadt, Deutschland
13. Film high speed holographic film SO 253; Kodak, Stuttgart, Deutschland
14. Glandosane; cell pharm, Hannover, Deutschland
15. Hydroxyethylpiperazinethansulfonsäure (HEPES) Puffer; 1M, Biochrom AG, Berlin, Deutschland
16. HI 7004 pH 4,01 Pufferlösung; Hanna Instruments, Woonsocket, USA
17. HI 7007 pH 7,01 Pufferlösung; Hanna Instruments, Woonsocket, USA
18. Immersionsöl (Immerso); Zeiss, Jena, Deutschland
19. Ionenchromatograph 761 Compact IC mit Autosampler; Metrohm, Filderstadt, Deutschland
20. Kaliumdihydrogenphosphat (KH₂PO₄); Merck, Darmstadt, Deutschland
21. Kaliumhydroxid (KOH) 10 M; Merck, Darmstadt, Deutschland
22. Kalziumchlorid-Dihydrat (CaCl₂ × 2H₂O); Merck, Darmstadt, Deutschland
23. Komposit Tetric flow; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
24. Leukofix; BSN medical, Hamburg, Deutschland
25. MHDP (Methylhydroxydiphosphonat); Merck, Darmstadt, Deutschland
26. Mikroschleifapparatur Exakt Mikroschleifsystem 400 CS, Exakt, Norderstedt, Deutschland
27. Mouth Kote; Parnell Pharmaceuticals, San Rafael, USA

28. Nagellack Wet'n`Wild Crystalic Nail Color; Markwins, New York, USA
29. Natriumchlorid 0,9 %; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
30. Objektträger; Diaplus, Oststeinbeck, Deutschland
31. Oralube; Orion Laboratories, Balcatta, Australien
32. pH-Meter GMH 3510; Greisinger Electronic, Regenstauf, Deutschland
33. Poliermaschine Phoenix Alpha; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland
34. Polymerisationslampe Curing Light XL 1500; 3M Espe, Neuss, Deutschland
35. Röntgenstrahlgenerator PW 1730/10, Phillips, Eindhoven, Niederlande
36. Saliva natura; medac, Wedel, Deutschland
37. Salpetersäure Suprapur; Merck, Darmstadt, Deutschland
38. Salzsäure (HCl) 2 M; Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
39. Saseem; Pohl Boskamp, Hohenlockstedt, Deutschland
40. Schleifpapier 1200, 2400, 4000; Exakt, Norderstedt, Deutschland
41. Skalpell; Feather, Osaka, Japan
42. Softwareprogramm Draw Plus X2; Serif, Nottingham, Großbritannien
43. Softwareprogramm Office 2003 (Word, Excel); Microsoft Deutschland, Unterschleissheim, Deutschland
44. Softwareprogramm SPSS (Statistical Package for Social Sciences), Version 11.5; SPSS, München, Deutschland
45. Softwareprogramm Transversal Micro Radiography für Windows, Version 2.0.27.02; Inspektor Research Systems, Amsterdam, Niederlande
46. Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland
47. TMP Tüshaus; Medical Produkte, Velen-Ramsdorf, Deutschland
48. TMR-Probenhalter; Plano, Wetzlar, Deutschland
49. Waage Sartorius Excellence E 2000 D; Sartorius, Göttingen Deutschland
50. Wärmeschrank Venticell; MMM Group, Planegg, Deutschland
51. Xerostom; Biocosmetics Laboratories, Madrid, Spanien

11.3. Danksagung

Für die Überlassung des Themas sowie für das mir entgegengebrachte Vertrauen möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. Andrej M. Kielbassa bedanken.

Mein herzlichster Dank gilt Herrn OA Dr. Peter Tschoppe für die freundliche Unterstützung und wissenschaftliche Betreuung bei der Planung und Durchführung der Arbeit. Seine fachliche Unterstützung und konstruktive Kritik sowie seine stetige Motivation haben sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Herzlich bedanken möchte ich mich weiterhin bei Herrn PD Dr. Hendrik Meyer-Lückel für die hilfreiche wissenschaftliche Unterstützung.

Ferner gilt ein Dank Herrn Rainer Toll aus der Abteilung für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie, Charité Centrum 3 für Zahn-, Mund und Kieferheilkunde, Charité - Universitätsmedizin Berlin für die freundliche Hilfe bei der Durchführung der Versuche.

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

Vor allem meinem Mann möchte ich für seine Geduld und seinen Zuspruch und die ständige Unterstützung beim Erstellen der Arbeit danken.

Abschließend danke ich meinen Eltern von ganzem Herzen für die Ermöglichung des Studiums sowie für ihre Unterstützung und Anteilnahme beim Erstellen der Dissertation.

11.4. Lebenslauf

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

11.5. Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Sandra Krüger, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Einfluss von kommerziell erhältlichen Speichelersatzmitteln auf demineralisierten bovinen Schmelz *in vitro*“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum: 26.10.2010

Unterschrift