

**Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
der Universität Würzburg**

Direktor: Prof. Dr. med. dent. Bernd Klaiber

**Vergleichende experimentelle Untersuchungen über die
remineralisierende Wirkung einer mit calciumhaltiger Salzhydratschmelze
angereicherten Zahnpasta**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Natalie Stockschläder

aus Wirges

Würzburg, Februar 2010

Referent: Prof. Dr. med. dent. Wolfgang Wiedemann, Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie

Korreferent: Prof. Dr. med. dent. Thomas Holste, Poliklinik für Prothetik

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch, Institut für Hygiene und Mikrobiologie

Tag der mündlichen Prüfung: 12.08.2010

Die Promovendin ist Zahnärztin

Für Mama, Christof, Danielle, Julian, Leonie und Lisibo

I. Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	2
2.1	Speichel.....	2
2.1.1	Anatomie.....	2
2.1.2	Sekretionsmodus.....	3
2.1.3	Zusammensetzung.....	4
2.1.4	Organische Bestandteile des Speichels.....	4
2.1.5	Anorganische Bestandteile des Speichels.....	7
2.1.6	Speichelfunktionen.....	9
2.2	Zahnhartsubstanzen.....	10
2.2.1	Zahnschmelz.....	10
2.2.1.1	Genese und chemische Struktur:.....	10
2.2.1.2	Apatit.....	11
2.2.1.3	Histologische Struktur.....	14
2.3	Mikroorganismen.....	15
2.3.1	Orale Biofilmbildung.....	15
2.3.2	Pellikelbildung.....	15
2.3.3	Bakterielle Adhäsion.....	16
2.3.4	Plaquereifung.....	17
2.4	Demineralisation und Karies.....	18
2.4.1	Ätiologie.....	18
2.4.1.1	Zahnwurmtheorie.....	18
2.4.1.2	Vier-Säfte-Theorie.....	18
2.4.1.3	Chemisch-parasitäre Kariestheorie von W.D. Miller.....	19

2.4.1.4	Rein parasitäre Kariestheorie von Baumgärtner	19
2.4.1.5	Resorptionstheorie	19
2.4.1.6	Proteolytische Theorie	20
2.4.1.7	Deckschichtentheorie	20
2.4.1.8	Kariesätiologie aus der Sicht der heutigen Zeit	20
2.4.2	Die kariöse Läsion	23
2.4.2.1	Initiale kariöse Entkalkung	23
2.4.2.2	Fortschreitende kariöse Entkalkung	23
2.4.3	Der kritische pH-Wert	24
2.5	Remineralisation	27
2.5.1	Remineralisation durch Speichel	29
2.5.2	Remineralisation durch Fluorid	34
2.5.2.1	Allgemeines	34
2.5.2.2	Systemische Wirkung von Fluoriden	34
2.5.2.3	Lokale Wirkung von Fluoriden	35
2.5.2.4	Fluoridformen	40
2.5.3	Moderne Innovationen	42
2.5.3.1	Recaldent	42
2.5.3.2	Remineralisation durch Zufuhr von Calcium- und Phosphationen	48
2.5.3.3	Remineralisation durch Absenken des pH-Wertes	50
2.5.3.4	Remineralisation durch amorphe, calciumhaltige Salzhydratschmelze	54
2.5.4	Zyklische Remineralisation 'in vitro'	56
2.7	Aufgabenstellung	59

3	Material und Methodik	60
3.1	Versuchsdesign	60
3.2	Proben	60
3.3	REM2-Lösung (1/1/0).....	62
3.5	Behandlung der Testkörper vor den Messungen	63
3.6	Gravimetrische Bestimmung der Messergebnisse	64
3.7	Radiographische Bestimmung der Messergebnisse	65
3.7.1	Messmethode:	65
3.7.2	Aufbau des Röntgengeräts	66
3.7.3	Systemische Fehlerquellen	67
3.7.4	Reproduzierbarkeit der Messungen	68
3.7.5	Messen der Proben.....	70
3.8	Versuchsreihen	71
3.8.1	Vorversuch 1	71
3.8.2	Vorversuch 2.....	72
3.8.3; 3.8.4	Zwischenversuch	76
3.8.5	Hauptversuch 1	76
3.8.6	Nachversuch 1 mit PO ₄ und Fluorid.....	79
3.8.7	Nachversuch 2 (‘Elmex-Versuch’)	83
3.9	Statistische Methoden.....	85
4	Ergebnisse	87
4.1	Vorversuch 1: Eingelegt oder eingebürstet	87
4.2	Vorversuch 2: Schmelz Zahnpasten unterschiedlicher Konzentrationen mit und ohne Phosphatzusatz	90
4.3	Zwischenversuch: REM über 40 Tage	97
4.4	Zwischenversuch: REM über eine Woche	98

4.5	Hauptversuch.....	100
4.6	Schmelzehaltige Zahncreme verschiedener Konzentrationen mit und ohne Fluoridzusatz in situ	103
4.7	Schmelzehaltige Zahncreme verschiedener Konzentrationen mit und ohne Fluorid- und Phosphatzusatz ´in vitro`	107
4.7.1	Vergleich der schmelzehaltigen Zahncreme mit und ohne Fluoridzusatz in situ und in vitro	112
4.8	Elmex und Placebo mit Calciumzusatz in situ.....	114
4.9	Elmex und Placebo mit Calciumzusatz in vitro.....	116
4.9.1	Elmex und Placebo mit Calciumzusatz, Vergleich in situ und in vitro	119
5	Diskussion	122
6	Zusammenfassung.....	138
7	Literaturverzeichnis.....	140

1 Einleitung

Die Ergebnisse der aktuellen Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS IV) aus dem Jahre 2006 belegen, dass die Anzahl der kariösen Läsionen bei 12-jährigen Kindern von durchschnittlich 1,7 auf 0,7 abgesunken ist. Das bedeutet eine Reduktion des kariösen Geschehens um 58,8%. Diesen Erfolg führt man im Wesentlichen auf die immer regelmäßiger wahrgenommenen Kontrolluntersuchungen durch den Hauszahnarzt zurück. Hier ist es möglich, durch moderne Prophylaxemaßnahmen, wie zum Beispiel lokaler Fluoridapplikation oder der Durchführung von Fissurenversiegelungen der gerade durchgebrochenen bleibenden Molaren, bereits frühe Formen der Karies zu verhindern. Bei den durchgeführten Untersuchungen der IDZ lässt sich jedoch eine Polarisierung bezüglich derjenigen Probanden beobachten, die mit niedrigem sozialen Status und Bildungsniveau aufgewachsen sind. 10,2% der Kinder vereinigten 61,1% aller Kariesfälle auf sich. (1)

Zahlreiche wissenschaftliche Entwicklungen der letzten Jahrzehnte führten zu einer Vielfalt von unterschiedlichen Methoden und Anwendungen, die geeignet sein sollen, initiale, kleine Schmelzläsionen, die sogenannten `subsurface lesions`, zu remineralisieren. (2)

Unlängst wurden z. B. calciumhaltige Fruchtgummis auf dem Markt eingeführt, bei deren Verzehr demineralisierte Schmelzbereiche durch eine amorphe, calciumreiche Salzhydratschmelze teilweise remineralisiert werden können. Das Wirkungsprinzip der Salzhydratschmelze ist theoretisch nachvollziehbar.

(3) Ziel der vorliegenden Arbeit war es deswegen, eine mit einer calciumreichen, unterkühlten Salzhydratschmelze angereicherte remineralisierende Zahncreme zu entwickeln. Weiterhin sollte diese Zahncreme hinsichtlich ihrer Remineralisationswirkung mit etablierten Zahncremes vergleichend untersucht werden.

2 Literaturübersicht

2.1 Speichel

2.1.1 Anatomie

Die Gesamtmenge des Speichels ergibt sich aus der Produktion dreier großer, paariger Speicheldrüsen (Glandula parotidea, Glandula submandibularis und Glandula sublingualis) und mehrerer kleiner solitärer Speicheldrüsen. Letztere befinden sich am Gaumen, am Zungenrand und an den bukkalen und labialen Anteilen der Mundschleimhaut.

Die großen Speicheldrüsen sind zusammengesetzte Drüsen. Deren allgemeiner Aufbau ist für jede Drüse gleich und besteht aus Azinus (Endstück), Schaltstück und Streifenstück. Man unterscheidet zwischen serösen (azinösen), mukösen (tubulären) und seromukösen (tubuloazinösen) Endstücken. Die Drüsenzellen produzieren den Primärspeichel. Dieser wird von Schalt- und Streifenstücken modifiziert. Hier wird der primär isotone Speichel in eine hypotone Lösung überführt. Dies geschieht durch Rücknahme des NaCl durch die Zellen der Streifenstücke. Der Kaliumanteil hingegen wird erhöht. Die dichten `tight junctions` verhindern, dass Wasser nach dem Gesetz der Osmose aus dem Streifenstück-Lumen heraustreten kann: ein hypotoner Speichel entsteht. Durch die unterschiedlichen Qualitäten der Azinistücke der Speicheldrüsen ergeben sich Verschiedenheiten in deren Sekretionsmodus:

Die Gl. parotidea ist eine rein seröse Drüse; die Gl. submandibularis produziert seromukösen Speichel; die Gl. sublingualis ist rein mukös, ebenso wie die kleinen solitären Speicheldrüsen.

Die Speicheldrüsen werden sowohl durch sympathische, als auch durch parasympathische Nervenfasern innerviert. Die Gl. parotis erhält ihre parasympathischen Anteile über den N. glossopharyngeus, die Fasern der Chorda tympani innervieren die Gl. submandibularis und Gl. sublingualis. Die

2 Literaturübersicht

parasympathischen Impulse gehen vom Nucleus salivatorius im Hirnstamm aus.

Nach parasympathischer Stimulation erfolgt eine Produktion von dünnflüssigem Speichel. Nach Stimulation durch den Sympathikus wird eher zähflüssiger Speichel synthetisiert. (4)

2.1.2 Sekretionsmodus

Bezüglich des Sekretionsmodus unterscheidet man zwischen dem Ruhespeichel und dem Stimulationsspeichel. Der Erstere wird durch die konstante Aktivität der Speichelkerne im Hirnstamm verursacht. Stimulierter Speichel hingegen entsteht durch mechanische, olfaktorische, gustatorische, reflex- und medikamentengesteuerte oder auch hormonelle Stimulation.

Unstimulierter Speichel, auch Ruhespeichel genannt, hat eine Speichelfließrate von ca. 0,3-0,4 ml/min. (5) Unter stimulierten Speichelfluss kann diese jedoch auf Werte von 1-3 ml/min ansteigen.

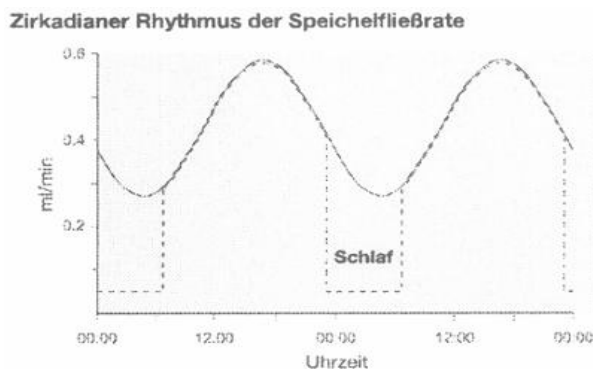


Abbildung 1: zirkadianer Rhythmus der Fließrate des unstimulierten Gesamtspeichels nach Dawes (2004)

Laut Jenkins (6) und Dawes (7) folgt der Verlauf der Speichelfließrate einer zirkadianen Kurve. Demnach ist am späten Nachmittag die Speichelfließrate am höchsten. Nachts hingegen ist sie am geringsten. Berücksichtigt man demnach die tageszeitlichen Schwankungen, so ist mit einer täglich produzierten Gesamtmenge von 0,5 bis 0,6 Litern zu rechnen. (8) Dabei stammt während der Ruhephase die größte Speichelmenge mit einem Anteil von 60% von der Gl. submandibularis. Findet eine Speichelstimulation statt, wird der größte Speichelanteil mit ca. 50% von der Gl. parotidea sekretiert.

2.1.3 Zusammensetzung

Inhaltlich stellt die Speichelflüssigkeit zu 99,5% eine wässrige Lösung dar. Die verbleibenden 0,5% der Speichelflüssigkeit gliedern sich in organische und in anorganische Bestandteile. Erstere beinhalten Glykoproteine, Amylase, Lysozym, IgA, IgM und Harnstoff. Zu den anorganischen Inhaltsstoffen zählen Calcium, Phosphat, Natrium, Kalium, Chlorid, Thiozyanat und Fluorid. (9) Die hohen Anteile von Calcium- und Phosphationen führten zu dem Begriff der 'flüssigen Apatitphase'. (10)

Die Inhaltsstoffe der Speichelflüssigkeit variieren jedoch je nach Sekretionsmodus in ihren Zusammensetzungen. Bei einer erhöhten Speichelfließrate steigt die Konzentration an Bikarbonat. (11) Verlässt der Speichel die Ausführungsgänge des Drüsensystems und gelangt in die Mundhöhle, vermischt er sich mit dem der anderen Speicheldrüsen und wird als 'Mischspeichel' bezeichnet. Innerhalb der Mundhöhle findet wiederum ein Konglomerat des Speichels mit Sulkusflüssigkeit, Speiseresten, Bakterien, Viren, Blut und Epithelzellen statt. Dieses Mischsekret wird auch als 'Mundflüssigkeit' bezeichnet. Innerhalb der Mundflüssigkeit sind nur 20% aller Bestandteile suspendiert, 80% hingegen liegen in gelöstem Zustand vor.

Viele Komponenten der verschiedenen Speichelbestandteile stellen Schutzfaktoren dar, die die Gefahren der Säure- und Bakterienangriffe auf die Mundhöhle und deren Hartschubstanzen zu dezimieren vermögen.

2.1.4 Organische Bestandteile des Speichels

Wichtige Schutzfaktoren stellen unter anderem die Speichelenzyme dar. Eines der wichtigsten ist die α -Amylase. (12) Sie stammt zu ca. 80% aus der Gl. parotidea. Ihre Aufgabe ist es, Stärke und Glykogen zu Maltose, Maltotriose und Dextrine hydrolytisch zu spalten. Bei längerer Verweildauer in der Mundhöhle werden die von den Plaquebakterien aufgrund ihrer Größe noch nicht vergärbaren Saccharide zu kleineren, nun vergärbaren Disacchariden wie Maltose und Isomaltose abgebaut. Auch die Spaltung zu Glukose ist möglich.

2 Literaturübersicht

Das Enzym Lysozym gehört zur Gruppe der Muramidasen. Es wirkt antibakteriell, da die Kohlenhydratketten im Murein-Sacculus, dem Stützskelett der Bakterienwand, hydrolysiert. (13) Gramnegative Bakterien jedoch, deren Zellwand durch eine Schicht von Lipoproteinen und Lipopolysacchariden geschützt ist, erreicht die lytische Wirkung von Lysozym kaum. Auch grampositive Bakterien werden innerhalb von Biofilmen durch Polysaccharide und weitere Matrixbestandteile abgeschirmt. Aus diesen Gründen ist die Wirksamkeit des Lysozyms eingeschränkt. Sie verfügen überdies über die Fähigkeit, Bakterien zu aggregieren. (14)

Die Laktoperoxidase ist in der Lage, von Bakterien gebildete Peroxide zur Umsetzung von Thiozyanat (SCN^-) zu Hypothiozyanit (OSCN^-) zu nutzen. Hypothiozyanit wiederum kann die Glykolyse innerhalb des Bakterienstoffwechsels hemmen und wirkt dadurch bakteriostatisch. Neben Laktoperoxidasen sind in der Speichelflüssigkeit auch Myeloperoxidasen zu finden, die neutrophilen Granulozyten entstammen.

Allerdings ist die Laktoperoxidase nicht nur befähigt, die Stoffwechselaktivität von Streptokokken und Laktobazillen unter aeroben Bedingungen zu hemmen, sondern vermag auch den anaeroben Stoffwechsel von Säurebildnern zu bestärken. Dies geschieht durch die Reduktion von H_2O_2 . (15)

Sowohl Lysozym als auch die Laktoperoxidase sind darüber hinaus in der Lage, den Substrattransport in den Stoffwechsel der Zelle zu hemmen.

Das Enzym Laktoferrin entzieht den Mikroorganismen das zum Wachstum essentiell notwendige Eisen. Demzufolge besitzt Laktoferrin eine bakteriostatische Wirkung.

Vereinzelt findet man Enzyme bakterieller Herkunft wie beispielsweise proteolytisch tätige Enzyme, die Speichelproteine in kleine Peptide aufspalten können. Diese wiederum können von Bakterien aufgenommen werden und tragen zu deren Syntheseleistung bei. Neuramidasen, die von Streptococcus mitior und Strep. mitis synthetisiert werden, spalten Sialinsäuren von

2 Literaturübersicht

Glykoproteinen des Speichels ab. Die daraus resultierenden Aminosucker stellen wiederum ein Substrat für weitere orale Bakterien dar.

Immunglobuline der Mundflüssigkeit bilden weitere Faktoren, die zur Schutzfunktion des Speichels beitragen. Besonders ist hier das sezernierte (= s) IgA zu erwähnen. Es stammt aus den Plasmazellen der Speicheldrüsen. SlgA liegt, mit einer J- Kette verbunden, als Dimer vor. Dadurch wird das Immunglobulin vor dem proteolytischen Abbau geschützt. Es hat die Aufgabe, der Adsorption von Mikroorganismen an die Schleimhäute entgegenzuarbeiten. SlgA hat in beschränkter Form die Möglichkeit, direkt Bakterien zu opsonisieren. Somit können diese phagozytiert werden. Durch Komplexbildung von Antigenen kann slgA das Eindringen von Bakterien in die Mundschleimhaut verhindern. Neben slgA findet man IgG und IgM in der Mundflüssigkeit. Beide stammen jedoch aus der Sulkusflüssigkeit entzündeter Gingiva und sind hier wiederum nur in geringen Konzentrationen in der Mundhöhle nachweisbar. Sie haben die Fähigkeiten, bakteriolytisch tätig zu sein. Weitere Funktionen sind Antigenbindung, Enzymblockade und Virusneutralisation.

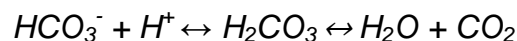
Muzine stammen hauptsächlich aus den sublingualen, submandibulären und den kleinen akzessorischen Drüsen der Mundhöhle. Ihr Aufbau setzt sich aus einer Eiweißkette und vielen kurzen Oligosaccharidketten zusammen. Aus der Häufigkeit dieser Ketten resultiert vermutlich die Resistenz der Muzine gegen enzymatischen Abbau und ihr Schleimcharakter. (16) Gelingt es den Mundbakterien dennoch, Muzine hydrolytisch zu spalten, kann dieses von ihnen als Substrat Verwendung finden. (17) Muzine sind überdies in der Lage, an Epithelien anzuhafte und den Stoffaustausch zwischen Bakterien und deren Umgebung zu begrenzen. Heften Muzine an der Zahnoberfläche an, wirkt dies entkalkungshemmend. Jedoch ist die besagte Schicht, auch 'Pellicle' genannt, gleichzeitig Ansatzpunkt für die Bildung bakterieller Plaque. (18)

Saure prolinreiche Glykoproteine, die überwiegend aus dem Parotis- und Submandibularsekret stammen, besitzen die Fähigkeit Calcium zu binden und lagern sich wie Muzine an Apatit an. Sie haben eine Schlüsselfunktion bei der initialen Bildung des ZahnPELLIKELS. Hier wirken sie permeationsselektiv. (19,20)

Statherine sind tyrosinreiche Peptide, die in der Lage sind, die Ausfällung von Calciumphosphaten zu hemmen. Dies geschieht entweder über eine Anlagerung mit gleichzeitiger Blockade der Bindungsstellen der Kristalloberfläche oder aber in Form einer lockeren komplexen Calciumbindung. (21) Dies trifft allerdings nur auf 10% des Calciums der Speichelflüssigkeit zu. (22)

2.1.5 Anorganische Bestandteile des Speichels

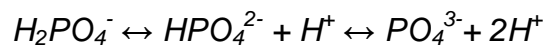
Der Speichel verfügt über verschiedene Puffersysteme. Die wichtigste Rolle nimmt hierbei das Bikarbonat-Puffersystem ein. Das Bikarbonat (Hydrogencarbonat) entstammt weitestgehend der Gl. parotidea und der Gl. submandibularis. Hydrogencarbonat bildet mit Säure eine schwache Kohlensäure, die leicht in Wasser und Kohlendioxid zerfällt.



Unter Stimulationseinfluss kann die Bikarbonatkonzentration im Parotisspeichel von 1 mmol/l auf ca. 60 mmol/l ansteigen. (23) Betrachtet man den Gesamtspeichel können hier Werte von ca. 24 mmol/l gefunden werden. Bedingt durch die Erhöhung des Bikarbonat-Gehalts folgt eine Erhöhung des pH-Wertes. Das pH-Optimum dieses Puffersystems liegt bei pH 6,1. Der Pufferbereich reicht von 5,1 bis 7,1. Werden starke Säuren wie z.B. Lactat in der Mundhöhle angesammelt, wird die schwächere Säure H_2CO_3 nicht angehäuft, sondern als CO_2 abgeatmet. Die Mengen des Bikarbonat-Puffersystems sind jedoch auf Zeiten des stimulierten Speichels begrenzt und stehen somit der Mundhöhle nur eingeschränkt zur Verfügung. Das pH-Optimum des Phosphatpuffersystems liegt bei 7,1. Der Pufferbereich reicht von pH 5,1-7,1. Unter Stimulationsspeichel sinkt die Phosphatkonzentration von 5 auf 3 mmol/l ab. Das Phosphatpuffersystem spielt eine wichtige Rolle im Zusammenhang der Remineralisation, da es zur Übersättigung der Zahnumgebung mit Hydroxylapatit beiträgt.

2 Literaturübersicht

Die Dissoziation des Phosphats ist pH-Wert-abhängig und führt vom primären ($H_2PO_4^-$) über das sekundäre (HPO_4^{2-}) bis hin zum tertiären (PO_4^{3-}) Phosphat.



Steigt die Konzentration des Bikarbonats unter Speichelstimulation, führt dies zu einer Deprotonierung des Speichels. Daraus folgt, dass trotz abnehmender Phosphatwerte bei stimuliertem Speichelfluss, die Konzentration des für die Remineralisation wichtigen tertiären Phosphats bis auf das 40-fache des Ausgangswertes ansteigen kann. (24) Hieraus lässt sich schließen, dass das Phosphatpuffersystem weniger während des bakteriellen Säureangriffs greift, sondern mehr für die Phase der Remineralisation bedeutsam ist.

Über das Proteinpuffersystem ist bislang noch wenig Genaues bekannt. Sein Optimum findet sich im sauren Bereich bei etwa pH 4,3. Der Pufferbereich liegt zwischen 3,3 und 7,2.

Wird Ruhespeichel sezerniert, liegt die Calciumkonzentration bei 5,8 mg/100 ml und die Phosphatkonzentrationen bei ca. 16,8 mg/100 ml. (25) Mit der erhöhten Sekretionsrate unter Stimulationsspeichel nehmen die Calcium-Phosphat-Konzentrationen ab. (26) Durch die jedoch insgesamt größere Menge des sezernierten Speichels kommt es zu einer Erhöhung der Calcium- und Phosphat- Werte. Der pH-Wert bestimmt die Menge an Calciumphosphat. Calcium-Phosphat-Konzentrationen, die im Ruhespeichel vorliegen, sind in Bezug auf bestimmte Calciumphosphatphasen übersättigt.

Innerhalb des Calciumphosphat-Systems lassen sich folgende Salze nachweisen:

Tabelle 1 Mineralische Calciumphosphatphasen (27)

Calciumphosphatphase	Verhältnis: Calcium/Phosphat	pK = -log k
Dicalciumphosphatdihydrat (= Brushit)	1,0	6,59
→ DCPD = $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$		

2 Literaturübersicht

Dicalciumphosphatanhydrat (= Monetit)	1,0	6,90
→ DCA = CaHPO_4		
Oktacalciumphosphat	1,33	68,80
→ OCP = $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$		
Whitelockit	1,43	81,70
→ WH = $\text{Ca}_{10}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$		
B- Tricalciumphosphat		
→ TCP = B- $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$		
Hydroxylapatit	1,67	117,20
→ HAP = $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$		
Fluorapatit	1,67	121,00
→ FAP = $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$		

Featherstone hat in diesem Zusammenhang die Calcium- und Phosphationen aufgrund ihrer hohen Konzentration als ersten protektiven Faktor des Speichels deklariert. (28) Bedingt durch den hohen Bikarbonatgehalt und der damit verbundenen Puffereigenschaft gegenüber Säuren und Alkalien wurde dieser als zweiter protektiver Faktor der Speichelflüssigkeit erklärt.

2.1.6 Speichelfunktionen

Aus den oben erwähnten Inhaltsstoffen und Fähigkeiten lassen sich folgende Funktionen zusammenfassen:

- Spül- und Räumfunktion
- Abpufferung von freien Säuren aus Nahrung, Getränken und kariogenen Gärungssäuren:
die mechanische Stimulation durch die Kaubewegung steigert die Speichelsekretion. Die dadurch zunehmende Konzentration von Natrium- und Bikarbonatgehalt ist in der Lage, diese abzupuffern. Die Abpufferung von Gärungssäuren ist nur möglich, wenn die Plaqueschicht durch häusliche Mundhygiene möglichst dünn gehalten wird.
- Muzine beschicken die Mundhöhle und schützen diese vor chemischen und mechanischen Angriffen.

2 Literaturübersicht

- Immunglobuline des Speichels und der Sulkusflüssigkeit hemmen die Anheftung von Antigenen und fördern deren Phagozytose.
- Phosphoproteine erhalten durch ihre stabilisierende Wirkung die Übersättigung der Umgebung in Bezug auf den Apatit der Zähne aufrecht.
- Anorganische Bestandteile wie Calcium und Phosphate können bei Übersättigung remineralisierende Eigenschaften entfalten.

2.2 Zahnhartsubstanzen

Ein Zahn besteht aus verschiedenen Hartsubstanzen: Zahnschmelz, Dentin und Wurzelzement. Da sich jedoch diese Doktorarbeit ausschließlich mit der Prävention kariöser Läsionen befasst, die innerhalb des Zahnschmelzes stattfinden, liegt hier das Hauptaugenmerk bei der Erörterung der letztgenannten Zahnhartsubstanz.

2.2.1 Zahnschmelz

2.2.1.1 Genese und chemische Struktur:

Der Zahnschmelz stammt, entwicklungsgeschichtlich betrachtet, aus dem Ektoderm. Er wird von Ameloblasten gebildet. Sekretorische Ameloblasten bilden den sogenannten 'Tomes-Fortsatz' aus. Dieser schüttet als eine Art Leitschiene zunächst die Zutaten für den interprismatischen Schmelz aus und anschließend die Matrix der Schmelzprismen. (29) Die Schmelzprismen beinhalten zu 90% Amelogenin und zu 10% Nonamelogenin. (30) In rhythmischen Schüben erfolgt nun die Anreicherung von Mineralstoffen in die organische Grundsubstanz (großer Verkalkungsrhythmus). (31) Perlschnurartig aufgereihte Primärkristalle entstehen. Diese schließen sich zu immer größeren Kristallkonglomeraten zusammen, die bis zu 100 nm Länge erreichen können. (32) Während der initialen Mineralisationsphase wird von den Ameloblasten überwiegend Calcium und Phosphat sezerniert, welches sich extrazellulär zunächst als Octacalciumphosphat niederschlägt.

2 Literaturübersicht

Man unterscheidet die präeruptive Schmelzreifung von der posteruptiven. Die präeruptive Schmelzreifung beschreibt die Kristallisation von Calciumphosphat während der Mineralisation. Hier geschieht eine Umwandlung von sekretierenden zu reduzierenden Ameloblasten. Sie resorbieren das Wasser und erhöhen dadurch die Mineralisationsdichte. (33) Jedoch verbleiben Mikroporen und Ionendefekte innerhalb der Gitterstrukturen.

Die posteruptive Schmelzreifung findet nach dem Zahndurchbruch statt. Hier werden die Defizite der präeruptiven Schmelzreifung ausgeglichen. (34)

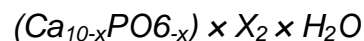
Die dritte Funktion des Ameloblasten ist es, das reduzierte Schmelzepithel zu bilden. (35)

Ausgereifter Zahnschmelz ist mit einer Vickers-Härte von 300-400 die härteste Substanz im menschlichen Körper. Seine mittlere Dichte ist zwischen 2,8-3,0 g/cm² einzuordnen. Maturierter Zahnschmelz besitzt zu 93-98 Gew. % aus anorganischen und zu 1,5- 4,0 Gew. % aus Wasser. Die geringen Mengen an organischen Bestandteilen des Zahnschmelzes bestehen zu 58% aus Proteinen und zu ca. 40% aus Lipiden.

Neben den Hauptbestandteilen Calcium und Phosphat enthält der menschliche Zahnschmelz etwa 40 Spurenelemente. Mitunter sind hier Karbonat, Magnesium und Natrium, Chlor, Fluor, Strontium, Selen, Molybdän, Vanadium und Zink zu finden. (36)

2.2.1.2 Apatit

Die bedeutendste Komponente des Zahnschmelzes ist das Calciumphosphat. Seine energieärmste und stabilste Form ist die Apatitstruktur. (37)

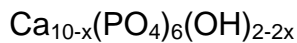


Es handelt sich hierbei nicht um die stöchiometrische Formel Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂. Dies ist durch einen Mangel an Calcium-, Phosphat- und Hydroxylionen und der Anwesenheit von Karbonat und Hydrogenphosphat während der Schmelzbildung zu erklären. (38)

2 Literaturübersicht

Diese Abweichungen können durch folgende Fehlbildungen begründet werden:

- Nichtbesetzung von Stellen im Kristallgitter, wobei dies besonders oft bei Calcium- und Hydroxylstellen geschieht. Um die Neutralität aufrecht zu erhalten, ist jede Ca^{2+} - Leerstelle mit zwei OH^- - Leerstellen gepaart:



Das ideale Calcium-Phosphat-Verhältnis liegt bei 1,67. (39) Bei calciumdefizientem Apatit können die Werte auf 1,5 absinken. (1,2 (40)) Sein Anteil nimmt unter Säureeinwirkung zu.

- Ionen, die widersächlich in das Kristallgitter eingebaut werden ('Fremdionen'), wie zum Beispiel HPO_4^{2-} statt PO_4^{3-} .
- Es besteht eine Präferenz, Oberflächenkomplexe mit Ionen wie F^- , CO_3^{2-} , Mg^{2+} oder auch mit Bisphosphonaten zu bilden. Bisphosphonat hat die Fähigkeit, das Wachstum der Kristalle zu hemmen.

Aus den oben erwähnten Gründen besitzt Zahnschmelz die Eigenschaft, löslicher als reiner Hydroxylapatit zu sein. (41)

Newesely (42) und Brown (43) postulierten nach eingehenden Studien, dass die eigentliche Apatitbildung auf einer Umschichtung ihrer Vorstufe, dem hydrogenapatitreicheren und calciumärmeren Octacalciumphosphat, beruht (OCP: $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

Hierbei handelt es sich um eine Metamorphose im festen Zustand. Diese wird deshalb auch als 'solid state transmission' bezeichnet. Die Umwandlung ist nicht mehr umkehrbar.

Die Löslichkeit der Calciumphosphatphasen hängt von verschiedenen Faktoren ab:

- Die Inhaltsstoffe und Sättigung an Calciumphosphat der flüssigen Phase beeinflussen die Stabilität einer Mineralphase. Diese umgibt den Zahn in Form von Speichel, Plaquetflüssigkeit und den winzigen Spalten zwischen den Kristalliten des Schmelzes.
- Sinkt der pH- Wert, werden die Phosphationen protonisiert.

2 Literaturübersicht

Demzufolge steigt die Anzahl der $H_2PO_4^-$ Ionen. Dies verläuft nach folgendem Schema:

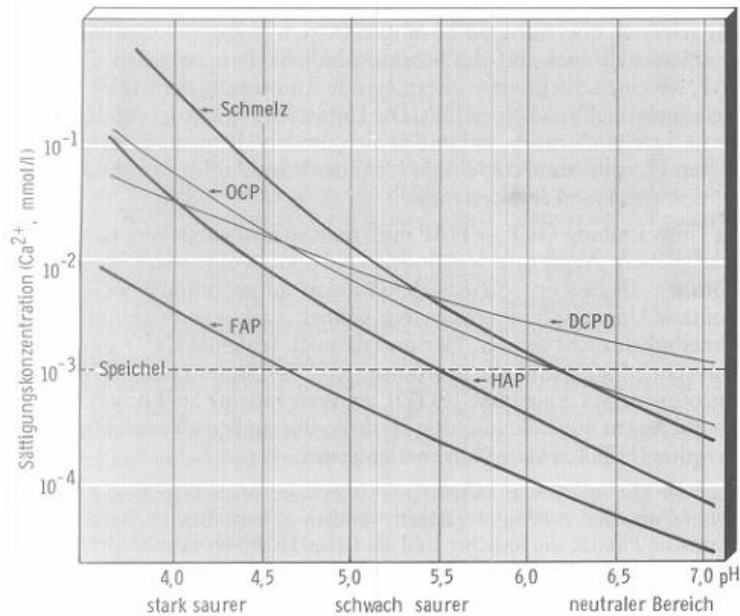


Abbildung 2: Löslichkeitsisotherme der Calciumphosphatphasen nach J. M. ten Cate (44) in: K. G. König, Karies und Parodontopathien, 1987

K. G. König (45) beschreibt die Löslichkeitsisothermen der Calciumphosphatphasen, die zuvor von ten Cate (46) verfasst wurden, wie folgt:

In neutralem Milieu reichen geringe Calciumkonzentrationen aus, um die Calciumphosphatphasen stabil zu halten.

Sinkt der pH-Wert, so steigt die Löslichkeit des kristallinen Calciumphosphats. Demnach müssen höhere Konzentrationen an Calciumphosphaten aufgebracht werden, um einer Demineralisation entgegenzuwirken. Fluoridhaltiger Apatit zeigt die günstigsten Eigenschaften in Bezug auf Stabilität bei Säureeinwirkung. Er kann selbst bei niedrigen pH-Wert und geringen Konzentrationen an Calciumphosphaten noch gebildet werden. Zwar wird auch Fluorapatit unter starker Säureeinwirkung aufgelöst, allerdings erst, nachdem alle weiteren Calciumphosphatphasen bereits aufgelöst wurden. Am instabilsten verhält sich diesbezüglich Oktacalciumphosphat.

2 Literaturübersicht

Tritt anschließend erneut ein pH-Anstieg auf, bildet sich als erstes erneut Fluorapatit. Aus diesem Grund wird, nach jedem Säureangriff, die Menge der stabilsten Calciumphosphatphase (FHAP) erhöht. Octacalciumphosphat jedoch nimmt anteilmäßig ab.

2.2.1.3 Histologische Struktur

Apatitkristalle besitzen im Querschnitt eine hexagonale Form. Im Durchschnitt sind sie 160 nm lang, 40-70 nm breit und 26 nm dick.

Die einzelnen Schmelzkristalle sind in 100er Bündeln angeordnet. Sie formen Schmelzprismen oder auch Schmelzstäbe. Diese weisen einen wellenförmigen Verlauf auf. Jedem Kristall ist eine sogenannte Hydratationsschale zuzueigen. Sie sind von einer Protein- und Lipidschicht umhüllt.

Die einzelnen Schmelzprismen sind von einer zwischenprismatischen Substanz umgeben. Sie besteht ebenso aus Schmelzkristallen, allerdings in einer lockerer angeordneten Form. (47)

Die Schmelzprismen sind senkrecht zur Schmelzdentingrenze ausgerichtet und verlaufen wellenförmig. In dentinnahen Schmelzschichten befinden sich zahlreiche Prismen. Sie hingegen sind parallel zur Schmelzdentingrenze angeordnet. Hier ist deren Verlauf im Allgemeinen ungeordneter als in den äußeren Schmelzschichten. Deren Ausrichtung ist überwiegend parallel. (48)

Die Schmelzprismen sind entweder in Hufeisen- oder Schlüssellochform angeordnet. An der Ausbildung eines Schlüssellochtyps sind 4, für die Ausbildung eines Hufeisens sind 2 Ameloblasten beteiligt. (49)

An der Schmelzoberfläche befindet sich häufig eine 20-30 µm dicke Schicht prismenfreien Schmelzes. (50) Innerhalb der Prismenverbände sind in einem Abstand von 16 µm deutlich akzentuierte Querstreifen zu beobachten, die als 'Retzius-Streifen' (51) bezeichnet werden. Der Grund für die Entstehung dieser Streifen wurde kontrovers diskutiert. Heute vermutet man dahinter einen lichtmikroskopischen Zusammenhang, dem optische Phänomene zugrunde liegen. (52)

Die Schmelzoberfläche ist nicht eben, sondern besteht aus Erhabenheiten, den von Preiswerk 1895 benannten den 'Perikymatien', und aus Vertiefungen, den von Pickerill 1924 benannten 'Pickerill-' oder auch 'Imbrikationslinien'. (53) Die Perikymatien resultieren daraus, dass die Ameloblasten ihre Produktion eher später einstellen als andere. Somit wird mehr Schmelzmasse gebildet, die sich in Form kleiner Wülste an der Schmelzoberfläche niederschlägt. (54) Im Vergleich dazu resultieren Imbrikationslinien daraus, dass einige Ameloblasten ihre Produktion früher als andere beenden. (55)

2.3 Mikroorganismen

Das Biotop Mundhöhle bietet trotz der oben erwähnten limitierenden Faktoren des Speichels einer Vielfalt an Mikroorganismen Lebensraum. Da sich dieser Text überwiegend mit der Prävention von Karies befasst, werden hier die bakteriellen Vorgänge nur kurz skizziert und in relevanter Thematik dargestellt.

2.3.1 Orale Biofilmbildung

Innerhalb der menschlichen Mundhöhle lassen sich an unterschiedlichen Orten Biofilmbildungen beobachten, wie zum Beispiel auf der Mundschleimhaut, dem Zungenrücken, den supra- und subgingivalen Bereichen der Zahnhartsubstanz oder auf Zahnimplantaten. Im Folgenden soll jedoch auf den Teilbereich eingegangen werden, der für die Ätiologie der Karies maßgeblich von Bedeutung ist: die supragingivale Plaquebildung auf Zahnoberflächen.

2.3.2 Pellikelbildung

Der Begriff 'Pellikel' wurde 1965 das erstem Mal von Meckel angewendet. (56) Pellikel bestehen aus einer zellfreien Schicht, die Glyko-, Phosphoproteine und Lipide des Speichels beinhaltet. Die Adhäsion findet binnen Bruchteilen von Sekunden auf einer vollständig gereinigten Zahnfläche statt. (57) Dieser Effekt beruht auf deren Eigenladung, die mit den Calcium- und Phosphatgruppen der Zahnoberfläche interagieren. (58) Die Zahnoberfläche ist im wässrigen Milieu mehrheitlich negativ geladen. (59)

2 Literaturübersicht

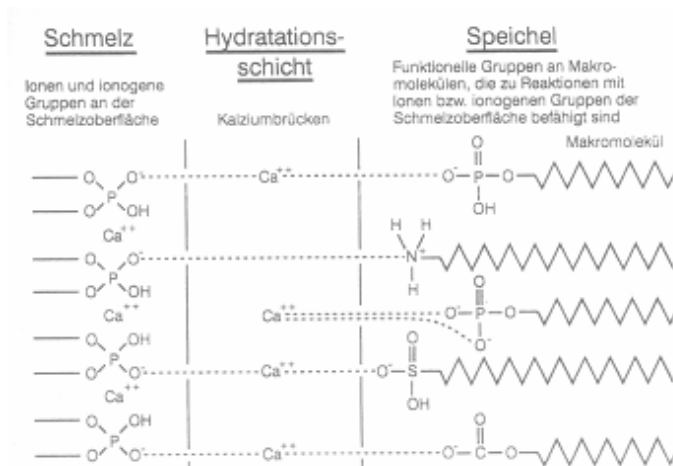


Abbildung 3: Schema der Anheftung der Pellikel an die Zahnoberfläche. Modifikation nach Sönju (1986) in: W. Klimm, Kariologie. Ein Leitfaden für Studierende und Zahnärzte, 1997

Zwischen den einzelnen Molekülen des Pellikels lassen sich sowohl Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Peptidgruppen, Disulfidbindungen zwischen Cys-Resten, Ionenbeziehungen zwischen Asp- und Lys-Seitenketten, hydrophobe Bindungen zwischen einem Valin-

und einem Isoleucinrest beobachten. (60)

Somit entsteht ein nur schwer löslicher molekularer Verband. Dieser wächst binnen eines Tages auf eine Dicke von 0,01-1 µm an. (61) Der Pellikel hat sowohl den Zahn schützende als auch schädigende Eigenschaften. Er bildet eine schützende Ionenbarriere vor demineralisierenden Säureangriffen.

Gleichzeitig schafft er die Voraussetzung der initialen Adhäsion oraler Mikroorganismen und ist somit Ausgangspunkt bakterieller Plaqueverbände. (62)

2.3.3 Bakterielle Adhäsion

Orale Mikroorganismen umspülen mit der Mundflüssigkeit die molekularen Zellverbände, die sich auf der Zahnoberfläche gebildet haben. Die Primärbesiedlung beginnt mit Keimen der Streptokokken-Spezies wie *S. salivarius* und *S. sanguinis*. Kurze Zeit darauf erfolgt eine Adhäsion weiterer Streptokokken der 'Mutans-Gruppe' wie *S. mutans*, *S. sobrinus* und *S. cricetus*. Sie werden auch als Pionierkeime bezeichnet. (63, 64) *Unspezifische Wechselwirkungen* wie Van-der-Waals-Kräfte, elektrostatische Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen bedingen die initiale Adhäsion der Mikroorganismen. (65) Die *spezifische Adhäsion* erfolgt über sogenannte Adhäsine. Als Adhäsine

werden Bestandteile der Zelloberfläche der Mikroorganismen bezeichnet, die mit Pellikelrezeptoren interagieren.

2.3.4 Plaquereifung

Nach der Etablierung der Pionierkeime findet eine Reifung des oralen Zellverbands statt. Dies geschieht durch:

- Koaggregation, dem Anheften von Mikroorganismen die genetisch unterschiedlichen Spezies angehören
- Koadhäsion, der Adhäsion genetisch identischer Spezies
- Teilung der bereits adhärenen Plaque. (66)

Der Streptokokkenbiofilm der Pionierkeime wird nachfolgend mit Stäbchenbakterien besiedelt. Für die weitere Reifung der Plaque spielt das Fusobakterium nucleatum eine besondere Rolle. Es besitzt die Fähigkeit, Statherin am Pellikelprotein anzuheften und sich zusätzlich an weitere Mikroorganismen zu koaggregieren. Er bietet nachfolgenden Bakterien wie Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythensis und Aggregatibacter actinomycetemcomitans einen Ankerpunkt. (67)

Die mikrobielle Zusammensetzung verändert sich innerhalb der Reifungsphase ständig. Junge Plaque weist zunächst grampositive Keime auf, während in älterer Plaque eine immer stärkere Häufung gramnegativer Bakterien auftritt. (68)

Die letzten Besiedler des oralen Biofilms sind Spirochäten, die die Stoffwechselprodukte anderer proteolytischer Bakterien zum Wachstum benötigen. (69)

2.4 Demineralisation und Karies

„There has never been a philosopher that can endure the toothache patiently.”
(70)

2.4.1 Ätiologie

Anthropologische Untersuchungen zeigen, dass sich die Existenz von Karies mehr als eine halbe Millionen Jahre zurückverfolgen lässt. (71) Es entstanden Theorien über die Entstehung von Karies, die sich mit dem Wandel der Wissenschaft immer differenzierter entwickelten. Hier seien nur die bekanntesten kurz wiedergegeben:

2.4.1.1 Zahnwurmtheorie



Abbildung 4:
Bildnis eines
Zahnwurms von
1780, Deutsches
Museum München.

Diese Theorie hat legendären Charakter und findet ihren Ursprung im 7. Jh. v. Chr. in Syrien. (72) Sie besagt, dass ein dämonischer Wurm den menschlichen Zahn bewohnt und in diesen schwarze Löcher frisst.

Die Legende des Zahnwurms ist in vielen verschiedenen Kulturen auf der ganzen Welt wiederzufinden. (73) Sogar in der heutigen Zeit findet man Quellen über deren Verbreitung. (74)

2.4.1.2 Vier-Säfte-Theorie

Der antike griechische Arzt Hippokrates (460-377 v. Chr.) schuf mit seiner Vier-Säfte-Theorie die Basis des medizinischen Verständnisses, welche später durch Galen seine Verbreitung fand und dadurch bis in die Neuzeit Bestand hatte. Hippokrates postulierte, dass die vier Kardinalsäfte des Körpers Blut, Phlegma, gelbe und schwarze Galle sich im Gleichgewicht zueinander befinden müssen. Krankheit und Schmerzen entstehen dann, wenn einer der Säfte beginnt, sich abzusondern und somit aus dem Gleichgewicht gerät. (75) Nach Hippokrates resultierte die „Aushöhlung der Zähne“ aus schlechten Säften, die in den Zähnen ins Stocken gerieten. (76)

2 Literaturübersicht

2.4.1.3 Chemisch-parasitäre Kariestheorie von W.D. Miller

Miller beschrieb in der von ihm 1889 veröffentlichten Theorie zwei Stadien der 'Zahnfäule'. Dabei stützte er seine Theorien vornehmlich auf mikroskopische Untersuchungen. Das erste Stadium wird durch die Entkalkung bzw. Erweichung charakterisiert. Diese entsteht durch die in „Kariesherden steckengebliebenen stärke- und zuckerhaltigen Speisereste, die durch Gärung Säure bilden“. Die zweite Phase besteht aus der Verdauung bzw. der Auflösung des erweichten Dentins durch 'Mundpilze'.

Laut Miller üben die 'Spaltpilze' selbst keine direkte Wirkung auf die Demineralisation des Zahnschmelzes aus: *„Die Dissolution des Schmelzes ist als eine indirekte, durch die von ihnen gebildeten Säuren hervorgerufene Wirkung der Pilze zu betrachten.“* Sie besiedeln die Freiräume zwischen den losen Schmelzprismen, treiben diese eventuell auseinander und zerstören den Rest des organischen Stoffes durch Zersetzung von eiweißhaltigen Stoffen. (77)

2.4.1.4 Rein parasitäre Kariestheorie von Baumgärtner

Baumgärtner postulierte 1912, dass Karies nicht auf der Entkalkung durch Säuren basierte, die unabhängig von Bakterien abseits des Zahnes durch Gärung entstehen. Er vertrat die These, dass Mikroorganismen primär den unveränderten Schmelz besiedeln und diesen dann sekundär durch Säureproduktion entkalken. (78) Fleischmann unterstützte 1921 Baumgärtners Theorie, dass Bakterien an der Säurebildung beteiligt sein müssen und fügte hinzu, dass die Entstehung von Karies bevorzugt in Retentionsnischen zu finden ist. (79)

Stephan bekundete 1944, dass der pH-Wert, den man innerhalb einer der Schmelzoberfläche anhaftenden Biofilms messen kann, unmittelbar nach Zuckeraufnahme absinkt. Dies stellte er bildlich anhand der 'Stephan-Kurve' anschaulich dar. (80)

2.4.1.5 Resorptionstheorie

Eggers-Lura sieht 1947 im kariösen Geschehen einen pathologischen Resorptionsprozess, bei dem bakterielle Enzyme osteoklastischen Charakter

2 Literaturübersicht

besitzen. Eggers begründete seine Theorie darin, dass bei enormem Substratangebot und Phosphatmangel Phosphate, die während des Kohlenhydratabbaus benötigt werden, aus der Zahnhartsubstanz bezogen werden. (81)

2.4.1.6 Proteolytische Theorie

Boedecker, Gottlieb und Friesbie machten 1948 proteolytische Bakterien für die Ätiologie der Karies verantwortlich, die nach deren These die eiweißreichen Ingredienzien der Zahnhartsubstanz zersetzen. (82)

2.4.1.7 Deckschichtentheorie

Knappwost beschrieb 1949 mit seiner Theorie, dass eine kariöse Läsion dann entsteht, wenn die Auflösung der Zahnschicht durch Säuren größer ist, als die Remineralisationsfähigkeit des Speichels. Knappwost allerdings setzt die Schwerpunkte seiner Theorie in Bezug auf Karies dementsprechend, dass er die eigentliche Ursache der 'Zahnfäule' auf einen Mangel der Speichelzusammensetzung bezieht. (83)

Heute obliegen die oben erwähnten Kariestheorien überwiegend medizin-historischem Interesse, wobei Millers 'chemisch-parasitäre-Theorie' nicht widerlegt wurde und ein solides Fundament unserer modernen Auffassungen bildet. (84)

2.4.1.8 Kariesätiologie aus der Sicht der heutigen Zeit

Orland gelang es, an keimfrei aufgezogenen Versuchstieren (Ratten) anhand eines Enterokokkenstamms, der mit anaeroben oder proteolytischen Bakterien assoziiert war, Karies zu verursachen. (85)

Fitzgerald und Keyes erreichten 1960, kariöse Läsionen durch einen Streptokokkenstamm zu provozieren. Sie erbrachten auch den Nachweis, dass die Synthese von Säuren durch orale Mikroorganismen maßgeblich am Entstehungsprozess von Karies beteiligt ist. Durch sie kann der Hydroxylapatit der Zahnhartsubstanz in das leichter löslichere Calciumphosphat umgesetzt werden. (86)

2 Literaturübersicht

Heute hat sich die Auffassung durchgesetzt, dass Karies ein multifaktorieller exogener Prozess ist, dessen Entwicklung an folgende Faktoren geknüpft ist (87):

- Die Zahnhartsubstanz muss der Mundflüssigkeit ausgesetzt sein. Ein noch nicht durchgebrochener Zahn kann keine kariöse Läsion entwickeln.
- Der Zahn muss der Besiedlung mit *azidogenen Mikroorganismen*, die in einem *bakteriellen Verbund* leben, ausgesetzt sein.
- Den oralen Mikroorganismen muss ausreichend viel *Substrat* in Form von *leicht vergärbaren Kohlenhydraten* zur Verfügung stehen.
- Damit eine kariöse Läsion entsteht, muss die Säure eine ausreichend lange *Zeit* auf den Zahnschmelz einwirken.

Fehlt eines dieser Kriterien, kann sich keine Karies entwickeln. Die Kariesaktivität kann innerhalb der Mundhöhle durch viele lokale und allgemeine Faktoren beeinflusst werden. Zu den lokalen Faktoren zählen beispielsweise Zahnmorphologie, unnatürliche Retentionsnischen, Permeabilität des Zahnschmelzes sowie individuelle Zusammensetzung und Menge der Speichelflüssigkeit. Zu den allgemeinen Faktoren werden unter anderem ein niedriger sozialer Status, ein schlechter allgemeiner Gesundheitszustand und niedriges Bildungsniveau gezählt. Genetische Faktoren spielen hier eher eine untergeordnete Rolle. (88)

An der Genese kariöser Läsionen sind, wie oben bereits erwähnt, zahlreiche azidogene orale Bakterien beteiligt. Nur wenige von ihnen spielen eine Schlüsselrolle. Zu diesen zählen die zur Viridansgruppe gehörenden Mutans-Streptokokken. Beständiger Verzehr von Kohlenhydraten stellt einen Selektionsvorteil für besagte Bakterien dar. Daraus resultiert ein Abfall des pH-Wertes durch die Stoffwechselprodukte des Embden-Mayerhoff-Abbaus der Glykolyse. Bevorzugt entstehen Milch-, Essig- und Propionsäure. Besonders Saccharose kann auf raschem Wege durch die azidogenen Mikroorganismen verstoffwechselt werden. Als Syntheseleistung können hier langkettige

2 Literaturübersicht

Polysaccharide (Glucane, Fructane) entstehen, die auch als extrazelluläre Polysaccharide bezeichnet werden. Durch ihren adhärenen Charakter wird das Entfernen der Mikroorganismen durch Mundflüssigkeit behindert. Des Weiteren stellen sie eine Nahrungsquelle für weitere Mikroorganismen dar. (89)

Bei nur geringem Kohlenhydratangebot wird vornehmlich Essigsäure gebildet. Werden kariogenen Bakterien hohe Substratmengen angeboten, wird Milchsäure produziert. (90)

Der Vorgang der Demineralisation ist abhängig vom pH-Wert in der bakteriellen Plaque. Wird der kritische pH-Wert (s. u.) unterschritten, wird die Zahnhartsubstanz aufgelöst. (91)

Der pH-Wechsel innerhalb der oralen Plaqueverbände nach Konsum von 10%iger Glucoselösung wird anhand der von 'Stephan' konzipierten und nach ihm benannten charakteristischen Kurve dargestellt. Sie geht mit einem pH-Abfall innerhalb weniger Minuten und einem langsamen Zurückkehren zum Ausgangswert einher. Dieser ist durch eine Gegenregulation, der reflektorisch erhöhten Speichelrate bedingt (s. o.). (92)

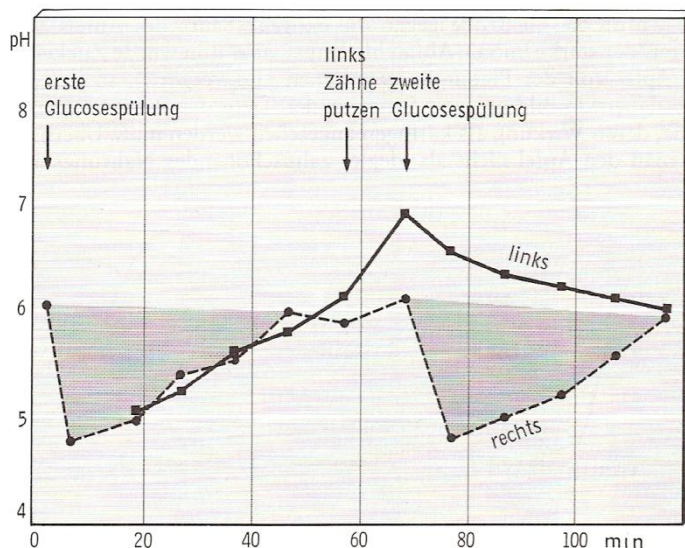


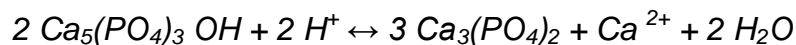
Abbildung 5: Säurebildung in bakterieller Plaque nach Konsum einer 10%igen Glucoselösung. Nachdem die linke Messstelle von Plaque befreit wurde, blieb dort die Säurebildung aus. (Nach Stephan und Miller 1943 (93) in: K. G. König, Karies und Parodontopathien, 1987)

2.4.2 Die kariöse Läsion

2.4.2.1 Initiale kariöse Entkalkung

Besteht eine orale Plaqueschicht aus nur wenigen Bakterienlagen, können durch Substratzufuhr entstandene Säuren durch die Pufferkapazität des Speichels neutralisiert werden. Überschreitet die orale Plaque eine Dicke von 20 µm (entspricht ca. 20 Zellschichten), kann man die Entstehung einer 'primären Entkalkung' unter Einfluss von schwachen organischen Säuren beobachten. (94)

Freie Wasserstoffionen rufen oft folgendes Reaktionsschema hervor, das zu einer Abspaltung von Calcium-Ionen aus dem kristallinen Gefüge der Zahnhartsubstanz führt.



Die initiale kariöse Entkalkung erreicht bis zu 1 mm Tiefe. Man bezeichnet diese Defektform als 'surface-demineralization' oder auch 'Kreidefleck'. Die initiale kariöse Läsion ist reversibel, solange die Zahnoberfläche noch unversehrt ist. (95) In diesem Fall ist hier nicht nur eine Remineralisation möglich, die zuvor demineralisierten Prismengebiete der Peripherie zeigen sich nun als säureresistenter als zuvor. Im Vergleich dazu erscheinen die Prismenzentren stärker säurelöslich. (96)

2.4.2.2 Fortschreitende kariöse Entkalkung

Bei anhaltender Säureeinwirkung kommt es zu einer Entkalkung auch der tieferen Schmelzschichten. Durch parallel verlaufende Umverteilungsprozesse in Bezug auf die Zahnhartsubstanz entsteht nach einiger Zeit das typische histologische Bild einer kariösen Tiefenläsion. Diese wird auch als 'subsurface-lesion' bezeichnet (97, 98, 99) Sie lässt sich in folgende Bereiche untergliedern:

Tabelle 2: Gliederung einer Schmelzläsion. Inhaltlich nach Silverstone 1981 (100)

	Bezeichnung	Allgemeines	Porenvolumen
I.	Harte Oberflächenschicht	‘surface layer’, Oberfläche scheint intakt	4-9%
II.	Zentrum der Läsion	Eigentliche Läsion, weitgehende Entkalkung	25-50%
III.	Dunkle Zone		2-4%
IV.	Zone der Transparenz	Grenzt die Läsion zum gesunden Schmelz ab	1%

Die Existenz einer harten Oberflächenschicht über einer sich entwickelnden kariösen Tiefenentkalkung wurde zuerst 1954 von Sullivan erörtert. (101) Er begründete seine ‘Mineralumschichtungstheorie’ mit dem ungleichen Löslichkeitsverhalten der Zahnhartsubstanz in Bezug auf die unterschiedlichen räumlichen Gegebenheiten.

Innerhalb der nur scheinbar intakten Oberflächenschicht sind kleine Kanälchen vorzufinden, die ‘mikropits’ oder auch ‘focal holes’ genannt werden. Sie besitzen eine Größe von 5-10 µm Durchmesser. Durch dieses Kanalsystem gelangt Substrat in das Läsionszentrum. (102)

Dadurch geht mehr und mehr Zahnhartsubstanz durch Demineralisationsprozesse in Lösung, bis schließlich die vorgeblich unverletzte Oberflächenschicht einbricht. (103)

2.4.3 Der kritische pH-Wert

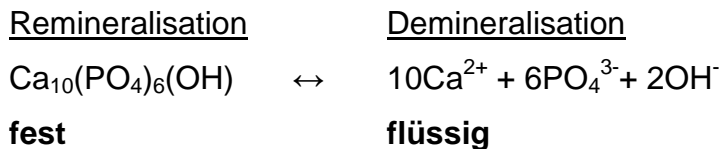
Der kritische pH-Wert wird in vielen Literaturangaben als feststehender Begriff bei einem pH-Wert von 5,5 angesiedelt. (104)

Heute allerdings weiß man, dass sich dieser Begriff nicht auf einen konstanten Wert bezieht, sondern von bestimmten Faktoren verändert werden kann.

Der kritische pH-Wert wird als der Wert bezeichnet, bei dem die Umgebungslösung die gleiche Sättigung aufweist, wie ein bestimmtes Mineral; im Fall des

2 Literaturübersicht

Zahnschmelzes der Hydroxylapatit. (105) Wie bereits beschrieben, setzt sich dieser überwiegend aus Calcium- und Phosphationen zusammen. Der kritische pH-Wert verhält sich umgekehrt proportional zur Konzentration beider Ionen. Entspricht die Umgebungsflüssigkeit der Sättigung der Zahnhartsubstanz, stehen folgende Reaktionen im dynamischen heterogenen Gleichgewicht:



Ist die Konzentration der gelösten Ionen in Bezug auf Calcium und Phosphat geringer als die des Zahnschmelzes, findet eine Verschiebung des Gleichgewichtes in Richtung der Umgebungsflüssigkeit statt. Der Zahn wird demineralisiert.

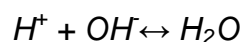
Die Löslichkeit eines Minerals wird durch sein Löslichkeitsprodukt (L_p) charakterisiert. (106) Das Ionenprodukt (I_p) ist das Produkt aller in einem Medium durch elektrolytische Dissoziation gelöster Ionen. (107)

Ist $L_p = I_p$, so ist die Lösung in Bezug auf Hydroxylapatit gesättigt. Ist $I_p < L_p$, so ist die Lösung untersättigt, es findet eine Demineralisation statt. (108)

Dies geschieht beispielsweise dann, wenn ein Zahn in frisch destilliertes Wasser (pH 7) eingelegt wird. Das Ionenprodukt beträgt hier Null. In einem Liter destilliertem Wasser können ca. 30 mg Hydroxylapatit in Lösung gehen. (109) Plaque und Speichelflüssigkeit enthalten Calcium- und Phosphationen. Hier gilt zumeist $I_p > L_p$. Die Lösungen sind demnach an Calcium- und Phosphationen übersättigt.

Zahnhartsubstanz kann sich aus zwei Gründen in Säure auflösen (110):

1.: Hydrogen- und Hydroxylionen reagieren miteinander zu Wasser.



Das Produkt von $[\text{H}^+]$ und $[\text{OH}^-]$ beträgt immer $10^{-14} \text{ (mol/L)}^2$. In saurer Lösung nimmt $[\text{H}^+]$ zu. $[\text{OH}^-]$ hingegen wird umgekehrt proportional niedriger.

2 Literaturübersicht

2.: Anorganisches Phosphat liegt in vier verschiedenen Formen vor (s. o.). Je nach pH-Wert stehen die einzelnen Phasen in unterschiedlichem Verhältnis zueinander.

Je niedriger der pH-Wert, desto geringer wird die Konzentration von PO_4^{3-} . Diese Phase allerdings ist die einzige, die zum Ionenprodukt von Hydroxylapatit beiträgt.

Bei niedrigem pH-Wert bleibt demnach die Calciumkonzentration konstant, OH^- und PO_4^{3-} jedoch liegen in geringerer Konzentration vor. Für diesen Fall gilt: $I_p < L_p$.

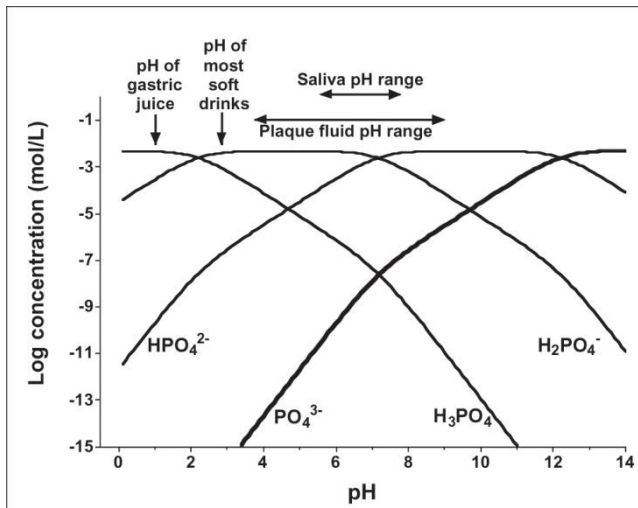


Abbildung 6: Konzentration der Phosphatphasen bei unterschiedlichen pH-Werten.
Nach C. Dawes, 2003 (111)

2.5 Remineralisation

„Remineralisation ist die Einlagerung von Mineral in ein Zahnareal, aus dem es zuvor herausgelöst wurde. Einer Remineralisation muss somit eine Demineralisation vorausgehen.“ (112)

Durch die der Remineralisation vorausgehende Demineralisation findet, bedingt durch die Säureeinwirkung, eine Oberflächenvergrößerung in Bezug auf das Schmelzrelief statt. Remineralisierenden Ionen wird somit ein erleichterter Zugang zur Zahnoberfläche gewährleistet. Der Einfluss der Säure auf die Zahnhartsubstanz ruft einen protonisierten Apatit hervor, dessen PO_4^{3-} -Ionen durch Protonisierung in Form von HPO_4^{2-} oder H_2PO_4^- -Ionen vorliegen. Die Mineralien weisen einen Mangel an Calcium auf. Des Weiteren findet man zahlreiche OH^- Leerstellen. (113)

Mit dem Beenden der Säureeinwirkung sinkt allmählich der Einfluss der Protonen auf die Zahnhartsubstanz. Soll eine remineralisierende Wirkung erzielt werden, ist es erforderlich, dass die interkristalline Flüssigkeit in Bezug auf Apatit übersättigt ist. Eine hohe Konzentration von Calcium-, Phosphat- und Hydroxylionen gewährleistet dies. (114)

Wissenschaftliche Untersuchungen beweisen, dass eine hohe Konzentration an OH^- -Ionen benötigt wird, um Protonen abzufangen. So tragen diese zum Erreichen eines neutralen pH-Werts bei und dienen der Repräzipitation von Apatit. ((115), vgl. auch Abschnitt 2.4.3)

Bedingt durch einen niedrigen pH-Wert während der Demineralisationsschübe, der nicht selten den Wert von 5 unterschreitet, ist die Konzentration von OH^- -Ionen jedoch limitiert (ca. 10^{-9} mol/l) (vgl. Abschnitt 2.4.3). Aus diesem Grund kann bei einem pH-Wert von 5 und den Calcium- und Phosphatkonzentrationen, die unter normalen Bedingungen in der Speichelflüssigkeit enthalten sind, das Löslichkeitsprodukt des Apatits nicht überschritten werden. (116)

Gray und Francis behaupteten, dass eine Rekristallisation von Zahnhartsubstanz auch im sauren Milieu möglich sei. (117) Als Produkt soll ein

2 Literaturübersicht

Mineral entstehen, welches auch bei niedrigen pH-Wert säureresistenter ist als solche, die labiler auf niedrige pH-Werte reagieren. Es lagert sich in 2 nm dicken Schichten auf. Die chemische Analyse dieser Mineralkristalle ist jedoch schwierig. Cromerlin nimmt an, dass sich bei moderaten Konzentrationen von Fluorid und Apatit FHAP niederschlägt. (118) Des Weiteren wird vermutet, dass unter niedrigem pH-Wert DCPD oder bei größeren F^- Konzentrationen auch CaF_2 entsteht. (119)

Innerhalb der ersten zwei Wochen erfolgt der meiste Zuwachs an Zahnhartsubstanz durch Repräzipitation. (120)

Knappwost stellte 1952 die Behauptung auf, dass eine kariöse Läsion nur dann entstehen könne, wenn die Demineralisationsgeschwindigkeit der Zahnhartsubstanz größer sei als die Remineralisation. Er erkannte bereits damals den dynamischen Zusammenhang in Bezug auf das Remineralisationsgeschehen. (121)

Demnach wird die Remineralisation gefördert, wenn die kariogenen Säureangriffe dezimiert werden und zwischen diesen eine möglichst lange Phase mit neutralem pH-Wert liegt. Auch sollte das Schmelzrelief gut zugänglich für remineralisierende Ionen und Speichel sein.

Backer und Dirks führten 1966 die ersten Remineralisationsversuche auf wissenschaftlicher Basis durch. Sie beobachteten bereits damals das Erscheinungsbild von sogenannten 'Reversals', d. h. dem Verschwinden von initialen, kariösen Läsionen durch Repräzipitationsprozesse.

Die initial kariösen Läsionen, die auch als Kreideflecken (*'white spots'*) bezeichnet werden, weisen eine intakte Deckschicht von 0,03 mm über der initialen Läsion auf. Diese Deckschicht beruht auf einer Repräzipitation von Kalzium- und Phosphationen (122) und bildet die Voraussetzung für das Remineralisationsgeschehen. (123, 124) Remineralisation von Defekten, welche durch Erosion entstanden sind, ist nicht möglich, da hier die geeignete Matrix für das Kristallwachstum fehlt.

Ein Verletzen der Oberflächenschicht der 'subsurface lesions', beispielsweise durch Sondierung, kann demnach die Remineralisation behindern oder gänzlich

2 Literaturübersicht

verhindern. (125) Van der Fehr (126) und Loe (127) stützen Backer-Dirks Ergebnisse durch ihre Studien, die anhand der katalysierenden Wirkung von Fluoriden erhoben wurden.

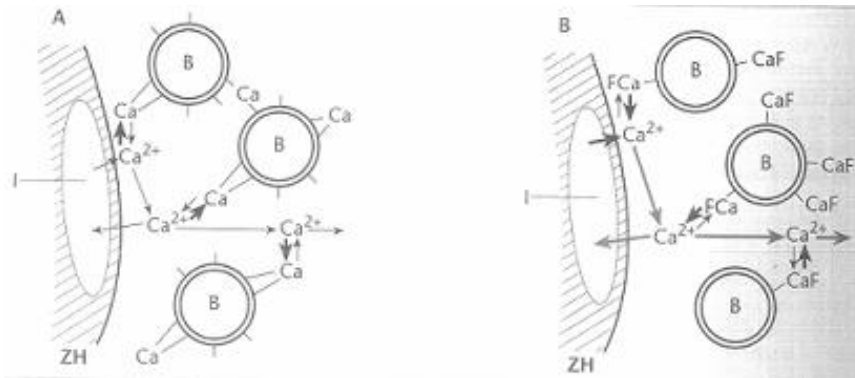


Abbildung 7: Die durch Fluorid hervorgerufene Senkung der Bindungsaffinität des Calciums erhöht dessen Beweglichkeit innerhalb der Plaque, erhöht und fördert somit die Remineralisation nach bakteriellem Säureangriff. I= initiale kariöse Läsion, ZH= Zahnhartsubstanz.

A: grampositive Bakterien binden an Calcium. Deren Oberfläche ist meist negativ geladen. Die Bindung erfolgt ionisch und ist somit hochaffin. Calcium verfügt über zwei Bindungsstellen. Sie binden sich entweder an zwei verschiedene oder die gleiche mikrobielle Zelle. Der Anteil an freiem Calcium ist gering.

B: in Anwesenheit von Fluorid verfügt Calcium nur noch über eine freie Bindungsstelle, was seine Bindung an Mikroorganismen nachhaltig schwächt bzw. den Anteil an nichtgebundenen Calcium innerhalb der Plaque erhöht. Calciumionen können schnell diffundieren, die Bildung von CaF wird begünstigt.

(Nach Sanderink, 2004 (128))

2.5.1 Remineralisation durch Speichel

Betrachtet man die enormen kariösen Läsionen von Patienten, die an Xerostomie leiden, wird die kariesprotektive Wirkung des Speichels deutlich. (129)

Biochemische Parameter innerhalb der Speichelflüssigkeit, die das Remineralisationsverhalten positiv beeinflussen, können jedoch nicht nur auf Calcium und Phosphat reduziert werden. Daneben spielen unterstützende Faktoren wie die Pufferkapazität, der Reinigungseffekt und die antibakterielle Wirkung der oben bereits genannten organischen Bestandteile der Speichelflüssigkeit eine nicht zu vernachlässigende Rolle. Prolinreiche Proteine beispielsweise, die von der Zahnoberfläche adsorbiert werden, fördern die Remineralisation durch deren Affinität zu Calcium-Ionen. (130,131)

2 Literaturübersicht

Es konnte ein umgekehrt proportionales Verhältnis zwischen dem Vorkommen von Calcium und anorganischen Phosphat innerhalb der oralen Plaque und dem Auftreten von Karies beobachtet werden. (132, 133) Vergleicht man die Parameter der Mundhöhle von kariesaktiven und kariesfreien Personen, so stellt man fest, dass die Plaqueflüssigkeit der Menschen mit niedriger Kariesaktivität eine höhere Konzentration von Calcium und Phosphaten aufweist. (134)

Demnach kann hier während eines pH-Wert-Abfalls relativ betrachtet über einen längeren Zeitraum eine Übersättigung in Bezug auf Calcium und Phosphat aufrechterhalten werden.

Dawes und Jenkins beobachteten, dass die geringere Kariesanfälligkeit der unteren Frontzähnen darauf beruht, dass die orale Plaque an dieser Stelle, verglichen mit anderen Bereichen der Mundhöhle, eine höhere Konzentration von Calcium und anorganischen Phosphaten aufweist. (135)

Wissenschaftliche Untersuchungen zeigten, dass bezüglich der nicht mikrobiellen Parameter der Speichelflüssigkeit, die Speichelfließrate den größten Einfluss auf das Remineralisationsverhalten ausübt. Zwischen der Entwicklung von Karies und der Speichelfließrate zeigte sich jedoch kein linearer Zusammenhang. (136)

Dawes wies nach, dass die Remineralisationsrate innerhalb der Mundhöhle bei hoher Ruhesekretionsrate am größten ist. (137)

Weitere wissenschaftliche Untersuchungen konnten ergänzen, dass dynamischer Speichel, wahrscheinlich aufgrund von Konvektionsprozessen, höhere Erfolge in Bezug auf das Remineralisationsverhalten ausüben kann als Speichel, der immobil ist. (138)

Wantanabe und Dawes verglichen die Veränderungen der Speicheltätigkeit nach Konsum von Kaugummi und sauren Bonbons miteinander. Die durch Säure bedingte Vergrößerung der Speichelfließrate war um ein Vielfaches größer als die, die durch gewöhnliches Kaugummikauen erzielt werden konnten. (139) Diese Beobachtung führen Turner und Sugiyama auf eine stärkere Reizung des Nervus sympathicus zurück. (140)

2 Literaturübersicht

Silverstone stellte vergleichende Untersuchungen von Speichelproben und artifiziell hergestellten calciumphosphathaltigen Lösungen an. Er beobachtete, dass die natürliche Speichelflüssigkeit nach 5 Tagen keine remineralisierenden Effekte mehr aufwies. Bei künstlichen Speichellösungen beobachtete man hingegen erst nach 10 Tagen keine weiteren Remineralisationsvorgänge. Sowohl bei den natürlichen, als auch bei artifiziell erzeugten Speichelproben gingen die Remineralisationsprozesse mit einer Reduktion der Porengröße einher. (141)

Verglichen mit künstlich erzeugten Speichellösungen, die mit höheren Calciumphosphatkonzentrationen angereichert sind, remineralisiert natürlicher Speichel in der Regel geringfügiger. (142, 143)

Wissenschaftler vermuten, dass sich diese Beobachtungen dadurch begründen lassen, dass sich innerhalb des natürlichen Speichels Inhaltsstoffe befinden, die Calcium- und Phosphationen binden können. Sie stehen für eine Remineralisation nicht mehr zur Verfügung. Auch werden Stoffe diskutiert, die das Kristallwachstum hemmen. In diesem Zusammenhang beobachtete man, dass Statherine bereits bei einer geringen Konzentration von $0,4 \mu\text{M}$ (Parotis-Speichel besitzt eine Konzentration von $0,5 \mu\text{M}$) kinetische Einflüsse in Bezug auf Kristallisation ausüben. Man führt dies auf die Adsorption der Makromoleküle durch die Kristalloberflächen zurück, die somit im Aufnehmen weiterer Minerale behindert werden. (144)

2 Literaturübersicht

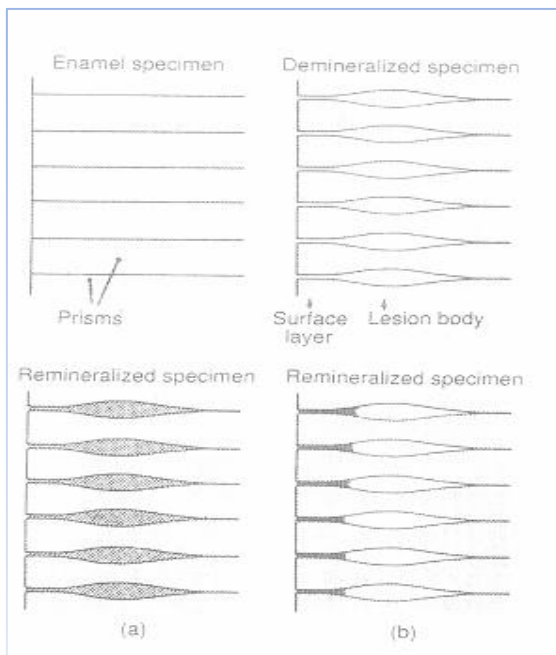


Abbildung 8: Schema der Entstehung und Remineralisierung einer kariösen Läsion. a) Tiefenremineralisation; b) Deckschichtenbildung. Nach ten Cate, 1992 (145)

Die Wahrscheinlichkeit einer Auflagerung ohne Tiefenmineralisation ist bei zunehmender Konzentration von Calcium- und Phosphationen relativ groß. Zwar steigt die Menge des Mineralzuwachses, doch nimmt dadurch ebenso die Wahrscheinlichkeit einer Repräzipitation zu, die lediglich der Zahnoberfläche aufgelagert ist und nicht die Tiefe der Läsion erreicht. Oberflächliche Auflagerung von Zahnhartsubstanz kann demnach nicht als Remineralisation aufgefasst werden. Moreno und Zahnradnik

empfehlen, remineralisierende Untersuchungen, die *in vitro* durchgeführt wurden, in Zusammenhang mit *in situ* Untersuchungen zu setzen. (146)

Die Funktion eines Pellikels soll ebenfalls nicht außer Acht gelassen werden. Die von Zahnradnik diesbezüglich durchgeführten Forschungen deuteten an, dass das Vorhandensein eines Pellikels einem Ausfällen von Zahnhartsubstanz entgegenwirkt.

Aus diesem Grund stellten Meyer-Lückel und Kielbassa den Versuch an, Speichersatzflüssigkeit mit Muzinen anzureichern, welche Calciumionen in Form eines Komplexes binden sollten. Es stellte sich heraus, dass Speichersatzflüssigkeit, die mit Muzinen angereichert wurde, selbst bei niedrigen Calciumphosphatkonzentrationen die Demineralisation von boviner Zahnhartsubstanz verhindern konnte. (147)

Hara, Karlinsey und Zero verglichen das Remineralisationsverhalten unterschiedlich hoher Calciumphosphatkonzentrationen miteinander. Dafür

2 Literaturübersicht

legten sie in Scheiben geschliffene Rinderzähne, die zuvor in 1%iger Zitronensäure demineralisiert wurden, für 3, 7 und 14 Tage in künstliche Speichelflüssigkeit mit unterschiedlichem Verhältnis von Calciumphosphat (Ca:P_i) und unterschiedlicher Calciumphosphatkonzentration (Ca/P_i Konzentration (mM)). Es stellte sich heraus, dass die Schmelzproben, die in einer Flüssigkeit mit verhältnismäßig niedrigen Calciumphosphatverhältnis (Ca:P_i von 0,3) und der höchsten P_i -Konzentration (Ca/P_i Konzentration (mM): 1,45/5) behandelt wurden, die besten Resultate in Bezug auf das Remineralisationsverhalten zeigten. (148)

McCann und Brudevold mutmaßten bereits 1966, dass die Anwesenheit von geringen Fluoridmengen essentiell der Förderung zur Remineralisation beitragen kann, mehr noch als die alleinige Anwesenheit von Calciumphosphat. (149)

Untersuchungen von zahlreichen Wissenschaftlern konnten seither bestätigen, dass die Anwesenheit von Calciumphosphaten und Fluoriden einen verstärkenden Effekt auf das Remineralisationsverhalten besitzt. (150, 151)



Abbildung 9: Elmex rot: 1400 ppm

2.5.2 Remineralisation durch Fluorid

„Die Bedingungen für Remineralisation werden günstiger, wenn an die Stelle der fehlenden OH-Ionen F-Ionen treten können.“ (152)

2.5.2.1 Allgemeines

Fluoride sind die Salze der Fluorwasserstoffsäure. Sie sind in vielen Mineralien vertreten. (153) Des Weiteren findet man Fluoride im Trinkwasser (0,02-1,8 mg/l), im Erdboden (80-100 ppm) und in der Luft (0,1-1,3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$). (154) (Anmerkung: ppm = 'parts per million'. 1000 ppm entspr. 0,1% bzw. 1000 mg/l.)

So gelangen Fluoride in den menschlichen Nahrungskreislauf und auf diesem Wege in den Körper. (155)

2.5.2.2 Systemische Wirkung von Fluoriden

Durch orale Aufnahme gelangen Fluoride in den Magen-Darm-Trakt: Dort werden sie rasch resorbiert und verteilen sich mit dem Blut im Körper. Aufgrund der hohen Affinität von Knochen und Zahnhartsubstanzen zu Fluoriden werden diese verstärkt dort angereichert. (156)

Man unterscheidet in Bezug auf Zahnhartsubstanzen die *präeruptiven* von den *posteruptiven* Wirkungen von Fluoriden: Die präeruptive Wirkung findet zwischen dem Abklingen der Ameloblastentätigkeit bis zum Zahndurchbruch statt. (157) Die Fluoridadsorption durch die Zahnhartsubstanz geht von der Interstitialflüssigkeit des Perikoronarraums aus. Von dort aus findet die Fluoridanreicherung innerhalb der oberflächlichen Schmelzschichten statt. Deren Konzentration nimmt in den tieferen Schmelzschichten ab. (158)

2 Literaturübersicht

Während der Geburt ist das Stadium der präeruptiven Schmelzhärtung noch nicht erreicht. Aus diesem Grund erachten es die meisten Wissenschaftler nicht als sinnvoll, fluoridhaltige Präparate bereits während der Schwangerschaft einzunehmen. (159)

Lemke beobachtete, dass ein kariespräventiver Effekt, der innerhalb der ersten Lebensjahre erworben wurde, nach wenigen Jahren wieder abhanden kam. Lemke folgerte daraus, dass es keine konstitutionelle Resistenzerhöhung durch Fluoride gibt. (160)

Mühlemann postulierte, dass durch Applikation fluoridhaltiger Präparate nach Zahndurchbruch (posteruptiv) der Verlust präeruptiv erworbener Fluorid-anreicherungen dezimiert wird. (161) Die posteruptive Wirkung wird durch das lokale Einwirken von Fluoriden auf die bereits durchgebrochenen Zähne durch Speichel und Nahrung erreicht.

2.5.2.3 Lokale Wirkung von Fluoriden

Die über die sekretierte Speichelflüssigkeit oder aber über Nahrungs- und Flüssigkeitszufuhr in die Mundhöhle gelangten Fluoride sind befähigt mit der Zahnoberfläche zu reagieren. Innerhalb bakterieller Plaqueverbände werden 98% des Fluorids im Inneren der Bakterienzelle gespeichert. Demnach kann nach der Applikation von Fluorid in hoher Menge die 'Erhaltungskonzentration' niedrig sein.

Fluorid passiert die Beläge fast ungehindert. (162) Trifft Fluorid in geringen Konzentrationen auf die Zahnhartsubstanz, kann es von dieser adsorbiert werden und somit das Mineral stabilisieren. (163) Dies geschieht wie folgt: Da Apatit in den meisten Fällen nicht in reiner Form vorliegt und oft eine Unvollständigkeit in Bezug auf OH⁻-Ionen aufweist, kann Fluorid die defekten Plätze innerhalb des Kristallgitters füllen. Dies ist aufgrund des annähernd gleichen Durchmessers des Fluorid-(1,33 Å) und des OH⁻-Ions (1,32 Å) möglich. Es entsteht Fluorapatit:



2 Literaturübersicht

Dem Kristallgitter widerfährt keine Veränderung in Bezug auf seine Anordnung. (164) Es zeigt allerdings eine größere Beständigkeit gegenüber Säureangriffen. (165) Featherstone bewies, dass fluoridhaltiger Zahnschmelz die Entstehung von Karies nicht langfristig abwenden kann. (166) Anhand von Experimenten mit Haifischzähnen, die ausschließlich aus Fluorapatit bestehen, wurde gezeigt, dass Fluorid, das innerhalb des Kristallgitters der Zahnhartsubstanz enthalten ist, einen weniger kariespräventiven Effekt zeigt als frei verfügbare Ionen. (167)

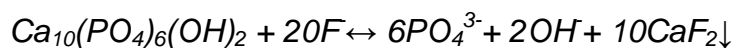


Abbildung 10: Scanning electron micrograph: Zahnoberfläche, die mit 3mM Calcium-Fluoridlösung behandelt wurde. Zu beobachten: Kristallwachstum, ausgehend von der Schmelzoberfläche (168)

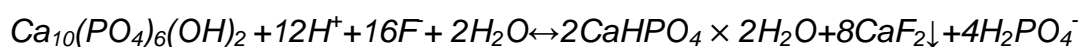
Untersuchungen durch Koulourides ergaben, dass bei der artifiziiellen Zugabe von Calcium, Phosphat oder Fluoridionen zwar zunächst die Remineralisationsrate von natürlichem Speichel zu beobachten war, die initial kariösen Läsionen wurden jedoch nicht gänzlich remineralisiert. Auch konnte die Ausgangshärte der Zahnhartsubstanz nicht wieder hergestellt werden. (169)

Diese Resultate ließen die Bildung einer der oberen Schmelzschicht auflagernden Substanz (Deckschichtausbildung) vermuten, die eine Tiefendiffusion verhindert. (170)

Mittlerweile weiß man, dass bei Applikation von höheren Fluoridkonzentrationen Calciumfluorid (CaF_2) entsteht.



Bei niedrigem pH-Wert liegt Phosphat allerdings nicht als PO_4^{3-} , sondern in Form von H_2PO_4^- und H_3PO_4 vor. Auch erfolgt die Bildung von Brushit (171):



2 Literaturübersicht

Calciumfluorid erfüllt eine Reservoir-Funktion. Während kariogener Säureangriffe lösen sich einzelne Fluoridionen aus dem Reservoir und stehen den De- und Remineralisierungsprozessen der Zahnhartsubstanz zur Verfügung. (172) Die Formation einer derartigen Deckschicht auf der Oberfläche der Zahnhartsubstanz stellt die bedeutungsvollste Reaktion dar, die bei einer kurzen Anwendung fluoridhaltiger Produkte entsteht. (173)

Mühlemann teilte den Entstehungsprozess der calciumfluoridhaltigen Deckschicht in eine Sofort- und eine Spätreaktion ein. Erstere beschreibt die Aufgliederung von Apatit und die Bildung der nun frei gewordenen Calciumionen mit Fluorid; als Spätreaktion wiederum wird das dauerhafte Abgeben kleiner Fluoridmengen ausgehend von der Calciumfluoriddeckschicht bezeichnet. (174)

Larsen und Jensen erläuterten, dass eine calciumfluoridhaltige Deckschicht in zwei Phasen gebildet wird: Zunächst lösen sich die Calciumionen aus der Zahnhartsubstanz. Anschließend reagiert das Calcium mit den Fluoridionen. (175)

In vivo ist Calciumfluorid unmittelbar nach dessen Bildung eine Schicht aus Proteinen und Phosphaten aufgelagert, welche bei neutralem pH-Wert stabilisierende Funktion besitzen. Sinkt nun der pH-Wert, binden Phosphationen an die Protonen und wirken sich somit schützend auf den Erhalt der Calciumfluoridschicht aus. (176, 177)

Um die Entstehung einer calciumfluoridhaltigen Deckschicht zu potenzieren, ist demnach ein niedriger pH-Wert förderlich.

Innerhalb der durch Säureeinwirkung entkalkten Zahnhartsubstanz sind Fluoride dazu befähigt, Protonen aufzunehmen. Weiterer Entkalkung wird somit entgegengewirkt. Calcium kann wieder in das Kristallgitter eingegliedert werden. (178) Dies lässt sich durch seine starke Elektronegativität begründen. Demnach kann Fluorid bei niedrigem pH-Wert den HPO_4^{2-} das Proton entziehen und somit die Remineralisation der Zahnhartsubstanz fördern. (179)

2 Literaturübersicht

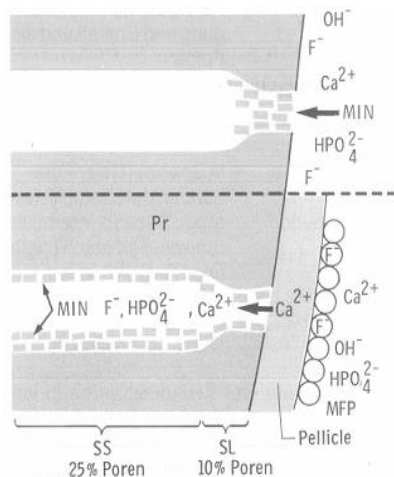


Abbildung 11:
Remineralisationsverläufe: oben:
Calciumfluoriddeckschicht, unten:
Tiefenremineralisation (180)

Untersuchungen konnten belegen, dass bei einem neutralen pH-Wert Fluoridkonzentrationen von 300 ppm, bei pH-Wert 5 allerdings nur eine Konzentration von 100 ppm Fluorid ausreicht, um die Entstehung einer Calciumfluoriddeckschicht zu provozieren. (181)

Die Calciumfluoriddeckschicht stellt sich in Form von kleinen, unregelmäßigen Globuli mit einer Größe von $< 1 \mu\text{m}$ dar, welche elektronenmikroskopisch erkennbar und bis in eine Läsionstiefe von $40 \mu\text{m}$ zu finden sind.

(182)

In mikroskopischen Untersuchungen kariöser Läsionen, die bei niedrigem pH-Wert mit Fluoriden behandelt wurden, ließ sich beobachten, dass die Transportkanäle des Zahnschmelzes bis in eine Tiefe von $20 \mu\text{m}$ mit CaF_2 -Granulaten blockiert waren.

Eine Tiefendiffusion hat demnach nicht stattgefunden. (183) Silverstone machte bereits 1982 diese Entdeckung. (184) Auf seine Untersuchungen stützt sich die 'Theorie der Kristallwachstumshemmung'. Sie besagt, dass bei enormen Calcium- und Fluoridkonzentrationen eine Blockade der oberflächlichen Transportkanäle stattfindet. Dies wird vor allem dann beobachtet, wenn die Zahnoberfläche vollständig gereinigt, also frei von Pellicel und Bakterienbelägen ist.

2 Literaturübersicht

Beobachtungen, die einen Porenverschluss durch Applikation hochkonzentrierter fluoridhaltiger Produkte beschreiben, fasste Knappwost seinerseits im Prinzip der 'mineralischen Schmelzversiegelung' zusammen. (186)

König vermutet, dass eine Tiefenmineralisation durch sekundäre Auflösung und Repräzipitationsprozesse stattfindet, allerdings nur dann, wenn die 'Bedingungen günstig sind'. (187)

Saxegaard und Rølla fanden mit Hilfe der 'scanning electron microscopy' heraus, dass die Calciumfluoridglobuli aus Mikrokristallen bestehen. (188)

Spätere Untersuchungen zeigten, dass Calciumfluorid während seiner Bildungsphase mit Phosphat 'kontaminiert' werden kann, welches ins Kristallgitter eingegliedert wird und die Löslichkeit des mineralhaltigen Präzipitats herabsetzt. (189) Weitere Beobachtungen legen dar, dass nach der initialen Bildung eines Calciumfluorid-Präzipitats eine geringer gesättigte Lösung ausreicht, um Kristallwachstum hervorzurufen. (190) Einige Jahre später fand man heraus, dass die Anwesenheit von Speichel die Bildung einer Calciumfluoridschicht potenziert. (191) Deren Ausbildung wird desweiteren durch eine hohe Konzentration von Calcium innerhalb bakterieller Plaqueverbände gefördert. (192)

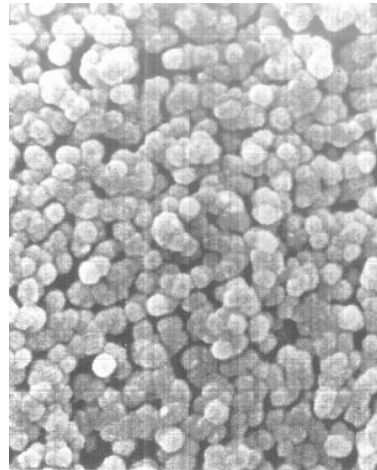


Abbildung 12: scanning electron microscope: Kalziumglobuli (185)

Zusammenfassend ist zu sagen, dass der kariespräventive Effekt einer calciumfluoridhaltigen Deckschicht insbesondere darauf beruht, dass beständig geringe Konzentrationen von Fluoriden freigesetzt werden und somit über die Zeit der unmittelbaren Anwendung fluoridhaltiger Produkte hinaus prophylaktisch wirken können. (193) Dabei können Spuren von Calciumfluorid noch Monate und Wochen nach einmaliger Fluorid-Behandlung nachgewiesen werden. (194)

2 Literaturübersicht

Bezüglich des Löslichkeitsverhaltens von Calciumfluorid ist anzumerken, dass dieses sich in Speichelflüssigkeit schwerer löst als in der Umgebung von Wasser. (195) Calciumfluorid lässt sich von KOH auflösen, Fluorapatit hingegen nicht. (196)

Der größte Anteil der applizierten Fluoridmenge wird bereits in wenigen Stunden eingebüßt. Allerdings ist in dieser Zeitspanne eine erhöhte Fluoridkonzentration innerhalb der Speichelflüssigkeit zu finden. Wissenschaftliche Untersuchungen belegen ein erhöhtes Fluoridaufkommen noch zwei Stunden nach Einsatz fluoridhaltiger Zahncremes. (197) In diesem speziellen Fall handelte es sich um Zahnpasten mit Amin- und Natriumfluoriden, wobei aminfluoridhaltige Produkte besser abschnitten (s. u.).

Auf einer ebenen, nicht kariös veränderten Schmelzoberfläche, ist der Halt einer Calciumfluoriddeckschicht nur begrenzt geboten. (198) Zeitweise wendeten Wissenschaftler ein Verfahren an, bei dem der Zahnschmelz vor der Fluoridierung durch Anätzen aufgeraut wurde. Als Resultat konnte man, verglichen mit einer glatten, unveränderten Schmelzoberfläche, eine höhere Resistenz gegenüber Säureangriffen feststellen. (199)

Des Weiteren ist Fluorid in der Lage, als eine Art Katalysator in Bezug auf die OCP-Umwandlung zu fungieren und somit das Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisation in Richtung der Remineralisation zu verschieben. (200) Dies lässt sich dadurch begründen, dass die Bildung von Hydroxylapatit thermodynamisch begünstigt ist. (201) Deshalb ist es möglich, dass mikroskopisch kleine kariöse Defekte innerhalb der Zahnhartsubstanz behoben werden können.

2.5.2.4 Fluoridformen

Anorganische Fluoride:

- Monofluorophosphat (MFP): enthält nicht ionisch, sondern komplex gebundenes Fluorid. Aus diesem Grund erweist sich dieses Produkt als sehr stabil. Es dringt langsamer in die Zahnhartsubstanz ein. Darum erfolgt die

2 Literaturübersicht

Penetration von Fluorid in den oberen Bereichen der Zahnhartsubstanz schwächer als nach Behandlung mit ionisch gebundenen Fluoriden. Es diffundiert in den Zahnschmelz und wird gegen Phosphat ausgetauscht.

(202)

- Natriummonofluorophosphat: komplex gebundenes Fluorid; bleibt löslich und kann reaktive Fluoridionen an Zahnhartsubstanzen abgeben und gleichzeitig mit calciumhaltigen Putzkörpern angereichert werden. (203) Es soll die Eigenschaft besitzen, CHX zu neutralisieren. (203)
- Natriumfluorid: ionisch gebundenes Fluorid, verbindet sich mit Putzkörpern wie Calciumkarbonat. (204)
- Zinnfluorid (SnF_2): ionisch gebundenes Fluorid. Neben FHAP bilden sich unlösliche Zinnkomplexe. (205) Auf bakterielle Plaqueverbände übt Zinnfluorid eine dezimierende Wirkung aus. (206) Dies bezieht sich auch auf Bakterienbeläge parodontaler Taschen. (207) Bei zinnfluoridhaltigen Produkten besteht jedoch die Möglichkeit dunkler Verfärbung.

Organische Fluoride:

- Aminfluoride: ionisch gebundenes Fluorid. Das bekannteste Fluorid ist das sogenannte 'Olaflur'. An das Fluorid-Ion ist ein organischer Fettsäurerest gebunden. Durch eine hydrophobe Kohlenwasserstoffkette, gepaart mit einem hydrophilen Aminkopf hat es die Fähigkeit, Oberflächen gut zu benetzen. Durch ihr Trägermolekül erhalten sie diffusionsbeschleunigende Wirkung und eine Verbesserung der detergierenden Fähigkeiten. Aminfluorid verfügt über eine geringe antibakterielle Wirkung. Es weist einen pH-Wert von 4,5 bis 5,0 auf. (208)

Vergleicht man die Wirkung von Aminfluoriden mit der von saurem und alkalischem Natriumfluorid, so lässt sich eine doppelte bis vierfache Fluorideinlagerung beobachten. Diese Eigenschaft lässt sich durch das bessere Diffusionsverhalten des Aminfluorids erklären. (209)

Wissenschaftliche Untersuchungen haben gezeigt, dass Aminfluorid in Kombination mit Zinnfluorid im Speziellen über besonders antibakterielle Funktionen verfügt. Unter Luftkontakt wird diese Wirkung abgeschwächt. (210)

CaF₂ bildet sich insbesondere bei hoch konzentrierten ionisch gebundenen Fluoridionen wie Aminfluorid, Natriumfluorid oder Zinnfluorid. Bezüglich der Wirksamkeit der Fluoride ist das Aminfluorid das effektivste. Darauf folgen Natriumfluorid und Zinnfluorid. (211)

Natriummonofluorophosphat hingegen stellte sich als weniger wirksam heraus und findet in der Zahnmedizin heute kaum noch Verwendung. (212)

2.5.3 Moderne Innovationen

2.5.3.1 Recaldent

Seit geraumer Zeit ist bekannt, dass Milch und Milchprodukte kariesprotektive Eigenschaften besitzen. (213, 214)

Reynolds u. Johnson konnten bereits 1981 nachweisen, dass Ratten, die Milch konsumierten, weniger Karies aufwiesen als solche, die ausschließlich Wasser tranken. (215)

Man fand heraus, dass durch das Trinken von Milch der Abfall des pH-Wertes reduziert wird. Milch besitzt, bedingt durch den Protein- und Phosphatgehalt, gute Puffer-Eigenschaften. (216, 217)

Insbesondere aber beruht der hauptsächliche kariesprotektive Effekt darauf, dass Milch in Bezug auf die verschiedenen Calciumphosphatphasen (s. o.) übersättigt ist. Deshalb kann während der Remineralisation Hydroxylapatit rekristallisieren. (218) Dadurch wird die Demineralisation verringert und die Remineralisation gefördert. (219) Aus diesem Grund hat Milch trotz des hohen Anteils an Milchezucker gute remineralisierende Eigenschaften. (220)

Wissenschaftliche Untersuchungen konnten nachweisen, dass der Konsum von Käse die Konzentration von Calcium innerhalb experimenteller Plaque deutlich erhöhte. Dies wiederum wirkt sich ebenso förderlich auf das Remineralisationsgeschehen aus. (221)

Krobicka konnte die antikariogene Wirkung von Cheddarkäse belegen, indem er die kariesprotektive Wirkung der Speichelflüssigkeit ausschaltete. Er ließ Ratten die Sublingual- und Submandibulardrüse entfernen, der Ductus paroticus wurde durch Abbinden verschlossen. Der durch das Fehlen der Speichelflüssigkeit

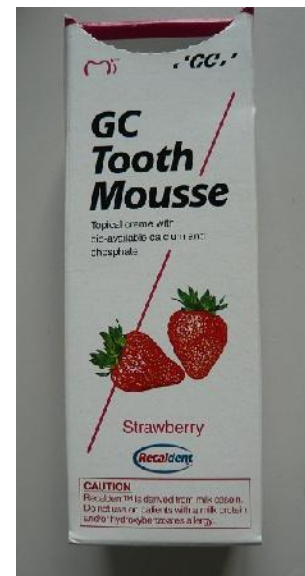
2 Literaturübersicht

entstandene Mangel an Calcium- und Phosphationen konnte durch den Konsum von Cheddarkäse substituiert werden.

Auch Milchproteine zeigen antikariogene Eigenschaften. In diesem Zusammenhang ist beispielsweise das Phosphoprotein Proteose zu erwähnen. Es zeigte in vitro gute kariesprotektive Funktionen. (222) Allerdings sind seine Konzentrationen in situ so gering, dass klinisch diesbezüglich keine Relevanz besteht. Molke aus Hüttenkäse hingegen weist auch in situ gute remineralisierende Fähigkeiten auf und hat demnach mehr Potential als Proteose. Unter den Milchproteinen nimmt das Casein eine besondere Stellung ein: Seit geraumer Zeit konnte dessen antikariogenes Potential durch Untersuchungen bestätigt werden. (223, 224, 225)

E. C. Reynolds sah großes Potential in diesem Milchprotein und führte hiermit umfangreiche Untersuchungen durch. Er sammelte mitunter supragingivale Plaque, gab diese in ein Behältnis mit Schmelzproben welche an einer Vorrichtung innerhalb der Mundhöhle angebracht wurden. Quadrantenweise wurden besagte Schmelzproben mit unterschiedlichen Lösungen penetriert. Die linke Seite wurde diversen Zucker- und Salzlösungen ausgesetzt, die rechte Seite Zucker- und Caseinlösungen. Das Peptid Casein reicherte sich innerhalb der Plaqueproben an. Man fand heraus, dass nach Anreicherung der Plaque mit Casein auch die Konzentration von Calciumphosphat anstieg. Die Demineralisation der Schmelzproben wurde in diesem Bereich signifikant verringert.

Immunologische Untersuchungen konnten nachweisen, dass die Penetration oraler Plaque durch Casein keine signifikanten Wechsel der Zusammensetzung von Plaquebakterien hervorrief. Reynolds schlussfolgerte daraus, dass die



2 Literaturübersicht

antikariogene Wirkweise von Casein darauf beruht, dass es einen stabilisierenden Effekt auf Calciumphosphat ausübt. (226)

Auch Iijima konnte den remineralisierenden Effekt von Casein nachweisen. Die behandelten Entkalkungsstellen waren nicht nur um die Hälfte reduziert, die Zahnhartsubstanz war auch widerstandsfähiger gegen erneute Entkalkung als nativer Zahnschmelz. (227)

Es hat sich allerdings bestätigt, dass Casein anfällig gegenüber der Hydrolyse durch proteolytische Enzyme ist. (228, 229)

Zunächst allerdings wurde dessen Verwendung als kosmetisches Produkt bezweifelt, da Casein selbst einen eher unangenehmen Geschmack besitzt. Auch liegt es nicht in entsprechend konzentrierter Form in Milch und Milchprodukten vor. (230)

Die Caseinanteile der normalen Kuhmilch lassen sich in folgende Subtypen unterteilen: Sie setzen sich zu 54% aus α -, zu 32% aus β - und zu geringen Anteilen auch aus κ -Casein zusammen. (231) Deren Unterschiede liegen in der Anordnung der Aminosäuren. Sie weisen eine starke Bindungsaffinität zu Hydroxylapatit auf und haben somit die Eigenschaft, die Löslichkeit von Hydroxylapatit herabzusetzen. (232)

Man fand heraus, dass insbesondere α_{s1} -Casein eine enorme Bindungsfähigkeit in Bezug auf Calcium und Phosphaten aufweist. (233, 234) Folglich ist der Anstieg von Calciumphosphat innerhalb der Plaque vorwiegend dem α_{s1} -Casein zuzuschreiben. Besonders lässt sich dies unter alkalischen Bedingungen (pH 7,0-9,0) beobachten. (235)

Wird α_{s1} -Casein vor der Anwendung durch das Verdauungsenzym Trypsin gespalten und somit um das Zehnfache verkleinert, verschwindet der unangenehme Geschmack. Auch wird das allergisierende Potential herabgesetzt. (236) Des Weiteren ist es ausreichend klein, um durch die 'focal holes' in die kariöse Läsion eindringen zu können. (237)

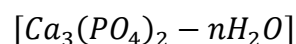
2 Literaturübersicht

Um den genauen kariesprotektiven Wirkmechanismus von Casein zu ergründen, führten Reeves und Latour diesbezüglich genauere Untersuchungen durch:

Sie wiesen nach, dass das Caseinphosphopeptid (CPP) eine Anhäufung von Phosphoseryl-Rückständen der Reihenfolge -Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-beinhaltet, die eine starke Affinität zu Calciumphosphaten und Hydroxylapatiten aufweisen. Durch diese Phosphatreste und Aminosäuren mit geladenen und neutralen Gruppen ist es möglich, über ionische- und Wasserstoffbrückenbindungen mit der Oberfläche der Zahnhartsubstanz, der Plaquematrix oder anderen Molekülen einzugehen. Weitere Untersuchungen bestätigten, dass man diese Aneinanderreihung eindeutig mit der höheren Löslichkeit von Calcium und Phosphat in Verbindung setzen konnte. (238)

Die Mehrheit des von CPP stabilisierten Calciumphosphats ist in Form von amorphem Calciumphosphat (ACP) mit dem Phosphopeptid assoziiert (CPP-ACP).

Amorphes Calciumphosphat ist ein Nanocluster, das mit 4 multiphosphorylierten Peptiden versehen ist. (239) Es lässt sich durch folgende Gleichung darstellen:



Diese bewahren das Mineral davor, eine bestimmte Größe zu überschreiten, die für die Kristallbildung benötigt wird. Somit kann das Mineral nicht ausfallen. (240, 241) Befindet sich ACP in alkalisch übersättigten Lösungen, so zeigt es die Eigenschaft auszufallen. ACP-Nanocluster hingegen werden durch CPP stabilisiert. Daraus resultiert eine erhöhte Verfügbarkeit von Calcium- und Phosphationen bei einem pH-Wert von unter 7,0. (242)

Man fand in in-situ Untersuchungen am Menschen heraus, dass CPP-ACP-Komplexe die Konzentration von Calciumphosphat um das Fünffache steigern konnten. Somit vermutet Reynolds, dass der kariesprotektive Effekt mitunter

2 Literaturübersicht

darauf beruht, dass der CPP-CP-Komplex eine Reservoirfunktion erfüllt, welche die Aktivität freier Calcium- und Phosphationen in oraler Plaque abpuffert und hilft, eine Übersättigung in Bezug auf Mineralien der Zahnhartsubstanz aufrecht zu erhalten. (243)

Dies ist durch das Erreichen von hohen Konzentrationsgradienten möglich, sodass Calcium und Phosphate in die `subsurface lesions` diffundieren können. Es lassen sich hohe Remineralisationsraten erfüllen.

Die Remineralisation korreliert nicht signifikant mit dem Anteil des von CPP gebundenen ACP, dem Sättigungsgrad für Hydroxylapatit oder Oktacalciumphosphat. Vielmehr zeigte sich eine deutliche Korrelation des Sättigungsgrads mit Dicalciumphosphat-Dihydrat ($\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$). Dies allerdings ist vermeintlich auf die Wechselbeziehung von Remineralisation und der Stärke des Gradienten von Calciumphosphationen von der Lösung in die Läsion zurückzuführen. Besonders trifft dies auf das Diffusionsverhalten von neutralen Ionenpaaren zu (CaHPO_4^0).

Die Quantität der Remineralisation durch Casein hat Reynolds in folgenden Zusammenhang gebracht:

1.0% CPP Calciumphosphat (pH7,0) ersetzt $63,9 \pm 20,1\%$ Mineralverlust bei einem Durchschnittswert von $3,9 \pm 0,8 \times 10^{-8}$ mol Hydroxylapatit/m²/s. (244)

Darüberhinaus konnte er durch weitere Untersuchungen belegen, dass

1.0% w/v, CPP durch (bei pH 7) 60 mmol/L CaCl_2 und 36 mmol/L Natriumphosphat durch Bildung eines Caseinphosphopeptid-Calciumphosphat-komplexes stabilisiert. (245)

Auch konnte nachgewiesen werden, dass Milch selbst dann kariesprophylaktisch wirkt, wenn Casein vollständig daraus entfernt wurde. (246)
Allerdings konnte nicht eindeutig bewiesen werden, dass sich ACP in die Zahnhartsubstanz eingliedern kann. (247)

2 Literaturübersicht

Seit geraumer Zeit ist bekannt, dass Milch, die mit Fluoriden versehen ist, eine größere Effizienz in Bezug auf Kariesschutz besitzt. (248, 249) Durch die Zugabe von Fluoriden wurde eine Zunahme der kariesprotektiven Eigenschaften von bis zu 50% beobachtet. Dies geht mit einem niedrigeren Vorkommen der Streptokokken, insbesondere die Spezies der *Mutans Streptokokken* (um den Faktor $2 \log_{10}$) einher.

Auch wird ein Anstieg des pH-Wertes und der Population der *Veillonella spp.* beobachtet. (250) Unter anderem gilt die verstärkte Anwesenheit von *Veillonella spp.*, durch deren Synthese von Propionsäure, die eine schwächere Säure als Milchsäure darstellt, als Indikator für ein niedrigeres kariöses Geschehen. (251)

Ein synergistischer Effekt von Fluoriden konnte auch im Zusammenhang mit dem CPP-ACP-Komplex beobachtet werden: Hier kommt es zur Ausbildung von amorphen Calciumfluorophosphat (ACFP). Auch konnte nachgewiesen werden, dass CPP-ACFP bei einem pH-Wert von 4,5- 5,5 in Bezug auf das Remineralisationsvermögen ein größeres Potential aufzeigte als das herkömmliche CPP-ACP. (252)

Basierend auf den oben beschriebenen Untersuchungen ließ Reynolds den Wirkstoff Recaldent™ patentieren. (253) Das darin vorhandene α_{s1} -Casein wurde zuvor durch Trypsin gespalten (s. o.). Es folgte das Produkt *GC Tooth Mousse*, welches den besagten Wirkstoff beinhaltet.

Vom gleichnamigen Hersteller befindet sich das Produkt *MI-Paste plus™* auf dem Markt. Es ist zusätzlich mit einer Fluoridkonzentration von 900 ppm versehen. Der Hersteller empfiehlt die Verwendung von Tooth Mousse im Zusammenhang mit der Therapie von white-spot-Läsionen, Erosionen und dem Beseitigen von Hypersensibilitäten, die beispielsweise durch parodontale Behandlungen oder Bleachingmaßnahmen entstanden sind. Auch ist das Präparat für Xerostomie-Patienten geeignet. So wurde beispielsweise nach dem Kauen eines CPP-ACP haltigen Kaugummis die Speichelfließrate um das 4-7-fache verstärkt. (254)

2 Literaturübersicht

Seit dem Jahr 1999 deklarierte die US FDA (Food and Drug Administration) der Wirkstoff *Recaldent*TM *generally recognizes as safe*. (255) Seither findet man besonders auf dem amerikanischen Markt eine Vielzahl an Produkten, die ebenso den Wirkstoff CPP-ACP enthalten. Die Firma 'Cadbury Adams' beispielsweise entwickelte das Kaugummi 'Trident White'. Neuseeländische Rekruten erhalten täglich zwei Recaldent-Kaugummis, um deren Kariesaktivität zu verringern. (256)

Eine Gruppe von Wissenschaftlern machte es sich zur Aufgabe, die Veröffentlichungen in Bezug auf das Remineralisationsverhalten CPP-ACP-haltiger Produkte kritisch zu hinterfragen. (257) Für diesen Zweck analysierten sie 98 Artikel nach Relevanz, Titel, und Inhalten. Sie kamen zum Fazit, dass der überwiegende Anteil der klinischen Untersuchungen in Bezug auf Qualität und Quantität als unzulänglich einzustufen ist. Somit konnten ihrerseits keine Empfehlungen bezüglich der Langzeiteffektivität ausgesprochen werden. Ebenso ist in diesem Zusammenhang zu erwähnen, dass der überwiegende Teil der Studien aus der Gruppe von Forschern stammt, die an der Entwicklung des Produkts 'Tooth mousse' maßgeblich beteiligt waren. Das Studiendesign einiger in situ-Testreihen wurde teilweise auch so gewählt, dass deren Blindwerte konstant untergewichtet wurden. Auch wurden Studien veröffentlicht, die einen positiven Schluss auf das Remineralisationsverhalten nicht zulassen. (258)

2.5.3.2 Remineralisation durch Zufuhr von Calcium -und Phosphationen

Es wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt um zu testen, ob durch alleinige Zugabe von Calcium und Phosphaten ein Anstieg der Remineralisation zu beobachten ist.

In diesem Zusammenhang ist es naheliegend, Mineralien wie Calcium und Phosphat herkömmlichen Lebensmitteln zuzufügen, um deren Kariespotential herabzusetzen. Versuche, diese anhand von Kaugummi in die Mundhöhle zu schleusen, fanden bereits seit den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts statt.

2 Literaturübersicht

Auch wurden Calciumionen verschiedener Art wie Calciumlactat oder Calciumlactatdihydrat süßen Kaubonbons zugeführt. Deren Wirkung wurde anhand entnommener Plaqueproben untersucht. Die Bestandteile wurden mit einer Mikrozentrifuge gesplittet und anhand spektrometrischer Untersuchungen analysiert. Die Ergebnisse zeigten, dass Calciumlactat eine höhere Einbaurrate aufweist als Calciumlactatdihydrat. Im Allgemeinen war zu beobachten, dass sich Calcium verstärkt mit absinkendem pH-Wert einlagert. Somit ist es möglich, dass der Schmelz trotz sinkenden pH-Wertes remineralisiert. (259)

Zusammenfassend kann man als Resultat der Einlagerung von Calciumphosphat feststellen, dass dadurch sowohl die Puffer- als auch die Remineralisationskapazität der Plaque ansteigen. (260, 261, 262)

Auch wurde der Versuch durchgeführt, das Kariespotential durch die alleinige Zufuhr verschiedener Phosphationen (Orthophosphat, Pyrophosphat, Tripoly- und Hexameterphosphat) zu reduzieren. In allen Fällen konnte eine signifikante Dezimierung der Karies beobachtet werden. Allerdings zeigte sich Trimetaphosphat mehr als zweimal so effektiv in Bezug auf Karieshemmung. Auch konnte beobachtet werden, dass ein niedriger pH-Wert die Wirkung von Phosphationen steigert. Die kariespräventive Wirkung von Phosphationen wurde in diesem Versuch auf deren Pufferkapazität zurückgeführt. (263)

Die Angaben über die Anreicherung von Phosphationen innerhalb bakterieller Beläge der Mundhöhle verhalten sich jedoch nicht immer einheitlich, was unter anderem sicherlich auch auf die verschiedenen Studiendesigns zurückzuführen ist, die an unterschiedlichen Tiergattungen getestet wurden.

Rankine berichtete über eine verstärkte Anreicherung sowohl von Calcium- als auch Phosphationen nach pH-Abfall innerhalb menschlicher Plaque. (264)

Edgar, Bowen und Cole beobachteten bei deren Versuchen über die Einlagerung von Calcium- und Phosphationen innerhalb der Plaque von Primaten zwar einen signifikanten Anstieg von Calcium, dennoch keine Zunahme der Phosphatkonzentrationen. (265)

2.5.3.3 Remineralisation durch Absenken des pH-Wertes

Nach den Erkenntnissen, die man über den protektiven Effekt von Speichelparametern in neutralen und saurem Milieu gewann, versuchte Jensdottir, durch Erzeugen eines niedrigeren pH-Wertes, Vorteile in Bezug auf das Remineralisationsverhalten zu erzielen. Zunächst verglich sie die Veränderungen der Speichelzusammensetzung, die sich durch das Kauen von Kaugummi ergeben, mit dem Konsum von sauren Süßigkeiten. Es zeigte sich, dass beides stimulatorischen Effekt auf den Speichelfluss ausübte. Nach dem Konsum der sauren Süßigkeiten steigerte sich die Fließrate um das Fünffache. Die Stimulation dauerte überdies länger an. Proportional zum Anstieg der Speichelfließrate beobachtete man eine Zunahme an Na^+ , Cl^- und HCO_3^- Ionen. Die Konzentration von Calciumionen jedoch war gleichbleibend, die Phosphatkonzentration nahm mit steigender Speichelflussrate geringfügig ab. In Bezug auf die Puffer-Kapazität wiesen die sauren Drops im Vergleich zum Kaugummikauen doppelt so hohe Bikarbonat-Konzentrationen auf. Der P_{CO_2} zeigte sich um das Fünffache höher. Die Konzentration der Speichel-Protein-Konzentration nahm mit steigender Speichelflussrate zu.

Durch den niedrigen pH-Wert der Drops beobachtete man einen schnellen pH-Abfall. Es wurden innerhalb von 4 Minuten pH-Werte von bis zu 4,5 gemessen. Durch den Konsum von sauren Bonbons kann von einer relativ langen Expositionszeit von Säure ausgegangen werden. Es herrscht demnach Untersättigung in Bezug auf HAP und Erosion kann stattfinden.

Auch die durch den Konsum von Säure veränderten Speichelparameter können keinen ausreichenden protektiven Effekt auf die Zahnhartsubstanz ausüben.

(266)

Basierend auf den zuvor gewonnenen Erfahrungen versuchte Jensdottir, durch die Zugabe von 16,5 mg Calciumlactat/g Bonbons die erosiven Prozesse zu umgehen. Die in den Bonbons enthaltenen Calciumionen gelangen während des Konsums in die Speichelflüssigkeit. Daraus resultierte ein niedrigerer kritischer pH-Wert und daraus wiederum ein geringeres erosives Potential. Die Zufuhr von Phosphat wurde vernachlässigt, da die Zugabe einer gleichhohen Konzentration von Phosphationen sich weniger effektiv in Bezug auf das

2 Literaturübersicht

Verhindern von Erosionen herausstellte. (267) Auch stellte sich Phosphat als wenig geschmacksneutral (metallisch) heraus und schien deshalb für die Anwendung in Lebensmitteln weniger geeignet. (268) Durch die Zufuhr von Calcium konnte die Entstehung von Erosionen effektiv verhindert werden. Des Weiteren bestätigte sich erneut, dass Speichelproteine einen schützenden Effekt auf säurebedingte Erosionen der Zahnhartsubstanz aufweisen. (269, 270)

Auch Jendottir konnte beobachten, dass trotz des Erreichens des normal als kritisch betrachteten pH-Werts von 5,5 (271) nicht zwingend ein erosives Geschehen stattfinden muss. Durch Erhöhung des Calciumgehalts ist es möglich, hier den kritischen pH-Wert um ca. 0,5 pH abzusenken. (272)

2 Literaturübersicht

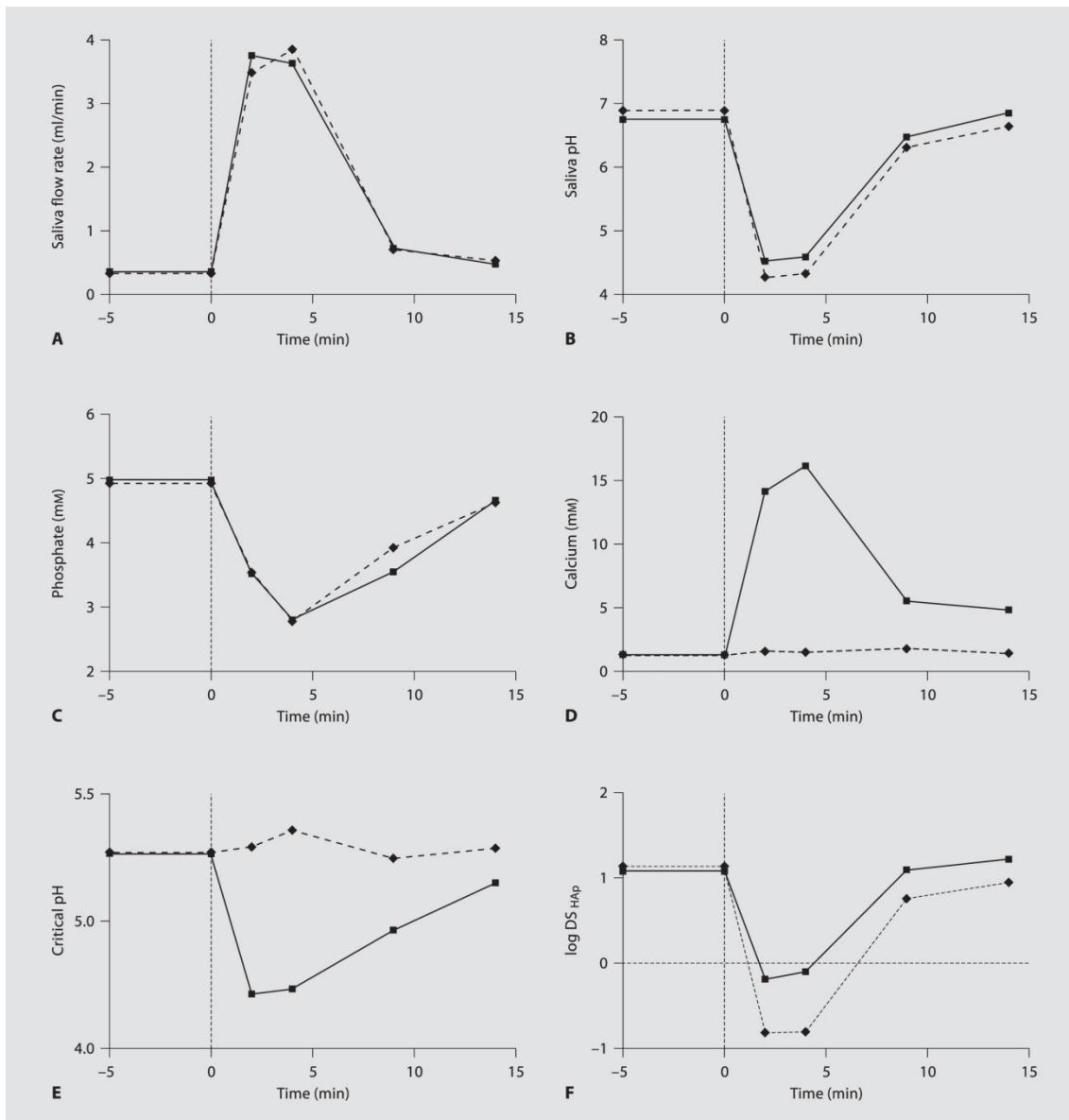


Abbildung 13: Remineralisationseffekte durch das Hinzufügen von Calcium in sauren Drops. Die durchgezogene Linie entspricht den calciumhaltigen Süßigkeiten, die durchbrochene ist der Kontrollgruppe ohne Calcium zuzuordnen. (273)

A = Speichelfließrate nach Stimulation; B = pH-Werte des Speichers; C= Phosphatkonzentrationen des Speichers; D = Calciumkonzentration des Speichers; E = kritischer pH-Wert ; F = $\log DS_{HAP}$

Die Universität von Boston forschte ebenso auf dem Gebiet der Remineralisation unter sauren Bedingungen. Man verglich die remineralisierende Wirkung von neutralen und sauren Lösungen (pH 4,8) in Bezug auf *subsurface lesions*. Die zwei Lösungen, enthielten jeweils Milchsäure. Die saure Lösung beinhaltete Calcium, Phosphat und 20 ppm Fluorid. Die neutrale Lösung enthielt geringere

2 Literaturübersicht

Konzentrationen an Calcium und Phosphat, die Fluoridkonzentration lag bei 9,6 ppm.

Es zeigte sich, dass die Rate und Ausdehnung der Remineralisation von *subsurface lesions* durch säurehaltige Lösungen signifikant (um 57%) größer war als jene, die durch neutrale Lösungen hervorgerufen wurden. (274, 275)
Man führte die Versuchsergebnisse unter anderem auf die triggernde Wirkung von Fluoriden zurück.

Desweiteren wurden die Ergebnisse dadurch begründet, dass unter sauren Verhältnissen die Erhaltung der Diffusionskanäle der äußeren Bereiche gewährleistet werden kann. Dies wird durch Säure möglich gemacht, die nicht, wie etwa neutrale Lösungen, untersättigt ist in Bezug auf Zahnhartsubstanz. Diese Mutmaßungen stützen sich auf frühere Untersuchungen, die eine Vorbehandlung durch Säure proklamieren, um die Remineralisation zu fördern. (276, 277)

Auch wird die höhere Effektivität saurer remineralisierender Lösungen durch das verstärkte Vorkommen HF- und H₃PO₄ -Ionen begründet, bedingt durch deren höhere Diffusionsraten innerhalb säurehaltiger Lösungen durch porösen Schmelz. (278)

Die Fähigkeit, Mineral abzulagern, ist innerhalb saurer Lösungen um das Dreifache höher als bei neutralen Lösungen. Dies trifft besonders auf Fluorapatit zu. Milchsäure bindet Calcium und hat unter sauren Bedingungen Puffereigenschaften. HCL säuert calciumhaltige Lösungen und weist ebenfalls geringe Puffereigenschaften auf.

2.5.3.4 Remineralisation durch amorphe, calciumhaltige Salzhydratschmelze

In den von Wiedemann durchgeführten Untersuchungsreihen ging es weniger darum, Erosionen zu verhindern. Es galt, Remineralisation trotz sauren Umgebungsmilieus des Zahnschmelzes zu provozieren. Er bediente sich des Verfahrens der *Forcierten Remineralisation*, das mit Hilfe einer *unterkühlten calciumhaltigen Salzhydratschmelze* durchgeführt wurde.

Dieses Geschehen lässt sich anhand der verschiedenen Löslichkeitsprodukte der Calciumphosphatphasen des Zahnschmelzes begründen (siehe Abschnitt 2.2.2).

In Bezug auf das Löslichkeitsverhalten stellt der pH-Wert den limitierenden Faktor dar. Liegt ein niedriger pH-Wert vor, ist die Konzentration an gelöstem Calciumphosphat größer als in neutralem Milieu. Steigt der pH-Wert an, sinkt die Konzentration von freien Calcium- und Phosphationen.

Quantitativ lässt sich berechnen, dass die Calciumkonzentration in Bezug auf das Löslichkeitsprodukt mit dem Potenzfaktor 10 auftritt; die des Phosphats hingegen ist diesbezüglich vernachlässigbar klein.

Den genauen Vorgang der forcierten Remineralisation beschreibt Wiedemann wie folgt: (279)

Der Inhalt der Poren einer kariösen Läsion ist, vereinfacht dargestellt, mit Wasser gefüllt. (280) Im neutralen Milieu herrscht ein thermodynamisches Gleichgewicht in Bezug auf die Mineralphasen, die wässrige Lösung weist eine Sättigung an gelösten Mineralien auf.

Bei niedrigem pH-Wert dringen die H^+ Ionen entlang eines Konzentrationsgradienten in die Poren der kariösen Läsion ein. Da H^+ Ionen innerhalb wässriger Medien durch Austauschstöße diffundieren, dringen sie schneller in die Poren ein als andere Ionen. Aus den nun veränderten Ladungsverhältnissen resultiert eine Bewegung von Kationen aus dem festen Verbund der Zahnhartsubstanz ins Innere der Poren. Dies trifft insbesondere auch für Calciumionen zu. Demineralisation findet statt. Der pH-Wert im Inneren der Poren allerdings verändert sich nur geringfügig aufgrund der guten Puffereigenschaften des Phosphats. Ein leichtes Absinken des pH-Werts führt

2 Literaturübersicht

zu einer größeren Konzentration an gelösten Ionen, welche sowohl aus Diffusions- als auch aus Demineralisationsvorgängen der Wandbestandteile einer Pore resultieren kann. (281)

Es sollte also das Ziel sein, eine Remineralisation zu provozieren, das thermodynamische Gleichgewicht aufzuheben und eine Umkehrreaktion in Bezug auf die Mineralphasen zu erreichen. Dies kann mit einer Erhöhung der Mineralkonzentration und Abnahme der H^+ Ionen erzielt werden.

Die Rahmenbedingungen dazu schafft eine calciumreiche, *amorphe Salzhydratschmelze* (282), die von Wiedemann das erste Mal in Zusammenhang der Remineralisation kariöser Läsionen beschrieben wurde. Diese Schmelze stellt eine fließfähige Masse dar, die sich unterhalb der Schmelztemperatur befindet und somit einen untypischen Aggregatzustand aufweist. Die Schmelze hat demnach bei gegebenem Druck eine niedrigere Temperatur. Deren Inhaltsstoffe sind nicht kristallin, sondern liegen amorph vor und sind demnach frei verfügbar. Calcium ist in Form von reagiblen Ionen und in extrem hoher Konzentration (hier $2,7 \text{ mol Ca}^{2+}$) vorhanden. Die Salzhydratschmelze weist hier einen pH-Wert von ca. 4,0 auf.

Als bedeutendste Unterschiede zwischen Salzhydratschmelzen und Salzen sind folgende Punkte zu erwähnen (283):

- Salze sind kristallin, ihre Ionen sind fest im Ionengitter gebunden und nicht reagibel
- Salzhydratschmelzen sind nicht kristallin, sondern amorph. Ihre Ionen sind nicht im Ionengitter angeordnet sondern liegen frei vor.
- Salze sind demnach schwerer löslich und somit schlechter homogen zu verteilen als Salzhydratschmelzen
- Salzhydratschmelzen sind hochkonzentriert und wasserarm.

Aufgrund des niedrigen pH-Wertes der Salzhydratschmelze ist es möglich, innerhalb der Poren kariöser Läsionen eine sehr hohe Konzentration an freien Calciumionen zu erzeugen, ohne, dass das die Sättigung überschritten wird.

Die hohe Konzentration an Calciumionen verhindert nicht nur die Auflösung von Zahnhartsubstanzen trotz des niedrigen pH-Wertes. (284) Die Diffusionsrichtung der Mineralphasen verläuft sogar in die umgekehrte Richtung. Gemäß dem Massenwirkungsgesetz diffundieren die freien, reagiblen Calciumionen in die Zahnhartsubstanz ein.

Da die Zähne von Speichel mit neutralem pH-Wert umspült werden, findet nun, gemäß der Stephan-Kurve, innerhalb der Pore ein pH-Wechsel statt. Der ansteigende pH-Wert bedingt eine Reduktion des Mineralgehalts auf Werte unterhalb der Sättigung. Daraus resultiert eine Repräzipitation der Mineralien. Die Ausscheidungsrate ist proportional zur Übersättigung der Lösung. Es findet ein Konzentrationsausgleich zwischen Innen- und Außenmedium statt.

Abhängig von der Geschwindigkeit des pH-Wechsels bildet sich eine Zone maximaler Mineralabscheidung.

Wird der pH-Wechsel zu schnell vollzogen, führt dies im Regelfall zu einer Ausbildung einer mineralischen Deckschicht.

Der beschriebene Vorgang wird als *forcierte Remineralisation* bezeichnet.

Dieses Verfahren beschreibt einen dynamischen Prozess. Durch die enormen Calciumkonzentrationen werden die natürlichen Reparaturmechanismen der Speichelflüssigkeit potenziert.

2.5.4 Zyklische Remineralisation 'in vitro'

Das Prinzip der zyklischen Remineralisation oder auch 'pH-cycling' genannt, beschreibt einen dynamischen Prozess von periodisch alternierender De- und Remineralisation.

Ein Abfall des pH-Wertes geht in der Regel zunächst mit einem Mineralverlust, ein Anstieg mit Mineralanreicherung einher. Die Grundidee dieses Prinzips beruht auf den Löslichkeitsisothermen von ten Cate (s. o.). Er konstruierte das Gedankenmodell der zyklischen Remineralisation (285): Der Demineralisation (durch Säurezufuhr) folgt eine Remineralisation (durch den reflektorisch stimulierten Speichelfluss).

2 Literaturübersicht

Ten Cate orientierte die Länge der Demineralisations- und Remineralisationsperioden seiner 'in vitro'-Versuche an den in der Mundhöhle erhobenen Werten.

Das Ziel dieser Untersuchung sollte es sein, einen synergistischen Effekt des Remineralisationsprozesses zu erzeugen, eine Deckschichtenausbildung zu verhindern und eine Tiefenmineralisation zu fördern.

Ten Cate kam zu folgender Schlussfolgerung:

- Bei kontinuierlicher Remineralisation konnte man bereits nach dem 4. Tag keinen weiteren Mineralzuwachs beobachten. Hier traten keine Substanzverluste auf.
- Bei einem De- und Remineralisationsverhältnis von 1:7 entsprach der Mineralzuwachs dem Mineralverlust.
- Bei Fluoridzufuhr war nach 7-8 Tagen eine Sättigung in Bezug auf Mineraleinlagerung zu beobachten.
- Der Versuch der zyklischen Remineralisation führte eindeutig zu einer Verlängerung der Remineralisationseffekte; eine Verbesserung der Mineralbilanz konnte allerdings hier nicht beobachtet werden.

Die Länge der De- und Remineralisationsphasen richtete sich jedoch nur teilweise nach den physiologischen Werten der Mundhöhle: Der pH-Wechsel von sauer auf alkalisch erfolgte nicht stufenweise, ähnlich einer Titrationskurve, sondern schlagartig (zyklisch-statische Remineralisation).

2 Literaturübersicht

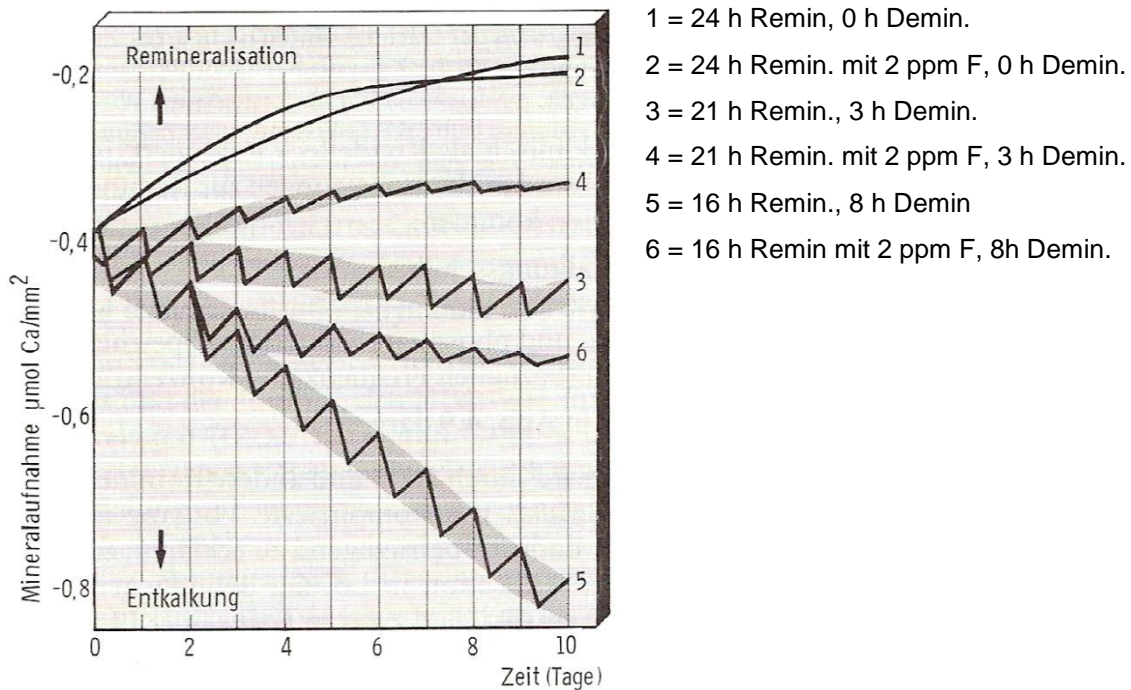


Abbildung 14: De- und Remineralisation in alternierendem Wechsel nach ten Cate, Duijsters (286) in: K. G. König, Karies und Parodontopathien, 1986

Basierend auf dem Grundgedanken ten Cates führte Jahns Untersuchungen durch, die zur Aufgabe hatten, den Einfluss der physiologischen pH-Schwankungen in der Mundhöhle auf das Remineralisationsverhalten von Zahnschmelz zu untersuchen. (287)

Es bestand die Fragestellung, ob eine fraktionierte De- und Remineralisation und pH-Anstiegsraten im physiologischen Bereich die Mineraleinlagerung beeinflussen und ob ein Resonanzverhalten bei einem bestimmten Zeitintervall innerhalb der Remineralisationszyklen zu beobachten war.

Das Fazit seiner Untersuchungen war, dass eine der Versuchsgruppen bei einem pH-Anstieg von $0,1 \delta\text{pH}/\text{min}$ Resonanzverhalten in Bezug auf die Mineralanreicherung aufzeigte. Der pH-Wechsel erfolgte nicht schlagartig, sondern in kleineren Stufen, ähnlich einer titrimetrischen Kurve.

(Versuchsmodus der zyklisch-dynamischen Remineralisation.)

Hier konnten selbst Repräzipitationswerte von $330 \text{ pmol}/\text{cm}^2$ erreicht werden. Eine Verhinderung einer Deckschichtenbildung und Tiefenmineralisation waren nachzuweisen.

2.7 Aufgabenstellung

Das Ziel unserer Untersuchungen sollte sein, eine mit amorpher, calciumhaltiger Salzhydratschmelze angereicherte Zahncreme herzustellen und diese vergleichend auf ihre remineralisierenden Eigenschaften hin zu untersuchen. Es handelte sich dabei um eine in-vitro Testreihe.

Als Testkörper dienten artifizielle zylindrische und definiert poröse Tabletten aus Hydroxylapatit, die die Dichte und Struktur von kariösem Zahnschmelz aufwiesen. Zum Vergleich wurden etablierte remineralisierende Zahncremes, die fluoridhaltige *Elmex-Zahnpasta* (rot) und das mit dem CPP-ACP-Komplex versehene *Tooth Mousse* herangezogen.

Um die Gegebenheiten der Mundhöhle zu simulieren, wurde das Verfahren der zyklischen dynamischen Remineralisation angewandt. Der pH-Wechsel wurde mit einem künstlich hergestellten Remineralisationsmedium durchgeführt, das aus einer an Calcium und Phosphat übersättigten Lösung bestand.

Die Mineralbilanz wurde sowohl durch Gravimetrie als auch radiographisch ermittelt.

3 Material und Methodik

3.1 Versuchsdesign

Die hier durchgeführten Versuchsreihen wurden im Rahmen einer Inter-Kohortenstudie durchgeführt. Dabei handelte es sich um einen Vergleich unterschiedlicher Kohorten miteinander. Die Kohortenstudie lässt sich den Paneluntersuchungen unterordnen: Jede Erhebung wird mit derselben Stichprobe und demselben Erhebungsinstrument wiederholt durchgeführt. Übertragen auf die hier beschriebene Versuchsreihe werden Werte der Messkörper, die mit unterschiedlichen Wirkstoffen behandelt wurden, also unterschiedlichen Kohorten angehören, mit dem gleichen Messinstrument im gleichen zeitlichen Abstand erhoben und miteinander verglichen. Die Versuchsergebnisse wurden hier experimentell erworben. Der Studiengruppe wurden bestimmte Vergleichsgruppen gegenübergestellt, die je nach Versuchsreihe variierten. Die gravimetrischen und radiographischen Messungen erfolgten immer im gleichen zeitlichen Abstand. Die Messkörper konnten durch ihre Nummerierung jeder Zeit ihrer Charge zugeordnet werden. Eine Verblindung fand demnach nicht statt.

Die Studie wurde prospektiv durchgeführt. Das bedeutet, dass bereits zu Beginn der Versuchsreihe eine Hypothese aufgestellt wurde, die es zu überprüfen galt.

3.2 Proben

Die Messreihen wurden mit künstlich produzierten, hydroxylapatithaltigen zylinderförmigen Testkörpern durchgeführt. Hier konnte zuvor klinisch und mathematisch nachgewiesen werden, dass beide Substanzen vergleichbare Ergebnisse in Bezug auf das Remineralisationsverhalten aufzeigen, obgleich die Porengeometrie des natürlichen und künstlich hergestellten Hydroxylapatits nicht übereinstimmen, (288) Für die Testkörper wurden 0,1458 g (0,142 g-0,146 g) des C13-08 -Tricalciumphosphats Hydroxylapatit der Firma Budenheim des Typs MV 1161 abgewogen.

3 Material und Methodik



Abbildung 15: Metallformen für Messkörperherstellung

Um symmetrisch zylindrische Hydroxylapatit-Tabletten zu erhalten, wurden verschiedene Messingformen zusammengesetzt, die zuvor mit Graphitpulver beschickt wurden. Das Pulver wurde mit einem Trichter in die Form eingebracht und bei einem Druck von 17 bar gepresst. Die nun entstandenen

Messkörper wurden vermessen. Damit die fertigen Proben eine poröse Läsion sachgemäß imitieren, mußten die Grünkörper eine Höhe von 1,7-1,8 mm, einen Durchmesser von 8,2 mm, ein Gewicht von 0,12 bis 0,13 g und somit eine Dichte von ca. 1,3-1,4 g/cm³, aufweisen.

Im Anschluss wurden die Grünkörper zu Hydroxylapatit definierter Spezifikation gebrannt. Sie wurden in einem Brennofen innerhalb von 90 Min. auf 900°C erhitzt und eine weitere Stunde bei 900°C im Ofen belassen. Nach einer Abkühlungsphase von 10 Stunden wurden die Messkörper neu vermessen und die Sinterdichte erhoben. Diese sollte einen Wert von 1,65 g/cm³ (Streuung $\pm 0,02$ g/cm³) betragen. Hierfür benötigten die Tabletten einen Durchmesser von 7,4-7,6 mm und ein Gewicht von 0,11 -0,13 g.

Um eine gewünschte Dicke von 1,5 mm zu erreichen, wurde die Vorderseite des Messkörpers, der in eine speziell dafür angefertigte Metallform eingebracht wurde, nass mit Siliciumkarbidpapier (600 grid) an der Schleifmaschine Buehler Ecomet III beschliffen.



Abbildung 16: Hydraulikpresse, in der die Messkörper ihre Form erhielten



Abbildung 17: Schleifmaschine

Schmutzpartikel und leicht lösliche Pulverreste wurden mit destilliertem Wasser entfernt, anschließend wurden die Tabletten weitere 15 Minuten darin eingelegt.

Die fertigen Messkörper wurden im Anschluss durchnummeriert und mit einem Punkt versehen, um die Reproduzierbarkeit des Messortes zu gewährleisten.

3.3 REM2-Lösung (1/1/0)

(entspricht 1 mmol Ca^{2+} /1 mmol PO_4^{3-} /
0 mmol F^-)

Um 2 Liter der künstlich hergestellten remineralisierenden Speichelflüssigkeit zu erhalten (REM-Lösung), wurden 10 ml einer 200 mmolaren NaH_2PO_4 -Flüssigkeit in einen 2 l Kolben pipettiert. Dieser wurde mit bidestilliertem Wasser fast bis zur 2 l-Markierung aufgefüllt.

0,6166 g Ca-Lactat und 7,84 g Na-Acetat (kristallwasserfrei-Puffer) wurden abgewogen, bei Raumtemperatur in den Kolben gegeben und darin aufgelöst. Um die Haltbarkeit der Lösung zu gewährleisten, wurden 4,0 g Thymol hinzugefügt. (Anm.: thymolhaltige REM-Lösung wurde hier allerdings nur im ersten Vorversuch angewendet. In allen weiteren Versuchsreihen wurde die REM-Lösung alle 2 Tage neu hergestellt.)

Die Flüssigkeit wurde mit bidestilliertem Wasser ergänzt, bis der Kolben eine exakte Menge von 2 l Gesamtvolumen erreicht hatte.



Abbildung 18: fertiger Messkörper aus Hydroxylapatit

Mit 25%iger Milchsäure und einer Temperatur von 30°C wurde ein pH-Wert von 6,50 eingestellt.

3.4 Amorphe Salzhydratschmelze



Abbildung 19: amorphe Salzhydratschmelze

Vereinfacht dargestellt, wurden zur Herstellung der Salzhydratschmelze Calciumlactat, Calciumgluconat, Milch- und Citronensäure im Vakuum auf 130°C erhitzt und definiert eingedickt. Das Resultat war ein amorpher Stoff, der sich bei Raumtemperatur in

einem festen Zustand befand. Zwecks Qualitätskontrolle erfolgte nach der Herstellung die Bestimmung der freien Säure sowie die Erfassung der Calciumkonzentration. Somit konnte festgestellt werden, ob ausreichend reagible Calciumionen vorhanden waren oder eine frühzeitige Kristallisation stattgefunden hatte.

3.5 Behandlung der Testkörper vor den Messungen

Um in-vivo Verhältnisse weitgehend zu simulieren, wurde den künstlich erzeugten Schmelzproben eine Schicht aus Calciumfluorid (CaF_2) hinzugefügt. Dazu wurden die Tabletten vor der ersten Messung in einer Fluoridlösung (5 ppm) für 20 Minuten eingelegt.

Vor jeder Messung wurden anfänglich die Testkörper für 30 Sekunden (je Seite 15 Sekunden) mit einer nicht-fluoridhaltigen Zahncreme (Placebopaste) und destilliertem Wasser gebürstet. Hierfür wurde eine weiche Zahnbürste ('The surgical' von Curaprox®) verwendet. Um keinen Gewichtsverlust zu erhalten und eine Reproduzierbarkeit der Messergebnisse zu gewährleisten, durfte der

3 Material und Methodik

Anpressdruck der Zahnbürste einen Wert von 10-15 g ($\pm 0,14715 \text{ N/mm}^2$) nicht überschreiten. Dies wurde zuvor mit einer Waage geübt.

Um Zahnpastareste vollständig zu entfernen, wurden die gebürsteten Tabletten mit destilliertem Wasser abgespült und anschließend für fünf Minuten in bidestilliertes Wasser eingelegt.

Mit einem Papiertuch wurden die Tabletten vorsichtig abgetupft und in Wägegläschen (ohne Deckel) für 15 Minuten im Trockenschrank bei 100°C aufgeheizt. Somit konnte noch überschüssiges Wasser verdampfen. Damit die Tabletten im Anschluss keine Feuchtigkeit ziehen, wurden die Proben mit einem Deckel dicht verschlossen. Nach einer 30minütigen Abkühlungsphase wurden die Proben gewogen.

3.6 Gravimetrische Bestimmung der Messergebnisse

Die Testkörper wurden mit einer Analysewaage von Sartorius Typ MC1 RC 210 P gravimetrisch bestimmt. Die entnommenen Werte wurden mit einer Genauigkeit von 0,01 mg abgelesen.



Abbildung 20: Analysewaage Sartorius

In den zuvor durchgeführten Studien wurde immer eine Blindprobe mitgewogen, die nur angefeuchtet, getrocknet, aber nicht gebürstet wurde. Aus den damit erhobenen Daten lässt sich eine Standardabweichung von 0,09 mg (n=41) ableiten.

Da die Waage je nach Wetterlage und Luftdruck nicht immer sofort den exakten Endmesswert anzeigte, wurde mit dem Ablesen des Messwertes eine Minute nach Erscheinen des ersten Gramm-Zeichens gewartet.

Im Anschluss des Wägevorgangs wurden die Messkörper zurück in die beschrifteten Wägegläschen gelegt; der Deckel wurde dicht verschlossen.

3.7 Radiographische Bestimmung der Messergebnisse

3.7.1 Messmethode:

Im Anschluss der gravimetrischen Bestimmung konnte die radiographische Messung der Proben gestartet werden. Die hier durchgeführten radiographischen Messreihen geben die Absorption von Röntgenstrahlen (= Extinktion) wieder. Sie kann unter konstanten Verhältnissen ein direktes Maß für die 'Massenbelegung' und somit für den Mineralgehalt des Zahnes sein. (289, 290)

Durch die Röntgenabsorptionsmessungen können also Änderungen in Bezug auf Mineralanreicherungen seitens der Messkörper, wie sie beispielsweise bei Remineralisationsprozessen entstehen können, überprüft werden. Diese Messmethodik stützt sich auf das Absorptionsgesetz:



Abbildung 21: Röntgenapparatur

$$I = I_* \cdot e^{-\mu d}$$

I = abgeschwächte Intensität durch Manipulation des Messkörpers

*I*_{*} = Intensität der Röntgenquelle

d = Absorberdicke

Durch die simulierten Remineralisationsvorgänge lagern die Messkörper idealerweise mehr Mineral an. Dadurch wird der Röntgenstrahl, der die Tablette durchdringt, stärker abgeschwächt. Die Intensität *I* wird also kleiner.

Um eine quantitative Auswertung der Messreihen zu ermitteln, dient ein Aluminiumplättchen als Referenzkörper. Dieses Aluminiumäquivalent zeigt die gleiche Extinktion wie die eines nicht manipulierten Messkörpers aus

3 Material und Methodik

Hydroxylapatit. Das Aluminiumäquivalent und Hydroxylapatit stehen bei 22 kV Röhrenspannung in folgender Beziehung zueinander: (291)

$$\mu_{HAP} = 0,47 \cdot \mu_{Al}$$

Um eine möglichst exakte Messung durchführen zu können und netz- oder gerätebedingte Intensitätsschwankungen der Röntgenstrahlen zu eliminieren, wurde die sog. Zweistrahltechnik angewandt. Hier wird der Primärstrahl in zwei Teilstrahlen aufgetrennt. Der eine durchstrahlt den Messkörper, der andere den Referenzkörper. Letzterer stellt das oben beschriebene Aluminiumäquivalent mit einer Schichtdicke von 1100 μm dar.

Somit ist es möglich, Intensitätsschwankungen der Primärstrahlung rechnerisch zu beseitigen. Gilt $I_R = I_* \cdot e^{-\mu_R d_R}$ als Intensität der Röntgenstrahlen, die die Referenzprobe durchdringen, erhält man für den Quotienten einen Ausdruck, der die Primärintensität I nicht mehr enthält:

$$\frac{I}{I_R} = \frac{I_* \cdot e^{-\mu d}}{I_* \cdot e^{-\mu_R d_R}} = \frac{e^{-\mu d}}{e^{-\mu_R d_R}} = e^{\mu_R d_R - \mu d}$$

Der Logarithmus dieses Quotienten beschreibt die Änderung der effektiven Absorberdicke:

$$\ln\left(\frac{I}{I_R}\right) = \mu_R \cdot d_R - \mu \cdot d$$

3.7.2 Aufbau des Röntgengeräts

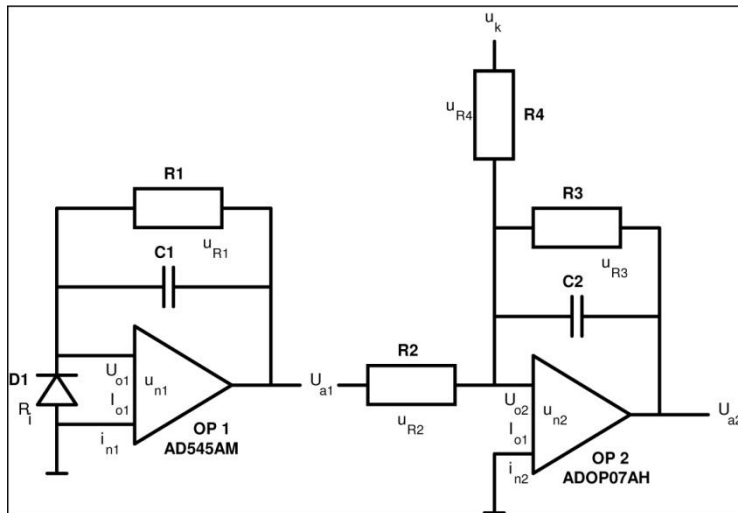
OP1 wird von R1 und C1 beschaltet. Er dient der Strom- bzw. Spannungswandlung für den Photostrom, den die Photodiode D1 erzeugt. R2 leitet diesen Impuls an den darauffolgenden Verstärker OP2 weiter.

OP2 geht eine Beschaltung durch einen Analogaddierer voraus. Dieser macht es möglich, mit der durch eine konstante Spannungsquelle erbrachten einstellbaren Spannung U_k nicht nur den Offset U_{o2} von OP2, sondern auch den verstärkten Offset von OP1 zu kompensieren. Der unipolaren Verschaltung

3 Material und Methodik

steht ein linearer Hub von 2 x 14 Volt bereit. Es ist ebenso möglich, das Röntgengerät auch für andere Arbeitspunkte zu verwenden.

Es besitzt zwei Kanäle, einen Mess- und einen Referenzkanal. Beide Kanäle sind mit dem gleichen Verstärkungsfaktor versehen.



D1	BPW 34
C1	100 nF
C2	100 nF
R1	1,50 MΩ
R2	1,00 kΩ
R3	475 kΩ
R4	1,00 kΩ

Abbildung 22: Schaltung des Röntgengeräts zur Erfassung der Extinktion nach Wiedemann

3.7.3 Systemische Fehlerquellen

Der Offset:

Der Offsetstrom I_{o1} an OP1 führt zu einem Fehler von U_{a1} am Ausgang von OP1:

$\Delta U_{a1} = I_{o1} \cdot R1$. Die Offsetspannung U_{o1} an OP1 führt zu einem Strom durch den Innenwiderstand R_i der Photodiode D1: $I_{R_i} = U_{o1} / R_i$

Das Signalrauschen:

Das Rauschen wird durch die ohmschen Anteile der einzelnen Bestandteile des Röntgengeräts hervorgerufen. Es stellt den limitierenden Faktor in Bezug auf die Messgenauigkeit dar. Das Signalrauschen ist beispielsweise auf das *thermische Rauschen* an Widerständen zurückzuführen. Es lässt sich durch die Gleichung:

$$U_R = \sqrt{4kTRB}$$

veranschaulichen.

k: Boltzmann-Konstante = $1,3805 \cdot 10^{-23}$ Joule/K,

T: absolute Temperatur in K

R: Widerstand in Ω

B: Bandbreite in Hz

3 Material und Methodik

Auch wird Signalrauschen der Spannung/des Stromes im Bereich der Eingänge der einzelnen Bestandteile des Röntgengeräts verursacht.

Um die Fehlerquellen soweit wie möglich zu dezimieren, wird jeder der Kanäle 250 mal gemessen. Aus den gewonnenen Daten wird der Mittelwert errechnet.

Unter Berücksichtigung aller Faktoren lässt sich die Darstellung der Gesamtfehlermessung unter folgender Gleichung zusammenfassen:

$$\sigma_1 = \frac{1}{\sqrt{250}} \cdot \sqrt{\sigma^2 \text{Offset}} + \sqrt{\sigma^2 \text{Rauschen}} = 2,2 \text{ mV}$$

Geometriefaktor:

Neben Signalrauschen und Offset führt die fehlende Symmetrie der einzelnen Bauteile des Röntgengeräts zu geringgradigen Abweichungen. Dadurch ist es selbst bei gleicher Absorberdicke des Mess- und Referenzkanals nicht möglich, exakt gleiche Signale der beiden Messkanäle zu erhalten.

Nachweisgrenze:

Die radiographische Messgenauigkeit ist besser als $6,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$.

3.7.4 Reproduzierbarkeit der Messungen

Aufgrund zahlreicher Messzyklen, die sowohl nach der Inbetriebnahme des Röntgengeräts als auch nach den verschiedenen Messreihen mit Dummy-Proben durchgeführt wurden, ließ sich an verschiedenen Messtagen eine Reproduzierbarkeit der Beschleunigungsspannung auf $\pm 0,8\%$ ableiten. In Bezug auf den Absorptionskoeffizienten $\mu = 48,3$ und 17 kV für Hydroxylapatit führt dies zu einer Abweichung von $\pm 1\%$. Auch konnte über die Dauer eines Messzyklus von ca. 3h die Kontrollmessungen identischer Tabletten mit einer Genauigkeit von 99,8% reproduziert werden.

Die erhaltenen Messwerte der radiographischen Untersuchung sind elektrische Spannungen, die sich proportional zu den Röntgenintensitäten der einzelnen

3 Material und Methodik

Messkörper verhalten. Der Logarithmus $\ln(I/I_0)$ ist proportional zur Massenbelegung der Probe, also proportional zu ihrer Masse/Fläche. Der Proportionalitätsfaktor ist der Massenabsorptionskoeffizient. Er zeigt für Hydroxylapatit und einer Spannung von 17 kV einen Wert von

$$\frac{46 \text{ cm}^{-1}}{3 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}} = 15 \frac{\text{cm}^2}{\text{g}}$$

Der differentielle Absorptionskoeffizient des Bremsspektrums weist einen Wert von 46 cm^{-1} auf. Die Apatitdichte liegt bei 3 g/cm^3 . Das Produkt aus Probenfläche und Massenbelegung ist gleich der Gesamtmasse des Messkörpers. Also erhält man mit einer Probenfläche von $0,461 \text{ cm}^2$ einen Umrechnungsfaktor zwischen den Logarithmen der Röntgenintensitäten und der Probenmasse von

$$\frac{0,461 \text{ cm}^2}{15 \frac{\text{cm}^2}{\text{g}}} = 0,0307 \text{ g} = 30,0 \text{ mg}$$

Findet eine reine Apatitablagerung statt, so besteht demnach zwischen der gravimetrisch bestimmten Gewichtszunahme und dem radiographischen Messwert folgender Zusammenhang:

$$m_{grav} = A_{Apatit} \cdot \ln\left(\frac{I_0}{I}\right) \quad (2)$$

Aufgrund von Verunreinigungen der Messkörper durch organische Bestandteile besteht eine Abweichung der experimentellen Umrechnungsfaktoren. Auch unterscheidet sich der Proportionalitätsfaktor zwischen den Gruppen. Dies ist dadurch begründet, dass die organischen Verunreinigungen nur leicht von den Röntgenstrahlen absorbiert werden. Gravimetrisch allerdings werden sie vollständig erfasst.

3.7.5 Messen der Proben

Der Messvorgang lässt sich kurz skizziert wie folgt wiedergeben:

Zunächst wurden die für den Messvorgang notwendigen Parameter eingestellt. Per Drehknopf wurde das Röntgengerät auf 22 kV Spannung und exakt 10 mA Stromstärke eingestellt. Die Messdauer der einzelnen Proben betrug 10 Minuten. Zu Beginn der Messreihe durchlief eine Referenzprobe mit einem Aluminiumäquivalent von 1200 μm den Messvorgang. Es folgte eine weitere Referenzprobe mit 1100 μm . Beide Proben befanden sich in speziell dafür angefertigten Messingküvetten.



Abbildung 23: 1100 er und 1200 er Referenzproben in Küvette

Im Anschluss wurde der eigentliche Messkörper mit einer Pinzette in die Küvette gegeben. Die Markierung des Messkörpers sollte dabei stets auf den gleichen Referenzpunkt der Küvette gerichtet sein. Nun wurde die Probe in das Röntgengerät eingebracht. Die Messung wurde in Kanal 2 durchgeführt und im Anschluss im PC abgespeichert. Der Offset war täglich geringgradigen Schwankungen ausgesetzt, die mit jeder Messung neu zu notieren

waren.

Es wurden immer alternierend die eigentlichen Messkörper und, um eine beständige Messgenauigkeit zu überprüfen, im Anschluss die Aluminium-Referenz mit einer Dicke von 1100 μm gemessen.

Der letzte Messwert stellte wiederum die 1200er-Aluminiumreferenz dar. Die letzte Probe verblieb im Röntgengerät bis zur nächsten Messung. Die Messergebnisse wurden per Computerprogramm digital dargestellt. Somit bestand hier die Möglichkeit, Langzeitstudien in Bezug auf das Reminerali-

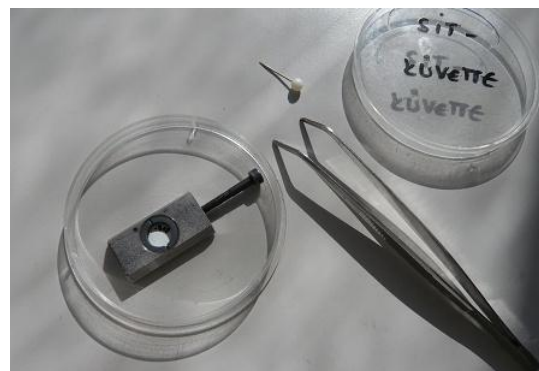


Abbildung 24: Messkörper in Küvette

sationsverhalten zu erstellen und vergleichende Werte zu Rate zu ziehen. (292)

3.8 Versuchsreihen

3.8.1 Vorversuch 1 (14.03.07 - 26.03.07)

Zu Beginn der Studie wurde in einem Vorversuch untersucht, welches Verfahren die Messkörper besser remineralisiert: ihr Einlegen in die mit einer Salzhydratschmelze angereicherte Zahnpasta oder das Einbürsten dieser Zahnpasta mit einer weichen Bürste.

Vergleichend wurde die CPP-ACP-haltige Paste Recaldent herangezogen. Die Blindwerte wurden ausschließlich mit REM-Lösung behandelt.

Für diesen Versuch wurden 5 Ansätze mit je 2 Messkörpern unterschieden:

1. SHS-Paste eingelegt (Proben 213, 217)
2. SHS-Paste gebürstet (Proben 215, 219)
3. Recaldent eingelegt (Proben 214, 218)
4. Recaldent gebürstet (Proben 216, 220)
5. Nullwert als Placebo, in REM-Lösung eingelegt (Proben 221, 222)

Rezept für Ansatz 1 und 2:

- 30 g Salzhydratschmelze (Wirkstoff)
- 18 g Glycerin (Suspensions-, Feuchtigkeitsmittel)
- 12 g Xylit (Dispersionsmittel, Süße, regt Speichelfluss an, Viskosität)
- 7 g Cremophor (Tensid, Detergenz)
- 0,7 g Natrium-Saccharin (Bindemittel)
- 6 Tropfen Alkohol (Konservierungsstoff)

Herstellung der Zahnpasta mit Salzhydratschmelze (SHS): Für die Zubereitung der SHS-haltigen Paste (Charge 1 und 2) wurde zunächst das Glycerin zusammen mit dem Xylitol erhitzt. Im Anschluss wurde Na-Saccharin hinzugefügt. Cremophor und Schmelze wurden getrennt voneinander

3 Material und Methodik

aufgewärmt, bis eine klare Substanz entstand. Die erhitzten Inhaltsstoffe wurden nun miteinander vermischt.

Methodik: Die Behandlung der Proben fand täglich und zwar immer morgens (10.00 Uhr) und abends (18.00) statt. Zwischen den Behandlungszeiten lagerten die Tabletten in mit Remineralisationslösung (REM) gefüllten, verschlossenen Gläschen ein.

Die Anwendung und Lagerung der Tabletten fand unter Raumtemperatur statt. Zur Behandlung wurden die Tabletten mit einer Pinzette aus den beschrifteten Gläschen entnommen, Charge 2 und 4 wurden insgesamt 3 Minuten, also von jeder Seite 90 Sekunden, mit einer weichen Zahnbürste (Meridol soft) und einem Anpressdruck von 10-15 g mit der SHS-haltigen Paste (Ansatz 2) oder Recaldent (Ansatz 4) gebürstet.

Charge 1 und 3 wurden für jeweils 15 Minuten in einem Behältnis mit besagten Lösungen eingelegt.

Nach der Behandlung wurden die Proben mit Zahnbürste und Wasser für 15 Sekunden gereinigt, mit Papiertüchern vorsichtig abgetupft und wieder zurück ins Gläschen gegeben. Die Proben der Blindwerte wurden lediglich aus dem Gläschen entnommen, 15 Sekunden mit Wasser abgespült und unterstützend mit der Zahnbürste gereinigt, mit Papiertüchern abgetupft und wieder in das Behältnis gelegt.

Die REM-Lösung wurde nach jeder Behandlung gewechselt. Die gravimetrische und radiographische Messung wurde alle vier Tage durchgeführt.

Beobachtung: Nach dem Einlegen der Proben der Charge 1 und 2 konnte man innerhalb des Wirkstoffs eine Ausbildung von weißen Schlieren feststellen.

3.8.2 Vorversuch 2 (03.05.07 - 13.05.07)

Die Intention des zweiten Vorversuchs war es herauszufinden, inwiefern die zusätzliche Zuführung von Phosphat für den Remineralisationsprozess relevant ist. Des Weiteren wurde der folgende Versuch mit verschiedenen konzentrierten Lösungen der SHS-Paste durchgeführt um festzustellen, ob eine bestimmte

3 Material und Methodik

Konzentration eine Art Resonanzverhalten in Bezug auf Remineralisation aufweist. Um die Prozesse innerhalb der Mundhöhle so natürlich wie möglich nachzustellen, wurden die Messkörper bei Normaltemperatur der Mundhöhle (35°C) im temperierten Trockenschrank gelagert. Begründet durch die Versuchsergebnisse des ersten Vorversuchs, wurden die Messkörper mit den unterschiedlichen Wirkstoffen eingebürstet.

Für diesen Versuch wurden 8 Ansätze mit je 3 Messkörpern unterschieden:

1. Ansatz: Recaldent gebürstet (Proben D1, D2, 238)
2. Ansatz: SHS-Paste 1A mit Calciumzusatz von 0,25 mol ohne Phosphatzusatz (Proben D3, 239, 240)
3. Ansatz: SHS-Paste 1B mit Calciumzusatz von 0,25 mol mit Phosphatzusatz (Proben D4, D5, 442)
4. Ansatz: SHS-Paste 2A mit Calciumzusatz von 0,5 mol ohne Phosphatzusatz (Proben D6, 243, 244)
5. Ansatz: SHS-Paste 2B mit Calciumzusatz von 0,5 mol mit Phosphatzusatz (Proben D7, D8, 245)
6. Ansatz: SHS-Paste 3A mit Calciumzusatz von 1,0 mol ohne Phosphatzusatz (Proben D9, 246, 247)
7. Ansatz: SHS-Paste 3B mit Calciumzusatz von 1,0 mol mit Phosphatzusatz (Proben D10, 236, 248)
8. Ansatz: Nullmuster: Elmex-Placebo (Proben 237, 249, 250)

<u>Rezept 1A</u>	<u>Rezept 1B</u> 0,25 mol Ca/kg Creme
-8,99 g H ₂ O	-8,99 g H ₂ O
-1,98 g Schmelze	-1,96 g Schmelze
-8,77g Xylitol	-8,77 g Xylitol
-0,28 g HEC	-0,28 g HEC
	-0,1 ml PO ₄ -Lösung (200 mmol)

<u>Rezept 2A</u>	<u>Rezept 2B</u> 0,5 mol Ca/kg Creme
-7,03 g H ₂ O	-6,97 g H ₂ O

3 Material und Methodik

-3,92 g Schmelze	-3,92 g Schmelze
-8,77 g Xylitol	-8,77 g Xylitol
-0,28 g HEC	-0,280 HEC
	-0,1 ml PO_4 (200 mmol)

<u>Rezept 3A</u>	<u>Rezept 3B</u> 1,0 mol Ca/kg Creme
-3,11 g H_2O	-3,01 g H_2O
-7,84 g Schmelze	-7,84 g Schmelze
-8,77 g Xylitol	-8,77 g Xylitol
-0,28 g HEC	-0,28 g HEC
	-0,1 ml PO_4 (200 mmol)

Herstellung der Schmelzeczahnpasta: Für die Herstellung der SHS-haltigen Paste wurde je nach Konzentration der jeweiligen Charge die Schmelze gemeinsam mit H_2O in einem Becherglas, das in einem mit 70°C temperierten Wasserbad stand, unter Rühren aufgelöst. Im Anschluss wurde Xylitol (dient hier als Dispersionsmittel, soll Speichelfluss anregen) eingerührt, bis die Lösung aufklarte. Zur Abkühlung wurde die Lösung etwa eine Stunde stehen gelassen. Im Anschluss wurde die Hydroxy-Ethyl-Cellulose (HEC; im wässrigen Milieu gut lösbares Suspensions- und Verdickungsmittel) eingestreut und umgerührt, bis wiederum eine klare Flüssigkeit entstand. Ansatz 3, 5 und 7 wurden mit je 0,2 molaren NaH_2PO_4 -Lösung versehen. Nach Fertigstellung wurden die Lösungen gewogen um zu überprüfen, ob sich während der Herstellung Flüssigkeit verflüchtigt hat.

Beobachtung: Chargen 3A und 3B zeigten eine für die Anwendung als Zahngel unbrauchbare, zu flüssige Konsistenz. Auch wurde bei den Lösungen 3A und 3B eine Trübung der Flüssigkeit beobachtet. Die Trübung ließ sich zwar nach weiteren Rühren und Erhitzen der Flüssigkeit klären, trübte sich allerdings nach einiger Zeit wieder ein. Es bestand hier die Vermutung, dass sich bei steigender SHS-Konzentration Celluloseflocken ausbilden.

3 Material und Methodik

Methodik:

1. Ansatz: Da es sich bei der CPP-ACP-haltigen Paste um keine gewöhnliche Zahncreme handelt, deren Gebrauch zweimal täglich empfohlen wird, wurde hier die Anwendung nur einmal täglich durchgeführt. Zwischen den Anwendungen wurden die Messkörper bei einer Temperatur von 35°C luftdicht verschlossen im Trockenschrank gelagert. Für die Behandlung wurden die Proben mit einer Pinzette entnommen. Eine erbsengroße Menge der Creme wurde mit den Fingern beidseitig auf den Messkörper aufgetragen. Recaldent verblieb gemäß der Anleitung drei Minuten auf der Tablette. Durch die mit REM-Lösung angefeuchteten Finger wurde der Wirkstoff für 90 Sekunden einmassiert. Dies sollte die massierenden Bewegungen der Wangen simulieren. Im Anschluss wurde der Messkörper für 15 Sekunden beidseitig unter fließendem Wasser mit einer Zahnbürste unter sanften Bürstendruck abgebürstet. Dann wurde die Probe bis zur nächsten Behandlung in frischer REM-Lösung gelagert.

2. - 7. Ansatz: Da es sich hier um eine übliche Zahncreme handelt, soll deren Anwendung mindestens zweimal täglich erfolgen. Die Behandlung der Proben fand morgens und abends statt.

Dafür wurde eine erbsengroße Menge der Paste auf eine mit REM-Lösung angefeuchtete weiche Zahnbürste gegeben. Hiermit wurden die Proben von beiden Seiten für je 90 Sekunden pro Fläche gebürstet. Im Anschluss wurden die Hände durch REM-Lösung befeuchtet und hiermit die Messkörper leicht gereinigt (soll Wangendruck simulieren). Die Proben wurden im Anschluss nicht mit Wasser gesäubert (nach dem Zähneputzen soll der Mund nicht ausgespült, lediglich der Wirkstoff ausspuckt werden). Bis zur nächsten Behandlung wurden die Proben in frischer REM-Lösung bei einer Temperatur von 35°C aufbewahrt.

8. Ansatz: Die Behandlung der Nullproben unterschieden sich nur insofern von denen der Ansätze 2-7, dass hier keine SHS-haltige Paste angewendet wurde, sondern eine erbsengroße Menge einer nicht fluoridhaltigen Placebozahncreme der Firma GABA. Auch die Proben des 8. Ansatzes wurden nach der Behandlung in frischer REM-Lösung bei 35°C aufbewahrt.

3 Material und Methodik

Die gravimetrische und radiographische Erfassung der Proben fand alle vier Tage statt.

3.8.3; 3.8.4 Zwischenversuch (14.04.2007 - 23.04.2007)

Um die hohen Nullwerte besser erklären zu können, wurde eine Reihe von Messkörpern über 8 Tage in 1-1-0-REM-Lösung eingelegt. Da Wissenschaftler wie Silverstone (293) davon ausgehen, dass nach ca. 10 Tagen Behandlung mit künstlicher Speichelflüssigkeit keine zusätzliche Remineralisation mehr eintritt, wurden weitere zwei Proben über 40 Tage in REM-Lösung eingelegt um abzuschätzen, wie hoch die maximale Mineralapposition in vitro sein kann.

3.8.5 Hauptversuch 1 (30.07.2007 - 12.08.2007)

Nach den Ergebnissen der Vorversuche galt es nun herauszufinden, ob es unter vermeintlich optimalen Bedingungen prinzipiell möglich ist, dass eine SHS-haltige Zahncreme remineralisierend wirken kann. Hierfür wurden die Messkörper sowohl zwischen, als auch während der Behandlungen bei einer Temperatur von 35°C gelagert. Bei den Behandlungen wurde der Wirkstoff nicht eingebürstet, sondern die Probekörper wurden darin eingelegt. Durch einen Magnetrührer wurde die Flüssigkeit permanent in Bewegung gehalten. Die damit erzeugte Konvektion sollte die Remineralisationswahrscheinlichkeit erhöhen.

Der hier zu prüfende Wirkstoff sollte die Zahncreme mit 0,5 mol Calciumzusatz in Form der Salzhydratschmelze (ohne Phosphatzusatz) aus dem vorherigen Versuch sein. Vergleichend wurde wie in den anfänglichen Versuchen, die CPP-ACP-haltige Paste Recaldent und die mit 1400 ppm Olafluor versehene Zahncreme Elmex (GABA) hinzugezogen. Als Blindwert diente die fluoridfreie Placebo-Zahncreme der Firma GABA.

Die Einwirkzeit wurde hier auf eine Stunde verlängert. Um den stimulierten Speichel zu simulieren, wurde der Wirkstoff 1:1 mit REM-Lösung verdünnt. Die

3 Material und Methodik

REM-Lösung diente, entsprechend dem stimulierten Speichel in der Mundhöhle, als Phosphatzufuhr. Die Behandlung der Messkörper fand zweimal täglich, morgens und abends, statt. Nach der dritten Messung wurden die Probenkörper über fünf Tage im Wirkstoff eingelegt.

Hier wurden einige Proben am Boden des Glases, andere in einer eigens dafür angefertigten Apparatur eingelagert.

Für diesen Versuch wurden 4 Ansätze mit je 5 Messkörpern unterschieden:

1. Ansatz: Recaldent (Probe D23, D24, 252, D14, D15)
2. Ansatz: Schmelze 2A (s. Vorversuch 2) (Probe D16, D17, D18, D20, D21)
3. Ansatz: Elmex rot (Probe D11, D12, D13, D25, D27)
4. Ansatz: Elmex Placebo (Probe D28, D29, D30, 253, D33)

Die Zubereitung und Inhaltsstoffe der SHS-haltigen Paste entsprach der Charge 2A (siehe Vorversuch 2). Im Anschluss wurde der gewonnene Wirkstoff gewogen um zu überprüfen, ob während des Aufwärmens Wasser verdampft ist. 6,5 g jedes Ansatzes wurde mit 6,5 g REM-Lösung verdünnt.



Abbildung 25: Haltevorrichtung für Messkörper

Methoden: Als Haltevorrichtung der Messkörper diente eine Drahtkonstruktion, die in das Becherglas eingehängt wurde. Um die Proben nicht zu beschädigen, wurden sie für die Anwendung in Gummiringen aufbewahrt, welche an der Drahtkonstruktion befestigt wurden. Das Becherglas wurde mit dem bereits 1:1

3 Material und Methodik

verdünnten Wirkstoff gefüllt; ein Rührfisch wurde hinzugefügt. Damit während der Anwendung eine konstante Konzentration aufrecht erhalten werden konnte, wurde das Becherglas mit Parafilm® luftdicht verschlossen. Alle Ansätze wurden während der Anwendung auf einer Platte mit Magnetrührern (Stir-Stufe 3) aufbewahrt. Die Magnetrührer befanden sich während der Anwendung im Trockenschrank, der sowohl während der Anwendung als auch zwischenzeitlich eine konstante Temperatur von 35°C aufrecht erhielt.

Nach der Anwendung wurden die Tabletten aus der Vorrichtung genommen, mit den Fingern 15 Sekunden mit REM-Lösung gereinigt (simuliert das Ausspucken) und zurück in das Gläschen gegeben. Die REM-Lösung wurde täglich gewechselt. Alle 4 Tage wurde die Massenbelegung der Tabletten durch Mikroradiographie bestimmt. Aufgrund der Masse der Tabletten wurden die Messkörper in zwei Gruppen aufgeteilt und mit einem Tag zeitversetzt gemessen.

pH-Messung der REM-Lösung:

Um zu überprüfen, inwiefern der in Rückständen an dem Messkörper anhaftende Wirkstoff Einfluss auf den pH-Wert der REM-Lösung nahm, in dem die Tabletten zwischen den Behandlungen lagerten, wurde regelmäßig sein pH-Wert bestimmt. Die Messungen fanden vor (frische REM-Lösung) und ca. vier Stunden nach der Behandlung statt. Am Folgetag wurde erneut der pH-Wert ermittelt.

Tabelle 3 pH-Wert der REM-Lösung Hauptversuch

Tablette Nr.	Produkt	pH vorher	pH nacher	pH Folgetag	Beobachtung
D23	Recaldent	6,48	6,67	6,66	pH steigt
D24	Recaldent	6,53	6,7	6,77	"
D16	Schmelze 2A	6,5	5,99	5,83	pH fällt
D17	Schmelze 2A	6,52	6,02	5,91	"
D11	Elmex rot	6,49	6,2	6	pH fällt
D12	Elmex rot	6,52	6,26	6	"
D28	Elmex Placebo	6,53	6,51	6,43	pH fällt leicht
D29	Elmex Placebo	6,52	6,51	6,44	"

3.8.6 Nachversuch 1 mit PO_4 und Fluorid (05. - 12.02.08)

Ausgangspunkt des folgenden Versuchs war die Fragestellung, ob die zugeführte Menge an Phosphat in der REM-Lösung ausreichend ist, um eine entsprechende Remineralisation zu provozieren. Auch sollte der Wirkstoff stärker verdünnt werden, um stimulierten Speichel noch naturgetreuer zu simulieren. Des Weiteren stand zur Diskussion, ob der Wechsel des pH-Wertes, um keine Deckschichtbildung zu erhalten, langsamer durchgeführt werden soll. Zum ersten Mal im Verlauf dieser Versuchsreihe sollte hier ein Vergleich der in-vitro Ergebnisse mit in-situ Versuchen stattfinden. Dabei muss allerdings bedacht werden, dass innerhalb der Mundhöhle multiple Faktoren auf die Zahnoberfläche einwirken, sodass man diese dynamischen Prozesse nicht vollständig nachstellen kann. Als Probanden dienten Personen, die bereits bei der klinischen Fruchtgummi-Studie teilgenommen hatten. Somit war es möglich, vergleichende Placebo-Werte in die Überlegungen einzubeziehen. Durch den kontinuierlichen Speichelfluss, der durch die saure Salzhydratschmelze stimuliert wird, ist davon auszugehen, dass innerhalb der Mundhöhle eine genügend hohe Konzentration an Phosphaten zur Verfügung steht. Vergleichend sollten hier die in-vitro Untersuchungen mit und ohne zusätzliche Zugabe von einer 200 mmolaren NaH_2PO_4 -Lösung stattfinden. Des Weiteren sollte die Rolle von Fluoriden in Zusammenhang mit calciumhaltiger Salzhydratschmelze überprüft werden.

Für diesen Versuch wurden demnach 8 Ansätze mit je 2 Messkörpern unterschieden:

	Ansatz		Probe	Behandlung mit SHS-Paste	
In vivo	1		256	0,5 mol	bukkal getragen
In vivo	1		257	0,5 mol	lingual getragen
In vivo	2	20 Min. in NaF	265	0,5 mol + F	bukkal getragen

3 Material und Methodik

In vivo	2	20 Min. in NaF	264	0,5 mol + F	lingual getragen
In vitro	3		258	0 mol + P	
In vitro	3		259	0 mol + P	
In vitro	4	20 Min. in NaF	266	0 mol + P + F	
In vitro	4	20 Min. in NaF	267	0 mol + P + F	
In vitro	5		260	0,5 mol + P	
In vitro	5		261	0,5 mol + P	
In vitro	6	20 Min. in NaF	268	0,5 mol + P + F	
In vitro	6	20 Min. in NaF	270	0,5 mol + P + F	
In vitro	7		262	0,5 mol	
In vitro	7		263	0,5 mol	
In vitro	8	20 Min. in NaF	271	0,5 mol + F	
In vitro	8	20 Min. in NaF	272	0,5 mol + F	

Inhaltsstoffe

<u>Zahngel 0,5 mol Ca²⁺ mit Fluorid (100 g)</u>		<u>Zahngel 0,5 mol Ca²⁺ (100 g)</u>	
-0,3095 g NaF (14000 ppm)		-35,3 g H ₂ O	
-35,3 g H ₂ O		-19,45 g Schmelze (2,52 mol Ca/kg)	
-19,45 g Schmelze (2,52 mol Ca/kg)		-1,4 g Hydroxyethylcellulose	
-1,4 g Hydroxyethylcellulose		-43,85 g Xylitol	
-43,85 g Xylitol			
→ pH-Wert: 3,78			
→ titrimetrische Ca-Best.: 0,05040 mol		-Ca-Best.: 0,5181 mol	

Rezept Zahngel 0 mol Ca²⁺ (100 g)

-0,0 g Schmelze

-50,799 g H₂O

-1,587 g Hydroxyethylcellulose

-0,0 g PO₄-Lösung

-47,62 g Xylitol

→ pH-Wert: 6,52

Zubereitung: Die Schmelze wurde zusammen mit H₂O bei einer Temperatur von 60°C erwärmt, bis sie sich auflöste. Im Anschluss wurde das Xylitol hinzugefügt und die Lösung zum Abkühlen ruhen gelassen. Die Hydroxyethylcellulose wurde eingestreut und musste 12 Stunden quellen. Nach Fertigstellung der Paste wurden per EDTA-Analyse der Calciumwert titrimetrisch bestimmt und der pH-Wert gemessen.

Methode :

In-situ Versuchsreihe:

Eine Woche vor Beginn der Versuchsreihe wurden zweimal täglich die Zähne der Probanden mit Elmex (rot) Zahncreme geputzt.

Vor Beginn des Versuches wurden die Präparate, die mit Fluorid versehen werden sollten, einmalig für 20 Minuten in 2 ml 500 ppm haltiger NaF-Lösung eingelegt. Im Anschluss wurden sie sorgfältig abgetupft und vollständig getrocknet. Bis zum Versuchsbeginn lagerten die Probenkörper in einem Wägegläschen mit Deckel, um Feuchtigkeit Zutritt zu verhindern.

Für den Versuch wurden die Tabletten in einer mit Klammer versehenen prothesenähnlichen Stahlvorrichtung befestigt.

Diese wurde 12 Stunden vor Beginn der Studie in die Mundhöhle eingebracht.

Als Wirkstoff diente das Zahngel der Charge 2A (Calciumkonzentration: 0,5 mol).

1 ml des Wirkstoffs wurde zweimal täglich auf eine trockene weiche Zahnbürste aufgetragen. Bedingt durch den Säuregehalt des Zahngels erfolgte rasch eine verstärkte Speichelbildung. Der Wirkstoff wurde insgesamt zwei Minuten auf

3 Material und Methodik

den Zähnen und den Messkörpern verteilt und im Anschluss ausgespuckt. Es wurde nicht mit Wasser nachgespült. Nach der Anwendung durfte eine Stunde weder gegessen noch getrunken werden, damit der Wirkstoff besser auf den Tabletten einwirken kann. Nach der Anwendung wurden die Probenkörper aus der Halterung genommen, für 15 Minuten in bidestilliertes Wasser eingelegt und im Anschluss für jeweils 15 Sekunden beidseits mit einer weichen Zahnbürste gesäubert, um die noch verbliebenen organischen Reste zu entfernen. Vor dem Messvorgang wurden die in-situ Proben aus der Halterung entnommen und 15 Minuten in Wasser gelegt. Anschließend wurden die Proben 15 Sekunden von jeder Seite mit einer weichen Zahnbürste und einer geringen Menge Placebo-Zahncreme unter leichten, immer konstanten Anpressdruck geputzt. Nachdem die Messkörper unter fließendem Wasser grob von Zahncremeresten befreit waren, wurden diese für weitere fünf Minuten in bidestilliertes Wasser gelegt. Es folgt die bereits beschriebene Behandlung der Tabletten im Wärmeschrank, das Abkühlen und das Wägen.

Die gravimetrische und radiographische Bestimmung wurden alle vier Tage durchgeführt.

In-vitro Versuchsreihe:

Die verschiedenen Ansätze dieser Versuchsreihe wurden alle nach dem gleichen Prinzip behandelt:

12 Stunden vor Beginn des Versuchs wurden die Proben in 1-1-0 REM-Lösung eingelegt. Die Lagerung der Tabletten zwischen den Behandlungen erfolgte, luftdicht verschlossen, im Trockenschrank bei einer Temperatur von 35°C. Zur Anwendung wurden die Messkörper aus der REM-Lösung entnommen. Mit einer 5 ml-Spritze wurde exakt 1 ml des Wirkstoffs auf die saubere Innenfläche der Hand gegeben.

Für Charge 2, 4, 5, und 6 wurden mit einer Pipette 2 ml einer 200 mmol NaH_2PO_4 -Lösung aufgezogen. Beides wurde innerhalb der Handfläche mittels eines Glasstabes gut vermischt. Der Messkörper wurde in das Flüssigkeitsgemisch gegeben und darin 2 Minuten mit einer weichen Zahnbürste bewegt. Im Anschluss wurde die Probe für 2 Minuten mit REM (1-1-0)-Lösung (pH von

5,25) gespült. Dies wurde deshalb so durchgeführt, um den pH-Wechsel langsamer durchführen zu können.

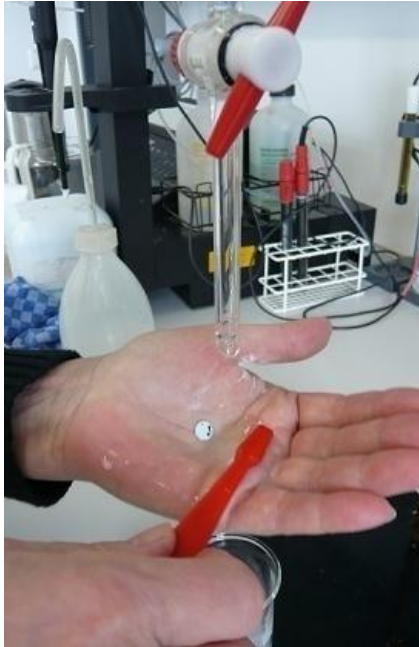


Abbildung 26: Behandlung der Proben für in-vitro Messreihe.

Um dies zu ermöglichen, wurde die Flüssigkeit in einen Schütteltrichter gegeben und die Drehvorrichtung solange manipuliert, bis der Speichelerersatz den Trichter tropfenweise verließ.

Nach der Behandlung wurden die Messkörper in ein Gefäß mit 100 ml REM-Lösung (pH von 6,5) eingelegt. Die REM-Lösung wurde alle zwei Tage ausgetauscht. Den Chargen 7 und 8 wurden anstelle der zusätzlichen Phosphatzugabe 15 Tropfen 1-1-0 REM-Lösung (pH 5,25) hinzugefügt.

Die gravimetrische und radiographische Messung der Proben wurde alle vier Tage durchgeführt. Es folgte die bereits beschriebene Vorbereitung der Probenkörper zwecks gravimetrischer und radiographischer Bestimmung (5minütiges Einlegen in bidestilliertes Wasser, 15minütiges Trocknen bei 100 °C, 30 Minuten abkühlen, wägen) Die in-vitro Proben wurden hingegen nicht zuerst 15 Minuten gewässert; hier wurde gleich mit dem Bürsten der Tabletten begonnen.

3.8.7 Nachversuch 2 ('Elmex-Versuch') 04.03 - 11.03.08

Letztlich sollte überprüft werden, ob die calciumhaltige Salzhydratschmelze auch kompatibel mit einer handelsüblichen, fluoridhaltigen Zahncreme ist. Auch hier sollte ein in-situ- in-vitro-Vergleich erfolgen. Die Konzentration der Salzhydratschmelze wurde hier jedoch niedriger gewählt als in den zuvor abgelaufenen Versuchen: sie betrug 0,2 mol.

3 Material und Methodik

Für diesen Versuch wurden folgende Ansätze aufgestellt:

1A	0	in situ	bu	273	Placebo + 0,2 mol Ca
1B	0	in situ	li	274	Placebo + 0,2 mol Ca
2A	0	in situ	bu	278	Elmex + 0,2 mol Ca
2B	0	in situ	li	280	Elmex + 0,2 mol Ca
3A	0	in vitro		281	Placebo + 0,2 mol Ca
3B	0	in vitro		282	Placebo + 0,2 mol Ca
4A	0	in vitro		283	Placebo
4B	0	in vitro		284	Placebo
5A	0	in vitro		288	Elmex + 0,2 mol Ca
5B	0	in vitro		289	Elmex + 0,2 mol Ca
6A	0	in vitro		290	Elmex
6B	0	in vitro		291	Elmex

Zubereitung: Für die Zahnpaste wurde die mit 1400 ppm Fluorid angereicherte Elmex rot bzw. Elmex Placebo (0 ppm Fluorid) auf ca. 60 °C erwärmt. Die calciumhaltige Salzhydratschmelze wurde hinzugefügt und unter Rühren vollständig aufgelöst. Im Anschluss wurden der pH-Wert und die Calciumkonzentration bestimmt (Elmex Placebo + Schmelzzahncreme: pH 4,0; Elmex rot + Schmelzzahncreme pH 4,2). Zur besseren Dosierung wurde die abgekühlte Paste in eine 5 ml-Spritze eingefüllt. Die Chargen 4A/B und 6A/B wurden nicht modifiziert in die Spritze gegeben.

In-situ Versuchsreihe:

Die Handhabung der Probenkörper und Anwendung des Wirkstoffs war identisch mit dem Umgang der in-situ Tabletten des Nachversuchs mit Phosphat und Fluorid.

In-vitro Versuchsreihe:

1 ml der jeweiligen Zahnpaste wurde in die Handinnenfläche gegeben und mit 2 ml NaH₂PO₄-Lösung ergänzt. Die Agenzien wurden mit einem Glasstab (mit einer Zahnbürste würde sich der Wirkstoff in den Borsten verfangen) gut durchmischt, bis eine homogene Masse entstand. Im Anschluss wurde die Probe hinzugefügt und mit einer weichen Zahnbürste für zwei Minuten in der Flüssigkeit bewegt. Wie bereits im vorherigen Versuch wurde der Probenkörper für weitere zwei Minuten mit 1-1-0-REM-Lösung des pH-Werts 5,25

tröpfchenweise gespült, um den Wechsel des pH-Wertes langsamer nachzuvollziehen.

Die Aufbewahrung der Tabletten erfolgte wie im vorherigen Versuch in 100 ml 1-1-0-REM-Lösung des pH-Werts 6,5. Diese wurde alle zwei Tage erneuert. Es folgte die bereits bekannte radiographische Bestimmung der Probenkörper.

3.9 Statistische Methoden

Zur Beschreibung der Ergebnisse dieser prospektiven, deskriptiv projektierten Studie wurden folgende Tests verwendet:

- Der **Wilcoxon-Test** für verbundene Stichproben vergleicht zwei Messungen beim gleichen Individuum, wenn keine Gaußsche Normalverteilung der Messwerte angenommen werden kann. Bei geringer Fallzahl, insgesamt weniger als 20 statistischen Einheiten, wird der exakte Wilcoxon-Test berechnet. Wenn eine Gaußsche Normalverteilung der Messwerte angenommen werden kann, wird stattdessen der mächtigere **verbundene t-Test** verwendet.
- Die Rangvarianzanalyse mit Messwiederholungen **nach Friedman** ersetzt den Wilcoxon-Test bei mehr als zwei Messungen beim gleichen Individuum, wenn keine Gaußverteilung der Parameter angenommen werden kann. Unter Annahme einer Gaußschen Normalverteilung wird die Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholungen berechnet.
- Die zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholungen auf einem Faktor dient zur Auswertung einer Messreihe bei mehreren Gruppen. Bei wesentlichen Abweichungen von einer Gaußschen Normalverteilung wird dieser Test durch die **zweifaktorielle Rangvarianzanalyse mit Meßwiederholungen auf einem Faktor nach Puri und Sen** ersetzt. Dieses Verfahren liefert:
 - a) Gruppen: Den Vergleich zwischen den Gruppen, hier meist zwischen den Proben.
 - b) Verlauf: Hier werden die Veränderungen über die verschiedenen Zeitpunkte getestet, wobei die Gruppen gepoolt werden.

3 Material und Methodik

- c) Interaktion: Neben diesen beiden Vergleichen, die man auch beim Einzelvergleich erhalten würde, ergibt sich zusätzlich die sog. Interaktion. Eine signifikante Interaktion besagt, dass der Unterschied zwischen den Proben zwischen den Messzeitpunkten variiert.
- Ein **Konfidenzintervall** wird berechnet, um die Güte eines Schätzwertes zu beurteilen. Der aus der Stichprobe ermittelte Schätzwert repräsentiert vermutlich nicht den tatsächlichen Wert der Grundgesamtheit, und es ist kaum zu erwarten, dass dieser Schätzwert mit dem wahren Wert der Grundgesamtheit exakt übereinstimmt. Man darf aber vermuten, dass der wahre Wert in der näheren Umgebung des Schätzwertes liegt. Durch ein **Konfidenzintervall** (Vertrauensbereich, CI) wird dieser unscharfe Ausdruck „nähere Umgebung“ präzisiert, da er einen Hinweis auf die Genauigkeit des errechneten Ergebnisses liefert. Ein **95%-Konfidenzintervall** gibt den Bereich an, der mit 95%-iger Wahrscheinlichkeit den ermittelten Parameter überdeckt.

Um die Testergebnisse quantitativ vergleichen zu können, wurden p-Werte berechnet. Ein p-Wert unter 0,05 wird als signifikant bezeichnet und das Ergebnis wird als wesentlich interpretiert. Die p-Werte werden wie gewohnt mit Stern-Symbolen gekennzeichnet:

$p < 0,05$ mit *, $p < 0,01$ mit ** und $p < 0,001$ mit ***

Die Bezeichnung „signifikant“ wird im statistischen Kontext reserviert, um Testergebnisse mit p-Werten unter 0,05 zu beschreiben, und wird nicht im weiteren bürgerlichen Sinn gebraucht.

4 Ergebnisse

4.1 Vorversuch 1: Eingelegt oder eingebürstet

Hier wurde das Potential von Recaldent, schmelzehaltiger Zahnpasta und REM-Lösung in Bezug auf Remineralisation getestet. Die Probenkörper wurden in zwei Gruppen eingeteilt, die jeweils unterschiedlich behandelt wurden: Die Probenkörper der einen Gruppe wurden eingelegt, die der anderen wurden eingebürstet.

Global waren die Messungen zu den drei Zeitpunkten verschieden ($p = 0.0014^{**}$ in der Rangvarianzanalyse nach Friedman).

Massen- und Absorptionsverlauf eingelegt und eingebürstet

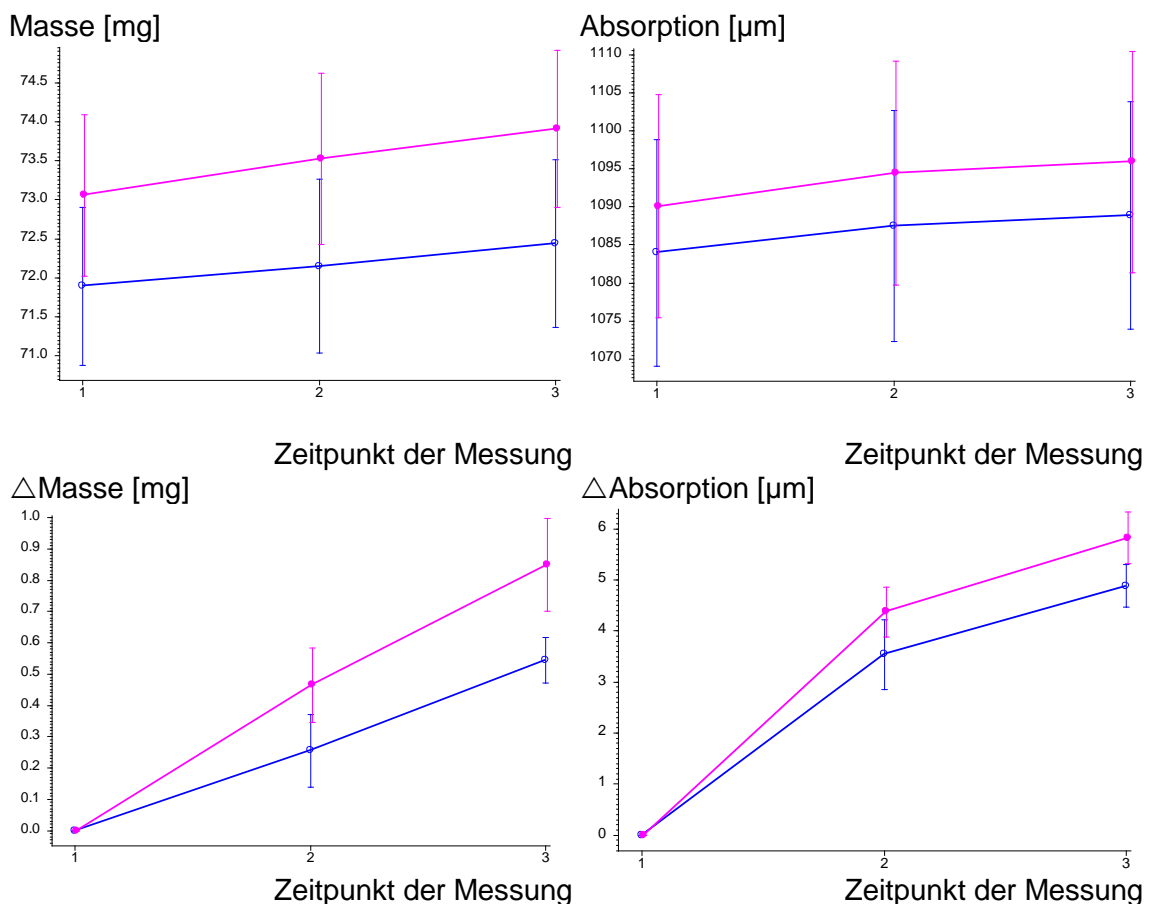


Abbildung 27: Masse und Absorption von eingelegten und eingebürsteten Probenkörper im Verlauf. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Behandlungsarten: ○ = eingelegt (n = 4), ● = eingebürstet (n = 4) in Recaldent oder Schmelz Zahnpaste.

4 Ergebnisse

Die eingebürsteten Präparate (●) zeigten tendenziell höhere Ergebnisse in Masse und Absorption als die eingelegten (○).

Zwischen den Behandlungsarten „Einlegen“ und „Einbürsten“ fand sich kein signifikanter Unterschied. Eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) ergab für Masse: $p_{\text{Gruppen}} = 0.40$, $p_{\text{Interaktion}} = 0.25$ und für Absorption $p_{\text{Gruppen}} = 0.76$, $p_{\text{Interaktion}} = 0.33$.

Massen- und Absorptionsverlauf der Pasten und REM

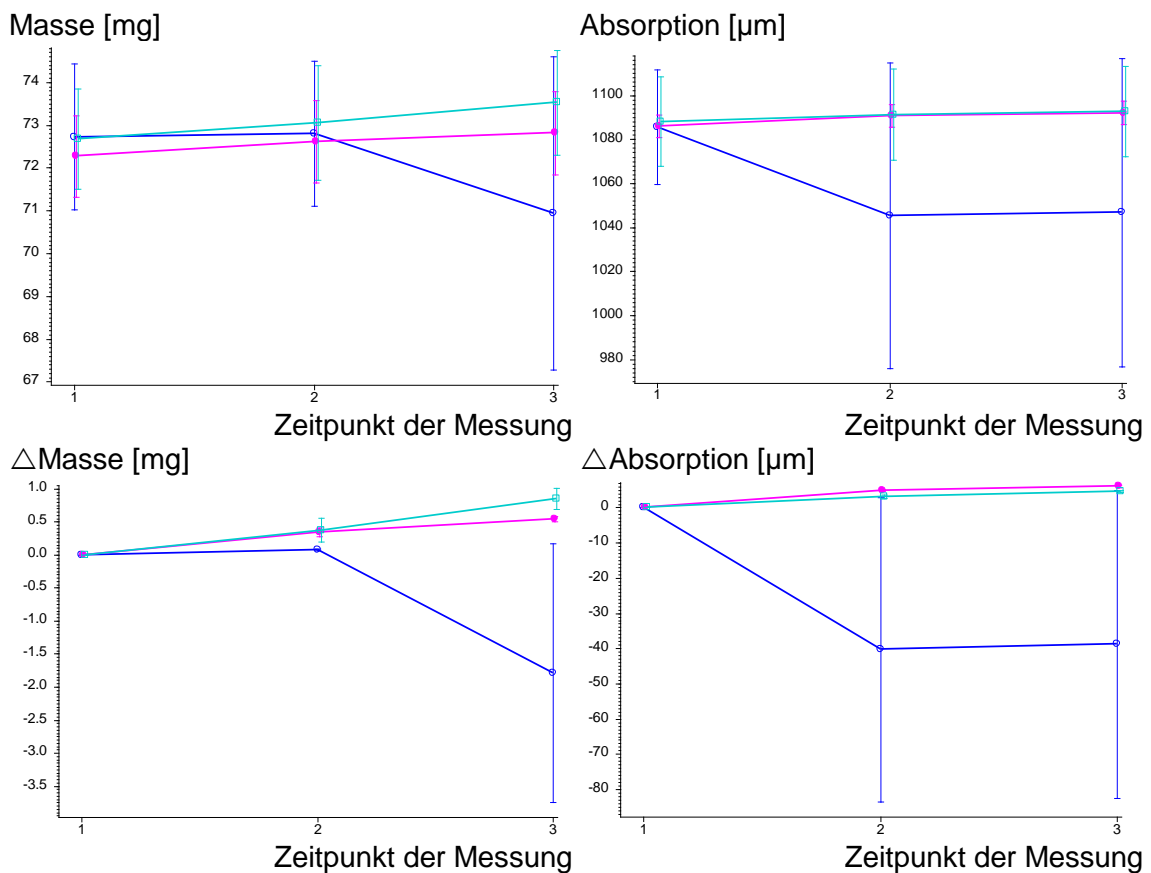


Abbildung 28: Masse und Absorption von eingelegten und eingebürstete *Tabletten* im Verlauf. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach verwendeter Testsubstanz: ○ = REM (n = 2), ● = Recaldent (n = 4), □ = Schmelzcreme (n = 4). REM gilt weder als eingelegt noch als eingebürstet.

Die Remineralisationsverläufe von Recaldent und schmelzehaltiger Zahncreme (● und □, vergl. hierzu **Abbildung 28**) zeigten sich hier fast identisch und lagen im leicht positiven Bereich. Im Vergleich dazu, schnitt die REM-Lösung in Bezug auf Masse und Absorption eher schlecht ab und ging mit einem rapiden Abfall beider Parameter einher.

4 Ergebnisse

Zwischen den drei Testsubstanzen fand sich kein signifikanter Unterschied, weder bei Masse ($p_{\text{Gruppen}} = 0.9$. $p_{\text{Interaktion}} = 0.074$) noch bei Absorption ($p_{\text{Gruppen}} = 0.9$. $p_{\text{Interaktion}} = 0.074$, alles in der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholungen auf einem Faktor).

Wenn man die beiden Tabletten mit REM auslässt dann ist bei Masse $p_{\text{Gruppen}} = 0.75$. $p_{\text{Interaktion}} = 0.22$ und bei Absorption $p_{\text{Gruppen}} = 0.96$. $p_{\text{Interaktion}} = 0.041^*$.

D.h., der Unterschied der Absorption zwischen den beiden Zahnpasten Recaldent und Schmelzezahnpaste war zwischen den drei Messzeitpunkten nicht gleich.

4 Ergebnisse

4.2 Vorversuch 2: Schmelzeczahnpasten unterschiedlicher

Konzentrationen mit und ohne Phosphatzusatz

In diesem Versuch wurden dreierlei schmelzehaltige Zahnpasten mit den Konzentrationen (1 = 0,25 mol, 2 = 0,5 mol, 3 = 1 mol) jeweils mit und ohne zusätzlichen Phosphatzusatz dem Präparat Recaldent gegenübergestellt. Die Zahnpaste Elmex Placebo wurde als Nullwert vergleichend hinzugezogen. Die Versuche waren nicht mit allen Tabletten simultan durchführbar, weshalb eine Hälfte der Tabletten stets einen Tag später behandelt wurde als die andere. Der Unterschied zwischen den beiden Versuchstagen war nicht signifikant, wenn man jeweils alle an einem Tag gemessenen Proben poolt.

Massen- und Absorptionsverlauf verschiedene Konzentrationen

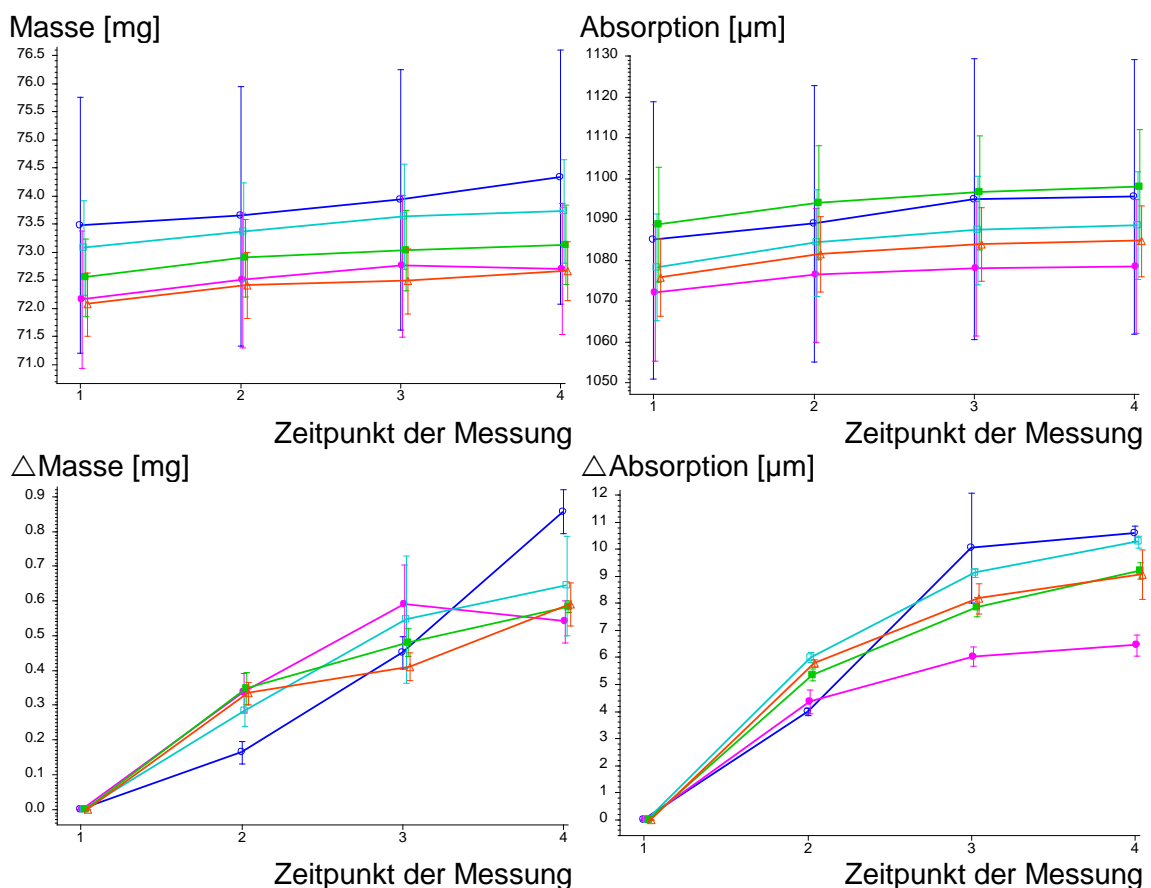


Abbildung 29: Masse und Absorption bei verschiedenen Konzentrationen im Verlauf. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahnpaste: \circ = Elmex Placebo, \blacklozenge = Recaldent, \square = Schmelzeczahncreme 0.25 mol, \blacksquare = Schmelzeczahncreme 0.5 mol, \triangle = Schmelzeczahncreme 1 mol (jeweils $n = 3$), alle ohne Phosphatzusatz

4 Ergebnisse

Die Kurvenverläufe in Bezug auf das Absorptionsverhalten von Elmex Placebo und von Schmelzeczahncrème der Konzentration von 0,25 mol entsprechen sich weitestgehend. Mit einer gemittelten Mineralanreicherung von 10,584 μm für Elmex Placebo und 10,27 μm für das Präparat 1A erzielten die beiden Präparate die höchsten Ergebnisse. Ebenso ähnelten die Kurvenverläufe von 0,5 und 1 molarer Schmelzeczahncrème einander. Das Präparat Recaldent zeigte mit einem Mittelwert von 6,443 μm den geringsten Mineralzuwachs.

Massen- und Absorptionsverlauf mit und ohne Phosphatzusatz

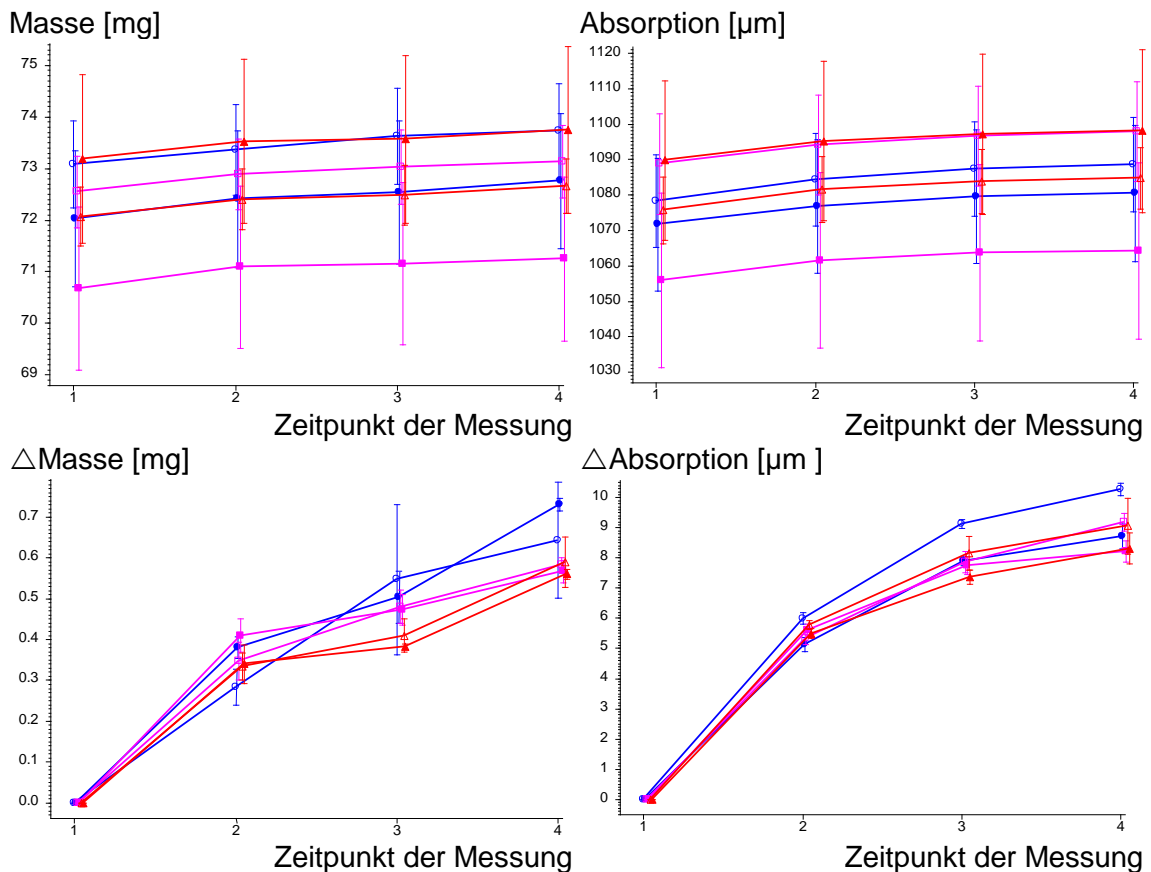


Abbildung 30: Masse und Absorption von schmelzehaltiger Zahnpaste verschiedener Konzentrationen mit und ohne Phosphat im Verlauf. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Konzentration und Phosphatzusatz der Schmelzeczahnpaste: \circ = 0,25 mol, ohne Phosphat, \bullet = 0,25 mol, mit Phosphat, \square = 0,5 mol, ohne Phosphat, \blacksquare = 0,5 mol, mit Phosphat, \triangle = 1 mol, ohne Phosphat, \blacktriangle = 1 mol, mit Phosphat (n = 3 in jeder Gruppe).

In **Abbildung 30** zeigten nahezu alle Präparate das gleiche Absorptionsverhalten, wobei die 0,25 molare Schmelzeczahncrème tendenziell

4 Ergebnisse

die höchsten, und die 1 molare Schmelzeczahncrème (mit und ohne Phosphat) die niedrigsten Werte in Bezug auf Mineralanreicherung erzielten.

	Masse	Absorption
Elmex Placebo	0.00002***	0.00098***
Recaldent	0.0016**	<0.000005***
Schmelzeczahnpaste 0.25 mol	0.0070**	<0.000005***
Schmelzeczahnpaste 0.25 mol mit Phosphat	0.00006***	<0.000005***
Schmelzeczahnpaste 0.5 mol	0.00001***	<0.000005***
Schmelzeczahnpaste 0.5 mol mit Phosphat	<0.000005***	<0.000005***
Schmelzeczahnpaste 1 mol	0.00040***	0.00002***
Schmelzeczahnpaste 1 mol mit Phosphat	0.00001***	<0.000005***

Tabelle 4: Verlauf von Masse und Absorption über die vier Messzeitpunkte. p aus der Varianzanalyse mit Messwiederholungen (ANOVA).

	Masse	Absorption
Vergleich Elmex Placebo mit Recaldent		
Gruppen	0.64	0.71
Verlauf	0.0010**	0.0017**
Interaktion	0.036 *	0.080
Vergleich Schmelzeczahnpaste 0.25 mol, 0.5 mol und 1 mol		
Gruppen	0.62	0.75
Verlauf	0.0002***	0.0000***
Interaktion	0.59	0.29
Elmex Placebo mit Schmelzeczahnpaste 0.25 mol, 0.5 mol und 1 mol		
Gruppen	0.87	0.97
Verlauf	0.0000***	0.0000***
Interaktion	0.094	0.20
Schmelzeczahnpaste 0.25 mol mit und ohne Phosphat		
Gruppen	0.56	0.76
Verlauf	0.0033**	0.0000***
Interaktion	0.51	0.054
Schmelzeczahnpaste 0.5 mol mit und ohne Phosphat		
Gruppen	0.34	0.31
Verlauf	0.0001***	0.0000***
Interaktion	0.31	0.10
Schmelzeczahnpaste 1 mol mit und ohne Phosphat		
Gruppen	0.55	0.61
Verlauf	0.0006***	0.0001***
Interaktion	0.72	0.48

Tabelle 5. Vergleich von Gruppen mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse.

4 Ergebnisse

Vergleicht man die Schmelz Zahnpasten verschiedener Konzentrationen in ihren Ergebnissen, so lässt sich bei keinem dieser Wirkstoffe eine signifikant bessere Wirksamkeit erkennen.

Die Schmelz Zahnpasten der unterschiedlichen Molaritäten zeigen mit Phosphat keine signifikant besseren Ergebnisse als ohne Phosphat. Die Placebopaste zeigt ebenso keine signifikant schlechteren Ergebnisse als die Schmelz Zahnpasten unterschiedlicher Konzentration.

Einzig die Interaktion, d.h. die Zunahme der Masse von Elmex Placebo und von Recaldent, war signifikant unterschiedlich (vgl. auch **Abbildung 29**, ○ und ●). Der Anstieg der Absorption war knapp nicht signifikant.

	<u>Masse</u>	<u>Absorption</u>
Recaldent mit Schmelzpaste 0.25 mol, 0.5 mol und 1 mol mit Phosphat		
Gruppen	0.70	0.73
Verlauf	<0.00005***	<0.00005***
Interaktion	0.12	0.029*
Recaldent mit Schmelzpaste 0.25 mol, 0.5 mol und 1 mol ohne Phosphat		
Gruppen	0.83	0.81
Verlauf	<0.00005***	<0.00005***
Interaktion	0.54	0.010*
Recaldent und Schmelzpaste 0.25 mol mit und ohne Phosphat		
Gruppen	0.80	0.93
Verlauf	0.0003***	<0.00005***
Interaktion	0.44	0.0020**
Recaldent und Schmelzpaste 0.5 mol mit und ohne Phosphat		
Gruppen	0.56	0.51
Verlauf	<0.00005***	<0.00005***
Interaktion	0.33	0.011*
Recaldent und Schmelzpaste 1 mol mit und ohne Phosphat		
Gruppen	0.79	0.73
Verlauf	0.0001***	<0.00005***
Interaktion	0.24	0.093

Tabelle 6: Vergleich von Gruppen mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse.

Recaldent schnitt bezüglich Verlauf und Interaktion immer signifikant schlechter ab als die besagten Schmelz Zahnpasten verschiedener Konzentrationen mit und ohne Phosphat. Nur die 1 molare Schmelz Zahnpaste (mit und ohne

4 Ergebnisse

Phosphat) unterschied sich in Bezug auf deren Interaktion nicht signifikant von Recaldent.

Absorptionsverlauf von Recaldent und Schmelzezahnpasten mit und ohne Phosphat

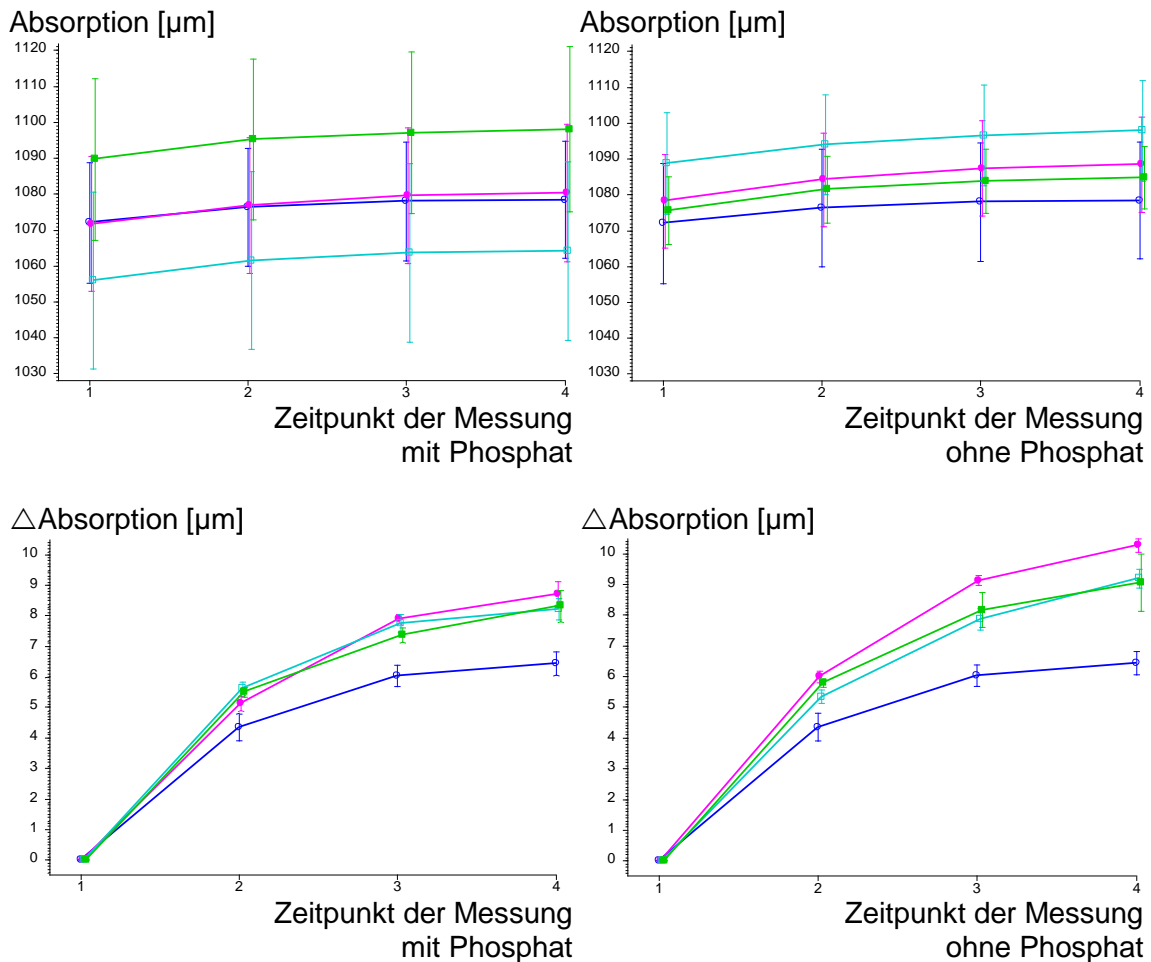


Abbildung 31: Absorption von Recaldent und Schmelzezahnpaste in verschiedener Konzentration im Verlauf. Links Schmelzezahnpasten mit Phosphat rechts Schmelzezahnpasten ohne Phosphat. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahnpaste: \circ = Recaldent ($n = 3$), \bullet = Schmelzezahnpaste 0.25 mol ($n = 3$), \square = Schmelzezahnpaste 0.5 mol ($n = 3$), \blacksquare = Schmelzezahnpaste 1 mol ($n = 3$).

Die Zunahme der Absorption von Recaldent war signifikant schwächer als die aller Schmelzezahnpasten, sowohl mit als auch ohne Phosphatzusatz.

4 Ergebnisse

Absorptionsverlauf von Recaldent und Schmelz Zahnpasten mit und ohne Phosphat

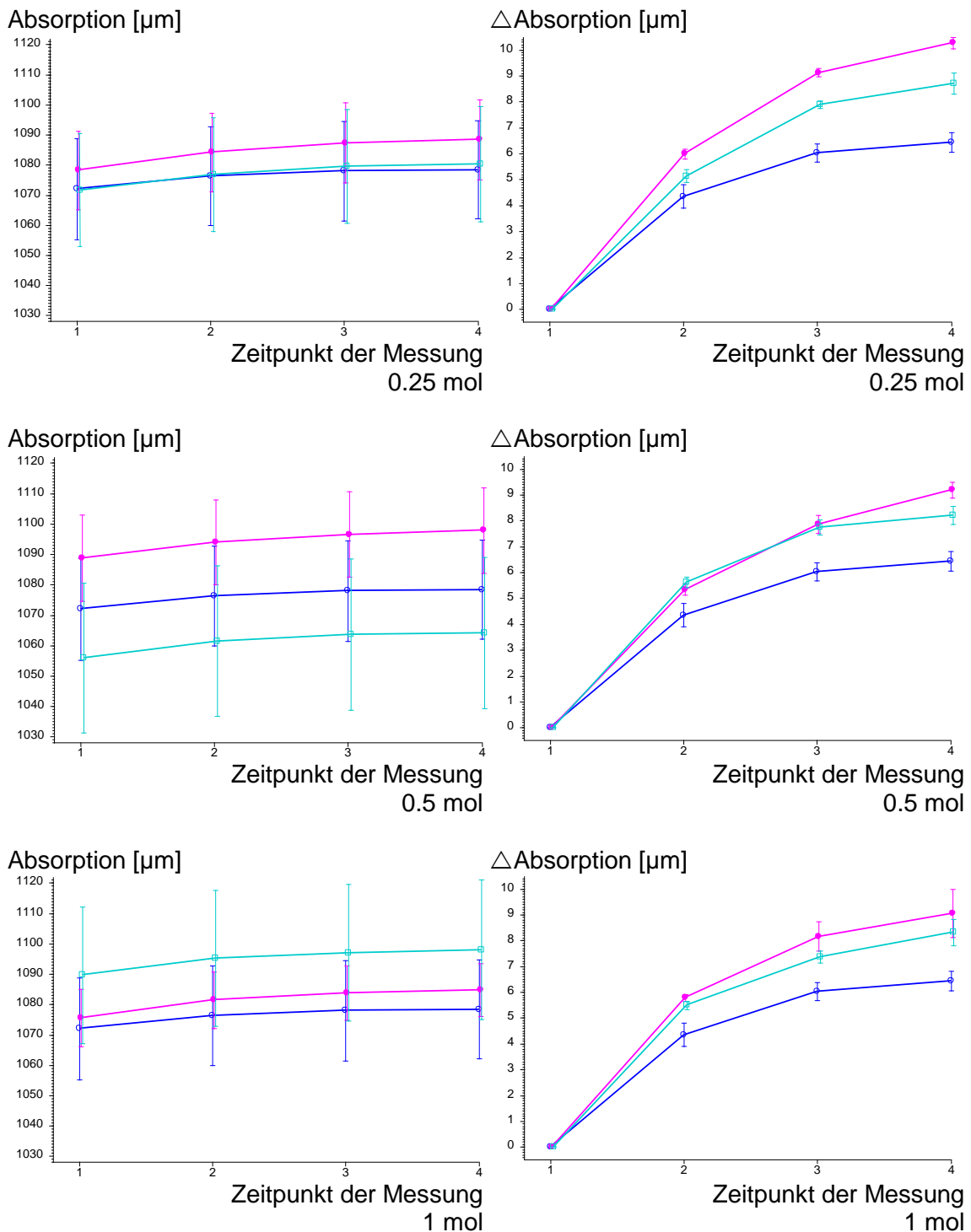


Abbildung 32: Masse und Absorption von Recaldent und Schmelz Zahnpaste in verschiedener Konzentration im Verlauf. Links Absolutwerte, rechts Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahnpaste: ○ = Recaldent (n = 3), ● = Schmelz Zahnpaste ohne Phosphat (n = 3), ◻ = Schmelz Zahnpaste mit Phosphat (n = 3).

4 Ergebnisse

Wie in **Abbildung 32** zu erkennen ist, lagerten die Präparate unterschiedlicher Molarität ohne Phosphat tendenziell mehr Mineral ein als Schmelzeczahncrème mit Phosphat. Recaldent zeigte hier im Vergleich signifikant niedrigere Ergebnisse als die anderen Wirkstoffe, mit der Ausnahme der 1 molaren Schmelzeczahncrème (mit und ohne Phosphat, vergl. hierzu **Tabelle 6**, Absatz 1-5)

4 Ergebnisse

4.3 Zwischenversuch: REM über 40 Tage

Massen- und Absorptionsverlauf in 40 Tagen

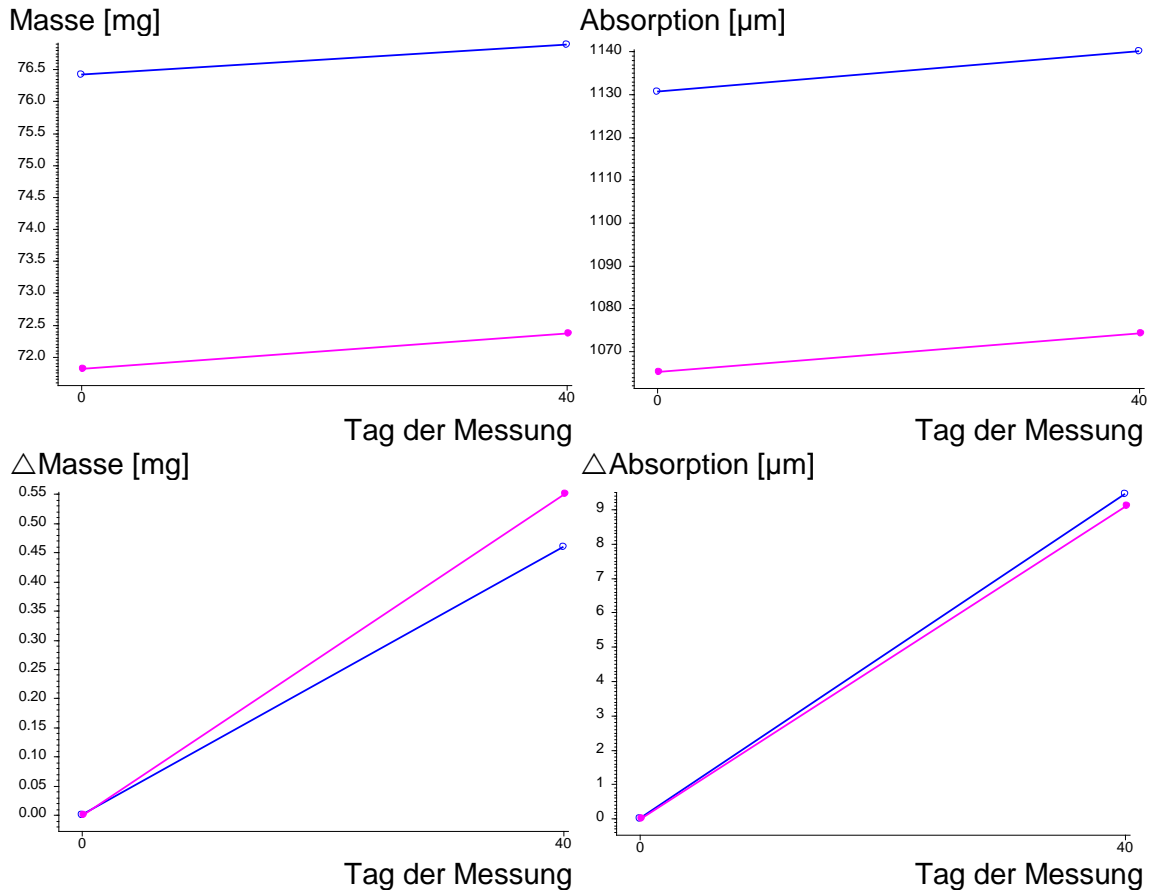


Abbildung 33: Masse und Absorption von in REM eingelegten (Tabletten) Anfangs und nach 40 Tagen. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind die beiden Einzelverläufe nach 0 und nach 40 Tagen.

	Tag	n	MW	ST	Zunahme		t-Test	exakt
					MW	ST	p	p
Masse [mg]	0	2	74.115	3.260	0.505	0.064	0.057	0.50
	40	2	74.620	3.196				
Absorption [µm]	0	2	1097.862	46.216	9.275	0.228	0.011*	0.50
	40	2	1107.137	46.444				

Tabelle 7: Zunahme von Masse und Absorption in 40 Tagen. MW = Mittelwert, ST = Standardabweichung. p aus dem verbundenen t-Test und aus dem exakten Wilcoxon-Test.

4 Ergebnisse

Die Zunahme der Absorption in 40 Tagen betrug im Mittel der beiden Tabletten 9,275 μm mit einem 95%-CI von 8,828 bis 9,722 μm .

4.4 Zwischenversuch: REM über eine Woche

Massen- und Absorptionsverlauf in einer Woche

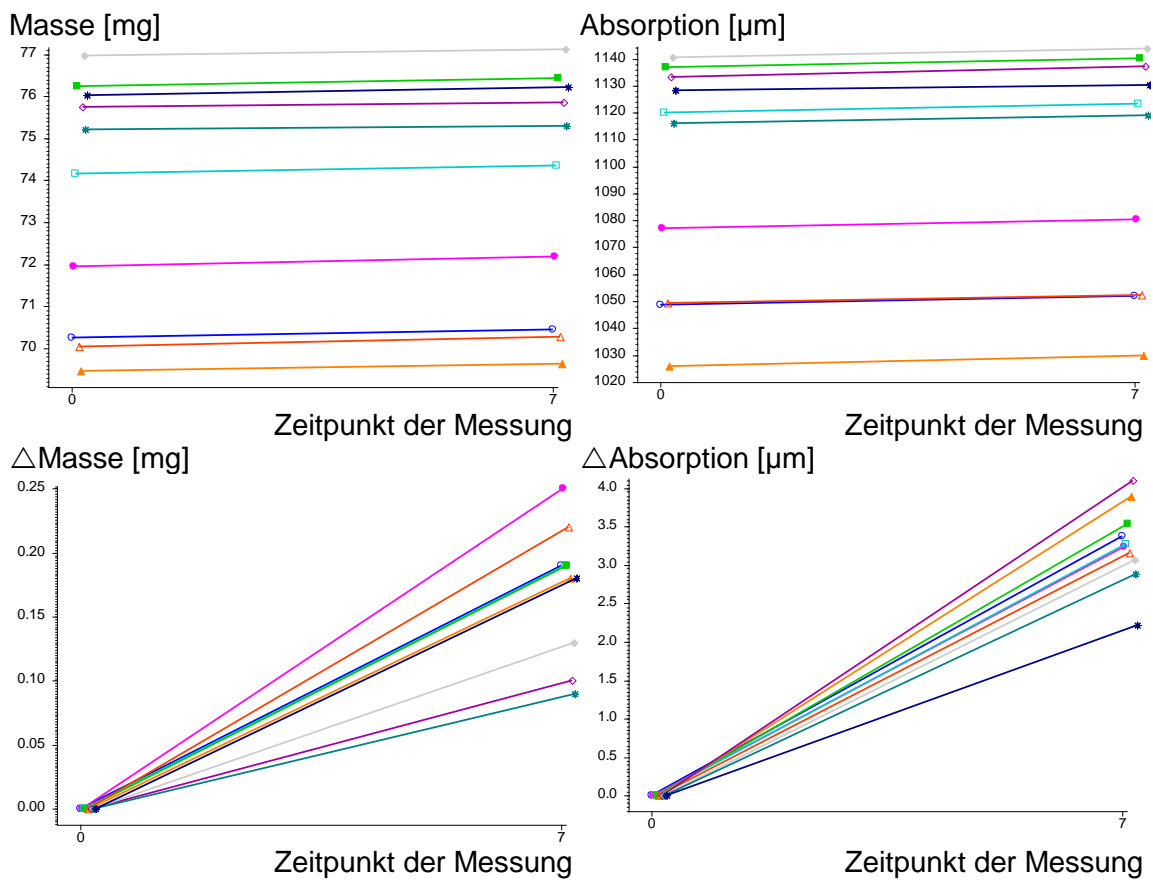


Abbildung 34: Masse und Absorption von in REM eingelegten Tabletten. Anfangs und nach 7 Tagen. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind die beiden Einzelverläufe nach 0 und nach 40 Tagen.

4 Ergebnisse

	Tag	n	MW	ST	Zunahme		t-Test	exakt
					MW	ST	p	p
Masse	0	10	73.608	2.898	0.172	0.051	<0.000005***	0.0020**
[mg]	7	10	73.780	2.870				
Absorption	0	10	1097.586	43.117	3.276	0.524	<0.000005***	0.0020**
[µm]	7	10	1100.861	42.984				

Tabelle 8: Zunahme von Masse und Absorption in 7 Tagen. MW = Mittelwert, ST = Standardabweichung. p aus dem verbundenen t-Test und aus dem exakten Wilcoxon-Test.

Die Zunahme der Masse in einer Woche betrug im Mittel der 10 Tabletten 0,172 mg mit einem 95%-CI von 0,073 bis 0,271 mg. Die Zunahme der Absorption in einer Woche betrug im Mittel der 10 Tabletten 3,276 µm mit einem 95%-CI von 2,248 bis 4,303 µm.

4 Ergebnisse

4.5 Hauptversuch

Hier wurde der Einfluss verschiedener Wirkstoffe (0,5 molare Schmelze ohne Phosphatzusatz, Elmex rot, Elmex Placebo, Recaldent) getestet. Die Behandlung während den ersten drei Messungen erfolgte jeweils einstündig, vor der vierten Messung lagerten die Probenkörper über fünf Tage im Wirkstoff ein. Für die letzte Messung wird die Lokalisation des Probenkörpers unterschiedlich behandelt (oben oder unten), was am Ende dieses Versuchs gesondert verglichen wird.

Massen- und Absorptionsverlauf Hauptversuch

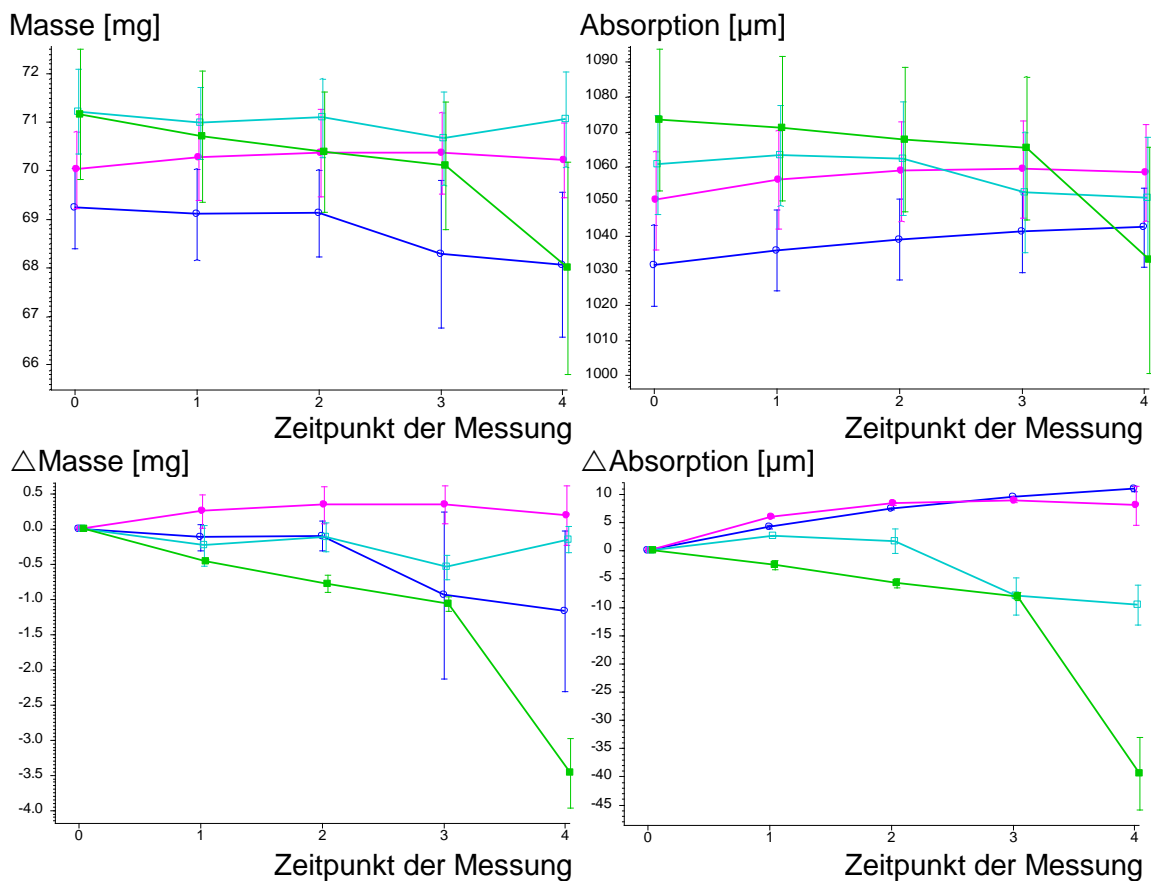


Abbildung 35: Masse und Absorption im Verlauf. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahnpaste: \circ = Elmex Placebo, \bullet = Recaldent, \square = Elmex rot, \blacksquare = Schmelzcreme 0.5 mol (n = 5 in jeder Gruppe).

4 Ergebnisse

	Masse		Absorption	
	ANOVA	Friedman-Test	ANOVA	Friedman-Test
Elmex Placebo	0.50	0.87	<0.000005***	0.00069***
Recaldent	0.65	0.54	0.0052**	0.0090**
Elmex rot	0.14	0.30	0.00024***	0.017*
Schmelzezahnpaste	<0.000005***	0.00069***	<0.000005***	0.00052***

Tabelle 9: Verlauf von Masse und Absorption über die vier Messzeitpunkte.

Die Absorption veränderte sich für alle vier Zahncremes über die Zeit. Elmex Placebo und Recaldent stiegen an, Elmex rot stieg zunächst an und fiel dann ab, die Absorption der Schmelzezahncreme verminderte sich über die Zeit (s. **Tabelle 9**).

Vergleicht man die vier Zahnpasten (unabhängig von der Lokalisation) miteinander, so sieht man keinen Unterschied bezüglich der Masse. Wohl aber ist (in der Rangvarianzanalyse) ein Gruppenunterschied der Absorption zu erkennen. Die Gruppenunterschiede sind aber im Rahmen dieser Studie unwesentlich, weil die Höhe des Anfangswertes variiert. Wichtig ist vielmehr nur die Interaktion, d.h. der Unterschied in der Richtung der Verläufe. Und dieser Unterschied ist für beide Parameter und für beide Tests signifikant. In Elmex Placebo und Recaldent stiegen die Werte an, und in Schmelzezahncreme fielen sie ab.

Demnach erzielte 0,5 molare Schmelzezahncreme die schlechtesten Ergebnisse in Bezug auf die Mineralanreicherung (s. **Abbildung 35**). Elmex rot lag hier im leicht negativen Bereich. Elmex Placebo und Recaldent wiesen annähernd gleiche Ergebnisse bezüglich deren Absorptionsverläufen auf; ihre Werte lagen im leicht positiven Bereich.

4 Ergebnisse

	Masse		Absorption	
	ANOVA	Puri-Sen	ANOVA	Puri-Sen
Vergleich Pasten: Placebo, Recaldent, Elmex rot, Schmelzeczahncrème 2A				
Gruppen	0.53	0.19	0.73	0.012*
Verlauf	0.013*	0.0.61	0.0001***	0.55
Interaktion	0.028*	0.0.015*	<0.00005***	0.00009***
Vergleich oben mit unten				
Gruppen	0.54	0.79	0.57	0.74
Verlauf	0.046*	0.61	0.078	0.58
Interaktion	0.32	0.21	0.40	0.13
Elmex Placebo oben mit unten				
Gruppen	0.68	–	0.37	–
Verlauf	0.39	0.87	0.0001***	0.00069***
Interaktion	0.30	0.41	0.028*	0.41
Recaldent oben mit unten				
Gruppen	0.70	–	0.93	–
Verlauf	0.49	0.54	0.11	0.0090**
Interaktion	0.40	0.41	0.46	0.41
Elmex rot oben mit unten				
Gruppen	0.052	–	0.028*	–
Verlauf	0.24	0.30	0.018*	0.017*
Interaktion	0.34	0.41	0.098	0.41
Schmelzpaste 2A oben mit unten				
Gruppen	0.25	–	0.91	–
Verlauf	0.015*	0.0030**	0.0016**	0.0019**
Interaktion	0.65	0.62	0.20	0.37

Tabelle 10: Vergleich von Gruppen mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse und der zweifaktoriellen Rangvarianzanalyse nach Puri und Sen.

Eine Trennung nach oben und unten gibt zu kleine Gruppen für stabile Vergleiche, besonders, weil manche Gruppen nur 2 Tabletten haben. Wenn man unabhängig von der Zahnpaste die oben eingelegten Tabletten mit den unten eingelegten vergleicht, dann ist kein Unterschied zwischen oben und unten zu erkennen (s. **Tabelle 10**, 2. Absatz).

Vergleicht man alle Wirkstoffe untereinander, so besagt die signifikante Interaktion, dass sich die Anstiege aller vier Pasten signifikant unterscheiden. Die gepoolten Mittelwerte der Gruppen lassen, wie der Gruppenvergleich zeigt, allerdings — mit Ausnahme der Paste 2A — keine signifikanten Unterschiede erkennen.

4 Ergebnisse

	Masse		Absorption	
	ANOVA	Friedman-Test	ANOVA	Friedman-Test
Elmex Placebo, oben	0.77	0.23	<0.000005***	0.020*
unten	0.52	0.59	0.00002***	0.13
Recaldent, oben	0.79	0.79	0.19	0.17
unten	0.020*	0.18	<0.000005***	0.11
Elmex rot, oben	0.49	0.69	0.025*	0.082
unten	0.10	0.30	0.00008***	0.11
Schmelzeczahnpaste oben	<0.000005***	0.020*	<0.000005***	0.020*
unten	0.064	0.19	0.00021***	0.15

Tabelle 11: Verlauf von Masse und Absorption über die vier Messzeitpunkte.

4.6 Schmelzehaltige Zahncreme verschiedener Konzentrationen mit und ohne Fluoridzusatz in situ

Hier wurden schmelzehaltigen Zahnpasten der Konzentration 0 mol und 0,5 mol (mit und ohne Fluoridzugabe) auf deren Remineralisationsverhalten in situ getestet.

Anmerkung: Bei den folgenden in-situ Versuchen muss bedacht werden, dass innerhalb der Mundhöhle durch die natürliche Speichelsekretion hohe Konzentrationen von Phosphat zur Verfügung stehen, die zusätzlich Einfluss auf das Remineralisationsgeschehen ausüben. Um diese Prozesse der Mundhöhle in vitro besser nachstellen können, wurden in den nachfolgenden in-vitro Versuchen (dort, wo angegeben) zusätzliches Phosphat hinzugefügt. Daher erfolgen die Vergleiche der in-situ Messungen mit in-vitro Messungen, denen Phosphat hinzugefügt wurde.

4 Ergebnisse

Massen- und Absorptionsverlauf mit und ohne Fluorid

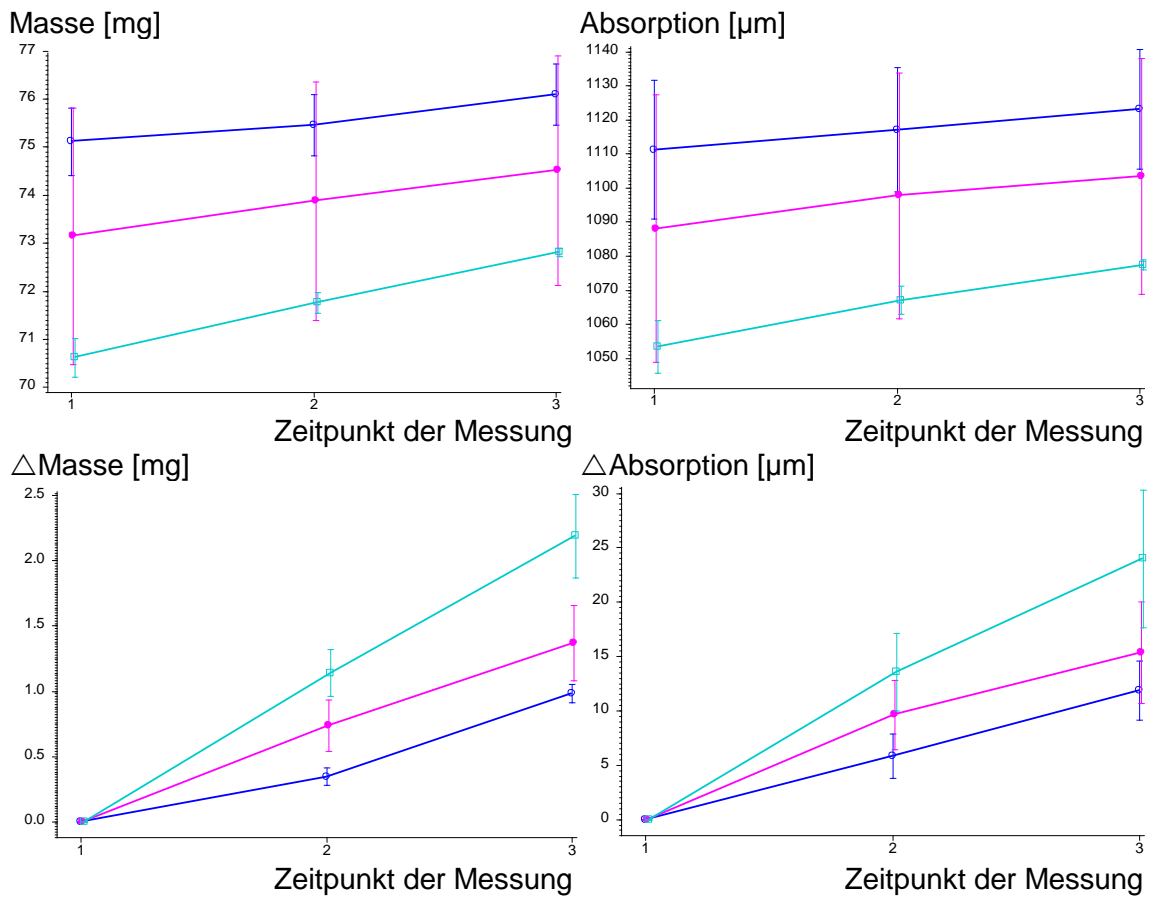


Abbildung 36: Masse und Absorption von Zahncremes ohne und mit Fluorid. im Verlauf. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahncreme: \circ = Schmelz-zahncreme ohne Ca ($n = 2$), \bullet = Schmelz-zahncreme 0.5 mol Ca ($n = 2$), \square = Schmelz-zahncreme 0.5 mol Ca und Fluorid ($n = 2$).

4 Ergebnisse

Absorptionsvergleich der Präparate in situ, lingual / bukkal

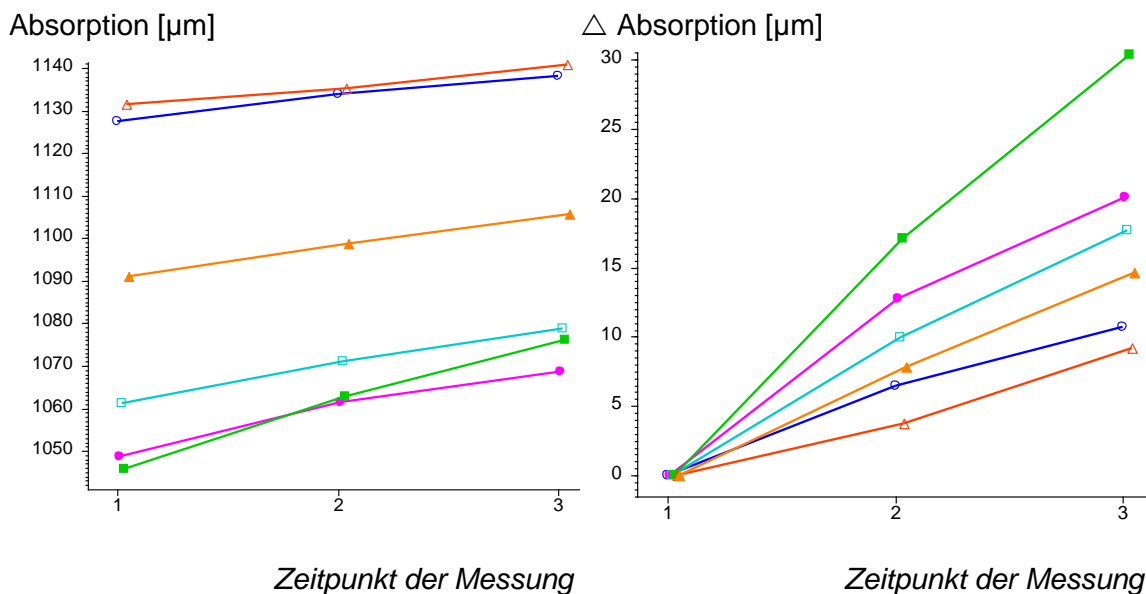


Abbildung 37: Absorptionsvergleich der Zahnpaste ohne Schmelze und mit Schmelze- und Fluoridzugabe in situ. Unterschied lingual/bukkal. Links Absolutwerte, rechts Differenzen zum Anfangswert. □ = Schmelz Zahncrème 0 mol bukkal (D), ▲ = lingual (D), ○ = Schmelz Zahncrème 0.5 mol bukkal, ● = lingual, □ = Schmelz Zahncrème 0.5 mol + Fluorid bukkal, ■ = lingual.

0,5 molare Schmelz Zahncrème erreichte eine höhere Mineralanreicherung als kalziumfreie Zahncrème (siehe **Abbildung 36**). Schmelz Zahncrème mit Calcium und Fluorid jedoch erzielte die besten Werte in Bezug auf Remineralisation. Diese Ergebnisse beziehen sich sowohl auf Masse als auch auf Absorption.

Man erkennt jedoch deutlich, dass die lingualen Werte tendenziell mehr Mineral einlagern als die bukkalen (vergl. hierzu **Abbildung 37**). Das ist dadurch zu begründen, dass sich lingual die Ausgänge der großen Speicheldrüsen (mit Ausnahme der Gl. parotis) befinden und somit die Probenkörper immer mit calcium- und phosphathaltiger Speichelflüssigkeit umspült wurden. Dabei lassen sich auch hier die größten Differenzen zwischen den lingualen und bukkalen Werten des 0,5 molaren Präparats mit Fluoridzusatz beobachten. Die Differenz beträgt hier ca. 12 µm.

4 Ergebnisse

Jedoch fand sich zwischen den drei Zahnpasten Schmelzeshahncreme 0 mg sowie Schmelzeshahncremes 0,5 mol ohne und mit Fluorid kein signifikanter Unterschied. Eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) ergab für Masse: $p_{\text{Gruppen}} = 0,33$, $p_{\text{Interaktion}} = 0,088$ und für Absorption $p_{\text{Gruppen}} = 0,42$, $p_{\text{Interaktion}} = 0,32$.

Insgesamt für alle sechs Proben war sowohl für die Masse als auch für die Absorption ein signifikanter Anstieg über die drei Messzeiten zu erkennen ($p = 0,0025^{**}$ in der Rangvarianzanalyse nach Friedman).

4 Ergebnisse

4.7 Schmelzehaltige Zahncreme verschiedener Konzentrationen mit und ohne Fluorid- und Phosphatzusatz 'in vitro'

In diesem Versuch wurden die Proben mit einer Variation aus schmelzehaltigen und schmelzefreien Wirkstoffen mit und ohne Fluoridzusatz behandelt. Bei der Anwendung der Wirkstoffe wurde dort, wo angegeben, Phosphat hinzugefügt. Der Wechsel des pH-Wertes erfolgte hier nicht schlagartig, sondern über eine 'Zwischenstufe' des pH-Werts von 5,2.

Massen- und Absorptionsverlauf mit und ohne Fluorid und Phosphat

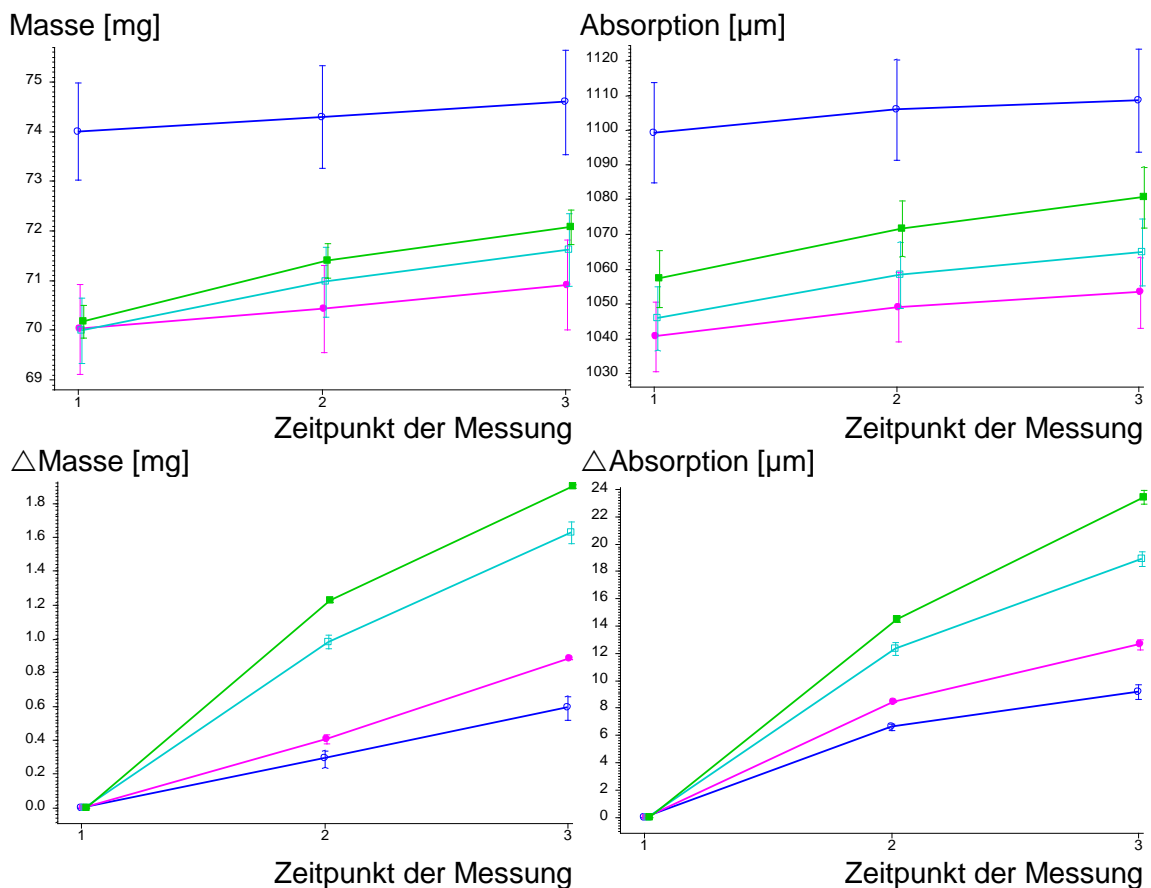


Abbildung 38: Masse und Absorption von Zahncremes ohne und mit Fluorid und Phosphat im Verlauf in vitro. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahncreme: \circ = Schmelzezahncreme 0.5 mol Ca (n = 2), \bullet = Schmelzezahncreme 0.5 mol Ca mit Phosphat (n = 2), \square = Schmelzezahncreme 0.5 mol Ca mit Fluorid (n = 2), \blacksquare = Schmelzezahncreme 0.5 mol Ca mit Phosphat und Fluorid.

0,5 molare Schmelzezahncreme ohne Phosphat- und Fluoridzugabe lagerte hier am wenigsten Mineral an. Selbige Zahncreme mit Phosphatzusatz wies

4 Ergebnisse

eine höhere Remineralisation auf als reine Schmelzeczahncrème, wohl aber weniger als 0,5 molare Schmelzeczahncrème mit Fluoriden und ohne Phosphat. Fluoride scheinen demnach einen stärkeren Einfluss auf die Remineralisation zu haben als Phosphate.

Die höchste Mineralanreicherung war bei 0,5 molarer Schmelzeczahncrème mit Phosphat und Fluoriden zu verzeichnen. Diese Ergebnisse beziehen sich sowohl auf Masse als auch auf Absorption.

Dies lässt vermuten, dass ein synergistischer Effekt zwischen Phosphat und Fluoriden in Bezug auf das Remineralisationsverhalten besteht.

Für alle 12 Proben gemeinsam war ein signifikanter Anstieg über die Zeiten zu erkennen ($p = 0,00001^{***}$ in der Rangvarianzanalyse nach Friedman).

4 Ergebnisse

Massen- und Absorptionsverlauf mit Phosphat mit und ohne Fluorid

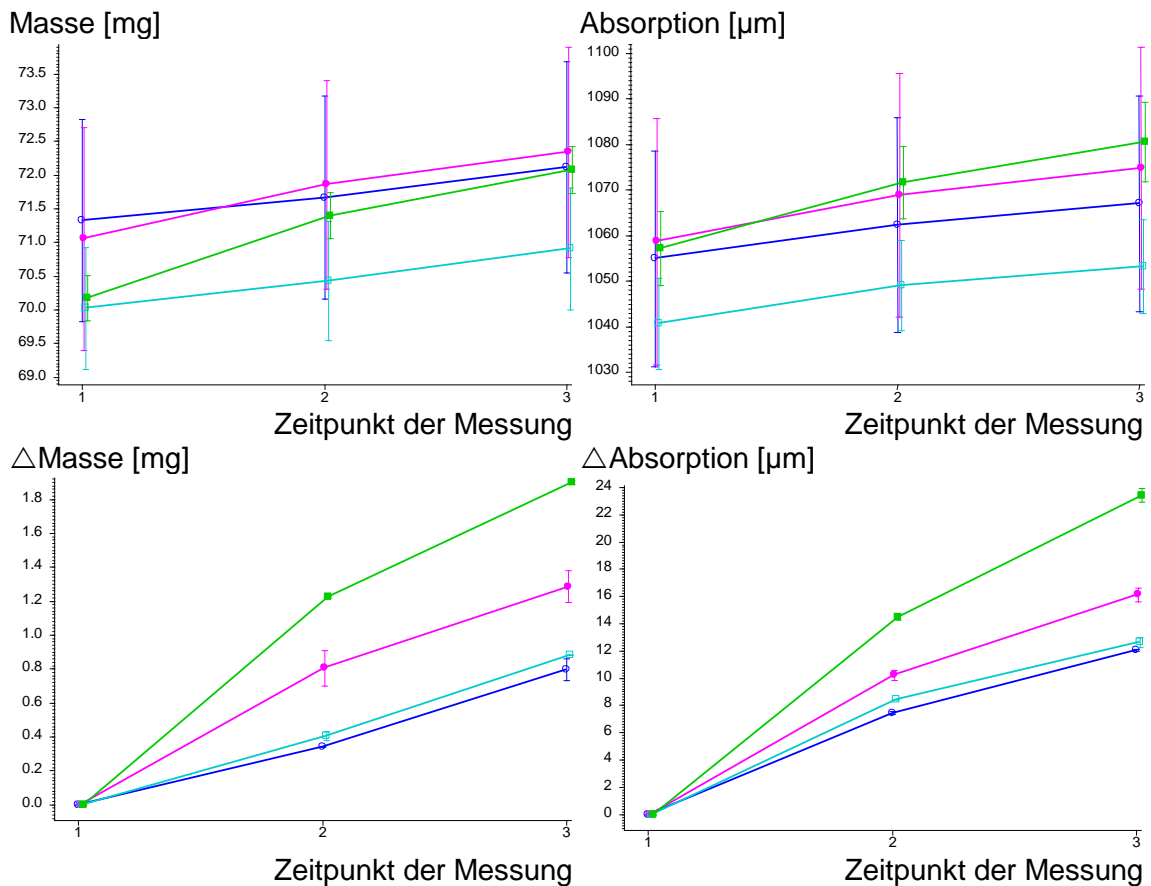


Abbildung 39: Masse und Absorption von Zahncremes ohne und mit Fluorid und Phosphat im Verlauf in vitro. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahncreme: ○ = Schmelzeczahncrème ohne Ca (n = 2) mit Phosphat, ● = Schmelzeczahncrème ohne Ca mit Phosphat und Fluorid (n = 2), □ = Schmelzeczahncrème 0.5 mol Ca mit Phosphat (n = 2), ■ = Schmelzeczahncrème 0.5 mol Ca mit Phosphat und Fluorid.

Calciumfreie Zahncreme mit Phosphat reicherte weniger Mineral an als 0,5 molare Schmelzeczahncrème mit Phosphat.

Calciumfreie Zahncreme mit Phosphat-und Fluoridzusatz lagerte mehr Mineral ein als 0,5 molare Schmelzeczahncrème mit Phosphat.

Die höchste Mineralanreicherung allerdings war auch hier bei 0,5 molarer Schmelzeczahncrème mit Phosphat-und Fluoridzusatz zu beobachten. Diese Ergebnisse beziehen sich sowohl auf die Masse als auch auf die Absorption.

4 Ergebnisse

Schmelz Zahnpaste, Zusätze	Masse	Absorption
ohne Ca mit Phosphat	0.0088**	0.00017***
ohne Ca mit Phosphat und Fluorid	0.0079**	0.0010**
0.5 mol Ca	0.015*	0.0033**
0.5 mol Ca mit Phosphat	0.0011**	0.00099***
0.5 mol Ca mit Fluorid	0.0016**	0.00087***
0.5 mol Ca mit Phosphat und Fluorid	0.00003***	0.0011**

Tabelle 12: Verlauf von Masse und Absorption über die drei Messzeitpunkte. p aus der einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholungen (ANOVA).

Masse und Absorption stiegen bei allen 6 Präparaten im zeitlichen Verlauf signifikant an.

	Masse	Absorption
1. Schmelz Zahnpaste ohne Ca mit Phosphat : mit und ohne Fluorid		
Fluorid-Gruppen	0.98	0.88
Verlauf	0.0044**	0.0004***
Interaktion	0.057	0.017*
2. Schmelz Zahnpaste 0.5 mol Ca ohne Phosphat : mit und ohne Fluorid		
Fluorid-Gruppen	0.11	0.11
Verlauf	0.0019**	0.0008***
Interaktion	0.0084**	0.0064**
3. Schmelz Zahnpaste 0.5 mol Ca mit Phosphat : mit und ohne Fluorid		
Fluorid-Gruppen	0.51	0.23
Verlauf	0.0001***	0.0006***
Interaktion	0.0008***	0.0064**
4. Schmelz Zahnpaste 0.5 mol Ca ohne Fluorid : mit und ohne Phosphat		
Phosphat-Gruppen	0.11	0.085
Verlauf	0.0028**	0.0009***
Interaktion	0.064	0.036*
5. Schmelz Zahnpaste 0.5 mol Ca mit Fluorid : mit und ohne Phosphat		
Phosphat-Gruppen	0.69	0.40
Verlauf	0.0003***	0.0005*
Interaktion	0.045*	0.042*
6. Schmelz Zahnpaste mit Phosphat : mit und ohne Calcium		
Ca-Gruppen	0.55	0.65
Verlauf	0.0023**	0.0003***
Interaktion	0.38	0.15
7. Schmelz Zahnpaste mit Phosphat und Fluorid: mit und ohne Calcium		
Ca-Gruppen	0.77	0.94
Verlauf	0.0013**	0.0005***
Interaktion	0.033*	0.016*

Tabelle 13: Vergleich von Gruppen mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse.

4 Ergebnisse

Die Interaktionen in **Tabelle 13** zeigen, dass die Schmelzeczahncreme mit Fluorid wirksamer war als die ohne Fluorid. Das gilt sowohl für die Paste ohne Calcium mit Phosphat als auch für die Pasten mit 0,5 mol Calcium mit und ohne Phosphat. Dabei ist die Signifikanz der Paste mit Calcium deutlicher ausgeprägt. Ohne Calcium lag das Ergebnis für Masse sogar knapp über der Signifikanzschranke. Aus **Abbildung 39** ist ersichtlich, dass in der Schmelzeczahnpasta ohne Calcium mit Phosphatzusatz die Zunahme der Absorption mit Fluorid stärker war als ohne Fluorid (○ und ●). Die Verläufe für den zweiten Absatz von **Tabelle 13** sieht man in **Abbildung 38** (○ und □). Hier sind die Zunahmen sowohl von Masse als auch von Absorption signifikant verschieden, die Zunahme bei Fluoridzusatz war stärker.

	Masse	Absorption
Schmelzeczahnpaste mit 0.5 mol Ca		
Fluorid	0.30	0.058
Phosphat	0.032	0.14
Verlauf	<0.000005***	<0.000005***
Interaktion Fluorid-Phosphat	0.032*	0.18
Interaktion Fluorid-Verlauf	<0.000005***	<0.000005***
Interaktion Phosphat-Verlauf	0.00004***	0.24
Interaktion Fluorid-Phosphat-Verlauf	0.47	0.014*

Tabelle 14: Vergleich von Gruppen mit der dreifaktoriellen Varianzanalyse.

Zu Beginn wirkte sich Phosphat weniger stark auf den Remineralisationsprozess aus als gegen Ende. Dies bezieht sich hier allerdings nur auf die Masse, nicht auf die Absorption.

Auch Fluorid wirkte sich hier anfangs schwächer auf die Absorption aus als gegen Ende. Das gleiche ließ sich bei Phosphat beobachten (in Bezug auf seine Masse).

Betrachtet man Phosphat und Fluorid gemeinsam, so ließ sich auch hier feststellen, dass der Phosphateinfluss auf Fluorid anfangs einen weniger starken Einfluss auf das Remineralisationsgeschehen ausübte als gegen Ende. Das bedeutet, dass sowohl Fluorid als auch Phosphat ihre triggernde Wirkung erst zu einem späteren Zeitpunkt der Behandlung entfalteten.

4 Ergebnisse

4.7.1 Vergleich der schmelzehaltigen Zahncreme mit und ohne Fluoridzusatz in situ und in vitro

Massen- und Absorptionsverlauf mit Phosphat mit und ohne Fluorid

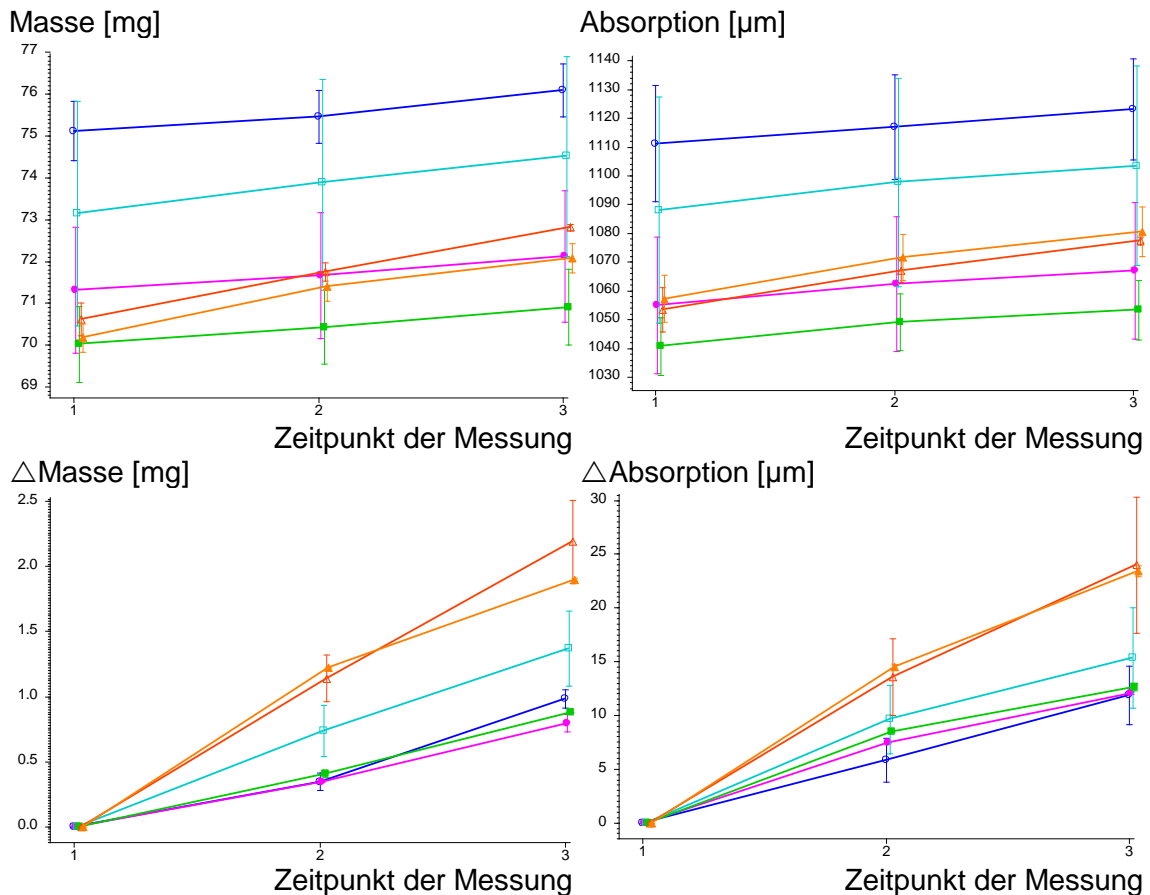


Abbildung 40: Masse und Absorption von Zahncremes ohne und mit Fluorid und Phosphat im Verlauf in vitro. Oben Absolutwerte, unten Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahncreme: ○ = Schmelzezahncreme in situ (n = 2), ● = Schmelzezahncreme mit 0,5 mol Phosphat in vitro (n = 2), □ = Schmelzezahncreme mit 0,5 mol Ca in situ (n = 2), ■ = Schmelzezahncreme mit 0,5 mol Ca mit Phosphat in vitro (n = 2), △ = Schmelzezahncreme mit 0,5 mol Ca mit Fluorid in situ (n = 2), ▲ = Schmelzezahncreme mit 0,5 mol Ca mit Phosphat und Fluorid in vitro (n = 2).

Die Absorptionsverläufe für gleichnamige Präparate der in situ- und in vitro-Versuche ähnelten sich stark. Die höchste Mineralanreicherung wurde hier in beiden Fällen von der 0,5 molaren Schmelzezahncreme mit Phosphat- und Fluoridzugabe erreicht (▲ und △).

4 Ergebnisse

Die geringste Remineralisation erzielte die calciumfreie Zahncreme sowohl in situ als auch in vitro (○ und ●). Bezüglich der Masse divergierten die Werte der Präparatepaare etwas stärker.

	Masse	Absorption
Schmelz Zahnpaste ohne Ca		
in Vivo – in Vitro	0.15	0.21
Verlauf	0.0001**	0.0007***
Interaktion	0,12	0.69
Schmelz Zahnpaste 0.5 mol Ca		
in Vivo – in Vitro	0.33	0.33
Verlauf	0.0011**	0.0029**
Interaktion	0.17	0.74
Schmelz Zahnpaste 0.5 mol Ca mit Fluorid		
in Vivo – in Vitro	0.34	0.72
Verlauf	0.0001***	0.0012**
Interaktion	0.33	0.94

Tabelle 15: Vergleich von Gruppen mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse.

Die 3 verschiedenen Präparate zeigten bezüglich deren Interaktion in situ keine signifikant besseren Ergebnisse als in vitro.

	Masse	Absorption
Schmelz Zahnpaste mit 0.5 mol Ca		
in vivo – in vitro	0.051	0.088
ohne Ca / 0.5 mol Ca / Ca und Fluorid	0.32	0.57
Verlauf	<0.000005***	<0.000005***
Interaktion Situ – Ca und Fluorid	0.43	0.74
Interaktion Situ-Verlauf	0.027*	0.0043**
Interaktion Fluorid -Verlauf	0.00001***	0.24
Interaktion Situ -Fluorid-Verlauf	0.52	0.97

Tabelle 16: Vergleich von Gruppen mit der dreifaktoriellen Varianzanalyse.

In situ nahm die Mineralanreicherung gegen Ende stärker zu als am Anfang. Sowohl in situ als auch in vitro war (in Bezug auf die Masse) die remineralisationsfördernde Wirkung von Fluoriden am Anfang schwächer als gegen Ende.

4 Ergebnisse

4.8 Elmex und Placebo mit Calciumzusatz in situ

Hier wurden Elmex rot und -Placebo mit einem Zusatz von 0,2 molarer Schmelze auf deren Mineralanreicherung geprüft.

Elmex rot enthält 1400 ppm Fluorid, die Placebo-Paste hat die gleiche Zusammensetzung wie Elmex, ist allerdings fluoridfrei.

Absorptionsverlauf mit Calcium in situ

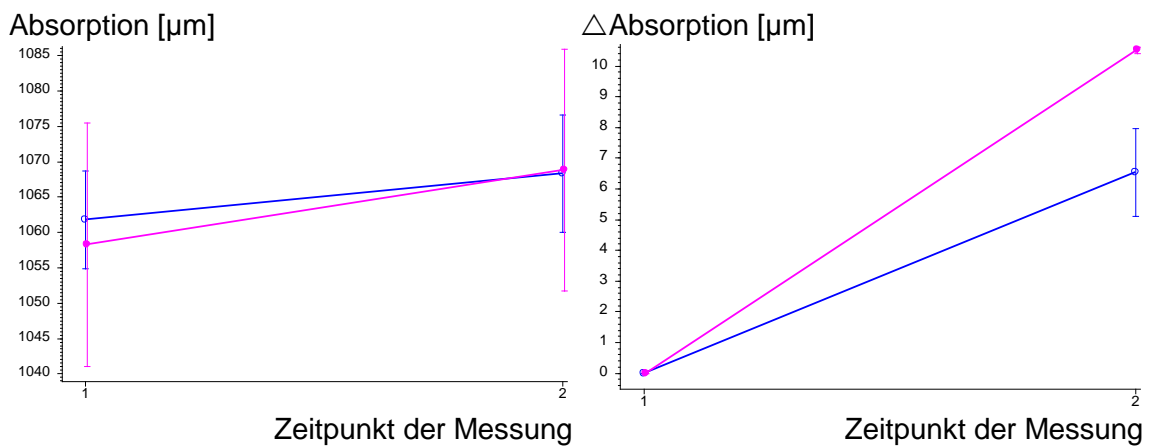


Abbildung 41: Absorption von Zahncremes mit Calciumzusatz im Verlauf in situ. Links Absolutwerte, rechts Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahncreme: ○ = Placebo mit 0,2 mol Ca (n = 2), ● = Elmex mit 0,2 mol Ca (n = 2).

4 Ergebnisse

Absorptionsvergleich der Präparate in situ, lingual / bukkal

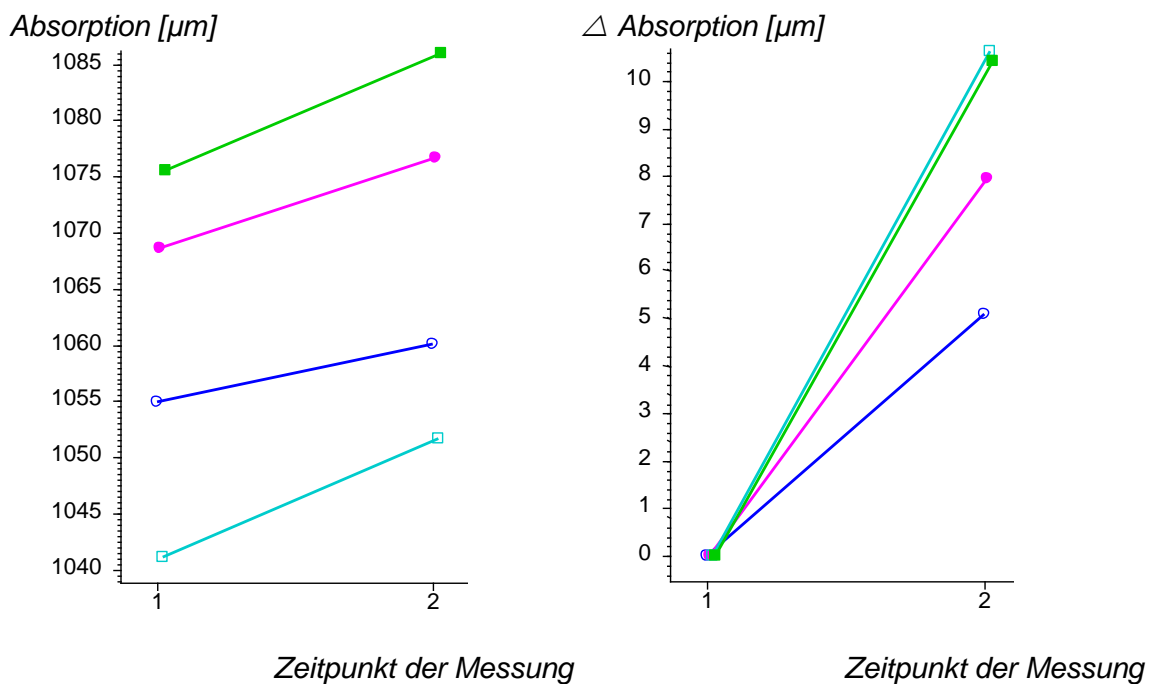


Abbildung 42: Absorptionsvergleich der Zahnpasten Elmex rot mit Schmelze und Elmex Placebo mit Schmelze in situ. Unterschied lingual/bukkal. Links Absolutwerte, rechts Differenzen zum Anfangswert. Versuch 13, in situ ○ = Elmex placebo + Calcium bukkal (D), ● = lingual (D), □ = Elmex + Ca bukkal (S), ■ = lingual (S),

Elmex mit Calciumzusatz erzielte hier höhere Ergebnisse in Bezug auf Mineralanlagerung als Elmex Placebo.

Der verbundene t-Test allerdings ergibt für Placebo mit Calcium keinen signifikanten Anstieg ($p = 0,14$), der Anstieg der Absorption für Elmex mit Calcium aber war signifikant ($p = 0,0062^{**}$).

Der Unterschied der Anstiege zwischen Placebo und Elmex war nicht signifikant ($t = 0,11$ im unverbundenen t-Test).

Die Varianzanalyse ergibt für Gruppen $p = 0,94$, für Verlauf $= 0,0077^{**}$ und für Interaktion $p = 0,11$.

Abbildung 42 zeigt, dass Elmex mit Calciumzusatz sowohl lingual als auch bukkal nahezu die gleichen Ergebnisse erzielte. Dies gilt nicht für Elmex Placebo mit Calciumzusatz: Hier lagerte der Probenkörper lingual ca. $3 \mu\text{m}$ mehr Mineral an als bukkal.

4.9 Elmex und Placebo mit Calciumzusatz in vitro

In diesem Versuch wurden Elmex rot und Elmex Placebo jeweils mit und ohne Calciumzusatz angewandt. Den Proben wurde während der Behandlung zusätzliches Phosphat beigelegt. Der Wechsel des pH-Wertes erfolgte nicht schlagartig, sondern über eine 'Zwischenstufe' mit dem pH-Wert 5,2.

Absorptionsverlauf mit und ohne Calcium in vitro

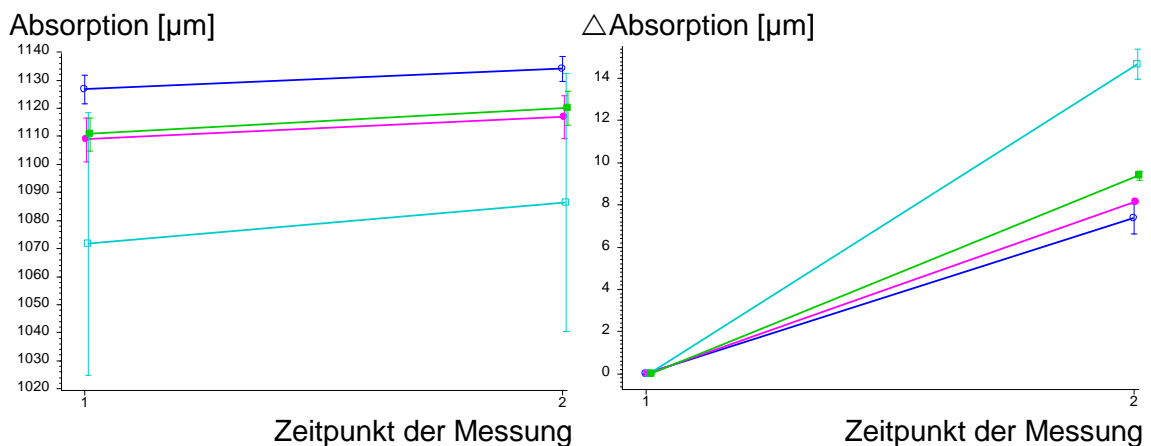


Abbildung 43: Absorption von Zahncremes ohne und mit Calciumzusatz und Phosphatzugabe im Verlauf in vitro. Links Absolutwerte, rechts Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahncreme: ○ = Placebo mit Phosphat ohne Ca (n = 2), ● = Placebo mit Phosphat und 0,2 mol Ca (n = 2), □ = Elmex mit Phosphat ohne Ca (n = 2), ■ = Elmex mit Phosphat und 0,2 mol Ca (n = 2).

Elmex rot mit Phosphat zeigte in diesem Versuch mit Abstand die höchste Mineralanreicherung (□), die Remineralisation durch Elmex mit Phosphat und 0,2 mol Calcium lag um ca. 6 µm darunter (■).

Placebo-Zahncreme mit Phosphat und ohne Calciumzusatz erzielte den niedrigsten Mineralzuwachs, das gleichnamige Präparat mit Calciumzusatz war hier nur geringfügig höher anzusiedeln (○ und ●).

4 Ergebnisse

	Absorption [μm]						
	Termin	n	Differenz				p
			MW	ST	MW	ST	
Placebo mit P	1	2	1126.703	7.234	7.351	0.995	0.061
	2	2	1134.054	6.239			
Placebo mit P und Ca	1	2	1108.734	10.881	8.132	0.073	0.0040**
	2	2	1116.867	10.954			
Elmex mit P	1	2	1071.717	66.140	14.664	1.017	0.031**
	2	2	1086.381	65.123			
Elmex mit P und Ca	1	2	1110.625	8.177	9.397	0.289	0.014**
	2	2	1120.022	8.466			

Tabelle 17: Absorption im Vergleich der beiden Messtermine bei Verwendung der genannten 4 Zahncremes in vitro. MW = Mittelwert, ST = Standardabweichung, P = Phosphat. p aus dem verbundenen t-Test.

	Δ Absorption [μm]			
	n	MW	ST	p(t)
Placebo mit P	2	7.351	0.995	0.27
Placebo mit P und Ca	2	8.132	0.073	
Placebo mit P	2	7.351	0.995	0.018*
Elmex mit P	2	14.664	1.017	
Placebo mit P und Ca	2	8.132	0.073	0.027*
Elmex mit P und Ca	2	9.397	0.289	
Elmex mit P	2	14.664	1.017	0.020*
Elmex mit P und Ca	2	9.397	0.289	

Tabelle 18: Zunahme der Absorption im Vergleich der Zahncremes Elmex und Elmex Placebo mit und ohne Calcium-Zusatz. MW = Mittelwert, ST = Standardabweichung, P = Phosphat. p aus dem unverbundenen t-Test.

	Absorption
Placebo mit Phosphat	
Calcium-Gruppen	0.19
Verlauf	0.0021**
Interaktion	0.38
Elmex mit Phosphat, ohne Calcium	
Placebo-Elmex	0.39
Verlauf	0.0021**
Interaktion	0.018 *
Elmex mit Phosphat, mit Calcium	
Placebo-Elmex	0.82
Verlauf	0.0001***
Interaktion	0.027 *
Elmex mit Phosphat	

4 Ergebnisse

Calcium-Gruppen	0.52
Verlauf	0.0010***
Interaktion	0.020 *

Tabelle 19: Vergleich von Gruppen mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse.

Elmex mit Phosphat und Calciumzusatz erzielte signifikant niedrigere Ergebnisse als das gleichnamige Produkt ohne Calciumzusatz (vergleiche hierzu **Abbildung 43**: □ und ■)

Die Ergebnisse von Elmex mit Phosphat und mit und ohne Calciumzusatz zeigten in Bezug auf dessen Absorptionsvermögen ebenso signifikant höhere Ergebnisse als Elmex Placebo mit Phosphat (vergl hier **Tabelle 19**, Absatz 2 und 3).

Elmex Placebo erzielte mit Calcium kein signifikant besseres Ergebnis als ohne Calcium (siehe **Abbildung 43**: ● und ○, **Tabelle 19**, Absatz 1).

Bei Elmex wirkte sich demnach Calcium anders auf den Verlauf aus als bei der Placebopaste.

	Absorption
Placebo - Elmex	0.37
Calcium-Zusatz	0.71
Verlauf	<0.000005***
Interaktion Elmex - Calcium	0.32
Interaktion Elmex - Verlauf	0.0011 **
Interaktion Calcium -Verlauf	0.012 *
Interaktion Elmex – Calcium -Verlauf	0.0042 **

Tabelle 20: Vergleich von Gruppen mit der dreifaktoriellen Varianzanalyse.

In vitro wirkte sich Elmex rot zu Beginn des Versuchs weniger stark auf das Remineralisationsgeschehen aus als gegen Ende (siehe **Tabelle 20**, Zeile 5). Generell entfaltete sich die Wirkung des zugefügten Calciums bei Elmex und Placebo erst gegen Ende stärker aus als zu Beginn des Versuchs (siehe **Tabelle 20**, Zeile 6,7).

4.9.1 Elmex und Placebo mit Calciumzusatz, Vergleich in situ und in vitro

Absorptionsverlauf in situ und in vitro

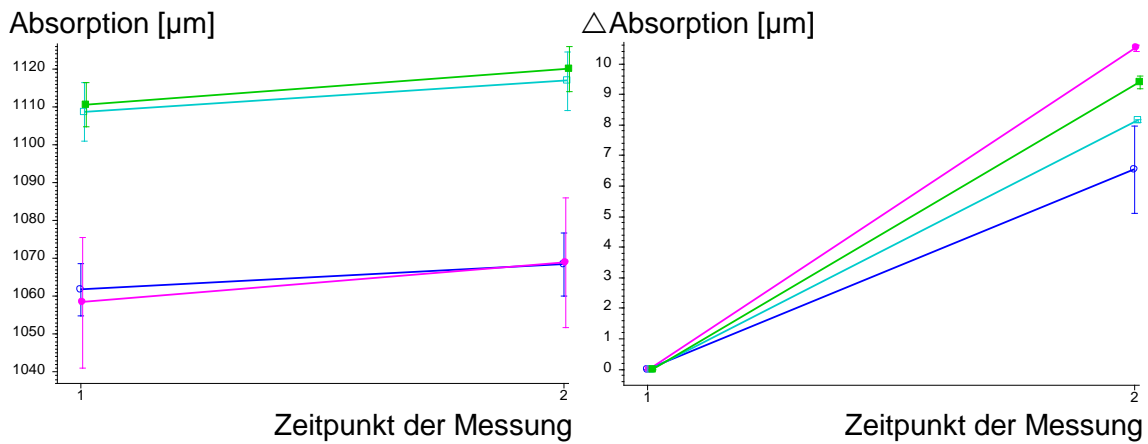


Abbildung 44: Absorption von Zahncremes ohne in situ und in vitro. Links Absolutwerte, rechts Differenzen zum Anfangswert. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeteilt nach Zahncreme: ○ = Placebo mit 0,2 mol Ca in situ (n = 2), ● = Elmex mit 0,2 mol Ca in situ (n = 2), □ = Placebo mit 0,2 mol Ca in vitro (n = 2), ■ = Elmex mit 0,2 mol Ca in vitro (n = 2)

Im Vergleich zu den anderen Präparaten erzielte Elmex + Ca in situ in Bezug auf Mineralanreicherung die besten Ergebnisse. Das gleichnamige Präparat lagerte in vitro signifikant weniger Mineral ein (vergleiche dazu **Tabelle 23**, Absatz 2). In situ zeigte das Placebopräparat + Ca die niedrigsten Werte; in vitro erzeugte der Wirkstoff eine geringfügig höhere Remineralisation. Die Werte unterschieden sich allerdings nicht signifikant von den Ergebnissen des in situ Präparats. (siehe **Tabelle 23**, Absatz 1).

4 Ergebnisse

	Absorption [μm]						
	Termin	n			Differenz		p
			MW	ST	MW	ST	
Placebo in situ	1	2	1061.787	9.699	-6.529	2.025	0.14
	2	2	1068.315	11.724			
Placebo in vitro	1	2	1058.297	24.329	-10.509	0.145	0.0062**
	2	2	1068.806	24.185			
Elmex in situ	1	2	1108.734	10.881	-8.132	0.073	0.0040**
	2	2	1116.867	10.954			
Elmex in vitro	1	2	1110.625	8.177	-9.397	0.289	0.014*
	2	2	1120.022	8.466			

Tabelle 21: Absorption im Vergleich der beiden Messtermine bei Verwendung von Elmex Placebo mit Ca und Verum mit Ca in situ und in vitro. MW = Mittelwert, ST = Standardabweichung, p aus dem verbundenen t-Test.

	ΔAbsorption [μm]			
	n	MW	ST	p(t)
Placebo in situ	2	6.529	2.025	0.26
Placebo in vitro	2	8.132	0.073	
Elmex in situ	2	10.509	0.145	0.040*
Elmex in vitro	2	9.397	0.289	

Tabelle 22: Zunahme der Absorption im Vergleich der Zahncremes Elmex und Elmex Placebo in situ mit in vitro. MW = Mittelwert, ST = Standardabweichung, p aus dem unverbundenen t-Test.

	Absorption
Placebo	
in situ – in vitro	0.048 *
Verlauf	0.0094**
Interaktion	0.38
Elmex	
in situ – in vitro	0.10
Verlauf	0.0001***
Interaktion	0.040 *

Tabelle 23: Vergleich von Gruppen mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse.

4 Ergebnisse

	Absorption
Placebo - Elmex	1.00
in situ/in vitro	0.0092 **
Verlauf	0.00002***
Interaktion Placebo/Elmex – in situ/in vitro	0.86
Interaktion Placebo/Elmex – Verlauf	0.022 *
Interaktion in situ/in vitro – Verlauf	0.75
Interaktion Placebo/Elmex – in situ/in vitro –Verlauf	0.13

Tabelle 24: Vergleich von Gruppen mit der dreifaktoriellen Varianzanalyse.

Beide Präparate der in-situ Versuchsreihe unterschieden sich in der dreifaktoriellen Varianzanalyse signifikant von denen, die in vitro durchgeführt wurden (siehe **Tabelle 24**, Zeile 2).

Der Absorptionsunterschied zwischen Placebo-Paste und Elmex ist anfangs weniger stark ausgeprägt als gegen Ende (vergleiche **Tabelle 24**, Zeile 5).

5 Diskussion

Hauptanliegen der vorliegenden Studie war die Klärung der Frage, ob es möglich ist, eine remineralisierende Zahncreme mit amorpher, calciumhaltiger Salzhydratschmelze als Wirkstoff herzustellen. Der Begriff amorphe Salzhydratschmelze bezeichnet nach Peters (294) die flüssige Schmelze eines bei Raumtemperatur festen kristallinen Salzhydrates. Es handelt sich dabei um die geschmolzene Mischung eines bestimmten Salz-Wasser-Verhältnisses, die auch als unterkühlte Schmelze glasartig und damit nicht kristallin existieren kann. Wegen ihrer besonderen Eigenschaften bilden diese Salzhydratschmelzen innerhalb der Salz-Wasser-Systeme mit steigender Salzkonzentration eine eigenständige Stoffklasse. (295)

Ein besonderer Vorteil der Salzhydratschmelzen für die Herstellung einer Zahnpasta liegt darin, dass sie sich ohne Ausbildung kristalliner Aggregate vermischt. Sie unterscheidet sich damit grundlegend von den üblicherweise zugegebenen Salzen, deren Kristalle in höher konzentrierten Lösungen als Impfkristalle für ein vorzeitiges unerwünschtes Ausfällen weiterer Kristalle dienen können. Es wurde erwartet, dass diese Eigenschaften der Salzhydratschmelzen in den vorliegenden Testreihen die Remineralisation von Zahnschmelz fördern, da deren wesentlicher Baustein, das Calcium, darin in hoher Konzentration enthalten war. Amorphe, glasartige Salzhydratschmelzen können mit einem Calciumgehalt von bis zu 2,8 mol hergestellt werden.

Nachdem es gelungen war, schmelzehaltige Zahnpasten herzustellen, wurden diese hinsichtlich ihrer Remineralisationswirkung mit handelsüblichen, remineralisierenden Zahncremes (Recaldent (Wirkstoff CPP-ACP-Komplex) sowie Elmex rot (1400 ppm Aminfluorid)) vergleichend gegenüber einem wirkstofffreien Placebo verglichen

Als Testobjekte wurden keine Zähne, sondern zylindrische Probenkörper verwendet, die die Struktur von porös verändertem Zahnschmelz aufwiesen. Diese Probenkörper aus artifiziellem Hydroxylapatit wurden bevorzugt, da sie standardisiert hergestellt werden können und nicht der großen

Schwankungsbreite natürlichen Zahnschmelzes unterliegen. In ihren wesentlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften sind sie dem natürlichen Zahnschmelz vergleichbar.

Remineralisationsversuche in vitro durchzuführen bringt Schwierigkeiten mit sich. Das Milieu der Mundhöhle ist von zahlreichen biologisch-dynamischen Prozessen organischer und anorganischer Inhaltsstoffe beeinflusst, die sich oftmals nicht im Labor nachvollziehen lassen.

Hier wären die verschiedenen Schutzfaktoren der Speichelflüssigkeit zu nennen (vgl. Abschnitt 2.1.3-2.1.7): Muzine lagern sich an die Zahnhartsubstanz an und wirken entkalkungshemmend. (296) Saure prolinreiche Glykoproteine fördern die Remineralisation durch deren Affinität zu Calcium-Ionen. (297, 298, 299, 300) Auch spielen diese eine wichtige Rolle in Bezug auf die Pellikelbildung. Statherine und tyrosinreiche Peptide hemmen die Ausfällung von Calciumphosphaten. (301)

Bakterielle Plaqueverbände speichern bis zu 98% der Fluoride. Demnach kann eine Anwendung fluoridhaltiger Produkte dennoch zu einer niedrigeren Fluoridkonzentration führen. (302)

Unter Speichelstimulation nimmt die Speichelfließrate zu und es kommt zu einer Veränderung der Zusammensetzung des Speichels: Die Bikarbonatkonzentration steigt an (303), die Calcium- und Phosphatkonzentration nimmt ab. (304) Da aber durch die Stimulation des Speichels die Gesamtmenge zunimmt, steigt auch die Konzentration von Calcium- und Phosphationen.

In vitro hingegen lassen sich solch dynamische Prozesse nur sehr schwer darstellen. Auch ist es nahezu unmöglich, orale Pellikel- und Biofilmbildung identisch zu reproduzieren. Ohne Pellikel treffen die Wirkstoffe ungebremst auf den Probenkörper; durch einen schnelleren pH-Wechsel kommt es rascher zu einer Poren verstopfenden Deckschichtenbildung (siehe Abschnitt 2.5.2.3).

Aufgrund der Dynamik zwischen Ruhe- und Stimulationsspeichel und den damit einhergehenden Konzentrationsänderungen ist es problematisch, die richtige Ionenkonzentration zu bestimmen und das pH-Cycling so naturgetreu wie möglich auf die Prozesse der Mundhöhle abzugleichen.

5 Diskussion

Im Vorversuch 1 (vgl. hierzu *Abschnitt 3.8.1; 4.1*) bestand die Fragestellung, ob mit Einlegen oder durch Einbürsten des Wirkstoffs effektivere Ergebnisse zu erzielen sind. Fazit der Untersuchung war, dass kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Verfahren bestand. Wohl aber war zu erkennen (siehe **Abbildung 27**), dass die eingebürsteten Präparate, wenn auch nur tendenziell, bessere Ergebnisse erzielten als die eingelegten.

Dies ist dadurch zu begründen, dass aufgrund der stärkeren Bewegung der Flüssigkeit durch das Einbürsten der Probenkörper mit mehr Wirkstoff umgeben ist. In der Literatur wird diese Beobachtung mit dem Begriff der 'Konvektion' erläutert. (305)

Beim Vergleich von Zahncreme mit purer Salzhydratschmelze und dem Recaldent erzielte Recaldent gegenüber der an Calcium hochkonzentrierten Schmelzezahncreme vergleichbare Ergebnisse.

Abbildung 28 zeigt einen nur geringfügigen Anstieg bezüglich der Absorption von Recaldent und Schmelzezahncreme, der nur knapp über 0 lag (die gemittelten Werte betragen hier 6,09 für Recaldent und 4,61 für Schmelzezahncreme).

Das geringe Remineralisationsverhalten der Schmelzzahncreme ist wahrscheinlich dadurch zu begründen, dass hier relativ hoch konzentrierte Salzhydratschmelze angewandt wurde, um die kurze Behandlungszeit mit dem Präparat zu kompensieren. Aufgrund der fehlenden Pellikel traf der Wirkstoff in hoher Konzentration ungebremst auf den Probenkörper. Nach dreiminütiger Behandlung wurde der pH-Wechsel nicht dynamisch, sondern schlagartig durchgeführt. Aus diesem Grunde besteht hier Anlass zur Vermutung, dass die Ausbildung einer Deckschicht provoziert wurde und eine Tiefenremineralisation der unteren Porenabschnitte demnach nicht möglich war. (306)

Für Remineralisationsprozesse werden Calcium- und Phosphationen benötigt. Wissenschaftliche Untersuchungen berichten, dass für eine optimale Remineralisation ein definiertes stöchiometrisches Verhältnis vorliegen sollte. In der Literatur allerdings findet man hierzu unterschiedliche Angaben. Demnach wird das ideale Calcium-/Phosphatverhältnis bei einem Wert zwischen 1,67

5 Diskussion

(307) und 1,2 (308) angesiedelt. Neuere Studien jedoch berichteten, dass eher ein niedrigeres Calciumphosphatverhältnis (Ca: P_i von 0,3) die besten Resultate in Bezug auf das Remineralisationsverhalten erzeugt. (309)

Bezüglich des Placebos konnten hier abfallende Werte in Bezug auf Masse und Absorption beobachtet werden. Dieses Ergebnis sollte allerdings äußerst zurückhaltend bewertet werden, da hier nicht wie bei den anderen Präparaten vier, sondern nur zwei Probenkörper verwendet wurden, wovon einer noch zu Bruch ging.

Um bei diesem Versuch bessere Ergebnisse zu erhalten, müsste der Anteil an Calciumionen gesenkt werden. Auch ist es sinnvoller, den pH-Wechsel nicht plötzlich, sondern dynamisch durchzuführen, um eine Tiefenremineralisation zu generieren. Diesbezüglich wäre es ratsam gewesen, sich an den Versuchsergebnissen von Jahns zu orientieren. Demnach entspräche die optimale Dauer des pH-Wechsels 0,1 δ pH/min. (310) Um realistischere, der Mundhöhle ähnliche Verhältnisse zu schaffen, hätte der Versuch nicht unter Raumtemperatur stattfinden dürfen, sondern, wie alle nachfolgenden Versuche, bei einer Temperatur von ca. 35 °C.

Zur besseren statistischen Auswertung und Interpretation der Werte wäre auch eine höhere Fallzahl von mindestens 6 Tabletten erforderlich gewesen.

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen sollte herausgefunden werden, bei welcher Calciumkonzentration der Schmelzezahncreme eine bessere Mineralanreicherung stattfindet, und ob ein Zusatz an Phosphat das Remineralisationsverhalten begünstigt.

Demnach fand im Folgeversuch (*Vorversuch 2, vgl. Abschnitte 3.8.2; 4.2*) die Gegenüberstellung schmelzehaltiger Zahncreme unterschiedlicher Konzentrationen (0,25 mol, 0,5 mol und 1 mol) mit und ohne Zugabe einer 200 mmolaren Phosphatlösung statt. Verglichen wurden die verschiedenen Ansätze mit Recaldent und einer Placebopaste.

Im Vergleich (siehe **Abbildung 29**), bewirkte die Placebopaste am meisten Mineralzuwachs, dicht gefolgt von der 0,25 molaren Schmelze. Die

5 Diskussion

Probenkörper, die mit 0,5- und 1 molarer Schmelzezahnpaste behandelt wurden, lagerten merklich weniger Mineral ein. Die geringste Remineralisation war hier bei Recaldent zu beobachten.

Zwar zeigte keine der Schmelzezahnpasten verschiedener Konzentrationen - sowohl mit als auch ohne Phosphat - keine signifikant bessere Wirksamkeit (vergleiche hierzu **Tabelle 5**, **Tabelle 6**), tendenziell allerdings lässt sich beobachten, dass Schmelze ohne Phosphat bessere Ergebnisse erzielte als Schmelze mit Phosphat (vgl. hierzu **Abbildung 32**).

Auch die Placebowerte wiesen keine signifikant schlechteren Ergebnisse als die schmelzehaltigen Zahnpasten der unterschiedlichen Konzentrationen auf. Signifikanz jedoch zeigten, bezüglich der Interaktion, Elmex Placebo und Recaldent. Auch ergab Recaldent ein signifikant schlechteres Ergebnis bezüglich Interaktion als alle schmelzehaltigen Zahncremes mit und ohne Phosphat mit Ausnahme der einmolaren Schmelzezahnpaste (vergleiche **Tabelle 6**).

Es stellt sich die Frage, warum das Placebo so hohe Absorptionswerte zeigte. Die Versuche 3.8.3; 3.8.4 (vgl. hierzu Abschnitt 4.3, 4.4) belegen, dass nach einwöchigem Einlegen von Probenkörpern in REM-Lösung die Zunahme der Absorption im Mittel 3.276 -4,303 μm und nach 40tägigem Einlegen 9,275- 9.722 μm betrug.

Der hier beschriebene Versuch wurde innerhalb von 40 Tagen durchgeführt. Silverstone (311) beschrieb bereits, dass nach 10tägiger Behandlung mit künstlich erzeugten remineralisierenden Medien weitere Mineralanreicherung zum Stoppen kommt. Demnach lag das Placebo hier nur leicht über dem von uns berechneten Durchschnittswert.

Es ist also eher davon auszugehen, dass nicht etwa die Placebopaste ungewöhnlich hohe Remineralisationswerte ergab, vielmehr scheinen die Ergebnisse der anderen Präparate niedriger zu liegen als erwartet.

Die Tatsache, dass Schmelzezahnpaste mit Phosphat schlechtere Ergebnisse erzielt als ohne Phosphat lässt vermuten, dass Phosphat und Calcium trotz des niedrigen pH-Wertes der Schmelzezahnpaste vorzeitig zu Calciumphosphat

reagieren, ausfallen und somit der Remineralisation nicht mehr zur Verfügung stehen.

In Anbetracht der Tatsache, dass Recaldent im Vergleich zu den anderen Präparaten so schlecht abschnitt, muss berücksichtigt werden, dass Recaldent nach Vorschrift nur einmal am Tag angewandt wurde. Insofern lassen sich die Präparate quantitativ nur bedingt miteinander vergleichen.

Bezüglich der Schmelz Zahnpasten ist zu beachten, dass auch hier kein optimales Verhältnis zwischen Calcium und Phosphat vorzufinden war. Auch hier herrschte ein deutliches Überangebot an Calcium. Hier treffen 0,25- 0,5- und 1 molare Calciumlösung auf 0,001 mol Phosphat. Zwar wurde der Versuch bei 35°C durchgeführt, der pH-Wechsel allerdings erfolgte noch immer schlagartig. Auch hier wäre die Ausbildung einer Deckschicht prinzipiell möglich.

Zusammenfassend lässt sich zum beschriebenen Versuch sagen, dass eine höher konzentrierte Schmelz Zahncreme nicht zwangsläufig zu einer stärkeren Remineralisation führt; eine direkte Zugabe des Phosphats in den Wirkstoff erzielt tendenziell sogar niedrigere Absorptionswerte.

Nach den bislang erzielten Versuchsergebnissen stellte sich die Frage, ob etwa durch längere Anwendung des Wirkstoffs eine höhere Remineralisation zu erzielen sei. Für diesen Zweck wurden 0,5 molare Schmelz Zahncreme, Recaldent, Elmex rot und eine Placebocreme gegenübergestellt (vergleiche hierzu Abschnitt 3.8.5 und 4.5).

Diesmal wurden die Probenkörper bei der Behandlung nicht nur drei Minuten, sondern eine Stunde im Wirkstoff belassen. Vor der vierten Messung wurden die Probenkörper über einen Zeitraum von vier Tagen ins Remineralisationsmedium eingelegt.

Abbildung 35 zeigt, dass sowohl Recaldent als auch der Placebowert fast identische Absorptionsverläufe aufwiesen. Diese lagen im leicht positiven Bereich.

5 Diskussion

Die Absorption von Elmex rot stieg zunächst an und fiel dann ab, die Absorption der Schmelzezahncreme verminderte sich über die Zeit (s. **Tabelle 9**), massiv allerdings erst bei viertägigem Einlegen der Probenkörper.

Abbildung 35 zeigt, dass sich die Kurven von Recaldent, Placebo und die von Elmex und Schmelze relativ ähnlich sehen. Auffallend ist, dass wir in diesen beiden Gruppen annähernd ähnliche pH-Werte vorfinden. Die von Recaldent und Placebo sind im neutralen Bereich anzusiedeln, Schmelze und Elmex liegen beide ca. bei pH 4.

Im Prinzip haben wir hier aber klar verständliche Prozesse:

Mineralanreicherung durch Salzhydratschmelze funktioniert nur mit dem Mechanismus der zyklischen Remineralisation. Lagert ein Probenkörper bis zu vier Tagen in starker Säure ein, kann keine Mineralapposition stattfinden. Man benötigt hier einen alternierenden Wechsel zwischen niedrigen und hohen pH-Wert, um Remineralisation zu forcieren.

Um unter solch niedrigen pH-Verhältnissen den kritischen pH-Wert nicht zu unterschreiten (vergleiche hierzu *Abschnitt 2.4.3*), muss das Ionenprodukt für Calcium und Phosphat größer sein als das Löslichkeitsprodukt. Das bedeutet, das Umgebungsmilieu muss eine an Calcium- und Phosphationen übersättigte Lösung sein. Dies trifft hier aber nur für Calcium zu. Dies bedeutet, dass $IP < LP$. Die Folge davon ist Entkalkung. Diese wird durch den Massenverlust bestätigt (siehe **Abbildung 35**).

Die wenig zufriedenstellenden Ergebnisse in Bezug auf das Remineralisationsverhalten von Elmex rot lassen sich nur schwer deuten. Denn der positive Einfluss von Fluoriden auf die Mineralanreicherung ist allgemein bekannt und konnte bereits häufig durch klinische Studien belegt werden.

Das im Verhältnis schlechte Abschneiden von Elmex rot innerhalb dieser Versuchsreihe muss demnach auf das Vorhandensein von äußeren Störfaktoren zurückzuführen sein.

Mitunter hat Fluorid die Fähigkeit, Remineralisation dadurch zu fördern, dass Fluorid bei niedrigem pH-Wert dem HPO_4^{2-} das Proton entzieht und somit mehr dreiwertiges Phosphat generiert werden kann. (312) Demnach ist im

5 Diskussion

Zusammenhang der Remineralisation durch Fluoride ein niedriger pH-Wert förderlich.

Steht auch hier nicht genügend Phosphat zur Verfügung, kann die vorhandene Säure die Remineralisation nicht positiv beeinflussen. Auch hier erfolgt, allerdings erst nach längerem Einlegen, Demineralisation.

Zusammenfassend ist feststellbar, dass die unerwartet schlechten Ergebnisse von Elmex rot und Schmelze Zahnpaste darauf zurückzuführen sein dürften, dass die Tabletten zu lange im zu stark konzentrierten sehr säurehaltigen Wirkstoff eingelagert wurden, ein Vorgang, der in dieser Art üblicherweise nicht bei Zähnen vorkommt.

In beiden Fällen scheint es sich hier um ein Phänomen zu handeln, welches bei in-vitro Versuchen stärker zum Tragen kommt als in situ.

Solche Ergebnisse wären in der Mundhöhle nicht zu beobachten. Dies liegt vor allem daran, dass im Mund sofort eine reaktive Stimulation des Speichelflusses nach Anwendung der säurehaltigen Produkte eingesetzt hätte. Die Wirkstoffe wären demnach sofort stark verdünnt worden (vgl. hierzu die Stephankurve, **Abbildung 5**). Im Mund herrscht außerdem durch die Speichelflüssigkeit bei Gesunden stets Übersättigung an Calcium- und Phosphationen.

Aus diesem Grund könnte in der Mundhöhle, selbst bei einem pH-Wert < 5 und den Calcium- und Phosphatkonzentrationen, die unter normalen Bedingungen in der Speichelflüssigkeit enthalten sind, das Löslichkeitsprodukt des Apatits nicht überschritten werden. (313)

Die aus den vorherigen Versuchen gewonnenen Erkenntnisse wurden in der folgenden Testreihe verarbeitet (vergleiche hierzu Abschnitt 3.8.6, 4.6, 4.7 und 4.7.1). Demnach erfolgte der pH-Wechsel nicht schlagartig, sondern wurde über eine 'Zwischenstufe' mit dem pH-Wert von 5,2 verlangsamt durchgeführt.

Bei ausgewählten Präparaten wurde zusätzlich Phosphat bei Durchführung des pH-Wechsels zugeführt. Es wurde des Weiteren getestet, inwiefern die Zufuhr von Fluoriden das Remineralisationsgeschehen beeinflusst. Auch wurde hier zum ersten Mal ein Vergleich der Präparate in situ durchgeführt um eine Gegenüberstellung zu den in-vitro Versuchen zu schaffen und herauszufinden, wie schmelzehaltige Zahncreme auf die Parameter der Mundhöhle reagiert.

5 Diskussion

In der in-situ Testreihe, hier wurde Zahnpaste ohne Schmelze mit 0,5 molarer schmelzehaltiger Zahncreme mit und ohne Fluorid verglichen, erzielte die schmelzefreie Zahnpaste (0 mol Calcium) die niedrigsten Ergebnisse, gefolgt von 0,5 molarer Schmelze. Die höchste Mineralanreicherung wurde von 0,5 molarer Zahncreme mit Fluoridzugabe beobachtet. Diese Ergebnisse unterschieden sich bezüglich der Interaktion allerdings nicht signifikant voneinander. Dies wird vor allem daran gelegen haben, dass hier nur jeweils zwei Proben verwendet wurden und sich die Werte von bukkal und lingual stark unterschieden (vgl. hier **Abbildung 37**). Mit mehreren Proben ($n \geq 6$) wäre hier sicherlich ein eindeutigeres Ergebnis erzielt worden.

Die triggernde Wirkung der Fluoride lässt sich in diesem Zusammenhang mit der Genese einer Calciumfluoriddeckschicht begründen. Des Weiteren entzieht Fluorid, wie oben bereits erwähnt, vierwertigem Phosphat durch seine hohe Elektronegativität das Proton. Somit wird die Bildung von dreiwertigem Phosphat begünstigt, Remineralisation wird gefördert. (314)

Auch bei der Auswertung der in-vitro Versuchsreihe ergaben sich hier einige interessante Aspekte (vergleiche hierzu **Tabelle 13**, **Abbildung 38** und **Abbildung 39**):

Die niedrigste Remineralisationsrate wurde in diesem Versuch bei schmelzehaltiger Zahncreme ohne Phosphat und Fluorid beobachtet.

Calciumhaltige Zahncreme mit Phosphat erzielte bereits signifikant bessere Ergebnisse als ohne Phosphatzusatz (vgl. **Tabelle 13**, Unterpunkt 4).

Diese Ergebnisse bestärken die These, dass schmelzehaltige Zahnpaste nur mit ausreichender Phosphatversorgung entsprechende Mineralanreicherung provozieren kann.

Zahncreme (mit und ohne Calcium) erzeugte mit Fluorid signifikant mehr Mineralanreicherung als ohne Fluorid. Calciumhaltige Zahnpaste mit Fluoriden erzielte hier ein signifikanteres Ergebnis als calciumfreie Zahnpaste mit Fluoriden.

Die höchste Mineralanreicherung konnte bei schmelzehaltiger Zahncreme mit Phosphat und Fluoridzusatz beobachtet werden.

5 Diskussion

Interessant allerdings ist die Betrachtung der Ergebnisse der Wirkstoffkombination von Phosphat und Fluorid. Dabei erzielte calciumfreie Zahnpaste mit Fluorid und Phosphat eine höhere Remineralisation als 0,5 molare Schmelz Zahncreme mit und ohne Phosphat (vergleiche hierzu **Tabelle 13**). Es besteht die Vermutung, dass zwischen Phosphat und Fluorid ein Synergieeffekt herrscht. Diese Vermutung stützt sich auf die Beobachtung, dass die Paste mit 0,5 molarer Salzhydratschmelze mit Fluorid- und Phosphatzusatz (der gemittelte Wert der Absorption betrug hier 23,417 μm) mehr als das Doppelte an Mineral anlagerte als 0,5 molare Zahncreme ohne Zusätze (gemittelte Mineralanreicherung betrug 9,173).

Vergleicht man die Ergebnisse der in-situ- und in-vitro Versuchsreihen, so unterschieden sich gleichnamige Präparate der Versuche in ihren Interaktionen nicht signifikant (vgl. hierzu **Abbildung 40, Tabelle 15**). Die Verhältnisse der Mundhöhle scheinen demnach in vitro gut reproduziert worden zu sein. Die höchste Mineralanreicherung wurde hier in beiden Fällen von der 0,5 molaren Schmelzzahncreme mit Phosphat- und Fluoridzugabe erreicht. Die geringste Remineralisation erzielte die calciumfreie Zahncreme sowohl in situ als auch in vitro.

Zusammenfassend lässt sich zu der beschriebenen Versuchsreihe sagen, dass die externe Zufuhr von Phosphationen bei in-vitro Untersuchungen eine größere Rolle zu spielen scheint als zuvor vermutet.

Die Testreihe zeigte, dass es enorm wichtig ist, für in-vitro Versuche ein Präparat zu wählen, bei dem Calcium und Phosphat zunächst nicht gemeinsam, sondern räumlich und zeitlich getrennt voneinander verabreicht werden.

In der Mundhöhle ist eine externe Zugabe von Phosphationen allerdings nicht notwendig, da diese in ausreichender Menge im Speichel zur Verfügung stehen. Interessant wäre es, in einem weiteren Versuch zu überprüfen, ob in situ durch externe Phosphatzufuhr, beispielsweise in Form einer

5 Diskussion

Mundspüllösung, zusätzlich das Ergebnis in Bezug auf Remineralisation zu optimieren wäre.

Allerdings wurden in situ bereits derartige Versuche durchgeführt, die zum Ergebnis führten, dass sich die Zugabe von Phosphaten in situ negativ auf das Remineralisationsgeschehen auswirkte. Auch Jensdottir verzichtete auf zusätzliche Phosphatzufuhr, da der metallische Geschmack des Phosphats als 'wenig lebensmitteltauglich' angesehen wurde. (315)

Die These, die bereits von Wissenschaftlern wie McCann und Brudevold geäußert wurde und die besagt, dass geringe Fluoridmengen „essentiell der Förderung zur Remineralisation beitragen, mehr noch als die alleinige Anwesenheit von Calciumphosphat“ (316), konnte hier wiederum bestätigt werden.

Zusammenfassend (vergleiche hierzu Abschnitt 2.5.2.3) lässt sich dieses Phänomen dadurch begründen, dass Fluorid durch seine starke Elektronegativität die Fähigkeit besitzt, bei niedrigem pH-Wert dem HPO_4^{2-} das Proton zu entziehen und somit das für die Remineralisation wichtige PO_4^{3-} zu generieren. (317) Weiterer Entkalkung wird somit entgegengewirkt. Calcium kann wieder in das Kristallgitter eingegliedert werden. (318)

Unterstützt wird dieser Prozess durch die starke Säure der Salzhydratschmelze: Durch die Säure erfolgt eine reaktive Stimulation des Speichelflusses. Diese geht mit ansteigenden Bikarbonat-Werten einher. Es folgt eine Deprotonisierung. Das tertiäre Phosphat steigt auf das 40fache des Ausgangswertes an und steht somit der Remineralisation zur Verfügung. (319)

Interessant ist hierbei zu sehen, dass die schmelzehaltige Zahncreme mit 0,5 mol die gleiche Zusammensetzung aufwies wie die im Hauptversuch. Die Mineralanreicherung durch den Wirkstoff war hier jedoch um ein Vielfaches effektiver (verglichen in Zahlen betrug der Mittelwert der Mineralanreicherung im Hauptversuch - 8,118 μm , im Nachversuch in vitro + 9,172 μm).

Geändert haben sich hier unter anderem die Dauer der Anwendung, das umgebende Milieu mit einer Übersättigung an Calcium- und Phosphationen, eine stärkere Verdünnung und ein fraktioniert ansteigender pH-Wert.

Als letzte Testreihe (vergleiche hierzu *Abschnitt 3.8.7, 4.8, 4.9, 4.9.1*) sollte überprüft werden, ob es prinzipiell möglich ist, amorphe Salzhydratschmelze in eine handelsübliche Zahncreme zu integrieren. Auch hier wurde ein Vergleich der Wirkstoffe ´in situ` und ´in vitro` durchgeführt.

´In situ` wurden Elmex Placebo (ohne Fluorid) und Elmex rot (1400 ppm Aminfluorid), jeweils mit 0,2 mol Calciumzusatz miteinander verglichen. Elmex mit Calciumzusatz erzielte hier tendenziell höhere Ergebnisse in Bezug auf Mineralanlagerung als Elmex Placebo mit Calciumzusatz.

Laut Varianzanalyse aber unterschieden sich die beiden Präparate in Bezug auf deren Interaktion nicht signifikant. Dies könnte daran liegen, dass lingual die Werte aufgrund der stärkeren Penetration mit Speichelflüssigkeit höhere Ergebnisse zeigten als die Probenkörper, die bukkal angerbracht wurden (vgl. hierzu **Abbildung 42**).

´In vitro` erfolgte die Durchführung mit zwei zusätzlichen Präparaten Elmex rot und Elmex Placebo, jeweils ohne Calciumzusatz. In dieser Testreihe wurde jedes Präparat mit Phosphatzusatz behandelt.

Elmex rot erzielte hier signifikant bessere Ergebnisse (siehe **Abbildung 41**) als Elmex mit 0,2 mol Calciumzusatz (vergleiche hierzu **Tabelle 19**, Absatz 4).

Die Placebo-Zahncreme mit Phosphat und ohne Calciumzusatz erzielte den niedrigsten Mineralzuwachs, das gleichnamige Präparat mit Calciumzusatz war hier nur geringfügig höher anzusiedeln. Die Ergebnisse von Elmex mit und ohne Calciumzusatz zeigten in Bezug auf dessen Absorptionsvermögen ebenso signifikant höhere Ergebnisse als Elmex Placebo (vgl. **Tabelle 19**, Absatz 2 und 3). Elmex Placebo allerdings erzielte mit Calciumzusatz kein signifikant höheres Ergebnis als ohne Calciumzusatz (siehe **Abbildung 43, Tabelle 19**, Absatz 1).

Der Vergleich zwischen ´in situ` und ´in vitro` ergab, dass Elmex mit Calciumzusatz ´in situ` signifikant bessere Ergebnisse zeigten als das gleichnamige Produkt in vitro (Siehe **Abbildung 44, Tabelle 23**, Absatz 2).

Elmex Placebo mit Calciumzusatz erzeugte ´in vitro`, wenn auch nur tendenziell, höhere Remineralisation als ´in situ` (siehe **Abbildung 44, Tabelle 19**, Absatz 1).

5 Diskussion

Nach der dreifaktoriellen Varianzanalyse allerdings erzielten alle Proben der ´in situ`-Versuche signifikant bessere Ergebnisse als ´in vitro` (vergleiche **Abbildung 44**, **Tabelle 24**, Zeile 2).

Die aus dem vorherigen Versuch gewonnene Beobachtung, dass Phosphat, Calcium und Fluorid einen synergistischen Effekt auf das Remineralisationsgeschehen auszuüben scheinen, dürfte im Zusammenhang mit Elmex rot nicht gelten.

Denn die Beobachtung, dass eine Zahncreme mit Calcium-, Phosphat- und Fluoridzusatz signifikant niedrigere Ergebnisse in Bezug auf Remineralisation erzielte als fluorid- und phosphathaltige Zahncreme ohne Calcium, war nach den vorherigen Versuchsergebnissen nicht zu erwarten.

Das bedeutet, dass sich Calciumzusatz bei Elmex anders auf das Remineralisationsverhalten auswirkte als bei der Placebopaste.

Die Begründung hierfür lässt sich allenfalls vermuten, da in diesem Versuch im Vergleich zu früheren Experimenten mehrere Parameter verändert wurden: Die Calciumkonzentration wurde von 0,5 mol auf 0,2 mol abgesenkt. Orientiert man sich allerdings an den Ergebnissen des zweiten Vorversuchs (vergleiche **Tabelle 5**, Absatz 2), hätte sich das Remineralisationsverhalten in diesem Zusammenhang nicht signifikant verändern dürfen.

Bei Elmex rot wirkte sich die Anwesenheit von Calcium anders auf den Verlauf aus als bei Elmex Placebo. Denn nur bei der Anwendung der fluoridhaltigen Zahncreme Elmex rot bestand ein signifikanter Unterschied zwischen calciumhaltiger und calciumfreier Zahncreme (vergleiche hierzu **Tabelle 19**, Absatz 1, 4).

Der einzige Faktor, der sich hier verändernd auf das Remineralisationsverhalten von calciumhaltiger Schmelze auswirken konnte, ist die Anwesenheit von Fluoriden. Im Vergleich zum vorhergehenden Versuch wurden hier eine Erhöhung der Fluoridkonzentration und eine Änderung der Fluoridart durchgeführt.

Im vorherigen Versuch erfolgte die triggernde Wirkung von Fluorid durch das 20minütige Einlegen der Probenkörper vor dem Versuch in 2 ml 500 ppm-

5 Diskussion

haltiger Natriumfluorid-Lösung. Hier allerdings erfolgte die Behandlung mit Fluorid durch 1400 ppm haltiges Aminfluorid.

Die Wirkung der hier angewandten Aminfluoride zeigt im Allgemeinen im Vergleich zu Natriumfluorid eine doppelte bis vierfach höhere Fluorideinlagerung (314). Aminfluoride gelten demnach als wirksamer bei der Remineralisation als Natriumfluorid. Aufgrund der höheren Fluoridkonzentration, der Anwesenheit von Aminfluoriden, der Übersättigung an Calciumionen und des fehlenden Pellikels liegt die Vermutung nahe, dass die Bildung einer Calciumfluoriddeckschicht provoziert wurde. Eine Tiefenremineralisation konnte in diesem Fall nicht stattfinden.

Ein ähnliches Phänomen beschrieb seinerzeit L. M. Silverstone in seiner 'Theorie der Kristallwachstumshemmung'. (320) Diese besagt, dass bei hohen Calcium- und Fluoridkonzentrationen ein Verschluss der oberflächlichen Transportkanäle stattfindet.

Das Fehlen einer Übersättigung an reagiblen Calciumionen würde die Tendenz der Deckschichtbildung abschwächen, eine Tiefenremineralisation wäre hier also eher möglich als mit Calciumzusatz. Demnach kann hier Elmex ohne Calciumzusatz in vitro mehr einlagern als mit Calciumzusatz.

Zwar wurden bei dem in-situ Versuch weder Elmex rot noch Placebo ohne Schmelze als Vergleichspräparate verwendet, dafür aber lassen sich diese Werte aus früheren Versuchsreihen vergleichend hinzuziehen. Hier erzielte Elmex rot ohne Calciumzusatz im Mittel eine Mineralanreicherung von etwa 16 μm . Das in diesem Versuch verwendete Elmex rot mit Calciumzusatz lagerte im Mittel 10,5 μm an. Das bedeutet, dass auch in situ die Werte von Elmex ohne Calcium höher waren als mit Calcium.

Die signifikant höhere Mineralanreicherung von Elmex mit Calciumzusatz der in-situ Versuche im Vergleich zu den in-vitro Tests beruhte vermutlich darauf, dass in vitro keine Pellikel den Probenkörper umgab, die die starken Ionenkonzentrationen abmildern konnte. Insofern ist in situ die Ausbildung einer Calciumfluoriddeckschicht weniger wahrscheinlich als in vitro. Um dieses

5 Diskussion

Problem innerhalb der *in vitro* Versuche zu umgehen, reicherten Meyer-Lückel und Kielbassa die Speichelersatzflüssigkeit mit Muzinen an. Hier stellte sich heraus, dass Speichelersatzflüssigkeit, die mit Muzinen angereichert wurde, selbst bei niedrigen Calciumphosphatkonzentrationen die Demineralisation von boviner Zahnhartsubstanz verhindern konnte. (321)

In diesem Zusammenhang wäre hier das Verwenden muzinhaltiger REM-Lösung sicherlich interessant.

Elmex mit Calciumzusatz erzielte schlechtere Ergebnisse als ohne Calcium. Die Begründung dafür könnte darin liegen, dass einer der Inhaltsstoffe der Elmex-Zahncreme einen inhibierenden Effekt auf das Calcium ausübt. Diesbezüglich könnten weiterführende Untersuchungen neue Erkenntnisse bringen.

Im Zusammenhang mit der Herstellung einer remineralisierenden Zahnpaste mit calciumreicher Salzhydratschmelze seien abschließend einige grundsätzliche Erkenntnisse thesenhaft formuliert:

Remineralisation durch schmelzehaltige Zahncreme ist möglich. Hierbei sollten allerdings folgende Faktoren beachtet werden:

- Zwecks Herstellung einer remineralisierenden schmelzehaltigen Zahncreme ist eine ausreichende externe Zufuhr von Phosphationen notwendig. Diese darf nicht zeitgleich mit dem eigentlichen Wirkstoff verabreicht werden, um ein Ausfällen der Calcium- und Phosphationen in Form von Calciumphosphat zu verhindern.
`In situ` ist dies, aufgrund der bereits vorhandenen Übersättigung an Phosphationen durch die Speichelflüssigkeit, nicht notwendig.
- Der pH-Wechsel zwecks forcierter Remineralisation sollte in grundsätzlich nicht schlagartig, sondern fraktioniert, d.h. dynamisch erfolgen, um den Verschluss der oberen Transportkanäle durch

5 Diskussion

Calciumfluoridglobuli entgegenzuarbeiten und somit eine Tiefenremineralisation zu ermöglichen.

- In-vitro Versuche sind nicht bei Raumtemperatur, sondern bei der natürlichen Temperatur der Mundhöhle (35°C) durchzuführen.
- Der Wirkstoff sollte stark verdünnt angewandt werden bzw. nicht länger als drei Minuten in konzentrierter Form auf der Zahnhartsubstanz verweilen.
- Ein Zusatz von Phosphat- und Fluoridionen (in situ nur Fluorid) triggert die Wirkung der calciumhaltigen Schmelze um ein Vielfaches.
- Um die Funktionalität des Wirkstoffs definitiv nachzuweisen, sollten neben den in-vitro- stets in-situ- Versuche zum Vergleich herangezogen werden.
- Die Integration von calciumhaltiger Schmelze in eine herkömmliche Zahncreme ist prinzipiell möglich. Hierbei sollte allerdings darauf geachtet werden, dass keine Inhaltsstoffe mit dem Wirkstoff interagieren. Das Verwenden von kieselgelhaltigen Produkten ist in diesem Zusammenhang nicht zu empfehlen, da es mit Calcium zu dem unlöslichen Calciumsilikat reagiert und somit der Remineralisation nicht mehr zur Verfügung steht.

Im quantitativen Vergleich aller Versuchsreihen ist zu erkennen, dass die höchsten gemittelten Extinktionen jeweils von den Präparaten mit 0,5 molarer Schmelze mit Fluorid- und Phosphatzufuhr in vitro (+ 23,417 μm) und dem gleichnamigen Präparat ohne externe Phosphatzufuhr in situ (+ 23,985 μm) erzielt wurden. Die niedrigsten Werte erzeugten die Präparate Elmex rot mit den gemittelten Werten von -8,008 μm und 0,5 molarer Schmelze ohne Phosphatzusatz (-8,118 μm) im Hauptversuch.

6 Zusammenfassung

Eine Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, eine remineralisierende Zahncreme auf Basis einer amorphen, calciumhaltigen Salzhydratschmelze herzustellen. Weiterhin sollte diese mit zwei handelsüblichen remineralisierenden Zahncremes, der mit 1400 ppm Aminfluorid angereicherten Elmex rot, dem CPP- ACP-haltigen Recaldent sowie einem wirkstofffreien Placebo hinsichtlich ihrer Remineralisationswirkung verglichen werden.

Der Wirkstoff Salzhydratschmelze besteht aus einem Stoff, der an Calciumionen übersättigt ist. Dabei handelt es sich um eine unterkühlte Schmelze aus den ehemals kristallinen Edukten Calciumlactat, Calciumgluconat, Milchsäure und Zitronensäure. Die Schmelze ist amorph; damit unterliegen die darin enthaltenen Calciumionen keiner Nahordnung, sind relativ ungebunden und stehen für Reaktionen zur Verfügung.

Mit der Salzhydratschmelze wurden selbst entwickelte Zahncremes unterschiedlicher Rezeptur in unterschiedlichen Konzentrationen angereichert, um in Experimenten Erfahrungen über geeignete Konzentrationen erwerben zu können.

Die Versuche wurden zu Beginn ausschließlich in vitro durchgeführt. Um zu testen, ob das entwickelte Präparat auch in der Mundhöhle wirken kann, erfolgten in den letzten beiden Versuchsreihen vergleichende Erprobungen in situ.

Als Probenkörper dienten artifiziell hergestellte zylindrische Tabletten aus Hydroxylapatit, welche die Dichte und Struktur von poröser Zahnhartsubstanz aufwiesen. Anstelle von natürlicher Speichelflüssigkeit wurde eine artifiziell erzeugte remineralisierende Lösung angewandt, die 1 mmol Calcium- und 1 mmol Phosphationen enthielt. Die Mineralbilanz vor und nach den Behandlungen wurde sowohl gravimetrisch als auch radiographisch erfasst. Die ersten Versuche dienten der Eruierung der geeigneten Calciumkonzentration, der Zusammensetzung der schmelzehaltigen Zahnpaste sowie der notwendigen Dauer der Anwendung des Wirkstoffs.

6 Zusammenfassung

Eine bedeutsame Erkenntnis der Versuchsreihen war die Tatsache, dass 0,5 molare Schmelzeczahncreme ohne Phosphat- und Fluoridzusatz zwar remineralisierte, jedoch ein tendenziell niedrigeres Ergebnis zeigte als das Placebo. Allein der Zusatz von wenigen Phosphationen erzeugte allerdings eine signifikant bessere Mineralbilanz. Die höchste Mineralanreicherung konnte bei schmelzehaltiger Zahncreme mit Phosphat und Fluoridzusatz beobachtet werden. Sie überstieg die Absorption von 0,5 molarer Schmelze ohne Phosphat- und Fluoridzufuhr um mehr als das Doppelte. Demnach kann hier von einem synergistischen Effekt zwischen Calcium, Phosphat und Fluoriden ausgegangen werden.

Das Präparat Recaldent, welches vergleichend in den ersten Versuchen angewendet wurde, erbrachte keine besseren Ergebnisse als das Placebo.

7 Literaturverzeichnis

- (1) **Michelis W, Schiffner U**, DZV 2006
- (2) **König KG**, Karies und Parodontopathien, Thieme-Verlag, 1987, S.54
- (3) **Fischer S**, Anorganische Salzhidratschmelzen- ein unkonventionelles Löse- und Reaktionsmedium für Cellulose. Habilitationsschrift Freiberg (2003)
- (4) **Lüllmann-Rauch R**, Histologie Verstehen-Lernen-Nachschriften. Thieme-Verlag, 2003, S.298
- (5) **Klimek J**, Speichel und Mundgesundheit Ein Skript für Studenten zur Examensvorbereitung
- (6) **Jenkins GN**, The physiology and biochemistry of the mouth. Blackwell Oxford, 4. Auflage, 1978
- (7) **Dawes C**, Inorganic constituents of saliva in relation to caries. In: Guggenheim B, Cariology Today. Karger, 1984, S.70- 74
- (8) **Klimek J**, Speichel und Mundgesundheit. Ein Skript für Studenten zur Examensvorbereitung, S.10
- (9) **Buddecke E**, Biochemische Grundlagen der Zahnmedizin, Walter de Gruyter- Verlag 1981, S.90
- (10) **Sauerwein E**, Die Bestimmung des menschlichen Speichels. Stoma. Bouvier-Verlag, 14. Auflage, 1961
- (11) **Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A**, Effects of sucking acidic candy on whole-mouth saliva composition. Caries Res 2005;39:S.468-474
- (12) **Karlson P**, Karlsons Biochemie und Pathobiochemie. Thieme-Verlag, 11. Auflage, 2005, S.650
- (13) **Schlegel HG**, Allgemeine Mikrobiologie. Thieme-Verlag, 6. Auflage, 1985, S.291
- (14) **Schlagenhauf U**, Parodontologie, Skript für Studenten, 2006, S.34

- (15) **Carlsson J**, Bacterial effect of hydrogen peroxide is prevented by the lactoperoxidase-thiocyanate system under anaerobic conditions. *Infect And Immun* 1980;29:S.1190
- (16) **Karlson P**, Kurzes Lehrbuch der Biochemie, Thieme-Verlag, 12. Auflage, 1984
- (17) **Tabak L, Levine J, Mandel D, Ellison S**, Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *J oral Path* 1982;11:S.1-17
- (18) **Van der Hoeven JS, de Jong MH**, De microbiologie van de mond. NIB, Zeist, 1986
- (19) **Zahnradnik RT, Moreno EC, Burke EJ**, effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. *J dent Res* 1976;55:S.665
- (20) **Jurjaanse AC, Booji M, Arends J, ten Bosch JJ**, The adsorption in vitro of purified salivary proteins on bovine dental enamel. *Arch Oral Biol* 1981;26:S.91
- (21) **Hay DI, Moreno EC**, Macromolecular inhibitors of calcium phosphate precipitation in human saliva; their roles in providing a protective environment for the teeth. In: Kleinberg I, Ellison SA, Mandel ID, *Saliva and Dental Caries*. Microbiology Abstracts, spec. Suppl. IRL Press, New York u. London 1979,S.45
- (22) **Hay D, Schluckebier I, Moreno EC**, Equilibrium dialysis and ultrafiltration studies of calcium and phosphate binding by human salivary proteins. Implications for salivary supersaturation with respect to calcium phosphate salts. *Calcif Tissue int* 34,1982,S.531-8
- (23) **Dawes C, Kubieniec K**, The effects of prolonged gum chewing on salivary flow rate and composition. *Arch oral Biol* 2004 Jun;70(6):S.397-400
- (24) **Klimek J**, Speichel und Mundgesundheit. Ein Skript für Studenten zur Examensvorbereitung, S. 13
- (25) **Becks H, Wainwright WW**,
(a): Critical discussion of former salivary calcium studies and their value in the establishment of normal standards. *J dent Res* 1934;14,S.387

- (b): Critical discussion of former salivary phosphorus studies and their value in the establishment of normal standards. J dent Res 1937;17:S.197-207
- (26) Becks H, Wainwright WW**, Human Saliva. J dent Res 1941;20:S.627-637
- (27) Jahns R**, Einfluss der pH- Anstiege auf die Effizienz der Remineralisation initialer Karies bei Anwendung einer fluoridierten Remineralisationslösung. Medizinische Dissertation, Würzburg, 1991
- (28) Featherstone JDB, Cutress TW, Rogers BE, Dennison PJ**, Remineralization of early carious lesions in vivo by a self administered mouthrinse or paste. Caries Res 1982;16(3):S.235-42
- (29) Lüllmann-Rauch R**, Histologie: Verstehen- Lernen- Nachschlagen. Thieme-Verlag, 2003, S.302
- (30) Gängler P, Arnold W**, Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. Thieme-Verlag, 2. Auflage, 2005, S.35
- (31) Pilz W, Plathner CH, Taatz H**, Grundlagen der Kariologie und Endodontie. Carl-Hanser-Verlag, 3. Auflage, 1980, S.45
- (32) Höhling HJ, Krefting ER, Barckhaus R**, Does correlation exist in collagen- rich hard tissues and that in enamel? J dent Res 1982 Dec; Spec No: 1496- 503
- (33) Gängler P, Arnold W**, Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. Thieme-Verlag, 2. Auflage, 2005, S.35
- (34) Hellwig E, Klimek J, Attin T**, Einführung in die Zahnerhaltung. Urban und Fischer-Verlag, 3.Auflage, 2003, S.3
- (35) Gängler P, Arnold W**, Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. Thieme-Verlag, 2. Auflage, 2005, S.35
- (36) Hellwig E, Klimek J, Attin T**, Einführung in die Zahnerhaltung. Urban und Fischer-Verlag, 3.Auflage, 2003, S.3
- (37) König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.44
- (38) Hellwig E, Klimek J, Attin T**, Einführung in die Zahnerhaltung. 3.Auflage, Urban und Fischer-Verlag, 2003, S.4

- (39) **Ingram GS, Silverstone LM**, A chemical and histological study of artificial caries in human dental enamel in vitro. *Caries Res* 1981;15(5):S.393-8
- (40) **Gängler P, Arnold W**, Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. Thieme-Verlag, 2. Auflage, 2005, S. 35
- (41) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.47
- (42) **Newesely H**, Fluorid für die Zahnschmelzbildung. In: Kariesprophylaxe mit Fluorid. Informationskreis Mundhygiene und Ernährungsverhalten, Frankfurt, 1979, S.17-22
- (43) **Brown WR**, General comment to session V, 3rd Int. Symp. Tooth Enamel. *J dent Res* 1979;58B:S.857- 60
- (44) **ten Cate JM**, Remineralization of enamel lesions. A study of physico-chemical mechanism. Naturwissenschaftliche Dissertation, Groningen, 1979
- (45) **König KG**, Karies und Parodontopathien, Thieme-Verlag, 1987, S.48
- (46) **ten Cate JM**, Remineralization of enamel lesions. A study of physico-chemical mechanism. Naturwissenschaftliche Dissertation, Groningen, 1979
- (47) **Hellwig E, Klimek J, Attin T**, Einführung in die Zahnerhaltung. Urban und Fischer-Verlag, 3. Auflage, 2003, S.4
- (48) **Osborne JW**, Various structure and Development of enamel. *Oral Sci Rev* 1973;3:S.3-83
- (49) **Gängler P, Arnold W**, Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. Thieme-Verlag, 2. Auflage, 2005, S.35
- (50) **Hellwig E, Klimek J, Attin T**, Einführung in die Zahnerhaltung. 3.Auflage, Urban und Fischer-Verlag, 2003, S.3
- (51) **Schour J, Hoffmann MM**, Studies of tooth development. *J Dent Pres* 1939;18:S.91
- (52) **Osborne JW**, Various structure and Development of enamel. *Oral Sci Rev* 1973;3:S.3-83

- (53) **Schroeder HE**, Orale Strukturbiologie: Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle. Thieme-Verlag, 1976, S.83
- (54) **Kreter F, Pantke H**, Einführung in die Zahnheilkunde mit Grenzinformationen. Quintessenz-Verlag, 1979, S.87
- (55) **Sauerwein E**, Kariologie, Thieme Verlag, 1974
- (56) **Meckel AH**, The nature and importance of organic deposits on dental enamel. Caries Res 1968;2:S.104
- (57) **Meckel AH**, The formation and properties of organic films on teeth. Arch oral Biol 1965;10:S.585- 598
- (58) **Hellwig E, Klimek J, Attin T**, Einführung in die Zahnerhaltung, Urban und Fischer-Verlag, 3. Auflage, 2003, S.15
- (59) **Roulet JF**, Prophylaxe und Präventivmedizin. Thieme-Verlag, 2003, S.56
- (60) **Karlson P**, Kurzes Lehrbuch für Mediziner und Naturwissenschaftler, Thieme-Verlag, 11. Auflage, 1980, S.45
- (61) **Arends J, Jongebloed WL**, The enamel substrate-characteristics of the enamel surface. Swed Dent J 1977;1(6):S.215-24
- (62) **Gibbons RJ**, Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases. J Dent Res 1989 May;68(5):S.750-60
- (63) **Sanderink R**, Curriculum orale Mikrobiologie und Immunologie, Quintessenz-Verlag, 2005
- (64) **Marsh P, Martin MV**, Orale Mikrobiologie. Thieme-Verlag, 2002, S.79
- (65) **Roulet JF**, Prophylaxe und Präventivmedizin. Thieme-Verlag, 2003, S.35
- (66) **Kolenbrander PE**, Coaggregation of human oral bacteria: potential role in the accretion of dental plaque. J Appl Bacteriol 1993;74 Suppl.79S-86S. Review.
- (67) **Periasamy S, Kolenbrander PE**, Aggregatibacter actinomycetemcomitans Builds Mutualistic Biofilm Communities in Saliva with Fusobacterium nucleatum and Veillonella sp. Infect Immun, 2009 Jun, S.29
- (68) **Roulet J F**, Prophylaxe und Präventivmedizin. Thieme-Verlag, 2003, S.35

- (69) **Sanderink R**, Curriculum Orale Mikrobiologie und Immunologie.
Quintessenz-Verlag, 1. Auflage, 2004
- (70) **Shakespeare W**, Much Ado About Nothing, Classik Books Company, 2001,
S. 376
- (71) **Hardwick JL**, The Incidence and Distribution of Caries Throughout the
Ages in Relation to the Englishman's Diet. Br Dent J 1960;108:S.9-17
- (72) **Weinberger DL**, The History of Dentistry, St. Louis: C.v. Mosby Co. 1948,
S.22-27
- (73) **Mandel ID**, Caries Through the Ages: A Worm's Eye View. J Dent Res
1983;62(8):S.926-929
- (74) **Townend BR**, Oral Magic, Folklore and Tradition. Dent Mag and Oral
Topics 1938;55:S.223-229
- (75) **Rzihacek- Bedő A**, Medizinische Wissenschaftspflege im
Benediktinerkloster Admont bis 1500. Oldenbourg-Wissenschafts-Verlag,
2005, S.57
- (76) **Gerabek W, Haage B, Keil G, Wegner W**, Enzyklopädie der
Medizingeschichte. Walter de Gruyter-Verlag, 2005
- (77) **Miller WD**, Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Thieme-Verlag, 1889
- (78) **Baumgärtner F**, Wiener klin Wochenschrift 1913, 5
- (79) **Fleischmann L**, Zahnärztliche Stomatologie 1921, S.153
- (80) **Stephan RM**, Two factors of possible importance in relation to the etiology
and treatment of dental caries and other dental diseases. J Amer Dent
Assoc 1940 Dec 20;92(2399):S.578-579
- (81) **Eggers- Lura H**, Stoma 2,1949, S.306
- (82) **Boedecker CJ**, N Y J Dent 1948;18:S.254
- (83) **Knappwost A**, Dt zahnärztliche Zeitung 1949;4:S.553
- (84) **Klimm W**, Kariologie, Hanser-Verlag, 1997, S.48
- (85) **Orland FG, Blaynay JR, Harrison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Ervin
RF, Wagner M, Amer J**, Experimental caries in germfree rats inoculated
with enterococci. Dent Assoc 1955 Mar;50(3):S.259-72

- (86) **Fitzgerald RJ, Keyes PH**, Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. Amer Dent Assoc 1960 Jul;61:S.9-19
- (87) **Pilz W, Platmner CH, Taatz H**: Grundlagen der Kariologie und Endodontie. Hanser-Verlag, 1980, S.137
- (88) **Sanderink A, Bernhard H, Kneko M, Weiger R, Meyer J, Weber C**, Curriculum orale Mikrobiologie. Quintessenz-Verlag, 2004
- (89) **Sanderink A, Bernhard H, Kneko M, Weiger R, Meyer J, Weber C**, Curriculum orale Mikrobiologie. Quintessenz-Verlag, 2004
- (90) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, S.39
- (91) **Kramer E**, Prophylaxefibel. Dt Ärzte-Verlag, 2008, S.17
- (92) **Stephan RM, Miller BF**, A quantitative method for evaluating physical and chemical agents with modify production of acids in bacterial plaques on human teeth. J dent Res 1943;(22):S.45
- (93) **Stephan RM, Miller BF**, a quantitative method for evaluating physical and chemical agents which modify production of acids in bacterial plaques on human teeth. J dent Res 1943;22:S.45
- (94) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.57
- (95) **Benson PE, Parkin N, Millett DT, Dyer FE, Vine S, Shah A**, Fluorides for the prevention of white spots on teeth during fixed brace treatment. Evid Based Dent 2004;5(4):S.98-9
- (96) **Haikel Y, Frank RM, Voegel JC**, Scanning electron microscopy of the human enamel surface layer of incipient carious lesions. Caries Res 1983;17:S.1
- (97) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.54
- (98) **Featherstone JD**, Dental caries: a dynamic disease process. Aust Dent J 2008. Sep;53(3):S286-91
- (99) **Ahrends G**, Beziehungen zwischen dem Phosphatgehalt des Speichels und Karies. Arch Oral Biol 1961;6:S.241

- (100) **Silverstone LM, Johnson NW, Hardie JM, Williams RAD**, Dental caries. Etiology, Pathology and Prevention. Mac Millan, 1981
- (101) **Sullivan HR**, The formation of early carious lesions in dental enamel. J dent Res 1954;33:S.231
- (102) **Haikel Y, Frank RM, Voegel JC**, Scanning electron microscopy of the human enamel surface layer of incipient carious lesions. Caries Res 1983;17:S.1
- (103) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.56
- (104) **Kramer E**: Prophylaxefibel. Dt. Ärzte-Verlag 2008, S.17
- (105) **Dawes C**, What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? I Can Dent Assoc 2003;69(11):S.722-4
- (106) **Zeek A, Fischer SC, Grond S, Papastavrou I**, Chemie für Mediziner. Urban und Fischer-Verlag, 2003, S.89
- (107) **Zeek A, Fischer SC, Grond S, Papastavrou I**, Chemie für Mediziner. Urban und Fischer-Verlag, 2003, S.100
- (108) **Dawes C**, What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? I Can Dent Assoc 2003;69(11):S.722-4
- (109) **Larsen MJ, Bruun C**, Enamel/saliva – inorganic chemical reactions. In: Thylstrup A, Fejerskov O, Textbook of cariology. Munksgaard, 1986, S.181–203
- (110) **Dawes C**, What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? I Can Dent Assoc 2003;69(11):S.722-4
- (111) **Dawes C**, What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? I Can Dent Assoc 2003;69(11):S.722-4
- (112) **Wiedemann W**, Remineralisation beginnender Karies. Deutscher Zahnärztekalendar, 1982, Carl-Hanser-Verlag, 41, S.43-56
- (113) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.63

- (114) **Knappwost A**, Spekulation und gesicherte Tatsachen über die physiologische Fluorwirkung. In: Kariesprophylaxe mit Fluorid. Informationskreis Mundhygiene und Ernährungsverhalten, Frankfurt, 1979, S.23
- (115) **ten Cate JM**, Remineralization of Enamel Lesions. A study of the Physico- chemical Mechanism. Naturwissenschaftliche Dissertation, Groningen, 1979
- (116) **Knappwost A**, Spekulation und gesicherte Tatsachen über die physiologische Fluorwirkung. In: Kariesprophylaxe mit Fluorid. Informationskreis Mundhygiene und Ernährungsverhalten, Frankfurt, 1979, S.23
- (117) **Gray JA, Francis MD**, Physical chemistry of enamel dissolution. In: Sognnaes F, Mechanisms of Hard Tissue Destruction. Amer Ass Advanc Sci 1963;S.213
- (118) **Crommelin DJ, Higuchi WI, Fox JL, Spooner PJ, Katdare AV**, Dissolution rate behavior of hydroxylapatite- fluorapatite mixtures. Caries Res 1983;17:S.289
- (119) **Weatherell JA, Robinson C, Hallsworth AS**, Formation of lesions in enamel using moist acid vapor. In: Leach S; Edgar WM, Demineralization and Remineralization of Teeth. IRL Press. 1983;S.225
- (120) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.67
- (121) **Knappwost A**, Grundlagen der Resistenztheorie der Karies mit einem Beitrag über die karieshemmende Wirkung peroraler Fluorgaben. Dtsch zahnärztliche Zeitung 1952;7:S.670
- (122) **Silverstone LM, Johnson NW, Hardie JM, Williams RA**, Dental Caries. Etiology, Pathology and Prevention. Mc. Millan, London, 1981
- (123) **Backer- Dirks O**, Post-eruptive changes in dental enamel. J dent Research 1966;45:S.503- 511
- (124) **ten Cate JM, Arends J**, Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. Caries Res 1977;11(5):S.277–86

- (125) **Bryant S, Retief DH, Bradley EL, Denys FR**, The effect of topical fluoride treatment on enamel fluoride uptake and the tensile bond strength of an orthodontic bonding resin. *Am J Orthod* 1985 Apr;87(4):S.294-302
- (126) **Van der Fehr FR, Loe H, Teilade E**, Experimental caries in man. *Caries Res* 1970;4(2):S.131-48
- (127) **Loe H, van der Fehr C, Schiott R**, Inhibition of experimental caries by plaque prevention. The effect of chlorhexidine mouthrinses. *Scand J dent Res* 1972;(80)1:S.1-9
- (128) **Sanderink RBA**, Curriculum orale Mikrobiologie und Immunologie. Quintessenz-Verlag, 1. Auflage, 2004
- (129) **Frank RM, Herdly J, Phillippe E**, Acquired Dental Defects and Salivary Gland Lesions after Irradiation for Carcinoma. *J Am Dent Assoc* 1965;70:S.868- 883
- (130) **Van Nieuw Amerongen A, Bolscher JG, Veerman EC**, Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res* 2004 May- Jun;38(3):S.247-53
- (131) **Dowd FJ**, Saliva and dental caries. *Dent Clin North Am* 1999 Oct;43(4):S.579- 97
- (132) **Kleinberg I, Chatterjee R, Castaldi CR, Chebib F**, Relations between plaque ash, calcium and phosphorus levels and dental caries (abstract). *IADR Progr & Abst* 48.1969
- (133) **Schamschula RG, Agus H, Bunzel M, Adkins BL, Barmes DE**, The concentration of selected major and trace minerals in human dental plaque. *Arch Oral Biol* 1977;22:S.321-325
- (134) **Shaw L, Murray JJ, Burchell CK, Best JS**, Calcium and phosphorus content of plaque and saliva in relation to dental caries. *Caries Res* 1983;17:S.543

- (135) **Dawes C, Jenkins GN**, Some inorganic constituents of dental plaque and their relationship to early calculus formation and caries. Arch Oral Biol 1962;7:S.161-172
- (136) **Tenouno J**, Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. Community Dent. Oral Epidemiol 1997 Feb;25(1):S.82-6
- (137) **Dawes C**, Inorganic constituents of saliva in relation to caries. In: Guggenheim B, Cariology Today. Karger,1984,S.70-74
- (138) **Pigmann W, Cueto R, Baugh D**, Conditions affecting the rehardening of softened enamel. J dent Res 1964 Nov-Dec;43:SUPPL:1187-95
- (139) **Wantanabe S, Dawes C**, A comparison of the effects of tasting and chewing foods on the flow rate of whole saliva in man. Arch Oral Biol 1988;33:S.761-764
- (140) **Turner RJ, Sugiyama H**, Understanding salivary fluid and protein secretion. Oral Dis. 2002;8:S.3-11
- (141) **Silverstone LM**, Remineralization of Human Enamel in vitro. Proc Roy Soc Med 1972 Oct;65(10):S.906-8
- (142) **Pigmann W, Cueto R, Baugh D**, Conditions affecting the rehardening of softened enamel. J dent Res 1964 Nov-Dec;43:SUPPL:1187-95
- (143) **Silverstone LM, Poole DFG**, The effect of saliva and calcifying solutions upon the histological appearance of enamel caries. Caries Res 1968;2:S.87- 96
- (144) **Schlesinger DH, Hay DI**, Complete covalent structure of statherin, a tyrosine-rich acidic peptide which inhibits calcium phosphate precipitation from human parotid saliva. J Biol Chem 1977;252:S.1689-1695
- (145) **Ten Cate, JM** in: Embergry G, Rølla G, Clinical and Biological Aspects of Dentifrices. Oxford medical Publications, 1992
- (146) **Moreno EC, Zahnradnik RT**, Demineralization and Remineralization of Dental Enamel. J Dent Res 1979;58:S.896

- (147) **Meyer- Lückel H, Kielbass AM**, Influence of calcium phosphates added to mucin- based saliva substitutes on bovine dentin. Quintessence Int. 2006 Jul- Aug;37(7):S.537-44
- (148) **Hara AT, Karlinsey RL, Zero DT**, Dentine remineralization by simulated saliva formulations with different Ca and P_i contents. Caries Res 2008;42(1):S.51-6
- (149) **McCann H, Brudevold F**, In: Environmental Variables. In: Kreshover SJ, McClure FJ, Oral Disease. Amer Ass Adv Sci 1966,S.103
- (150) **Meyer- Lueckel H, Tschoppe P, Kielbassa AM**, Linseed based saliva substitutes and their effect on mineral dissolution of predemineralized bovine dentin in vitro. J Dent 2006 Nov;34(10):S.751-6
- (151) **Schemenhorn BR, Orban JC, Wood G D, Fischer GM, Winston AE**, Remineralization by fluoride enhanced with calcium and Phosphate ingredients. J Clin Dent 1999; 10(1 Spec No):S.13-6
- (152) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.65
- (153) **Der Große Brockhaus**, Enzyklopädie in zwölf Bänden, 4. Band, 18. Auflage, F.A. Brockhaus, 1978, S.142
- (154) **Hellwig E, Klimek J, Attin T**, Einführung in die Zahnheilkunde., Elsevier und Urban-Fischer-Verlag, 4. Auflage, 2006,S.105
- (155) **Ekstrand J, Fejerskov O, Silverstone LM**, Fluoride in dentistry: Fluoride in the environment an intake in man. 1st ed. Munksgaard, 1988, S.13-27
- (156) **Mühlemann HR**, Fluoride und Zahngesundheit. Zyma- Blaes AG München 1974, S.5
- (157) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.78
- (158) **Isaac S, Brudevold F, Smith FA, Gardner DE**, The relation of fluoride in the drinking water to the distribution of fluoride in enamel. J dent Res 1958;37,S.318
- (159) **Hellwege KD**, Die Praxis der zahnmedizinischen Prophylaxe: Ein Leitfaden für die Individualprophylaxe, Gruppenprophylaxe und initiale Parodontaltherapie. Thieme-Verlag, 6. Auflage, 2003, S.148-149

- (160) **Lemke ChW, Doherty JM, Arra MC**, Controlled fluoridation: the dental effects of discontinuation in Antigo/ Wisconsin. J Amer Dent 1970;80:S.782
- (161) **Mühlemann HR**, Fluoride und Zahngesundheit. Zyma- Blaes AG München, 1974, S.5
- (162) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.65
- (163) **Rólla G, Bowen WH**, Surface adsorption of fluoride and ionic exchange reactions on hydroxyapatite. Acta Odontol Scand 1978;36:S.219- 224
- (164) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.61
- (165) **Shellis RP, Duckworth RM**, Studies on the cariostatic mechanisms of fluoride. Int Dent J 1992 Jun;44(3 Suppl 1):S.263- 73
- (166) **Featherstone JD**, Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. Community Dent Oral Epidemiol 1999 Feb;27(1):S.31- 40
- (167) **Ogaard B, Rólla G, Dijkman T, Ruben J, Arends J**, Effect of fluoride on caries lesion development in shark enamel: an in situ caries model study. Scand. J Dent Res 1991 Oct;99(5):S.372- 7
- (168) **Ekstrand J, Fejeskov o, Silverstone L**, Fluoride in Dentistry. Munsgaard, 1988, S. 119
- (169) **Koulourides T, Pigmann W**, Remineralization of dental enamel surface of human teeth by saliva in vitro. Ann NY Acad Sci 1965;(131):S.751- 757
- (170) **Johansen E**, Comparison of the ultrastructure and chemical composition of sound and caries enamel from human permanent teeth. In: Stack, Fearnhead; Tooth enamel, Wright and Sons, 1965, S.177-181
- (171) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.70 - 71
- (172) **Rólla G**, On the role of calcium fluoride in the cariostatic mechanism of fluoride. Acta Odontol Scand 1988;46:S.341- 345

- (173) **Cruz R, Øgaard B, Rølla G, Lagerlöf F**, Uptake of KOH- solution and KOH- insoluble fluoride in sound human enamel after topical application of a fluoride varnish (Duraphat) or a neutral 2% NaF solution in vitro. Scand J Dent Res 1992;100:S.154- 158
- (174) **Mühlemann HR**, Die kariesprophylaktische Wirkung der Aminfluoride. Quintess zahnärztliche Lit 1967, Heft 5-8, Referat Nr. 3192
- (175) **Gerould H**, Electron microscope study of mechanism of fluoride deposition in teeth. J Dent Res 1945;24:S.223-233
- (176) **Øgaard B**, CaF₂ Formation: Cariostatic Properties and Factors of Enhancing the Effect. Caries Res 2001;36(suppl 1):S40- 44
- (177) **Ten Cate JM**, Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. Eur J Oral Sci 1997 Oct;105(5 Pt2):S.461-5
- (178) **Roulet JF, Zimmer S**, Prophylaxe und Prävention. Thieme-Verlag, 2003, S. 56
- (179) **De Shazer D**, A hypothesis for the action of fluoride in reducing dental decay. Caries Res 1976;(10):S.390
- (180) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S. 68
- (181) **Larsen MJ, Jensen SJ**, Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. Arch Oral Biol 1994 Jan;39(1):S.23-7
- (182) **Duschner H, Götz H, Øgaard B**, Fluoride-induced precipitates on enamel surface and subsurface areas visualised by electron microscopy and confocal laser scanning microscopy. Eur J Oral Sci 1997 Oct;105(5Pt2):S.466-72
- (183) **Øgaard B**, CaF₂ Formation: Cariostatic Properties and Factors of Enhancing the Effect. Caries Res 2001;36(suppl 1):S.40-44
- (184) **Silverstone LM**, The effect of fluoride in the remineralization of enamel caries and caries- like lesions in vitro. J publ Hlth Dent 1982;42(1):S.42- 53

- (185) **Langerlöf F, Eckstrand J, Rølla G**, Effects of fluoride on the ionized calcium concentrations in saliva and saliva sediments. *Caries Res* 1986;20:151-2
- (186) **Knappwost A**, Spekulation und gesicherte Tatsachen über die physiologische Fluoridwirkung. In: *Kariesprophylaxe mit Fluorid*. Informationskreis Mundhygiene und Ernährungsverhalten, Frankfurt 1979, S. 23
- (187) **König KG**, *Karies und Parodontopathien*. Thieme-Verlag, 1987, S.70
- (188) **Saxegaard E, Rølla G**, Fluoride acquisition on and in human enamel during topical applicatio in vitro. *Scand J Dent Res* 1988;96:S.523- 535
- (189) **Christoffersen J, Christoffersen MR, Kibalcyc W, Perdok WG**, Kinetics of dessolution and growth of calcium fluoride and effects of phosphate. *Acta Odontol Scand* 1988;S.325- 336
- (190) **Larsen MJ, Jensen SJ**, Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arch Oral Biol* 1994;39:S.23-27
- (191) **Larsen MJ, Richards A**, The influence of saliva on the formation of calcium fluoride- like material on human dental enamel. *Caries Res* 2001;(35):S.57-60
- (192) **Matsuo S, Rølla G, Lagerlöf F**, Effect of fluoride addition on ionized calcium in salivary sediment and in saliva containing various amounts of solid calcium fluoride. *Scand J Dent Res* 1990;(98):S.482- 485
- (193) **Gängler, P, Hoffman T, Willershausen B, Schwenzer N, Ehrenfeld M**, *Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie*. Georg Thieme-Verlag, 2. Auflage, 2005, S.366
- (194) **Caslavska V, Gron P, Kent RL, Joshipura K, DePaola PF**, CaF₂ in enamel biopsies 6 weeks and 18 month after fluoride treatment. *Caries Res* 1991;25:S.21- 26

- (195) **Rólla G, Øgaard R**, Studies on the solubility of calcium fluoride in human saliva; in Leach SA (cd): Factors Relating to Demineralisation and Remineralisation of the Teeth. Oxford, Information Retrieval Limited, 1986, S.45- 50
- (196) **Cruz R, Øgaard B, Rólla G**, Uptake of KOH- soluble and KOH- insoluble fluoride in sound human enamel after topical application of fluoride varnish (Duraphat) or a neutral 2%NaF Solution in vitro. Scand J Dent Res 1992 Jun;100(3):S.154- 8
- (197) **Toumba KJ, Issa AI**, Oral fluoride retention in saliva following toothbrushing with child and adult dentifrices with and without water rinsing. Caries Res 2004 Jan- Feb;38 (1):S.15-9
- (198) **Dijkmann AG, Tak J; Arends J**, Comparison of fluoride uptake by human enamel from acidulated phosphate fluoride gels with different fluoride concentrations. Caries Res 1982;16:S.197
- (199) **Koulourides T, Cameron B**, Enamel remineralization as a factor in the pathogenesis of dental caries. J oral Path 1980;9:S.255
- (200) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S. 61-63
- (201) **Featherstone JDB, Ten Cate JM**, Physicochemical Aspects of Fluoride-Enamel Interactions. In: Ekstrand J, Fejerskov O, Silverstone LM, Fluoride in dentistry, Munsgaard, 1988, S.125- 149
- (202) **Hellwig E, Klimek J, Attin T**, Einführung in die Zahnerhaltung. Deutscher Ärzteverlag, 2009, S.130
- (203) **Hellwege KD**, Die Praxis der zahnmedizinischen Prophylaxe: Ein Leitfaden für die Individualprophylaxe, Gruppenprophylaxe und Initiale Parodontaltherapie. Thieme-Verlag, 2003, S.159
- (204) **Hellwege KD**, Die Praxis der zahnmedizinischen Prophylaxe: Ein Leitfaden für die Individualprophylaxe, Gruppenprophylaxe und Initiale Parodontaltherapie. Thieme-Verlag, 2003, S.159
- (205) **Purdell- Lewis D**, Stannous Fluoride, its Effect on Artificially Demineralized Enamel. Medizinische Dissertation, Groningen, 1977

- (206) **König KG**, Dental caries and plaque accumulation in rats treated with stannous fluoride and penicillin. *Helv Odont Acta* 3 (1959) 39. In: Tinanoff N, Hock J, Camosci D, Helldén L, The effect of stannous fluoride mouthrinse on dental plaque. *J clin Periodont* 1980;7:S.232
- (207) **Mazza JE, Newmann MG, Sims TN**, Clinical and antimicrobial effect of stannous fluoride on periodontitis. *J clin Periodont* 1981;8:S.203
- (208) **Mühlemann HR**, Die kariesprophylaktische Wirkung der Aminfluoride. *Quintess zahnärztl Lit* 1967, Heft 5-8, Referat Nr. 3192
- (209) **Mühlemann HR, Rossinsky K, Schait A**, Physikalisches, chemisches und mikromorphologisches Verhalten von Schmelz nach Behandlung mit anorganischen & Aminfluoriden. *Schweiz Mitschr Zahnheilk* 1967;77:S.230
- (210) **Weiland B, Netuschil L, Hoffmann T, Lorenz K**, Substantivity of amine fluoride following different modes of application: a randomized, investigator- blind, Placebo- controlled trial. *Acta Odontol Scand* 2008;66(5):S.307-13
- (211) **Roulet JF, Zimmer S**, Prophylaxe und Präventivzahnmedizin. Thieme-Verlag 2003, S.53-57
- (212) **Zimmer S**, Die Wirksamkeit verschiedener Fluorverbindungen in Zahnpasten. *Oralprophylaxe* 1996;(18):S.8-16
- (213) **Rosen S, Min DB, Harper DS, Harper WJ, Beck EX, Beck FM**, Effect of cheese with and without sucrose, on dental caries and recovering of streptococcus mutans in rats. *J dent Res* 1984;63:S.894-896
- (214) **Herod EL**, The effect of cheese on dental caries: a review of the literature. *Aust Dent J* 1991 Apr.;36(2):S.120-5
- (215) **Reynolds EC, Johnson IH**, Effect of milk on caries incidence and bacterial composition of dental plaque in the rat. *Arch Oral Biol* 1981;26:S.445-451
- (216) **Reynolds EC, Storey E**, A review of the effect of milk on dental caries. *The Australian Journal of Dairy Technology* 1979 December;S.175-180

- (217) **Kashket S, De Paola DP**, Cheese consumption and the development and progression of dental caries. *Nutr Rev* 2002 Apr;60(4):S.97-103
- (218) **Reynolds EC, Storey E**, A review on the effect of milk and dental caries. *Aust J Dairy Technol* 1979;(34):S.175-180
- (219) **Arnold WH, Cerman M, Neuhaus K, Gaengler P**, Volumetric assessment and quantitative element analysis of the effect of fluoridated milk on enamel demineralization. *Arch Oral Biol* 2003;(48):S.467-473
- (220) **Guggenheim B, Schmid R, Aeschlimann JM, Berrocal R, Neeser JR**, Powdered milk micellar casein prevents oral colonization by streptococcus sobrinus and dental caries in rats: a basis for the caries-protective effect of dairy products. *Caries Res* 1999;(33):S.446- 454
- (221) **Silva MF, Burgess RC, Sandham HJ, Jenkins GN**, Effect of water-soluble components of cheese on experimental caries in humans. *J Dent Res* 1987;66:S.38-41
- (222) **Grenby TH, Andrews AT, Mistry M, Williams RJ**, Dental caries - protective agents in milk and milk products: investigations in vitro. *J Dent* 2001;(29):S.83-92
- (223) **Krobicka A, Bowen WH, Pearson S, Young DA**, The effect of cheese snacks on caries in desalivated rats. *J Dent Res* 1987;66:S.1116- 1119
- (224) **Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH, Perich JW**, Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995;(74):S.1272- 1279
- (225) **Harper DS, Osborn JC, Hefferren JJ, Clayton R**, Cariostatic evaluation of cheeses with diverse physical and compositional characteristics. *Caries Res* 1986;20:S.123- 130
- (226) **Reynolds EC**, The prevention of sub- surface Demineralization of Bovine Enamel and change in Plaque Composition by Casein in an intra- oral Model. *J Dent Res* 1987;66:S.1120

- (227) **Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC**, Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res* 2004 Nov-Dec;38(6):S.551-6
- (228) **Söder PO, Frostell G**, Proteolytic Activity of Dental Plaque Material. I. Action of Dental Plaque Material on Azocoll, Casein and Gelatin. *Acta Odontol Scand* 1966;24:S.501-515
- (229) **Mäkinen KK**, Studies on Oral Enzymes. III. Fractionation of Enzymes in Human Dental Plaque Hydrolysing Denatured Hemoglobin. *Acta Odontol Scand* 1966;(24):S.605-617
- (230) **Reynolds EC, Black CL**, The reduction of chocolate's cariogenicity by supplementation with sodium caseinate. *Caries Res* 1987;21:S.445-451
- (231) **Neuhaus KW, Lussi A**, Casein Phosphopeptid- Amorphes Calciumphosphat und seine Wirkung auf die Zahnhartsubstanz. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2009;119:S.110-116
- (232) **Reynolds EC, Riley PF, Storey E**, Phosphoprotein inhibition of hydroxyapatite dissolution. *Calcif Tissue Int* 1982;34 Suppl 2:S.52- 56
- (233) **Rose D**, A Proposed Model of Micelle Structure in Bovine Milk. *Dairy Sci Abstr* 1969;31:S.171-175
- (234) **Boulet M, Yang A, Riel RR**, Examination of the Mineral Composition of the Micelles of Milk by Gel Filtration, *Can J Biochem* 1970;48:S.816-822
- (235) **Cross KJ, Huq NL, Palmara JE, Perich JW, Reynolds EC**, Physicochemical characterization of casein phosphopeptide- amorphous calcium phosphate nanocomplexes. *J Biol Chem* 2005;280(15):15 362-9
- (236) **Ametani A, Kaminogawa S, Shimizu M, Yamauchi K**, Rapid screening of antigenically reactive fragments of alpha s1- casein using HPLC and ELISA. *J Biochem* 1987;102:S.421- 425
- (237) **Neuhaus KW, Lussi A**, Casein Phosphopeptid- Amorphes Calciumphosphat und seine Wirkung auf die Zahnhartsubstanz. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2009;(119):S.110- 116

- (238) **Reeves RE, Latour NG**, Calcium phosphate sequestering phosphopeptide from casein. *Science* 1958;128:S.472
- (239) **Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH et al**, Anticariogenicity of tryptic casein and synthetic-phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995;(74):S.1272-1279
- (240) **Reynolds EC**, Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 1998;18(1):S.8-16
- (241) **Huq NL, Cross KJ, Reynolds EC**, Molecular modelling of the multiphosphorylated casein phosphopeptide alphaS1-casein (59-79) based on NMR constraints. *J Dairy Res* 2004;71(1):S.28-32
- (242) **Reynolds EC**, Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 1998;(18):S.8-16
- (243) **Reynolds EC**, The University of Melbourne and The Victorian Dairy Industry Authority, assignees. Anticariogenic phosphopeptides. US patent 5 015 628, 1999 May 14
- (244) **Reynolds EC**, Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide- stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997 Sept;76(9):S.1587- 1595
- (245) **Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH**, Anticariogenicity of tryptic casein and synthetic-phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995;74:S.1272-1279
- (246) **Greenby TH, Andrews AT, Mistry M, Williams RJ**, Dental caries- protective agents in milk and milk products: investigations in vitro. *J Dent* 2001;(29):S.83-92
- (247) **Azarpazhooh A, Limeback H**, Clinical efficiency of casein derivatives. A systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc* 2008 Jul;139(7):S.915-24

- (248) Bánóczy J, Zimmermann P, Pinter A, Hadas E, Bruszt V**, Effect of fluoridated milk on caries: five year results. *J R Soc Health* 1985;105:S.99-103
- (249) Stephen KW, Boyle LT, Campbell D, McNee S, Boyle P**, Five- Year double- blind fluoridated milk study in Scotland. *Community Dent Oral Epidemiol*1984;12:S.223-229
- (250) Pratten J, Bedi R, Wilson M**, An in vitro study of the effect of fluoridated Milk on oral bacterial biofilms. *Applied and environmental Microbiology*, Apr. 2000;S.1720-1723
- (251) Minah GE, Lovekin GB, Finney JP**, Sucrose- induces ecological response of experimental dental plaques from caries- free and caries- susceptibal human volonteers. *Infect Immun* 1981;34:S.662-675
- (252) Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC**, Enamel subsurface lesion remineralization with casein phosphopeptide stabilizes solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res* 2008;(42):S.88-97
- (253) Reynolds EC**, Anticariogenic phosphopeptides patent 5 015 628. In the University of Melbourne 1991(Victorian Dairy Industry Authority, Australia)
- (254) Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD**, Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar- free chewing gum. *J Dent Res* 2003;(74):S.1272-1279
- (255) Office of Premarket Approval for Food Safety and Applied Nutrition**, Agency response letter GRAS notis na U.S. Food and Drug Administration 1999´www.webcitation.org 15sfNOwiXWG.´ Accessed June 9, 2008
- (256) New Zealand Herald**, Defence Force fighting tooth decay. Auckland, July 17, 2007

- (257) **Azorpazhooh A, Limeback H**, Clinical efficiency of casein derivatives. A systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc* 2008;(139):S.915-924
- (258) **Neuhaus KW, Lussi A**, Casein Phosphopeptid- Amorphes Calciumphosphat und seine Wirkung auf die Zahnhartsubstanz. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2009;(119):S.110- 116
- (259) **Rankine CAN, Prihoda TJ, Etzel KR, Labadie D**, Plaque Fluid pH, Calcium and phosphorus responses to calcium food Additives in a chewable candy. *Arch oral Biol* 1989;34,No.10:S.821-824
- (260) **Harris RS, Nizel AE**, Metabolic significance of the ratio of calcium to phosphorus in food and diets. *J Dent Res* 1964 Nov - Dec; 43:Suppl:S.1090-7
- (261) **Richardson AS, Hole LN, Mc Combie F, Kolthammer J**, Anticariogenic effect of dicalciumphosphate dehydrate chewing gum: results after two years. *J Can Dent Assoc (Tor)* 1972;38(6):S.213-218
- (262) **Chow LC, Takagi S, Shern RJ, Cow TH, Takagi KK, Sieck BA**, Effects on whole saliva of chewing gums containing calcium phosphates. *J Dent Res* 1994;73(1):S.26-32
- (263) **Harris RS, Abraham E, Nizel E, Walsh NB**, The effect of phosphate structure on dental caries development in rats. *J Dent Res* 1967;46:S.290
- (264) **Rankine C, Margolis HC, Moreno EC, Vogel GL**, Microanalytical determination of pH, calcium and phosphate in Plaque fluid. *J dent Res* 1985;64:S.1275-1280
- (265) **Edgar WM, Bowen WH, Cole MF**, Development of rampant dental caries and composition of plaque fluid and saliva in irradiate primates. *J oral Path* 1981;10:S.284-295
- (266) **Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A**, Effects of sucking acidic candy on whole- mouth Saliva composition. *Caries Res* 2005;39:S.468- 474

- (267) **Gray JA**, Kinetics in the dissolution of human dental enamel in acid. *J Dent Res* 1962;41:S.633-645
- (268) **Jensdottir T, Bardow A, Holbrook P**, Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro. *J Dent* 2005a;33:S.569-575
- (269) **Meurmann JH, Frank RM**, Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res* 1991;25:S.1-6
- (270) **Jensdottir T, Holbrook WP, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A**, Immediate erosive potential of cola drinks and orange juice. *J Dent Res* 2006;85:S.226-230
- (271) **Schmidt-Nielsen B**, The solubility of tooth substance in relation to the composition of saliva. *Acta Odontol Scand* 1946;7:S.1-86
- (272) **Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A**, Effects of calcium on the erosive potential of acidic candies in saliva. *Caries Res* 2007;41:S.68-73
- (273) **Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A**, Effects of calcium on the erosive potential of acidic candies in saliva. *Caries Res* 2007;41:S.68-73
- (274) **Yamazaki H, Margolis HC**, Enhanced Enamel Remineralization under Acidic Conditions in vitro. *J Dent Res* 2008;87(6):S.569-574
- (275) **Flaitz CM, Hicks MJ**, Remineralization of caries-like lesions of enamel with acidulated calcifying fluids: a polarized light microscopic study. *Pediatr Dent* 1996;18:S.205-209
- (276) **Flaitz CM, Hicks MJ**, Role of the acid-etch technique in remineralization of caries-like lesions of enamel: a polarized light and scanning electron microscopic study. *ASDC J Dent Child* 1994;61:S.21-28
- (277) **Al-Khateeb S, Exterkate R, Angmar-Mansson B, Ten Cate JM**, Effect of acid-etching on remineralization of enamel white spot lesions. *Acta Odontol Scand* 2000;58:S.31-36

- (278) **Featherstone JDB, Rodgers BE, Smith MW**, Physicochemical requirements for rapid remineralization of early carious lesions. *Caries Res* 1981;15:S.221-235
- (279) **Wiedemann W**, Vergleichende klinische Untersuchungen über den Einfluss einer kalziumhaltigen Salzhydratschmelze in Fruchtgummis auf die Remineralisation von porösem Zahnschmelz.
- (280) **ten Cate JM**, A model for enamel lesion remineralization. In: *Demineralisation and remineralization of the teeth*. SA Leach and WM Edgars eds. IRL. Press, Oxford, 1983
- (281) **ten Cate JM, Duijsters PP**, Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982;16:S.201-10
- (282) **Peters J**, Strukturuntersuchungen an Cellulose und Cellulosederivaten aus ionischen Lösemitteln. Dissertation Freiburg, 2004
- (283) **Wiedemann W**, Vergleichende klinische Untersuchungen über den Einfluss einer kalziumhaltigen Salzhydratschmelze in Fruchtgummis auf die Remineralisation von porösem Zahnschmelz.
- (284) **Ten Cate JM**, Remineralization of enamel lesions. A study of the physiochemical mechanism. Naturwissenschaftliche Dissertation Groningen, 1979
- (285) **Ten Cate JM, Ahrends J**, Alternating demineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982;16:S.201-210
- (286) **Ten Cate JM, Duijsters PPE**, Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982;16:S.201
- (287) **Jahns R**, Einfluss der pH- Anstiege auf die Effizienz der Remineralisation initialer Karies bei Anwendung einer fluoridierten REM- Lösung. Medizinische Dissertation Würzburg, 1991
- (288) **Klinger HG, Redelberger Th, Wiedemann W**, Zerstörungsfreie Bestimmung des Mineralgehalts, radiooptische Methode. 1988. unveröffentlicht

- (289) **Klinger HG**, Untersuchungen zur De- und Remineralisation von Zahnschmelz. Habilitationsschrift, 1988
- (290) **Klinger HG, Redelberger TH, Wiedemann W**, Zerstörungsfreie Bestimmung des Mineralgehalts, radiooptische Methode, 1988
- (291) **Klinger HG, Redelberger TH, Wiedemann W**, Quantitative Ganzzahnradiographie, eine Präzisionsmethode zur Bestimmung des Mineralgehalts von Zähnen. Arbeitsbericht, DFG, Akt. Z. KI 443-1-2
- (292) **Klinger HG, Wiedemann W**, A method for radiographic longitudinal study of mineral content during in vitro demineralization and remineralization of human tooth enamel. Arch Oral Biol 1985;30(4):S.373-5
- (293) **Silverstone LM**, Remineralization of Human Enamel in vitro. Proc Roy Soc Med 1972 Oct;65(10):S.906-8
- (294) **Peters J**, Strukturuntersuchungen an Cellulose und Cellulosederivaten aus ionischen Lösungsmitteln. Dissertation Freiburg, 2004
- (295) **Fischer S**, Anorganische Salzhydratschmelzen– ein unkonventionelles Löse- und Reaktionsmedium für Cellulose. Habilitationsschrift Freiburg, 2003
- (296) **Van der Hoeven JS, de Jong MH**: De microbiologie van de mond. NIB, Zeist 1986
- (297) **Van Nieuw Amerongen A, Bolscher JG, Veerman EC**, Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? Caries Res 2004 May- Jun;38(3):S.247-53
- (298) **Dowd FJ**, Saliva and dental caries. Dent Clin North Am 1999 Oct;43(4):S.579-97
- (299) **Zahnradnik RT, Moreno EC, Burke EJ**, effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. J dent Res 1976;(55):S.665
- (300) **Juriaanse AC, Booji M, Arends J, ten Bosch JJ**, The adsorption in vitro of purified salivary proteins on bovine dental enamel. Arch Oral Biol 1981;26:S.91

- (301) **Hay DI, Moreno EC**, Macromolecular inhibitors of calcium phosphate precipitation in human saliva; their roles in providing a protective environment for the teeth. In: Kleinberg I, Elison SA, Mandel ID, Saliva and Dental Caries. Microbiology Abstracts, spec Suppl IRL Press 1979;S.45
- (302) **König KG**, Karies und Parodontopathien. Thieme-Verlag, 1987, S.65
- (303) **Dawes C, Kubieniec K**, The effects of prolonged gum chewing on salivary flow rate and composition. Arch oral Biol 2004 Jun;70(6):S.397-400
- (304) **Becks H, Wainwright WW**, Human Saliva. J dent Res 1941;20:S.627-637
- (305) **Pigmann W, Cueto R, Baugh D**, Conditions affecting the rehardening of softened enamel. J dent Res 1964 Nov-Dec;43:SUPPL:S.1187-95
- (306) **Johansen E**, Comparison of the ultrastructure and chemical composition of sound and caries enamel from human permanent teeth. In: Stack, Fearnhead; Tooth enamel, Wright and Sons. 1965;S.177-181
- (307) **Ingram GS, Silverstone LM**, A chemical and histological study of artificial caries in human dental enamel in vitro. Caries Res 1981;15(5):S.393-8
- (308) **Gängler P, Arnold W**, Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. Thieme- Verlag, 2. Auflage, 2005, S.35
- (309) **Hara AT, Karlinsey RL, Zero DT**, Dentine remineralization by simulated saliva formulations with different Ca and P_i contents. Caries Res 2008;42(1):S.51-6
- (310) **Jahns R**, Einfluss der pH- Anstiege auf die Effizienz der Remineralisation initialer Karies bei Anwendung einer fluoridierten REM- Lösung. Medizinische Dissertation, Würzburg, 1991
- (311) **Silverstone LM**, Remineralization of Human Enamel in vitro. Proc Roy Soc Med 1972 Oct;65(10):S.906-8
- (312) **De Shazer D**, A hypothesis for the action of fluoride in reducing dental decay. Caries Res 1976;(10):S.390

- (313) Knappwost A**, Spekulation und gesicherte Tatsachen über die physiologische Fluorwirkung. In: Kariesprophylaxe mit Fluorid. Informationskreis Mundhygiene und Ernährungsverhalten, Frankfurt, 1979, S.23
- (314) Mühlemann HR, Rossinsky K, Schait A**, Physikalisches, chemisches und mikro-morphologisches Verhalten von Schmelz nach Behandlung mit anorganischen & Aminfluoriden. Schweiz Mitschr Zahnheilk 1967;(77):S.230
- (315) Jensdottir T, Bardow A, Holbrook P**, Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro. J Dent 2005 a; 33:S.569-575
- (316) McCann H, Brudevold F**, In: Environmental Variables in Oral Disease. Ed. Kreshover SJ, McClure FJ, Amer Ass Adv Sci, Washington DC, 1966, S.103
- (317) De Shazer D**, A hypothesis for the action of fluoride in reducing dental decay. Caries Res 1976;(10):S.390
- (318) Roulet JF, Zimmer S**, Prophylaxe und Prävention. Thieme-Verlag, 2003, S. 56
- (319) Klimek J**, Speichel und Mundgesundheit, Skript für Studenten zur Examensvorbereitung
- (320) Silverstone LM**, The effect of fluoride in the remineralization of enamel caries and caries-like lesions in vitro. J publ Hlth Dent 1982;42(1):S.42-53
- (321) Meyer-Lückel H, Kielbassa AM**, Influence of calcium phosphates added to mucin- based saliva substitutes on bovine dentin. Quintessence Int 2006 Jul- Aug;37(7):S.537- 44

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Prof. Dr. W. Wiedemann für seinen unermüdlichen Einsatz und die immer zuverlässige Betreuung meiner Doktorarbeit. Ihre ansteckende Begeisterungsfähigkeit hat uns Doktoranden immer wieder motiviert. Sie haben mir nicht nur fachliche, sondern auch menschliche Werte vermittelt, die mich mein Leben lang begleiten werden.

Ich bedanke mich auch bei Helga Diettrich. Ihre aufmunternden Worte, ihre eifrige Unterstützung und ihr wunderbarer Humor werden mir noch lange in Erinnerung bleiben.

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. Holste für die Übernahme des Korreferats.

Mein besonderer Dank gilt auch Dr. Imme Haubitz für deren tatkräftige Unterstützung bei der statistischen Auswertung. Danke für Ihre unendliche Geduld und dafür, dass Sie immer den Durchblick behalten haben.

Ich bedanke mich bei Nicole Dörr, die mich nicht nur in allen Lebenslagen meiner Studienzeit begleitet hat, sondern mich auch während der Arbeit im Labor stets motivierte und mir immer eine gute Freundin war. Ich hoffe, wir werden uns nie aus den Augen verlieren.

Ich danke meiner ganzen Familie und meinem Freund für deren immer-währende Unterstützung und Lebensfreude, die mich immer wieder inspiriert und motiviert haben. Besonders danke ich meinen Eltern für die unzähligen Stunden des Korrekturlesens und dafür, dass sie mir den Rücken frei gehalten und immer an mich geglaubt haben. Wie schön, dass es euch gibt!

Lebenslauf

Geburtsdatum: 20.09.1983
Geburtsort: Dernbach
Eltern: Andrea Stockschläder, geb. Schräder,
Peter Stockschläder
Geschwister: Dr. med. Danielle Hagelauer, geb. Stockschläder,
*16.10.1980
Julian Stockschläder, *03.10.1987
Leonie Stockschläder, *06.09.1997
Louisa-Marie Stockschläder, *07.05.1999
Nationalität: deutsch
Religion: römisch katholisch

Schulbildung:

1990-1994: Theodor Heuss Grundschule Wirges
1994-1997: Mons-Tabor-Gymnasium Montabaur
1997-2000: Main-Taunus-Schule Hofheim
2000-2003: Mons-Tabor-Gymnasium Montabaur

Studium:

WS 2003 Beginn des Zahnmedizinstudiums an der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
SS 2004 Naturwissenschaftliche Vorprüfung
WS 2008/09 Zahnärztliche Prüfung

Berufliche Tätigkeit:

März 2009 Vorbereitungsassistentin in Darmstadt

**Natalie Stockschläder,
Februar 2010**