

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Komm. Direktor: Prof. Dr. Stefan Zimmer

Untersuchungen zur Hemmung
der Demineralisation von humanem Dentin
durch 5000 ppm Fluorid in situ

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Zahnmedizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von
Mai-Trinh Winterfeld

2009

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf, Dekan

Referent: Univ.-Prof. Dr. Zimmer

Koreferent: Univ.-Prof. Dr. Stüttgen

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Dentin	3
2.1.1	Chemische Zusammensetzung des Dentins	3
2.1.2	Histologie des Dentins	4
2.1.3	Morphologische Beschreibung des Dentins	6
2.2	Karies	7
2.2.1	Definition der Karies	7
2.2.2	Kariesätiologie	7
2.2.3	Wurzelkaries	9
2.2.3.1	Definition	9
2.2.3.2	Epidemiologie	9
2.2.3.3	Ätiologie und Lokalisation	10
2.2.3.4	Klassifikation der Wurzelkaries	11
2.2.3.5	Progression der Wurzelkaries im Zement	13
2.2.4	Läsionen im Dentin	15
2.2.4.1	Demineralisierung des Dentins	15
2.2.4.2	Abbau organischer Matrix	15
2.2.4.3	Histologie der Dentinkaries	17
2.2.4.4	Mikroflora der Wurzelkaries	18
2.3	Prophylaxe und Therapie der Wurzelkaries	20
2.3.1	Chlorhexidin	20
2.3.1.1	Allgemein	20
2.3.1.2	Wirkungsmechanismus	21
2.3.2	Fluoride	22
2.3.2.1	Allgemein	22
2.3.2.2	Wirkungsmechanismus des Fluorids	24
2.3.2.3	Hemmung der Demineralisation	24

2.3.2.4	Förderung der Remineralisierung	26
2.3.2.5	Bedeutung von Fluorid in Bezug auf Wurzelkaries	26
2.3.2.6	Wirkung auf kariogene Mikroorganismen	28
2.3.3	Invasive Behandlung von Wurzelkaries	29
3	Ziel der Studie	31
4	Material und Methode	32
4.1	Untersuchte Fluoridprodukte	32
4.2	Vorbereitende Maßnahmen	33
4.3	Versuchsplanung	33
4.4	Probandengut	34
4.5	Gewinnung der Dentinproben	34
4.6	Vorbereitung der Dentinproben vor der Insertion	36
4.7	Herstellung der intraoralen Unterkiefer-Apparatur	37
4.8	Durchführung der <i>In-situ</i> -Studie	40
4.9	Anfertigung der TMR-Proben	42
4.10	Auswertung der Dentinproben	44
5	Ergebnisse	47
5.1	Versuchsablauf	47
5.2	Mineralverlust	48
5.3	Läsionstiefe	51
6	Diskussion	53
6.1	Material und Methode	53
6.1.1	Dentinproben	53
6.1.2	Erzeugung kariöser Läsionen	56
6.1.3	Trageanweisung	58
6.1.4	Probandengut	59
6.1.5	Methoden zur Auswertung des Mineralverlustes	60
6.1.6	TMR = Transversale Mikroradiographie	61

6.2	Ergebnisse	62
6.3	Zusammenfassung	68
6.4	Summary	69
6.5	Ausblick	70
	Literaturverzeichnis	70
	A TMR Messwerte	90
	B Materialliste	93
	C Danksagung	95
	D Lebenslauf	96
	E Abstract	97

1 Einleitung

Die Karies auf freiliegenden Wurzeloberflächen steigt bei Erwachsenen und Senioren stetig an [26]. Bezogen auf die Ergebnisse der vierten Mundgesundheitsstudie weisen mittlerweile 25,1% der Erwachsenen im Alter von 35 - 44 Jahren und sogar 45,0% der Senioren im Alter von 65 - 74 Jahren mindestens einen Zahn mit Wurzelkaries oder mit bereits versorgter Wurzelkaries auf [119]. Damit stieg die Wurzelkariesrate im Vergleich zu 1997 bei den Erwachsenen um 9,7 Prozentpunkte und bei den Senioren um 29,5 Prozentpunkte an. Die Wurzelkaries stellt demnach eine der häufigsten Erkrankungen im Mund älterer Menschen dar. Die Gründe hierfür liegen zum einen im zunehmenden Alter der Bevölkerung und zum anderen im verlängerten Zahnerhalt bis ins fortgeschrittene Alter. Physiologische sowie traumatisch bedingte Atrophievorgänge von epithelalem und knöchernem Bindegewebe exponieren mit steigendem Lebensalter Wurzeloberflächen der Mundhöhle. Eine bakterielle Besiedlung initiiert so kariöse Läsionen, die bei weiterem Fortschreiten einer invasiven Therapie bedürfen. Die Restaurationen von Wurzelkariesläsionen unterhalb der Schmelz-Zement-Grenze führen aufgrund der meist schwierigen Zugänglichkeit und der GlucoseSicht nur zu einem unbefriedigenden Ergebnis. Die steigende Prävalenz der Wurzelkaries, ihre schwierige Versorgung und die meist unzufriedenstellenden konservierenden Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung einer effektiven Prävention gerade im Alter. Lokal applizierte Fluoride gelten in diesem Zusammenhang als die bedeutendste Säule der Kariesprävention. Sie stellen in Form von fluoridhaltigen Zahnpasten die wichtigste Fluo-

ridquelle dar [130]. Während Fluorid in der Prophylaxe von Schmelzkaries schon lange etabliert ist und die Fluorid-Schmelz-Wechselwirkung sehr gut untersucht ist, existieren über die Fluorid-Dentin-Wechselwirkung und ihre Dosis-Wirkungs-Beziehung im Bezug auf die Prophylaxe von Wurzelentkaries bislang noch wenige Studien.

Ziel dieser Studie war es, die demineralisationshemmende Wirkung einer hoch fluoridhaltigen Zahnpasta mit einer Fluoridkonzentration von 5000 ppm auf humanes Dentin *in situ* zu untersuchen.

2 Literaturübersicht

2.1 Dentin

Dentin (Substantia eburnea) bildet die Hauptmasse des Zahnes. Es handelt sich hierbei um ein knochenähnliches, mineralisiertes Gewebe, welches koronal von Schmelz und apikal von Zement bedeckt wird und nach innen die Pulpa umgibt. Im Gegensatz zu Schmelz, ist Dentin als ein physiologisch aktives, zu defensiven und regenerativen Prozessen befähigtes Gewebe anzusehen [149, 70].

2.1.1 Chemische Zusammensetzung des Dentins

Chemisch setzt sich Dentin zu 70 Gew.-% aus anorganischem Material zusammen, das wie im Schmelz vorwiegend in Form von Calciumhydroxylapatitkristallen vorliegt. Diese sind mit einer Länge von 20 - 40 nm, einer Breite von 18 nm und einer Dicke von fünf nm wesentlich kleiner als im Schmelz [70]. Die Dicke der Kristallite bleibt innerhalb des gesamten Dentins relativ konstant, während die Kristallformen ortsabhängigen Änderungen unterworfen sind. In der Nähe der Pulpa weisen sie nadelartige und in der Peripherie Richtung Schmelz-Dentin-Grenze eher tellerartige Formen auf [96]. Ihre Anordnung erfolgt inter- sowie intrafibrillär im Verlauf kollagener Fasern [82].

Der Anteil organischer Matrix am Dentin beträgt 20 Gew.-%, wovon 92% in Form von Kollagen, überwiegend Kollagen Typ I, vorliegen. Kollagen Typ I zeichnet sich durch einen hohen Anteil spezifischer Pyridinolin-Quervernetzungen aus, die die außerordentliche Stabilität des Kollagens bedingen. Während Mineralisationsprozessen fungiert das Kollagen als eine Art Grundgerüst, auf dem die Ablagerung von Kristalliten ermöglicht wird [37]. Acht bis neun Prozent der organischen Substanz besteht aus nicht-kollagener Grundsubstanz wie Proteoglykanen, Lipiden, Phosphoproteinen und Carboxyglutamat enthaltenden Proteinen. Der restliche Anteil des Dentins besteht mit zehn Gewichtsprozent aus Wasser [149].

2.1.2 Histologie des Dentins

Das gesamte Dentin wird von sogenannten Dentintubuli durchsetzt. Es handelt sich hierbei um kanalartige Strukturen, die Raumforderungen der Odontoblasten samt ihrer Fortsätze darstellen und so in Durchmesser und Dichte den Odontoblasten und ihren zytoplasmatischen Fortsätzen entsprechen. Die Anzahl der Dentinkanäle beträgt an der Pulpa-Dentin-Grenze etwa 45.000/mm² und sinkt an der Schmelz-Dentin-Grenze auf ca. 15.000/mm². Im Bereich des Kronendentins weisen die Dentinkanäle einen eher S-förmigen und im Wurzel-dentin einen eher geradlinigen Verlauf auf. Innerhalb des Wurzel-dentins weist der koronale Anteil verglichen mit dem mittleren apikalen Anteil eine signifikant höhere Anzahl an Dentintubuli auf [112]. Das gesamte Dentin wird von Odontoblasten gebildet. Es handelt sich hierbei um Bindegewebszellen, die sich aus dem Mesenchym der Zahnpapille differenzieren.

Die Anordnung, der nach der Differenzierung nicht mehr teilungsfähigen hochprismatischen Odontoblasten, erfolgt in einer mehrreihigen Schicht direkt an der inneren Dentinoberfläche an der Grenze zur Pulpa. Von dort aus entsenden sie ihre Fortsätze unterschiedlicher Anzahl und unterschiedlichen Durchmessers in die Peripherie bis an die Schmelz-Dentin- bzw. Dentin-Zement-Grenze. Die Odontoblasten bilden samt Fortsätzen ein komplexes System, das die Versorgung des Dentins zeitlebens gewährleistet [149]. Dabei steigt die Anzahl ihrer Verzweigungen mit Abnahme der Tubulidichte an. Während in Richtung Schmelz-Dentin- und Zement-Dentin-Grenze überwiegend Hauptverzweigungen eines Durchmessers von 0,5 - 1,0 μm beobachtet werden, deren Endäste Y-förmig in der Peripherie enden, treten in Bereichen geringer Tubulidichte wie in der Wurzel überwiegend feine Verzweigungen in einem Winkel von etwa 45° und einem Durchmesser von 300 - 700 nm auf. Sie strahlen in das intertubuläre Dentin und anastomosieren mit Ästen gegenüberliegender Tubuli. Mikroverzweigungen, die sich in einem Winkel von 90° mit einem Durchmesser von 25 - 200 nm von den Tubuli abzweigen, lassen sich im gesamten intertubulären Dentin finden. Sie anastomosieren ebenfalls mit benachbarten Mikroverzweigungen [121]. Die Dentintubuli werden innen durch Kollagenfasern ausgekleidet, deren Durchmesser ca. 50 - 150 nm beträgt. Diese Fasern ordnen sich in kompakten Bündeln parallel zur Längsachse der Kanäle an [2]. Die innere Wand der Dentinkanälchen wird von peritubulärem Dentin ausgekleidet. Es handelt sich dabei um ein sehr dichtes und stark mineralisiertes Gewebe, das das am stärksten mineralisierte Gewebe innerhalb des gesamten Dentins darstellt. Mit zunehmendem Alter, aber auch im Rahmen von Abwehrreaktionen, kann sich das peritubuläre Dentin verdicken, wodurch sich das freie Lumen der Kanälchen, ähnlich den Prozessen in

der Pulpa verengt. Nervenfasern lassen sich nur in einzelnen Tubuli des Prädentins nachweisen. Zwischen den Dentinkanälchen befindet sich das im Vergleich zum peritubulären Dentin inhomogenere intertubuläre Dentin. Es ist weniger dicht mineralisiert und setzt sich zu 50% aus kollagenen Fasern zusammen [70]. Im Bereich des Manteldentins wird das intertubuläre Dentin von Aufzweigungen der Odontoblastenfortsätze durchzogen [96]. Als Globulardentin bezeichnet man die kugelförmigen Mineralisationszonen im Dentin.

Als Primärdentin wird Dentin bezeichnet, das bis zum Abschluss der Wurzelbildung gebildet wird. Sekundärdentin bezeichnet reguläres, nach Abschluss der Wurzelbildung gebildetes Dentin. Tertiärdentin hingegen ist ein auf Reize gebildetes Dentin [149].

2.1.3 Morphologische Beschreibung des Dentins

Der Aufbau des Dentins kann in einem Querschnitt in vier verschiedene Schichten eingeteilt werden. Von der Peripherie in Richtung Pulpa befindet sich an der Grenze zum Schmelz zunächst das Manteldentin in einer Dicke von zehn bis 30 Mikrometer. Das darauf folgende zirkumpulpale Dentin bildet den Hauptanteil des Dentins und entsteht zeitlich nach dem Manteldentin. Darauf folgt die Schicht des Zwischendentins mit der Mineralisationsfront und an der Grenze zur Pulpa nicht vollständig mineralisiertes Prädentin [149].

2.2 Karies

2.2.1 Definition der Karies

„Zahnkaries ist ein lokalisierter pathologischer Vorgang (Krankheit) bakteriellen Ursprungs, der mit einem fortschreitenden Verfall (Demineralisierung) der Zahnhartsubstanzen einhergeht und schließlich zur Bildung einer Kavität führt“ [12, 49]. Sie zählt neben den Parodontalerkrankungen zu den häufigsten Erkrankungen des Menschen [63]. Die Karies befällt alle Zahnhartsubstanzen wie Schmelz (Schmelzkaries), Kronendentin (Dentinkaries) und Wurzeldentin (Wurzelkaries).

2.2.2 Kariesätiologie

Miller stellte 1889 erstmals seine noch bis heute weitgehend gültige Theorie zur Kariesentstehung vor. Die Karies wird darin als chemisch-parasitärer Vorgang angesehen, der aus zwei deutlich ausgeprägten Stadien der Entkalkung bzw. Erweichung des Gewebes und der Auflösung des erweichten Rückstandes besteht. Demnach stellen Demineralisationsprozesse im Hydroxylapatit der Zahnhartsubstanz und Proteolyse ihrer organischen Bestandteile das pathogenetische Grundprinzip der Karies dar. Auf der Grundlage dieser Theorie entwickelte Keyes die moderne Karietriade, in der er drei unabdingbare Faktoren zur Kariesentstehung definierte: Zahn, Substrat und Mikroorganismen [93]. König ergänzte später diese Triade um den vierten wichtigen Faktor Zeit [98]. Die Karies wird demnach

als multifaktorielle Erkrankung angesehen, deren Entstehung an das gleichzeitige Vorhandensein dieser vier Faktoren gebunden ist. Das Fehlen eines Faktors führt zum Ausbleiben der Karies. Die Besiedlung der Zahnoberfläche mit Mikroorganismen, allen voran *Mutans Streptokokken* und *Lactobacillen*, bildet den Ausgangspunkt der Kariesentstehung. Diese bilden und sezernieren bei einem Überangebot an vergärbaren Kohlenhydraten als Nebenprodukt große Mengen an organischen Säuren, insbesondere Milchsäure [105]. Milchsäure hat einen für organische Säuren geringen pKs-Wert und setzt daher im Verhältnis mehr Oxonium-Ionen (H_3O^+) frei. Die Freisetzung der Oxonium-Ionen bedeutet eine Senkung des lokalen pH-Wertes [53]. Längere Phasen bei lokal saurem Milieu führen bei Erreichen sowie Unterschreiten des kritischen pH-Wertes von 5,5 - 5,7 für Schmelz und 6,0 - 6,8 für Wurzelentin zu einer Verschiebung der dynamischen Prozesse der De- und Remineralisation in Richtung der Demineralisation. In Folge dessen kommt es durch Herauslösen von Calcium und Phosphat aus dem interkristallinen Raum zu Entmineralisierungsprozessen im Hydroxylapatit der Zahnhartsubstanz [3]. Das saure Milieu stellt für *Mutans Streptokokken* aufgrund ihres ausgeprägten azidurischen Charakters einen klaren Selektionsvorteil dar. Sie sind auch unter sauren Bedingungen fähig, ihren Stoffwechsel aufrecht zu erhalten und Säuren entgegen des Konzentrationsgradienten aktiv aus der Zelle zu schleusen. [70, 144]. Die anhaltende Demineralisierung bei beständiger Plaquebesiedlung der Zahnoberfläche resultiert schließlich in einem irreversiblen Zahnhartsubstanzverlust mit Ausbildung einer Kavität.

2.2.3 Wurzelkaries

2.2.3.1 Definition

Wurzelkaries ist eine weiche, fortschreitende Läsion multifaktoriellen und polymikrobiellen Ursprungs, die sich nur auf freiliegenden Wurzeloberflächen entwickelt, die dem Mundhöhlenmilieu ausgesetzt sind [67]. Histologisch gleicht die Wurzelkaries der Kronenkaries [10, 70].

2.2.3.2 Epidemiologie

Der vierten deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS IV) aus dem Jahre 2005 zufolge, sank der Kariesindex in der Gruppe der Erwachsenen im Vergleich zum Jahr 1997 um 1,6%, während im starken Gegensatz dazu der Wurzelkariesindex in dieser Gruppe um 9,7 Prozentpunkte und in der Gruppe der Senioren sogar um 29,5 Prozentpunkte anstieg [119]. Die prozentuale Befallrate betrug im Jahre 2005 bei den Erwachsenen 25,1% und bei den Senioren 45,0% [119]. In einer Studie von Fure stieg die Anzahl der Wurzelkariesläsionen nach zehn Jahren in der Gruppe der ursprünglich 55-jährigen auf 9,4%, in der Gruppe der ursprünglich 65-jährigen auf 14% und in der Gruppe der ursprünglich 75-jährigen auf 25% an [56]. Diese positive Korrelation zwischen Alter und Wurzelkaries konnten auch Mack et al. in ihrer Studie beobachten, in der die Prävalenz der Wurzelkaries in der Gruppe der 70- bis 79-jährigen im Vergleich zu der der 60- bis 69-jährigen fünf Prozent höher war [109]. Eine Ursache für die erhöhte Prävalenz der Wurzelkaries mit steigendem Alter wird in dem vermehrten Erhalt von Zähnen im Gebiss älterer Menschen gesehen. So konnte

durch verbesserte orale Hygiene, zahnmedizinische Versorgung und ein allgemein gesteigertes Gesundheitsbewusstsein die Anzahl der Zahnverluste 2005 im Vergleich zu 1997 in der Gruppe der Erwachsenen von 4,2 Zähnen auf 2,7 Zähnen und in der Gruppe der Senioren von 17,6 Zähnen auf 14,2 Zähnen reduziert werden [119]. Jedoch steigt mit zunehmenden Lebensalter das Risiko für Parodontalerkrankungen. Ergebnissen der vierten Mundgesundheitsstudien (DMS IV) zufolge erhöhte sich die Erkrankungsrate bei den Erwachsenen um 26,9 Prozentpunkte und bei den Senioren um 23,7 Prozentpunkten im Vergleich zu 1997. Parodontopathien führen so zur Exposition von Wurzeloberflächen, wodurch diese bakteriell besiedelt werden können und somit das Risiko für Wurzelkaries erhöhen [88, 11]. Des Weiteren ist auch die Zunahme der Anzahl älterer Patienten für die Zunahme der absoluten Zahl an Patienten mit Wurzelkaries verantwortlich. Nach der Bevölkerungsvorausberechnung des Statistischen Bundesamtes Deutschland werden im Jahr 2050 doppelt so viele 60-jährige wie Neugeborene erwartet. Die Altersgruppen der 80-jährigen und Älteren wird vom Jahr 2005 bis zum Jahr 2050 von 3,7 Millionen Menschen auf zehn Millionen steigen [43].

2.2.3.3 Ätiologie und Lokalisation

Vom Zahnfleisch nicht mehr bedeckte Wurzeloberflächen sind in hohem Maße für Wurzelkaries anfällig [39]. Die Wurzelkaries entwickelt sich auf Wurzeloberflächen, die bedingt durch knochen-, epithelialen- und bindegewebigen Attachmentverlust der Mundhöhle schutzlos ausgesetzt sind und nachfolgend bakteriell besiedelt werden. Die erhöhte Plaqueanlagerung

stellt die eindeutig erwiesene Ursache zur Entstehung der Wurzelkaries dar [111, 94]. Nach Papas et al. sind Parodontalerkrankungen, reduzierte Speichelfließrate und verminderte Speichelpufferkapazität Risikofaktoren für Wurzelkaries [131]. Weitere Risikofaktoren sind häufiger Verzehr niedermolekularer Kohlenhydrate, unzureichende Mundhygiene [137, 136] und koronale Karies [57]. Reiker et al. konnte in seiner Studie keinen Zusammenhang zwischen Kronenkaries, Speichelsekretionsrate und dem Auftreten der Wurzelkaries finden [138]. Er kam zu dem Ergebnis, dass das Auftreten der Wurzelkaries mit erhöhten Plaqueindizes und einer hohen Zahl von *Mutans Streptokokken* einhergeht. Die Wurzelkaries entwickelt sich häufig auf freiliegenden approximalen Wurzeloberflächen entlang der Schmelz-Zement-Grenze oder bis zu zwei Millimeter unterhalb des Gingivalrandes [108] und im zervikalen Drittel der Wurzel, das heißt auf Wurzeloberflächen, die mit azellulärem Fremdfaserzement bedeckt sind [153]. Am häufigsten tritt die Wurzelkaries an den Prämolaren und Molaren des Unterkiefers und Oberkiefers auf, wobei die bukkalen Flächen im Unterkiefer und die approximalen Flächen im Oberkiefer die am häufigsten befallenen Zahnflächen darstellen [107, 57]. Die Frontzähne des Unterkiefers weisen den geringsten Befall auf [131]. Sumney et al. konnten keine seitenabhängigen Unterschiede erkennen [161].

2.2.3.4 Klassifikation der Wurzelkaries

Die Klassifikation der Wurzelkaries kann anhand verschiedener Kriterien erfolgen. Erste Versuche unternahm Billings (1986) unter morphologischer Betrachtung der Wurzelkariesläsionen. Er entwickelte den „root caries severity index“, der das Ausmaß der Läsionen

in vier Schweregrade einteilt [18]:

- Grad 1: Verfärbung, beginnend
- Grad 2: Kavitationen unter 0,5 mm Tiefe, oberflächlich
- Grad 3: Kavitationen mit mehr als 0,5 mm Tiefe
- Grad 4: Tiefe Läsion, pulpal

Nyvad und Fejerskov (1987) teilten die Zement- und Dentinkaries unter Beurteilung ihres dynamischen Charakters in aktive und inaktive Läsionen ein. Demnach werden gelbliche bis hellbraune Läsionen weicher Oberfläche und lederartiger Konsistenz als aktiv befundet, während Läsionen dunkelbrauner bis schwarzer Verfärbung mit harter Oberfläche als inaktive Läsionen angesehen werden [126].

Lynch fand in seiner Studie heraus, dass die Farbveränderung kariöser Läsionen weder mit der Aktivität noch mit der Ausdehnung der Läsionen korreliert [108]. Als wichtiges Charakteristikum gilt heute vielmehr die Oberflächenhärte. So fand Beighton heraus, dass harte Läsionen verglichen mit weichen und ledernen Läsionen mit signifikant weniger kariogenen Mikroorganismen wie *Mutans Streptokokken* und *Lactobacillen* besiedelt waren [15]. Histologische Dünnschnitte aus Läsionen mit harter Oberfläche zeigten überwiegend Mineralisationsprozesse und tote Bakterien, wohingegen bei weichen Läsionen intratubulär vitale Mikroorganismen und degenerative Prozesse nachgewiesen werden konnten [154].

Demzufolge gelten weiche Läsionen als aktiv, während harte Läsionen als inaktiv angesehen werden können. Lederne Läsionen stellen eine Zwischengruppe dar und werden nach einer Empfehlung von Hotz präventiv als aktive Läsion angesehen [78]. Die Einteilung der Wurzelkaries anhand des „root decay“(RD) von Noack (1997) [125] entspricht weitestgehend der von Nyvad und Fejerskov, nimmt jedoch ergänzend Defekte, die bis zum Pulpenkavum reichen, in die Einteilung auf:

- RD 0: Gesund
- RD 1: Inaktive Läsion
- RD 2: Aktive Läsion ohne Kavitation (zugänglich oder unzugänglich)
- RD 3: Aktive Läsion mit Kavitation
- RD 4: Defekt bis Pulpenkavum

2.2.3.5 Progression der Wurzelkaries im Zement

Im Anschluss an die bakterielle Besiedlung exponierter Wurzeloberflächen erfolgt nach einiger Zeit die bakterielle Invasion grampositiver Bakterien in das azelluläre Fremdfasorzement. Demineralisationsprozesse im Zement erfolgen aufgrund des geringeren Mineralgehaltes und der erhöhten Porosität im Vergleich zu Schmelz zu einem früheren Zeitpunkt [76]. Dabei dringen die Bakterien anfangs bevorzugt entlang bereits teilkalkter Zementfaserbündel und Wachstumslinien in das Zement ein [55]. In Abhängigkeit von der Stärke

des kariogenen Angriffes und seinen jeweiligen strukturellen Eigenschaften reagiert das Zement mit drei unterschiedlichen Demineralisationsmustern [153]: Kleinflächige, schwache kariogene Angriffe auf zuvor intakter Zementoberfläche frei von Zahnstein zeichnen sich durch die Ausbildung einer konkaven, an der Oberfläche unregelmäßigen Mikrokavität in der äußersten Schicht des Zements aus. Dabei dringen Bakterien entlang Spalten unterschiedlicher Länge und Breite durch das Zement und breiten sich im peripheren Dentin aus. Starke, großflächige kariogene Angriffe resultieren in einer einheitlichen Demineralisation von Zement und angrenzendem Dentin ohne Verlust der Oberflächenintegrität, mit Ablagerung von tellerförmigen Kristalliten. Diese befinden sich zum einen an der Grenzfläche der kollagenen Matrix mit fehlender und erhaltener regelmäßiger Faserstruktur und zum anderen an der Grenzfläche der Zementoberfläche und der sie besiedelnden Mikroorganismen [153]. Die Wachstumslinien im Zement sind akzentuiert. Das dritte Demineralisationsmuster entwickelt sich bei moderaten kariogenen Angriffen auf Zementoberflächen mit Zahnstein. Es zeichnet sich durch die Bildung einer hypermineralisierten Oberflächenschicht mit fortschreitender, unterminierend hoförmiger Demineralisation von Zement und Dentin und einer mineralisierten Schicht an der Zement-Dentingrenze aus. Die mit der Demineralisation simultan fortschreitende bakterielle Zerstörung der organischen Matrix im Zement führt zur Verbreiterung der Invasionssäulen und endet schließlich in der Freilegung peripheren Dentins [153].

2.2.4 Läsionen im Dentin

2.2.4.1 Demineralisierung des Dentins

Die Läsionsentwicklung im Dentin wird durch die pH-abhängige Demineralisierung eingeleitet. Die Säureproduktion kariogener Mikroorganismen führt zunächst zur Auflösung peritubulären Dentins und in Folge dessen zur Verbreiterung der Tubulidurchmesser. Im Anschluss daran beginnt sich die Bakterienfront entlang der entmineralisierten Dentintubuli in Richtung Pulpa zu bewegen. Der Auflösung peritubulären Dentins folgt die des intertubulären Dentins. In kariösen Läsionen kann nach der Demineralisation von intertubulärem Dentin die peritubuläre Wand hypermineralisiert vorliegen [87].

Da die meisten Wurzeloberflächen parodontal vorgeschädigt sind, trifft die Karies meist auf sklerotisch verändertes Dentin, das sowohl intertubulär als auch intratubulär durch Ausfällung von Calciumphosphat Whitlock-Kristallen hypermineralisiert ist. Hierdurch wird die bakterielle Invasionsfront vorübergehend in ihrer Progression aufgehalten [150]. Da das Wurzel dentin zudem einen im Vergleich zu Kronendentin erhöhten Mineralisationsgrad aufweist, resultieren kariöse Angriffe selten in einer Ausbildung tiefer Läsionen [118].

2.2.4.2 Abbau organischer Matrix

Anders als im Schmelz basieren kariöse Prozesse im Dentin aufgrund seines höheren Anteils organischem Materials nicht allein auf Auflösungserscheinungen innerhalb des Apa-

tits, sondern auch auf der proteolytischen Spaltung organischer Matrix insbesondere des Kollagens Typ I [29]. Dabei setzt im Dentin die Ausbildung einer Kavität erst mit dem Abbau organischer Matrix ein [89, 90]. Durch Demineralisation wird bei ausreichendem Mineralverlust die organische Matrix der Zahnhartsubstanz durch bakterielle Säuren für Kollagenasen zugänglich gemacht. Ihre proteolytische Spaltung schreitet dann durch die Enzymaktivität auch unter Remineralisierungsbedingungen fort. Mineralverlust und enzymatischer Abbau organischer Matrix sind damit zeitversetzte Prozesse, die unter unterschiedlichen Bedingungen fortschreiten [97, 90]. Der Abbau kollagener Matrix wurde lange Zeit bakteriellen Proteasen zugeschrieben. Später konnte gezeigt werden, dass kariogene Bakterien bei lokal vorliegendem niedrigem pH-Wert über verminderte kollagenolytische und gelatinolytische Aktivitäten verfügen [167]. Daher geht man heute davon aus, dass nicht bakterielle sondern humane Enzyme aus der Gruppe der Matrix-Metallo-Proteinasen (MMP) die Zerstörung organischer Substanz und damit die Läsionen im Dentin verursachen. Ingman et al. konnten diese Enzyme in der Sulkusflüssigkeit der zervikalen Gingiva und im gesamten Speichel nachweisen [84]. Die Matrix-Metallo-Proteinase 9 wurde als wichtigste Gelatinase im Speichel und in der Sulkusflüssigkeit identifiziert. Die MMP-9 verfügt über eine Telopeptidaseaktivität, die die Abspaltung der terminalen Peptidreste mit ihren Pyridinolin-Quervernetzungen bewirkt und damit den Abbau kollagener Matrix während kariöser Prozesse im Dentin einleitet [167]. Matrix-Metallo-Proteinasen werden in inaktiver Form in den Speichel sezerniert. Ihre Aktivierung kann durch eine Absenkung des pH-Wertes und anschließende Neutralisierung erfolgen. Eine Sequenz wie sie typischerweise auch bei einem kariösen Angriff durchlaufen wird. Bedingt durch den weiteren enzymati-

schen Abbau kommt es zum Zusammenbruch der kollagenen Matrix.

2.2.4.3 Histologie der Dentinkaries

Dentinläsionen weisen je nach bakteriellem Invasions- und Zerstörungsgrad morphologische und strukturelle Unterschiede auf, die eine histologische Einteilung der Dentinläsion in folgende Zonen erlaubt [70]:

1. „*Zone der Destruktion*“

Sie entsteht als Resultat proteolytischer Zerstörung organischer Matrix und Demineralisierung anorganischer Substanz in der äußersten Schicht des Dentins unter Ausbildung einer Kavität.

2. „*Zone der Penetration*“

Als Zone der Penetration bezeichnet man Abschnitte innerhalb des Dentins, in denen sich keine Odontoblastenfortsätze mehr in den entsprechenden Dentintubuli mehr befinden. Die Bakterieninvasion erfolgt entlang dieser Strukturen in Richtung Pulpa.

3. „*Zone der Sklerose oder transparente Zone*“

Sie entsteht in Folge reaktiver Abwehrmechanismen der Pulpa-Dentin-Einheit durch Obliteration der Dentintubuli. Die Ausfällung rhomboidischer Kristallite vergleichbar mit Whitlock-Kristallen innerhalb der Dentintubuli, führt zu einer protektiven Degeneration und Mineralisation der Odontoblastenfortsätze [113, 86].

4. „Reaktives Dentin“

So bezeichnet man Tertiärdentin, sogenanntes Reizdentin, das auf iatrogene Reize hin an der Pulpa-Dentin-Grenze gebildet wird.

2.2.4.4 Mikroflora der Wurzelkaries

Die mikrobielle Ätiologie der Wurzelkaries ist bis heute noch nicht vollständig erforscht und wird aufgrund ihrer Komplexität in der Literatur kontrovers diskutiert. Zu Beginn wurde angenommen, dass spezifische Mikroorganismen wie *Mutans Streptokokken*, *Aktinomyces israelii* und *Lactobacillus acidophilus* oder deren Kombinationen die Kariogenität der Keimflora bedingen und ihre Dominanz auf eine äußerst hohe Kariesaktivität schließen lässt [152, 151]. Dabei resultiert der Übergang zwischen den Phasen der Kariesprogression und der damit einhergehenden pH-Wert Änderung in einer ständigen Verschiebung der mikrobiellen Keimflora [22]. Mehrere Studien zeigten zuvor die positive Korrelation zwischen Wurzelkaries und den von Schüpbach genannten Mikroorganismen. Van Houte et al. wiesen in der Plaque initialer und fortgeschrittener Wurzelkariesläsionen verglichen mit der von kariesfreien Zähnen eine signifikant erhöhte Anzahl von *S. mutans* nach [79]. In der Studie von Nyvad und Killian zeigte die Plaque auf Wurzelkariesläsionen mit dem höchsten Mineralverlust vorwiegend eine Kombination von *Mutans Streptokokken* und *Lactobacillen* [127]. Billings et al. konnten erhöhte Anteile an *S. mutans* bei initialen- und Keltjens et al. bei weichen Läsionen nachweisen [18, 92]. Diese Beobachtung konnten auch Beighton und Lynch in ihrer Studie machen. Sie isolierten aus weichen Kariesläsionen im Dentin

eine signifikant höhere Anzahl an *S. mutans* im Vergleich zu harten Läsionen oder gesunden Oberflächen [14]. Mit der Entwicklung neuer kulturunabhängiger Methoden konnte in späteren Studien gezeigt werden, dass sich die mikrobielle Flora der Wurzelkaries aus einer weitaus komplexeren und vielfältigeren Anzahl von Mikroorganismen zusammensetzt als bisher angenommen und dass sich nur ein geringer Teil der Mikroorganismen auf Nährböden kultivieren lässt. Shen et al. entdeckte mit der Verwendung nicht selektiver Nährmedien zusätzliche Spezies wie *Bifidobakterien*, *Rothia*, *Veillonellen*, *Enterococcen* und *Candida albicans* [156]. Preza et al. verglichen als erste, unter Anwendung der kulturunabhängigen Methode, die Mikroflora kariöser mit der kariesfreier Wurzeloberflächen. Sie fanden insgesamt 245 unterschiedliche Bakterienspezies, von denen 133 noch nicht identifiziert wurden. Zusätzlich zu den bisher mit Wurzelkaries in Zusammenhang gebrachten Bakterienarten *S. mutans*, *Aktinomyces* und *Lactobacillen* wurden in dieser Studie häufig auch weitere Spezies gefunden wie *Atopobium spp.*, *Osanella spp.*, *Pseudoramibacter alactolyticus* und *Propioni-Bacterium sp.* Zudem machten die Autoren die Beobachtung, dass die Diversität der Baktereinprofile von der gesunden zur erkrankten Oberfläche sank. Ihre Ergebnisse unterstreichen zum einen die mögliche Rolle anderer potentieller Keimspezies in der Ätiologie der Wurzelkaries und zum anderen die enorme Komplexität der beteiligten Mikroflora [134].

2.3 Prophylaxe und Therapie der Wurzelkaries

Die Prävention der Wurzelkaries zielt primär auf die Verhinderung mikrobieller Besiedlung freiliegender Wurzeloberflächen und die Verminderung der Säurelöslichkeit der Zahnhartsubstanz. Chlorhexidin wird in der Zahnmedizin als antibakterielles Mittel zur chemischen Plaquekontrolle eingesetzt [22] und gewinnt sowohl in der Prophylaxe als auch in der Therapie von Wurzelkaries eine immer größere Bedeutung. Fluoride sind in der Kariesprophylaxe schon seit langem etabliert. Ihre Wirksamkeit basiert auf einer Hemmung der Demineralisation sowie einer Förderung der Remineralisation der Zahnhartsubstanz. Dabei ist die Bedeutung der Fluoride insbesondere bei der Prävention und Therapie der Wurzelkaries Gegenstand aktueller zahnmedizinischer Forschung.

2.3.1 Chlorhexidin

2.3.1.1 Allgemein

Chlorhexidin ist ein Antiseptikum mit breitem Wirkungsspektrum gegen die meisten oralen Pathogene, insbesondere gegen grampositive Bakterien mit geringer Toxizität. Die plaquehemmende Wirkung beruht dabei zum einen auf der Blockierung mikrobieller Bindungsstellen durch Anlagerung auf Zahnoberflächen und auf der Mukosa und zum anderen auf der direkten Interaktion mit sensiblen Mikroorganismen. Chlorhexidin gilt als effektivstes Mittel gegen *Mutans Streptokokken* [45].

2.3.1.2 Wirkungsmechanismus

Chlorhexidin wirkt direkt auf *Mutans Streptokokken*, wodurch deren Anteil in Speichel und Plaque signifikant vermindert werden kann [110, 46]. Der Wirkungsmechanismus basiert dabei auf seiner starken Affinität zur bakteriellen Zellwand. Durch den Kontakt mit dem Wirkstoff wird die Oberflächenbeschaffenheit der Zellwand verändert. Die lipophilen Gruppen im Chlorhexidinmolekül führen zu einer Desorientierung der Lipoproteinmembran der Zellwand und durch Adsorption zu einer Störung des osmotische Gleichgewichtes mit konsekutiver Zerstörung der zytoplasmatischen Membran der Erregerzelle [71]. Bei bakteriostatischen Konzentrationen bewirkt Chlorhexidin einen irreversiblen Verlust von zytoplasmatischen Bestandteilen, die Zerstörung der Membran und Enzymhemmung. Höhere Konzentrationen von ca. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (100 ppm) wirken schnell bakterizid und verursachen eine gründliche Zerstörung der Zelle durch Präzipitation des bakteriellen Zytoplasmas [80, 159]. Die mittlere bakterielle Hemmkonzentration von Chlorhexidin beträgt 0,19 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Mundspüllungen mit zehn Milliliter einer 0,2 % CHX- Lösung führen zur einer starken Reduktion der Speichelbakterienmenge, die bis zu zwölf Stunden nachweisbar ist [20]. Chlorhexidin besitzt aufgrund seines kationischen Charakters eine starke Affinität zu anionischen Verbindungen. Dabei bindet das Chlorhexidinmolekül an negativ geladene Strukturen wie zum Beispiel Speichelglykoproteine, Zahnhartsubstanzen und Pellicle [1]. Durch die elektrostatische Bindung blockiert das CHX potentielle Bindungsstellen der Mikroorganismen, was zum einen die mikrobielle Kolonisierung dieser Bindungsstellen verhindert [1] und zum anderen seine hohe Substantivität bedingt, wodurch Chlorhexidin deutlich länger im Mund

haftet und im Vergleich zu anderen oralen Antiseptika eine verlängerte antimikrobielle Wirkung entfalten kann [139]. Von den Bindungsstellen aus wird CHX weiter in aktiven Konzentrationen abgegeben und wirkt dadurch kontinuierlich bakteriostatisch [148]. Chlorhexidin wirkt vorzugsweise bei neutralem und alkalischen pH-Wert. Im sauren pH-Bereich ist die Wirksamkeit reduziert. Die Wirksamkeit auf vorhandene Plaque ist gering. An der zuvor gesäuberten Oberfläche hingegen hemmt CHX die Plaquebildung klinisch bedeutsam [1].

2.3.2 Fluoride

Fluor gehört zur Gruppe der Halogene und ist ein sehr reaktionsfähiges, stark elektronegatives chemisches Element. Fluoride sind ubiquitär in allen Lebensmitteln und im Trinkwasser enthalten. Fluoride haben im Rahmen der Kariesprophylaxe aufgrund ihres kariostatischen Charakters eine hohe Bedeutung.

2.3.2.1 Allgemein

Die Wechselwirkung von Fluorid und Zahnhartsubstanz wurde hauptsächlich am Zahnschmelz untersucht. Die Erkenntnisse lassen sich jedoch nach Hellwig et al. auch auf das Dentin übertragen, da es sich dabei hauptsächlich um Reaktionen des Hydroxylapatits handelt [70].

Der karieshemmende Effekt von Fluorid wurde erstmals 1916 von Black und McKay entdeckt. Diese stellten fest, dass bei Kindern in Gebieten mit natürlich erhöhtem Fluoridgehalt im Trinkwasser (0,7 - 1,0 ppm) häufig Schmelzflecken auftraten, die mit einem verminderten Kariesbefall einhergingen [19]. Der Zusammenhang zwischen Fluoridgehalt des Trinkwassers und Kariesreduktion bestätigte sich in einer Vergleichsstudie in 21 Städten, die zwischen 1939 und 1942 an über 7200 Kindern aus natürlich fluoridreichen und fluoridarmen Gegenden der USA durchgeführt wurde [33]. In späteren Studien konnte dieser Zusammenhang auch im Hinblick auf die Wurzelkaries bestätigt werden [158, 81]. Mit der späteren Einführung fluoridhaltiger Zahnpasten konnte selbst in Gebieten ohne Trinkwasserfluoridierung eine Kariesreduktion verzeichnet werden [142, 23]. Nach heutigem Wissensstand spielt nicht wie ursprünglich angenommen der präeruptive Einbau von Fluorid in das Hydroxylapatit, sondern die direkte lokale posteruptive Bioverfügbarkeit der Fluoride auf der Zahnhartsubstanz in der Kariesprävention die weitaus wichtigere Rolle. Seine wichtigste kariesprotektive Wirkung entfaltet Fluorid an der Grenzfläche Zahnhartsubstanz-Speichel bzw. Zahnhartsubstanz-Plaue. Sie basiert dabei primär auf seiner posteruptiven lokalen Interaktion mit der Zahnhartsubstanz sowie mit kariogenen Bakterien [100]. Die Aufrechterhaltung der kariesinhibierenden Wirkung benötigt keine systemische Fluoridierung, wenn die lokale Verfügbarkeit von Fluorid durch regelmäßige Zufuhr in ausreichender Dosis sichergestellt ist [74]. 1999 wurde die Trinkwasserfluoridierung auf dem Kongress der Canadian Dental Association als eine lokale Maßnahme eingestuft, womit die Unterteilung in systemische und lokale Fluoridierung heute hinfällig ist [9].

2.3.2.2 Wirkungsmechanismus des Fluorids

Der kariostatische Wirkungsmechanismus ist multifaktoriell und bis heute nicht völlig erforscht. Nach aktuellem wissenschaftlichen Erkenntnisstand sind die drei folgenden Wirkungsmechanismen des Fluorids identifiziert und wissenschaftlich belegt: Fluoride vermögen die Demineralisierung der Zahnhartsubstanzen zu hemmen, deren Remineralisierung zu fördern [150, 51] und in den Metabolismus kariogener Mikroorganismen einzugreifen [21].

2.3.2.3 Hemmung der Demineralisation

Fluorid vermag die säureabhängige Löslichkeit von Hydroxylapatit zu vermindern. Diese Eigenschaft beruht auf zwei Mechanismen: Die Ausbildung einer Calciumfluoriddeckschicht und die Bildung von fluoridiertem Hydroxylapatit/Fluorapatit. Die lokale Applikation von Fluoriden führt zunächst zur oberflächlichen Auflösung des Hydroxylapatits und dann in einer „Sofortreaktion“ mit Mineralionen aus Zahnoberfläche, Speichel und Plaque zur Ausbildung der Calciumfluoriddeckschicht [102]. Dabei beeinflussen die Reaktionszeit von Fluorid mit der Zahnhartsubstanz, der pH-Wert des Fluoridpräparates sowie die Höhe der Fluoridkonzentration die Stabilität der sich ausbildenden Calciumfluoriddeckschicht und somit deren Resistenz gegen Säuren [145]. Bei neutralem bis schwach saurem pH-Wert oberhalb von 5,5 erfolgt eine unspezifische Adsorption von Fluorid an der Schmelzoberfläche und die Ausbildung einer relativ schlecht haftenden, auswaschbaren Calciumfluorid-Auflagerung zusammen mit Calcium-Ionen aus Speichel und Plaque [41]. Bei stärker sauren pH-Werten unter 5,5 werden Calcium- und Phosphat-Ionen

zunächst aus der Schmelzoberfläche herausgelöst. Bei gleichzeitiger Anwesenheit ausreichender Fluoridmengen wird sofort schwerlösliches Calciumfluorid ausgefällt, das sich als dünne, homogene Schicht auf der Schmelzoberfläche niederschlägt [40]. Diese bildet auf der Zahnoberfläche ein pH-kontrolliertes Fluoridreservoir [140]. Sinkt der pH-Wert in Folge eines kariösen Säureangriffes, werden Fluoridionen aus dem CaF_2 -Depot freigesetzt, die zum einen mit der Plaque und zum anderen mit den Schmelzkristallen in Wechselwirkung treten [54]. Die Anwesenheit von Fluorid an der Zahnoberfläche verleiht dieser fluorapatitähnliche Eigenschaften, vermindert damit die pH-abhängige Löslichkeit der Zahnhartsubstanz und trägt so zum Substanzerhalt bei [129]. Bei der Bildung von Fluorapatit diffundieren Fluoridionen aus dem Speichel entlang eines Konzentrationsgradienten zunächst in die äußersten Schichten der Zahnhartsubstanzen und werden dort neben der Anreicherung in der flüssigen Phase zwischen dem Kristallgitter und der Adsorption an der Kristalloberfläche in einer Substitutionsreaktion anstelle von OH in das Schmelzapatit eingebaut [77]. Larsen und Bruun konnten zeigen, dass tatsächlich nur zehn Prozent des Hydroxylapatits in Fluorapatit umgewandelt werden und dass diese Umwandlung reversibel ist und die Aufrechterhaltung an eine regelmäßige Zufuhr an Fluorid gebunden ist [101]. Nach Arends erfolgt die Fluoridaufnahme nach Applikation nur in den obersten zehn Mikrometer [7]. Beiden Wirkungsmechanismen des Fluorids gemeinsam ist die Erhöhung der Säureresistenz der Zahnhartsubstanz. Fluorid vermag die pH-abhängige Löslichkeit des Hydroxylapatits zu senken und damit das Ausmaß der Demineralisation zu reduzieren.

2.3.2.4 Förderung der Remineralisierung

Die Förderung von Remineralisierungsprozessen wird heute als Hauptwirkung des Fluorids angesehen. Der Mechanismus der Remineralisierung basiert dabei auf dem kristallinen Wachstum des zuvor partiell aufgelösten Apatits während eines kariogenen Angriffes [165]. Die in der Umgebung vorliegende Fluorionen vermögen die aus dem Gleichgewicht geratenen De- und Remineralisationsprozesse in Richtung der Remineralisation zu verschieben [165, 54]. Während die Remineralisierung von Hydroxylapatit erst bei einem pH-Wert oberhalb von 5,5 einsetzt, beginnt sie in Gegenwart von Fluorid schon bei einem pH-Wert oberhalb von 4,6 [114]. Wefel et al. fanden heraus, dass Remineralisationsprozesse im Dentin, das heißt die Anlagerung von Mineralien innerhalb der Läsion, nur auf verbliebenem anorganischen Material und nicht auf mineralfreier kollagener Matrix erfolgen können [172]. Saito et al. konnten jedoch in ihrer Studie zeigen, dass die Remineralisation von zuvor demineralisiertem Dentin in übersättigten, metastabilen Calciumphosphatlösungen durch an Kollagen kovalent gebundenes Phosphat induziert werden kann und damit den organischen Anteilen des Dentins bei Remineralisationsvorgängen eine besondere Rolle zukommt [143]. Dieser Mechanismus basiert auf der Verfügbarkeit reaktiver Aminogruppen organischer Phosphoproteine, die durch die kovalente Bindung an das Kollagen die Bildung von Apatit induzieren können [143].

2.3.2.5 Bedeutung von Fluorid in Bezug auf Wurzelkaries

Fluorid vermag im Dentin ebenso wie im Schmelz sowohl demineralisierungshemmend als auch remineralisierungsfördernd zu wirken [51]. Jedoch bedingen strukturelle und chemi-

sche Unterschiede zwischen Schmelz und Dentin einige Besonderheiten. So ermöglicht der erhöhte Wasseranteil sowie die größere Permeabilität des Dentins eine erhöhte Diffusion von Fluorid in das Gewebe [115]. Die Remineralisierung initialer Dentinläsionen benötigt höhere Fluoridkonzentrationen verglichen mit der Remineralisierung im Schmelz [72]. Nach einer *in vitro* Studie von Arends wird eine zehnfach höhere Konzentration als im Schmelz benötigt [6].

Die remineralisierungsfördernde und demineralisierungshemmende Wirkung von Fluorid auf Wurzelkariesläsionen wurde in zahlreichen Studien bestätigt. Diese Ergebnisse basieren auf *In-vivo*- [85], *In-situ*- [128] und *In-vitro*-Studien [123]. Dabei wird die Remineralisierung kariöser Läsionen von der Fluoridkonzentration, der Applikationsdauer sowie Frequenz und Läsionsmuster beeinflusst. In einem Review wurden zwei von 368 Studien mit der größten wissenschaftlichen Aussagekraft herausgestellt [68]. Bei diesen Studien handelte es sich um randomisierte, klinische Doppelblindstudien von Wallace und Baysan [170, 13]. Baysan verglich die remineralisierungsfördernde Wirkung einer 5000 ppm mit der einer 1100 ppm fluoridhaltigen Zahnpasta auf initiale Wurzelkariesläsionen in einen Zeitraum von sechs Monaten. Die Studie von Wallace untersuchte die Wirkung eines halbjährlich angewendeten Fluoridgeles (Fluoridgehalt 12.000 ppm) und einer täglich angewendeten fluoridhaltigen Mundspüllösung (Fluoridgehalt 500 ppm) auf die Entwicklung von Wurzelkariesläsionen über einen Zeitraum von vier Jahren. In der Studie von Baysan bestätigte sich der positivere Effekt der einmal täglich angewendeten Zahnpasta höherer Fluoridkonzentration auf die Inzidenz und den Schweregrad von Wurzelkaries. Des Weiteren ergaben die Er-

gebnisse, dass lederartige Läsionen ohne Kavitätenbildung nach Fluoridanwendung eher wieder aushärten als solche mit Kavitäten. In der Studie von Wallace erzielte die tägliche Anwendung der Mundspüllösung eine signifikant erhöhte Remineralisierung kariöser Läsionen im Vergleich zum halbjährig angewendeten hochkonzentrierten Fluoridgelee. In rasterelektronenmikroskopischen Studien konnte gezeigt werden, dass durch die Anwendung von Zinnfluorid auf der Dentinoberfläche Zinnfluorophosphat abgelagert wird. Dies führt zu einem weitgehenden Verschluss der Dentintubuli [83]. Dieser Effekt vermindert zum einen die Zahnhalsüberempfindlichkeit und erhöht zum anderen über die vorher genannten Effekte hinaus die Säureresistenz des Dentins.

2.3.2.6 Wirkung auf kariogene Mikroorganismen

Schon 1940 beschrieben Bibby und van Kesteren erstmals die inhibierende Wirkung von weniger als ein ppm Fluorid auf die Säureproduktion reiner *Streptokokken*- und *Lactobacillen*-Kulturen [17]. Spätere Studien wiesen ebenfalls auf eine Vielzahl direkter sowie indirekter Einflüsse von Fluorid auf kariogene Mikroorganismen hin. Demnach vermag das Fluorid als starker Inhibitor des glycolytischen Enzyms Enolase zu agieren, indem es die für die Enolaseaktivität notwendigen Mg-Ionen in einem Komplex bindet [64]. In Folge dessen wird innerhalb des Glucosestoffwechsels die Umwandlung von 2-Phosphoglycerat zu Phosphoenolpyruvat und ATP unterbrochen [106]. Phosphoenolpyruvat wird zum Einschleusen von Glucose in die Zelle benötigt. Durch die Unterbrechung des Glucosestoffwechsels wird darüber unter anderem der Zuckertransport in die Bakterienzelle an der Bakterien-

membran gestört [64]. Fluorwasserstoff entfaltet nach Diffusion in die Bakterienzelle in ionisierter Form biologische Effekte auf den Metabolismus kariogener Mikroorganismen. Die intrazelluläre Freisetzung von Wasserstoff resultiert unter anderem in einer Senkung des zytoplasmatischen pH-Wertes, in Folge dessen zelluläre Enzyme einem suboptimalen pH-Wert ausgesetzt werden [65]. Hamilton konnte in seiner Studie zeigen, dass der Zusatz von Fluorid das Wachstum von *Lactobacillen-Kulturen* beeinträchtigen kann und dieser Effekt durch einen sinkenden pH-Wert verstärkt wird [120]. Während *in vitro* Fluoridkonzentrationen von zehn ppm [61] bis zu 190 ppm [44] zu einer signifikanten Hemmung der bakteriellen Säurebildung führen, zeigte sich in späteren Studien, dass diese Effekte *in vivo* im Biofilm anscheinend nur eine geringe Rolle spielen. In einer *In-situ Studie* von Hara et al. vermochte die dreimal tägliche Anwendung einer 1100 ppm Zahnpastaslurry über einen Zeitraum von einer Woche die Anzahl an *Mutans Streptokokken* und *Lactobacillen* nicht zu vermindern [66].

2.3.3 Invasive Behandlung von Wurzelkaries

Tiefe, progressive, aktive Läsionen erfordern restaurativ invasive Maßnahmen [78], bei der die kariöse Masse entfernt und der entstandene Defekt mit einem defektadäquaten Material versorgt wird [70]. Dabei bestimmt der Haftverbund zwischen Füllwerkstoff und beteiligter Zahnhartsubstanz den funktionellen und ästhetischen Erfolg der konservierenden Versorgung. Kariöse Zahnhalsläsionen breiten sich zirkulär um den Zahn aus, wodurch sie meist eine Kombination aus Klasse V und Klasse III Kavitäten darstellen [26]. Dadurch steht

das Füllmaterial mit Zahnoberflächen unterschiedlicher Struktur und chemischer Zusammensetzung gleichzeitig in Kontakt. Während im Schmelz Randspaltbildung zwischen der Grenzfläche Schmelz-Füllung nahezu verhindert werden kann, stellt der Haftverbund des Füllwerkstoffes zum Dentin trotz weiterentwickelter Füllmaterialien und Haftvermittlern nach wie vor ein Problem dar [42]. Dentin weist für die adhäsive Haftung im Vergleich zu Schmelz durch den verminderten Mineralgehalt, den erhöhten Anteil an organischer Substanz und Wasser sowie der nach Präparation vorhandenen „smear layer“ ungünstigere Verhältnisse auf [135]. Zudem ist die konservierende Therapie besonders approximal durch den erschwerten Zugang und die eingeschränkte Sicht oftmals problematisch, so dass die vollständige Exkavation kariöser Zahnhartsubstanz und die vollständige Abdichtung der Kavität und Ausarbeitung der Füllung meist unzureichend möglich ist [26]. Die unzureichende Exkavation kariösen Dentins führt sowohl zum Fortschreiten der Karies als auch zur Herabsetzung des Haftverbundes Dentin-Füllung im Vergleich zu gesundem Dentin [146]. Mjör untersuchte in seiner Studie Füllungen auf Sekundärkaries und kam zu dem Ergebnis, dass unabhängig vom Füllmaterial 80 - 90 % der Sekundärkaries gingival lokalisiert waren [122]. Trotz einem großen Angebot an Restaurationsmaterialien wie Amalgam, Kompositen, Kompomeren, Glasionomerkementen und der kontinuierlich voranschreitenden Entwicklung neuer Adhäsivsysteme ist es bis heute nicht gelungen, vorhersehbare Ergebnisse zu erzielen, sobald sich die Präparationsgrenzen in das Dentin ausbreiten [75, 132, 133]. So bleibt der Verbund an der Grenzfläche Dentin-Füllung bis heute problematisch, wodurch präventive verglichen mit restaurativen Maßnahmen hinsichtlich ihrer Langzeitprognose als besser einzustufen sind.

3 Ziel der Studie

Da der Prävention der Wurzelkaries durch Fluorid eine besondere Bedeutung zukommt, war es das Ziel dieser Studie die Wirkung einer 5000 ppm Fluorid enthaltenden Zahnpasta auf die Demineralisierung humaner Dentinproben zu untersuchen und ihre Wirkung mit einer Kontrollgruppe ohne Fluorid und einer 250 ppm Fluorid enthaltenden Mundspüllösung zu vergleichen. Die Demineralisierung sollte hierzu mikroradiografisch erfasst und statistisch ausgewertet werden. Die so erzielten Ergebnisse sollten Hinweise auf die klinische Effizienz von 5000 ppm Fluorid zur Prävention von Wurzelkaries erlauben.

4 Material und Methode

Es handelt sich um eine placebo-kontrollierte *In-situ-Studie*, bei der die Demineralisierung humaner Dentinproben in einem intraoralen Kariesmodell bei unterschiedlichen Fluoridanwendungen untersucht wurde. Nach Abschluss der Versuchsdurchführungen wurden Mineralverlust und Läsionstiefe mikroradiografisch erfasst.

4.1 Untersuchte Fluoridprodukte

In den jeweils dreiwöchigen Trageperioden wurden folgende Produkte angewendet:

Destilliertes Wasser

Meridol Mundspüllösung (GABA), Fluoridgehalt: 250 ppm Amin-, Zinnfluorid; Inhaltsstoffe: Aqua, Xylitol, PVP, PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Olafur, Aroma, Stannous Fluoride, Sodium, Saccharin, CL 42051; Chargennummer: 358605.

Duraphat Zahnpasta (Colgate), Fluoridgehalt: 5000 ppm Natriumfluorid; Inhaltsstoffe: Sorbitol-Lösung 70 % (nicht kristallinisierend), Siliciumoxid, gefälltes Siliciumdioxid, Macrogol 600, Kaliumdiphosphat x 3 H₂O, Xanthangummi, Natriumbenzoat (E211), Natriumdecylsulfat, Krauseminz-Aroma, Saccharin-Natrium, Brilliantblau FCF (E133), gereinigtes Wasser; Chargennummer: 404008.

4.2 Vorbereitende Maßnahmen

In einer Praxis für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie in Nordrhein-Westfalen wurden 45 kariessfreie retinierte untere Weisheitszähne gesammelt und in einer 0,5 % Thymollösung aufbewahrt. Eine Thymollösung wurde gewählt, um die Zähne zu desinfizieren und ihrer Austrocknung entgegenzuwirken. Die Zähne wurden dann zügig zu Dentinproben weiterverarbeitet. Zuvor wurden die Zähne zervikal unter fließendem Wasser mit Handinstrumenten von anhaftendem Weichgewebe befreit und gründlich gereinigt.

4.3 Versuchsplanung

Für die Studie wurden nur retinierte und nicht durch mechanische Einflüsse beschädigte Zähne für die Probengewinnung herangezogen. Die Probenentnahme erfolgte aus der zervikalen Region der Zähne. Die Eingliederung der 15 Dentinproben erfolgte in einer zuvor angefertigten, sublingual getragenen Unterkieferbefestigungsplatte (Abb.4.3). Diese Platte wurde von einem Probanden in drei Versuchsperioden von jeweils drei Wochen 24 h am Tag getragen und lediglich während der Mahlzeiten herausgenommen und in dieser Zeit in einer zehnprozentigen Glucoselösung gelagert. Zwei Wochen vor Versuchsbeginn wurde vom Probanden eine fluoridfreie Mundhygiene betrieben. In allen drei Perioden behandelte der Proband die Dentinproben einmal täglich für 60 Sekunden mit den entsprechenden Lösungen. In der ersten Periode wurde destilliertes Wasser, in der zweiten Versuchsperiode eine 250 ppm Fluorid Mundspüllösung und in der dritten Versuchsperiode eine 5000 ppm

Fluorid Zahnpasta angewendet. Bei Abschluss einer Versuchsperiode wurde vor Beginn des neuen Versuchsablaufes eine einwöchige Auswaschphase angeschlossen. Nach Beendigung der Trageperioden wurden von jeder Probe Dünnschliffe angefertigt und Mineralverlust und Läsionstiefe mittels transversaler Mikroradiographie ermittelt.

4.4 Probandengut

Der Proband (G.A.W.) dieser Studie war 32 Jahre alt, bei guter Allgemeingesundheit, nahm weder vor noch während der Studie Medikamente zu sich, verfügte über ein saniertes Gebiss ohne herausnehmbaren Zahnersatz sowie kieferorthopädische Apparaturen und eine gute Mundhygiene. Der Proband war naturwissenschaftlich vorgebildet und genauestens über den Verlauf und das Ziel der Studie informiert.

4.5 Gewinnung der Dentinproben

Vor ihrer Verarbeitung wurden die extrahierten Zähne unter fließendem Wasser gereinigt und mittels Handinstrumenten zervikal von anhaftendem Weichgewebe befreit. Die Entnahme der 45 Dentinproben erfolgte zervikal mittels eines diamantierten Hohlbohrers von sechs Millimeter Durchmesser aus den bukkalen und lingualen Glattflächen der kariesfreien Weisheitszähne. Hierbei wurde auf ständige Wasserkühlung und eine langsame Arbeitsweise mit max. 10.000 U/min geachtet, um das Dentin nicht auszutrocknen oder zu

beschädigen (Abb. 4.1). Die den zylinderförmigen, im Durchmesser 0,5 cm großen Dentinproben anhaftenden Pulparesten wurden entfernt und die Proben erneut unter fließendem Wasser gereinigt. Zement und Schmelz wurde unter einem Mikroskop mit 8 - 40 facher Vergrößerung (Stereomikroskop Stemi Sv 6, Carl Zeiss, Jena, Deutschland) mit Hilfe eines kugelförmigen Diamantschleifkörpers entfernt (Daimantschleifkörper, Komet, Besigheim, Deutschland).



Abbildung 4.1: Probengewinnung

Für die Glättung und Politur der Dentinoberflächen wurden jeweils zwei Dentinproben mittels lichthärtendem Fixierungskleber (Technovit 7210) auf durchsichtigen Plexiglas-Objektträger mit einer Polymerisationsapparatur (Exakt Lichtpolymerisationsgerät, 230V, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) ausgehärtet und mit einer Vakuumschleifmaschine (Exakt Mikroschleifsystem, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) bearbeitet. Beide Seiten der Dentinproben wurden nacheinander mit Siliciumkarbid-Schleifpapier (Struers, Erkrath, Deutschland) aufsteigender Körnung von 500, 1000, 1200, 2400, 4000 Schleifkörper/cm² unter ständiger Wasserkühlung planparallel geschliffen und poliert.

4.6 Vorbereitung der Dentinproben vor der Insertion

Vor Inserierung in die Befestigungsplatte wurden die Proben aus hygienischen Gründen einer Gammasterilisation unterworfen. Dafür wurden sie in 20 ml sterilem, deionisiertem Wasser gelagert und mit 60 kGy ca. 22 min bestrahlt. Im Anschluss daran wurden die Proben in der Mitte mit einem Skalpell eingekerbt, um sie in zwei Sektionen zu unterteilen. Da nur eine Hälfte der Dentinprobe der Demineralisation ausgesetzt werden sollte, wurde diese mit Klebeband abgedeckt, um die andere unter dem Mikroskop mit Bonding (Clearfil SE BOND, Kuraray Co. Ltd., Osaka, Japan) zu versiegeln. Die Aushärtung des Bondings erfolgte mit einer Handpolymerisationslampe (Abb.4.2).



Abbildung 4.2: Dentinprobe

4.7 Herstellung der intraoralen Unterkiefer-Apparatur

Zur Herstellung der Befestigungselemente wurden von einem Probanden (G.A.W.) jeweils eine Unterkiefer- und Oberkieferalginatabformung genommen. Diese Abformungen wurden dann zur exakten Darstellung der intraoralen Situation mit Superhartgips ausgegossen, gesockelt und ausgearbeitet. Bei der Gestaltung der Befestigungselemente wurde darauf geachtet, dass diese die Okklusion nicht beeinträchtigten. Als Haltelemente wurden zwei

0,7 mm starke Ruschanker auf Cobalt-Chrom-Molybdänbasis verwendet, die jeweils zwischen den Zähnen 34/35 und 44/45 positioniert wurden. Die Ausdehnung der Plattenbasis erstreckte sich vom zervikalen Teil der Zähne bis zum Übergang beweglicher zur unbeweglichen Schleimhaut (Abb.4.3) Untersichgehende Stellen wurden mit rosa Plattenwachs ausgeblockt. Die Befestigungsplatte wurde aus Autopolymerisat gefertigt, im Drucktopf ausgehärtet, bearbeitet und poliert. In unserer Studie wurde die intraorale Apparatur mit den darin inserierten Dentinproben im Gegensatz zu anderen Studien nicht bukkal sondern lingual getragen. Dies geschah, um der Raumforderung der 15 Dentinproben zu entsprechen.



Abbildung 4.3: Intraorale Halteapparatur mit inserierender Dentinprobe

Mittels eines Trepanbohrers von fünf Millimeter Durchmesser wurden 15 runde Einlassungen für die Insertion der Dentinproben in die Befestigungsplatte gefräst. Scharfe Kanten an den Einfräsungen wurden mittels eines Einwegskalpells beseitigt. Alle Proben wurden planparallel ein Millimeter unter das Niveau der Platte versenkt, damit eine gleichmäßige, maximale Plaqueansammlung erreicht werden konnte. Um eine Verschmutzung der Probenoberfläche mit Klebewachs auszuschließen, wurde der Durchmesser der Einlassung entsprechend den Dentinproben gewählt. Hierdurch wurde nur eine geringe Menge an Klebewachs zur Befestigung der Dentinproben in der Apparatur benötigt, da diese schon alleine durch die Friktion ausreichend in der Apparatur befestigt waren.

4.8 Durchführung der *In-situ*-Studie

In unserer Studie wurde in drei aufeinander folgenden Versuchsreihen von jeweils drei Wochen die Wirkung einer an Fluorid hochkonzentrierten Zahnpasta und einer gebräuchlichen niedrig konzentrierten Mundspüllösung zur Prophylaxe von Wurzelkaries placebo-kontrolliert untersucht. Um Verzerrungen des Fluoridparameters in der Mundhöhle des Probanden zwischen den drei Versuchsreihen entgegenzuwirken, erfolgte vor allen Versuchsdurchgängen eine „Wash-out-Phase“ von einer Woche. Zwei Wochen vor Beginn der Studie erhielt der Proband eine professionelle Zahnreinigung um eine plaque- sowie zahnsteinfreie Ausgangssituation zu erhalten. Der Proband (G.A.W.) wurde angehalten zwei Wochen vor Versuchsbeginn und über den gesamten Versuchszeitraum eine fluoridfreie Zahnpasta zu

benutzen (Nenedent ohne Fluorid, Dentinox, Berlin, Germany). Auf eine Putzanweisung wurde in dieser Studie verzichtet. Jedoch wurde die Putzzeit auf zwei Minuten festgelegt, um für alle Versuchsdurchgänge gleiche Verhältnisse zu schaffen. Weiterhin erhielt der Proband die Anweisung während der Versuchsreihe keine fluoridhaltigen Nahrungsmittel wie schwarzen Tee, Seefisch oder fluoridiertes Speisesalz zu sich zu nehmen. Die intraorale Halteapparatur wurde vom Probanden 24 Stunden am Tag getragen und nur zur Anwendung der zu testenden Lösung sowie während der Mahlzeiten aus dem Mund genommen. Während der Mahlzeiten wurde die Apparatur in einer vorgefertigten zehnpromzentigen Glucoselösung aufbewahrt und vor Insertion für fünf Sekunden unter fließendem Wasser abgespült. Die Glucoselösung wurde aus hygienischen Gründen jeden Tag erneuert. Für die Fluoridanwendung wurde die Apparatur abends einmal täglich für 60 Sekunden in die entsprechende Versuchslösung getaucht. Die Behandlung der Dentinproben mit der jeweiligen Fluoridlösung erfolgte immer abends durch die Doktorandin dieser Studie selbst (M.-T. W.). Dabei wurde auf eine vollständige Benetzung aller Dentinproben geachtet. Im Anschluss daran wurde die Versuchslösung unter fließendem Wasser von der Halteapparatur abgespült bevor sie wieder in den Mund des Probanden eingliedert wurde. Die Versuchslösungen wurden in Einzeldosisbehältnissen mit einer Tagesmengen von jeweils 20 ml in einer öffentlichen Apotheke vorgefertigt. Destilliertes Wasser und Mundspüllösung wurden jeweils nur in der erforderlichen Menge den Originalverpackungen entnommen und abgeteilt. Die Zahnpastaslurry wurde hergestellt, in dem 125 g Duraphat Zahnpasta in 375 ml Wasser eingebracht und gelöst wurde. Die Lösung wurde in einem Becherglas durch langsames Rühren mit einem Glasstab hergestellt, um Schaumbildung zu vermeiden.

Die Behältnisse enthielten:

- Destilliertes Wasser in der ersten Trageperiode
- Meridol Mundspüllösung in der zweiten Trageperiode
- Duraphat Zahnpastaslurry in destilliertem Wasser (1/3 [M/V]) in der dritten Trageperiode

4.9 Anfertigung der TMR-Proben

Nach Ablauf der dreiwöchigen Trageperiode wurden die Dentinproben unter Zerstörung der Halteapparatur freigelegt und einzeln unter fließendem Wasser mit Hilfe einer weichen Handzahnbürste von Ablagerungen befreit und in einem mit Schraubdeckel verschlossenen Gefäß in destilliertem Wasser aufbewahrt. Zur Anfertigung der Dünnschliffe erfolgte zunächst die Einbettung und Aushärtung der Dentinproben in lichtpolymerisierendem Kunststoff (Technovit 2000 LC). Dazu wurde eine dünne Schicht des dünnfließenden Kunststoffes in eine vorgefertigte Form gegeben und auspolymerisiert. Auf dieser ebenen Fläche wurden jeweils zwei Dentinproben so positioniert, dass deren Einkerbungslinien parallel zueinander zu liegen kamen. Die weitere Einbettung der Dentinproben mit Technovit 2000 LCD erfolgte schichtweise bis beide Proben vollständig bedeckt waren. Die so erhaltenen Kunststoffblöcke mit den darin eingelagerten Dentinproben wurden nach der Polymerisation aus der Form gelöst. Die Blöcke wurden dann an einer Seite am Trimmer parallel

zur Schnittebene bis zur Freilegung des Dentins vorgeschliffen, dann mittels Schleifpapier geglättet und poliert (Abb. 4.4.1). Die bearbeitete Seite wurde mit einem lichthärtenden Bonding (Technovit 7210) auf einem Plexiglasobjektträger fixiert. Die Dentinproben wurden dann mit der polierten Seite in einer mit Vakuumvorrichtung ausgestatteten, wassergekühlten Diamantsäge eingespannt. Da wir für alle Proben eine finale Schichtdicke von $200\ \mu\text{m}$ anstrebten und der Dünnschnitt aus der Mitte der Proben gewonnen werden sollte, erfolgte der erste Sägeschnitt ca. $2,6\ \text{mm}$ von der bearbeiteten Dentinoberfläche entfernt. Die neu freigelegten Dentinseiten wurden wie die Gegenseite mit Schleifpapier aufsteigender Körnung von 2000 bis 4000 Schleifkörpern/ cm^2 um $900\ \mu\text{m}$ gekürzt. Die polierten Seitenflächen wurden dann erneut mit Hilfe des Bondings auf einem zweiten Objektträger befestigt (Abb. 4.4.3). Man spricht dabei von der „Sandwich-Technik“, wonach zwei gegenüberliegende Seiten der Dentinproben von jeweils einem Objektträger bedeckt sind. Es folgte ein gezielter Sägeschnitt in einer Dicke von ca. $600\ \mu\text{m}$ mit der Diamantsäge. Der ausgewählte Schnitt der Probe, der sich auf dem als zweites verwendeten Objektträger befand, wurde im Anschluss daran vermessen, um die genaue Schichtdicke zu ermitteln. Für den Klebespalt, der bei der Befestigung des Kunststoffblockes auf dem Objektträger entstand, wurde ein empirisch ermittelter Wert von $30\ \mu\text{m}$ abgezogen. Für die Dünnschnitte wurde eine Dicke von $200\ \mu\text{m}$ angestrebt. Die durch den Sägeschnitt freigelegten Oberflächen der Dentinproben wurden durch Planschleifen und Politur auf die angestrebte Dicke reduziert (Abb. 4.4.4). Die Dentindünnschliffe wurden bis zu ihrer weiteren Verarbeitung in einer mit destilliertem Wasser gefüllten Behälter aufbewahrt. Die Flüssigkeit wurde täglich gewechselt.

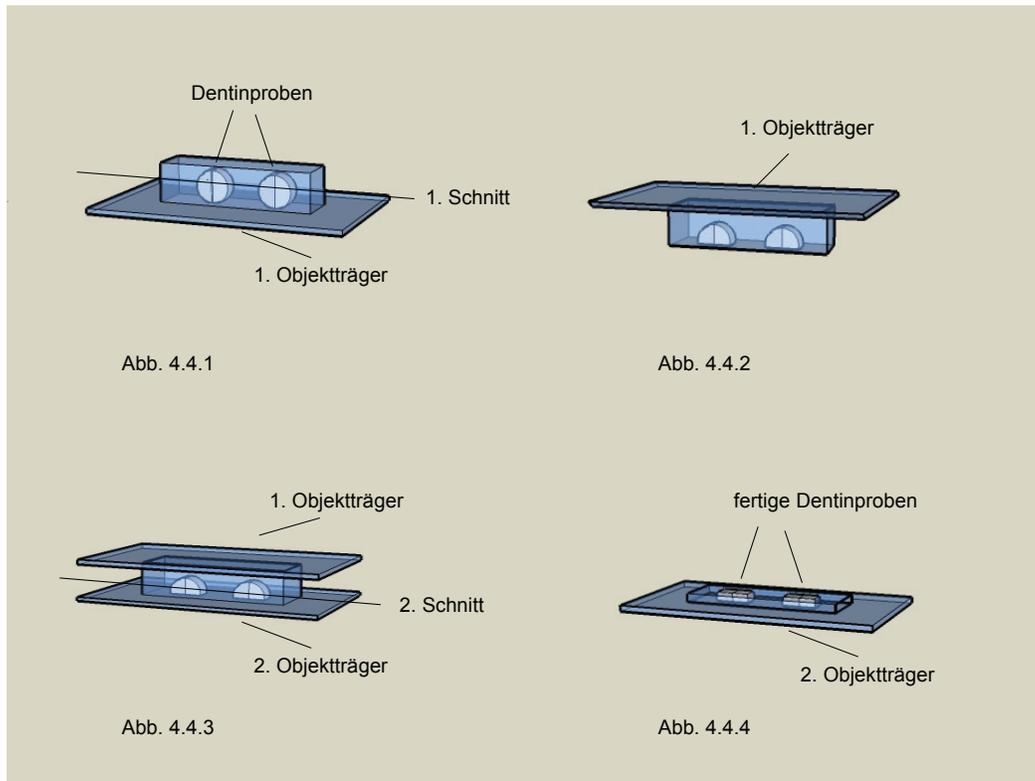


Abbildung 4.4: Schematische Darstellung der Anfertigung der Dentinproben

4.10 Auswertung der Dentinproben

Die Auswertung der Dentinproben erfolgte mittels transversaler Mikroradiographie. Die Dentinproben wurden dazu vorsichtig vom Objektträger mit Hilfe eines Skalpellts ausgebettet und mittels dünner Tesafilmstreifen auf spezielle Träger für das Kameragehäuse der TMR aufgeklebt (Abb.4.5), um sie zur Ablichtung in die Kamera einführen zu können. Die Belichtung bzw. Bestrahlung der Proben erfolgte mit sehr weichen monochromati-

schen Cu-K-alpha Röntgenstrahlen mit einer Spannung von 20 kV, einer Stromstärke von 20 mA mit einer Bestrahlungsdauer von zwölf Sekunden in einer Distanz von 34 cm zwischen Strahlenquelle und Probe. In diesem Prozess durchdringt die Strahlung die Probe parallel zur behandelten Oberfläche und senkrecht zur Schnittebene. Die Dentinprobe wird zusammen mit einer Aluminiumeichtreppe, die neben der Probe fest montiert ist, auf dem holographischen Film abgelichtet (Abb.4.6). Dieser Film wurde unter standardisierten Bedingungen im Fotolabor nach Herstellerangaben entwickelt und unter einem am Computer angeschlossenen Stereomikroskop mit CCD Kamera sowie der entsprechenden Software ausgewertet.



Abbildung 4.5: Fotohalter



Abbildung 4.6: TMR Gerät

5 Ergebnisse

5.1 Versuchsablauf

Ein Proband (G.A.W.) führte die Studie wie geplant über einen Zeitraum von zwölf Wochen durch. Der Proband hielt sich dabei streng an die Vorgaben der Studie. Während der jeweils drei Wochen andauernden Trageperioden der Dentinproben wurde der Proband täglich zur zahnmedizinischen Kontrolle einbestellt. Dabei wurden folgende intraorale Befunde erhoben:

- Passgenauigkeit der Halteapparatur
- Sitz der Verankerungselemente der Halteapparatur
- Schleimhautreizungen
- Verankerung der Probenkörper in der Halteapparatur

Zu Beginn der ersten Trageperiode wies der Proband sublingual im retromolarem Bereich Schleimhautreizungen auf, die auf Passungenauigkeiten der Halteapparatur zurückzuführen waren. Nach Beseitigung der Druckstelle heilten die Reizung wieder vollständig aus. Im weiteren Verlauf traten keine weiteren Irritationen der Mundschleimhaut auf.

Im Laufe der dritten Trageperiode fiel bei der täglichen Kontrolle eine gelockerte Dentinprobe auf. Um den Verlust dieser Probe zu verhindern, wurde sie aus der Apparatur entfernt und mittels Klebewachs wieder befestigt.

Der Proband berichtete über eine Beeinträchtigung seiner Artikulation während der Trageperioden der Halteapparatur. Dies blieb die einzige Einschränkung, die vom Probanden angegeben wurde. Der gute Tragekomfort, die optische Unauffälligkeit sowie die naturwissenschaftliche Vorbildung des Probanden resultierten in einer optimalen Compliance.

Die Dentinproben aller drei Versuchsdurchläufe konnten der mikroradiologischen Auswertung zugeführt werden.

5.2 Mineralverlust

Die Zahnpasta mit 5000 ppm Fluorid reduzierte die Demineralisation von Dentin signifikant im Vergleich zu den mit der Mundspüllösung mit 250 ppm Fluorid und den mit destilliertem Wasser behandelten Oberflächen. Die Mundspüllösung mit 250 ppm Fluorid führte in diesem Studiendesign zu keiner signifikanten Abnahme der Demineralisation im Vergleich zu der mit destilliertem Wasser behandelten Oberfläche. Die Demineralisation wurde als Mineralverlust und Läsionstiefe mit Hilfe der transversalen Mikroradiographie gemessen.

Die für den Mineralverlust ermittelten Werte der drei Versuchsreihen entsprechen einer statistischen Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test). Daher wurden die jeweiligen

Mittelwerte und Standardabweichungen zur Auswertung der Ergebnisse herangezogen. Die Kontrollgruppe (destilliertes Wasser) wies nach dreiwöchiger Versuchsdurchführung als Mittelwert für den Mineralverlust $328,56 \pm 137,25$ Vol % x μm (Minimum: -79,00 Vol % x μm , Maximum: 483,90 Vol % x μm) auf (Tab.5.1; Abb.5.1).

Bei der Verwendung der Mundspüllösung mit 250 ppm Fluorid wurde ein Mineralverlust von $218,64 \pm 28,40$ Vol % x μm (Minimum: 151,50 Vol % x μm , Maximum: 258,10 Vol % x μm) gemessen.

In der Gruppe, in der die Zahnpasta mit 5000 ppm Fluorid angewendet wurde, ergab sich ein Mineralverlust von $60,70 \pm 76,35$ Vol % x μm (Minimum: -150,80 Vol % x μm , Maximum: 167,90 Vol % x μm).

Zum Vergleich der Mittelwerte für die drei Versuchsgruppen (0 ppm, 250 ppm und 5000 ppm Fluorid) wurde der ANOVA/LSD Test angewendet. Der Mineralverlust der mit 5000 ppm Fluorid behandelten Dentinproben ist danach signifikant geringer als der Mineralverlust, der ohne ($p < 0,001$) bzw. mit 250 ppm Fluorid behandelten Dentinproben ($p < 0,01$).

Gruppe	n	Min	Max	Mittelwert	Standardabweichung
Placebo	15	-79,00	483,90	$328,56^{***}$	137,25
250 ppm F	15	151,50	258,10	$218,64^{b**}$	28,40
5000 ppm F	15	-150,80	167,90	$60,70^{a,b}$	76,35

Tabelle 5.1: Ergebnisse Mineralverlust in Vol % x μm ; gleiche Buchstaben (^{a,b}) zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied bei $p < 0,001$ (***) und bei $p < 0,01$ (**).

Zwischen den Mittelwerten der Mineralverluste der 250 ppm Fluorid-Gruppe und der Placebogruppe ließ sich kein statistisch signifikanter Unterschied ermitteln.

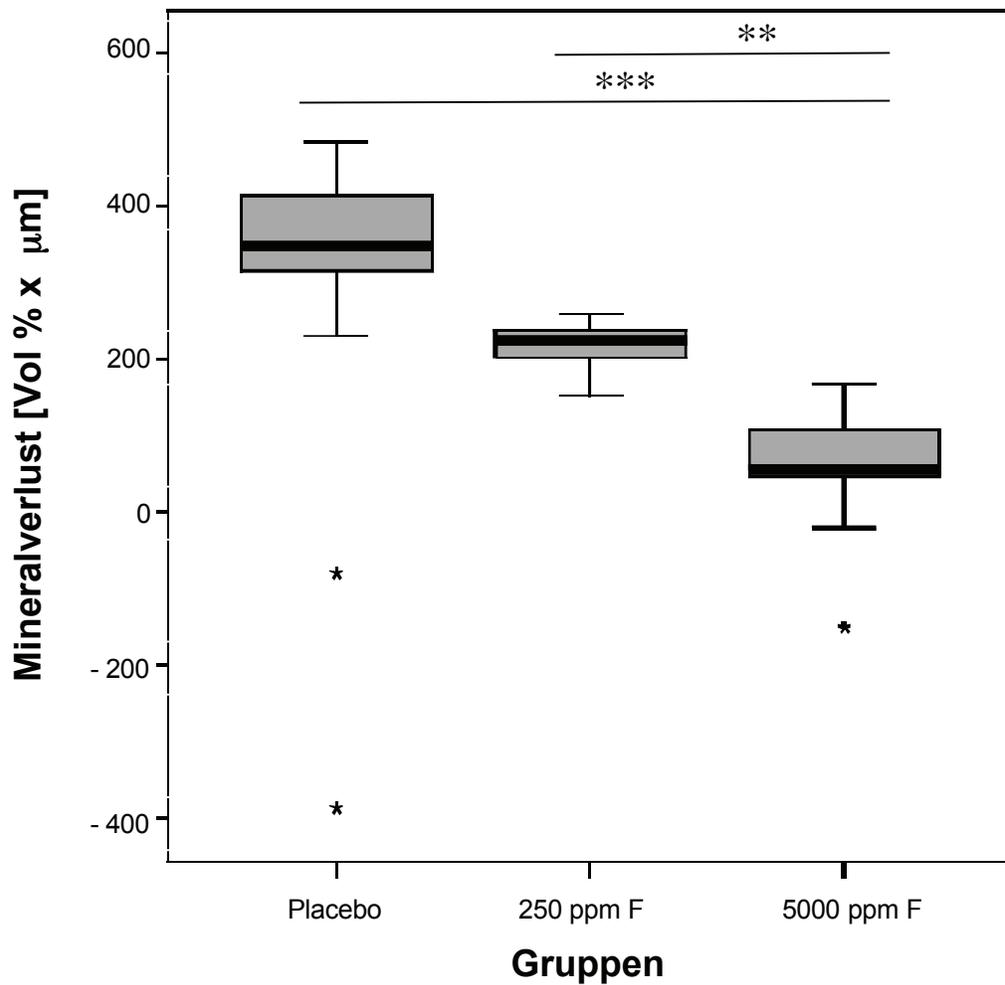


Abbildung 5.1: Mineralverlust der drei Versuchsgruppen [Vol % x μm] nach dreiwöchiger Versuchsdurchführung (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

5.3 Läsionstiefe

Auch die für die Läsionstiefe ermittelten Werte entsprechen einer statistischen Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test). Daher wurden auch hier die jeweiligen Mittelwerte zur Auswertung der Ergebnisse herangezogen.

Die Kontrollgruppe (destilliertes Wasser) wies als Mittelwert für die Läsionstiefe $19,00 \pm 14,24 \mu\text{m}$ (Minimum: $6,70 \mu\text{m}$, Maximum: $67,30 \mu\text{m}$) auf.

Bei Anwendung der Spüllösung mit 250 ppm Fluorid wurde eine Läsionstiefe von $20,80 \pm 18,10 \mu\text{m}$ (Minimum: $-14,40 \mu\text{m}$, Maximum: $68,70 \mu\text{m}$) gemessen.

In der Gruppe, in der die Zahnpasta mit 5000 ppm Fluorid angewendet wurde, ergab sich eine Läsionstiefe von $5,32 \pm 11,56 \mu\text{m}$ (Minimum: $-29,30 \mu\text{m}$, Maximum: $20,10 \mu\text{m}$).

Die Auswertung der Mittelwerte der Ergebnisse erfolgte mit ANOVA/LSD.

Gruppe	n	Min	Max	Mittelwert	Standardabweichung
Placebo	15	6,70	67,30	19,00 ^{a*}	14,24
250 ppm F	15	- 14,40	68,70	20,80 ^{b**}	18,10
5000 ppm F	15	- 29,30	20,10	5,32 ^{a,b}	11,56

Tabelle 5.2: Ergebnisse Läsionstiefe in μm ; gleiche Buchstaben (^{a,b}) zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied bei $p < 0,05$ (*) und bei $p < 0,01$ (**).

Die Läsionstiefe der mit 5000 ppm Fluorid behandelten Dentinproben ist danach signifikant geringer als die Läsionstiefe der Placebogruppe ($p < 0,05$) bzw. der mit 250 ppm Fluorid behandelten Dentinproben ($p < 0,01$). Zwischen den Mittelwerten der Läsionstiefen der 250 ppm und der Placebogruppe besteht kein statistisch signifikanter Unterschied.

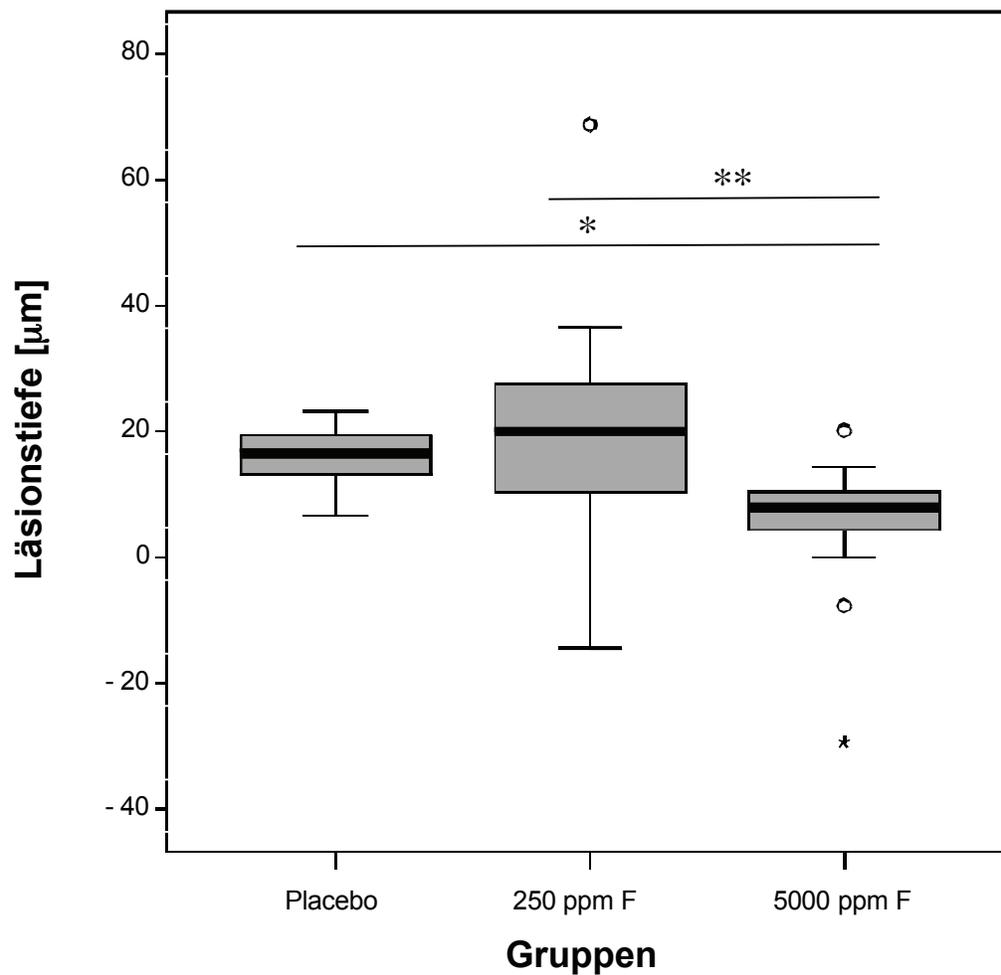


Abbildung 5.2: Läsionstiefe der drei Versuchsgruppen [µm] nach dreiwöchiger Versuchsdurchführung (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

6 Diskussion

6.1 Material und Methode

6.1.1 Dentinproben

In dieser Studie wurde die demineralisationshemmende Wirkung einer Mundspüllösung mit 250 ppm Fluorid als AmF/SnF und einer Zahnpasta mit 5000 ppm F als NaF auf humanes Dentin überprüft. Um eine möglichst einheitliche Ausgangssituation zu schaffen, wurden in unserer Studie ausschließlich untere Weisheitszähne von Patienten aus einer einzigen Praxis für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie zur Gewinnung der Dentinproben herangezogen. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass der Fluoridgehalt in Zahnhartgeweben individuell und regional bedingten Schwankungen unterworfen ist und in Abhängigkeit von der Fluoridkonzentration des Trinkwassers steigt [162]. Die Zähne für diese Studie stammten aus einem einheitlichen Umkreis mit niedrigem Trinkwasserfluoridgehalt. Um darüber hinaus Unterschiede im Mineralgehalt zwischen den verschiedenen Zahntypen zu umgehen, wurden für die Gewinnung der Dentinproben ausschließlich untere Weisheitszähne verwendet [176]. Zudem erwies sich die Probengewinnung aus Weisheitszähnen des Oberkiefers in den Vorversuchen als äußerst schwierig, weil sich aus ihnen aufgrund ihrer generell kleineren Grösse nicht ausreichend grosse Dentinproben gewinnen ließen. Da sich die Wurzelkaries am häufigsten an der Schmelz-Zement-Grenze entwickelt, erfolgte die Probenentnahme an

der bukkalen und lingualen Fläche der zervikalen Region des Zahnes. Schmelz und Zement wurden anschließend unter dem Lichtmikroskop entfernt. Die Anzahl von Dentinkanälchen im Kronenbereich wird in der Literatur mit $42.000/\text{mm}^2$ beziffert [59]. Im zervikalen Bereich der Wurzel beträgt die Dichte der Dentinkanälchen $50.000 - 34.000/\text{mm}^2$ und sinkt im apikalen Bereich auf $10.000 - 7.000/\text{mm}^2$ [25]. Die Streuung innerhalb einer Probe aus der Wurzel hätte durch die heterogene Ausgangssituation die Auswertung der Ergebnisse erschwert. Zudem können im Kronendentin durch die erhöhte Löslichkeit und durch die bedeutend höhere Permeabilität im Vergleich zu Wurzelentin Auflösungsprozesse schneller erfolgen. Dies war in unserer Versuchsanordnung von Vorteil, da die Versuchsdauer drei Wochen betrug, um den Probanden nicht zu lange durch das Tragen der Prothese zu beeinträchtigen. In der Literatur wird ein Versuchszeitraum von drei Wochen als ausreichend befunden [62]. Die Auswaschphasen mit einer Dauer von einer Woche zwischen den jeweiligen Versuchsabschnitten richteten sich in unserer Studie nach Untersuchungsergebnissen von Dunipace et al.. Diese kamen zu dem Ergebnis, dass die Fluoridkonzentration im Speichel nach ein- und vierwöchiger Anwendung fluoridfreier Zahnpasta vergleichbar waren [38].

In unserer Studie wurden die Dentinproben ausschließlich aus humanen Zähnen gewonnen. In der Literatur werden sowohl humane als auch bovine Zahnhartsubstanzen zu Untersuchungszwecken verwendet. Für Zero stellen humane Zahnhartsubstanzen für *In-situ*-Studien die erste Wahl dar, weil die Ergebnisse die stärkste Aussagekraft im Bezug auf die klinische Relevanz zulassen [174]. Dennoch liegt der entscheidende Nachteil humaner Zahn-

hartschubstanz in ihrer erschwert Standardisierbarkeit, die sich auf interindividuelle Unterschiede zurückführen lässt [117]. Bovine Zähne haben den Vorteil, dass sie im Vergleich zu menschlichen Zähnen leichter aquirierbar sind, eine einheitlichere Zusammensetzung aufweisen. Dadurch lassen sie Ergebnisse mit niedrigerer Streuung erzielen. Zudem lassen sich Proben aus bovinen Zähnen aufgrund ihrer im Vergleich zu humanen Zähnen größeren und flacheren Oberfläche leichter entnehmen. Im Gegensatz zur etablierten Verwendung von bovinem Schmelz [117, 174] besteht in der Literatur bezüglich bovinem Dentin als Ersatz von humanem aufgrund möglicher struktureller und chemischer Differenzen noch kein einheitlicher Konsens. Bovines Dentin ähnelt dem menschlichen zwar, unterscheidet sich jedoch auch in einigen wichtigen Aspekten von ihm. So konnten Esser et al. bei bovinen Zahnhartschubstanzen eine erheblich höhere Vickershärte, Bruchfestigkeit und Bruchzähigkeit als bei humanen Zahnhartschubstanzen feststellen [48]. Hara konnte in seiner Studie auch eine erhöhte Mikrohärte von gesundem humanem Dentin im Vergleich zu bovinem Dentin feststellen [66]. Arends et al. wiesen im bovinem Dentin eine erhöhte Porosität nach [5]. Nach Schilke et al. bestehen zwischen bovinem und humanem Wurzelentin Unterschiede in Anzahl, Größe und Dichte der Dentintubuli [147]. Diese strukturellen Unterschiede hätten auf die klinische Aussagekraft dieser Studie einen negativen Einfluss nehmen können. Um die Streuung der Ergebnisse zu minimieren und die Standardisierbarkeit zu erhöhen, wurden zur Probengewinnung nur untere Weisheitszähne verwendet. Alle verwendeten Zähne stammten von Patienten aus einer Region. Ein weiterer wichtiger Aspekt, der gegen die Verwendung boviner Zahnhartschubstanzen in *In-situ*-Studien spricht, ist das Vorkommen der Bovinen Spongiformen Enzephalopathie (BSE) [30]. Die Übertragung dieser Erkan-

kung erfolgt nach heutigen Vermutungen durch atypische Eiweißkörper, sogenannte Prione, die weder durch Bestrahlung, Erhitzung noch durch chemische Sterilisation eliminiert werden können [163]. Dabei besteht heute der Verdacht, dass der Verzehr von BSE-infiziertem Fleisch die neue Variante der tödlich verlaufenden Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (heute als vCJD bekannt) beim Menschen hervorrufen kann.

6.1.2 Erzeugung kariöser Läsionen

Die Dentinproben wurden während des gesamten Untersuchungsintervalls der Mundhöhle des Probanden ausgesetzt, um natürliche Kariesläsionen zu erzeugen und die karieshemmende Wirkung der untersuchten Produkte zu vergleichen. Mehrere *In-vitro*-Studien bedienen sich chemisch hergestellter Säure-Pufferlösungen um natürliche De- und Remineralisierungsprozesse der Karies zu simulieren [176, 164, 83, 16, 95]. In der Mundhöhle herrschen jedoch viel komplexere Bedingungen vor, wie die Präsenz von Bakterien unterschiedlicher Spezies, enzymatische proteolytische Aktivitäten, Speichelfunktionen und Plaqueansammlungen. Die Karies ist eine Erkrankung multifaktorieller Genese und ihr Verlauf ist durch Phasen der Stagnation, Remission und Progression gekennzeichnet [70]. Künstlich hergestellte De- und Remineralisierungsprozesse vermögen diese komplexen Verhältnisse kaum zu rekonstruieren und können daher nur eine Annäherung an die *In-vivo*-Verhältnisse darstellen.

Im Gegensatz zu Schmelz basieren Zerstörungsprozesse im Dentin nicht allein auf Auflösungserscheinungen innerhalb des Apatits, sondern auch auf der enzymatischen Spaltung kolla-

gener Matrix durch proteolytische Enzyme [29]. Während *in vitro* aufgereinigte, bakterielle Kollagenasen meist einer Bakterienart den Untersuchungslösungen zugegeben werden [95], konnten *in vivo* eine Vielzahl von Enzymen unterschiedlicher Herkunft nachgewiesen werden, die am Abbau der organischen Substanz beteiligt sein können. So beschrieb Suido et al. 1986 die Absonderung proteolytischer Enzyme aus Mikroorganismen [160], die nach Larmas et al. die proteolytische Aktivität innerhalb kariöser Läsionen bedingen [99]. Duroux und Cimasoni wiesen Proteasen in der Flüssigkeit des Saumepithels und Dumas et al. Proteasen aus menschlichen Zähnen nach, die bei Säureexposition aktiviert werden [39, 36]. Das Fehlen oder die einseitige proteolytische Aktivität eines der chemischen Demineralisationslösung zugesetzten isolierten Enzyms könnte die Ergebnisse von *In-vitro*-Studien verfälschen, da der enzymatische Abbau organischen Materials das Demineralisationsverhalten und das Muster des Dentins beeinflusst. Die alleinige Demineralisierung des Dentins durch Säuren führt zudem lediglich zu einer Vergrößerung seiner Struktur und erscheint als eine porösere Form des gesunden Dentins [95].

Da die Dentinproben in unserer Studie aus extrahierten und damit biologisch inaktiven Zähnen gewonnen wurden, muss einschränkend erwähnt werden, dass protektive und defensive Mechanismen des Dentins in Einheit mit der Pulpa in unserem Versuch nicht miteinbezogen werden konnten. Kariesläsionen werden sich daher *in vivo* möglicherweise langsamer als in unserem Versuch entwickeln. *In-situ*-Studien ermöglichen jedoch im Gegensatz zu *In-vivo*-Studien die quantitative Messung der Ausgangs- und Endwerte und die schnellere Verfügbarkeit von Ergebnissen. Daher werden für De- sowie Remineralisierungsstudien

In-situ-Modelle den *In-vivo*- und *In-vitro*-Modellen vorgezogen.

6.1.3 Trageanweisung

Die Dentinproben wurden während der Versuchsperioden von jeweils drei Wochen permanent dem Mundhöhlenmilieu des Probanden ausgesetzt. Nur für die Dauer von täglich drei Mahlzeiten wurde die Prothese zur Simulation einer kohlenhydratreichen Nahrung in eine zehnprozentige Glucoselösung gelegt. Diese Versuchsanordnung diente dem Komfort des Probanden und dem mechanischen Schutz der Prothesenkonstruktion. Darüber hinaus wurde so eine standardisierte Nahrungsmittelaufnahme simuliert, da die Fermentierung von Kohlenhydraten und im Besonderen die von Glucose in der Kariesentstehung und deren Progression eine entscheidende Rolle spielt [169].

Die Fluoridierung der Dentinproben erfolgte in der zweiten Gruppe mit Meridol Mundspüllösung, die 250 ppm Fluorid enthält. Dabei stammen 125 ppm aus Aminfluorid und 125 ppm aus Zinnfluorid. Die dritte Gruppe wurde mit Colgate Duraphat behandelt. Hier betrug der Fluoridgehalt 5000 ppm in Form von Natriumfluorid. Um eine allseitige Benetzung der Dentinproben mit der entsprechenden Fluoridlösung zu gewährleisten, wurden die Proben in der Trageprothese außerhalb der Mundhöhle fluoridiert. Die Fluoridierungsdauer betrug genau eine Minute. Dies entsprach zum einen den Anwendungsempfehlungen des Herstellers und zum anderen konnte Watson et al. in seiner Studie zeigen, dass eine Expositionsdauer von mindestens 30 Sekunden notwendig ist, um die Penetration von

Fluorid in die Bakterienzelle und damit seinen inhibitorischen Effekt auf den Metabolismus kariogener Mikroorganismen zu ermöglichen [171]. Da die Fluoridaufnahme in Plaque und Zahnhartgewebe auch eine Funktion der Applikationsdauer darstellt, die mit verlängerter Expositionsdauer steigt [171], wurde in jedem Untersuchungsintervall strengstens auf die Einhaltung der Kontaktzeit geachtet. Eine verkürzte oder verlängerte Kontaktzeit der Dentinproben hätte zur Verfälschung der Ergebnisse führen können. Im Anschluss an die Fluoridierung wurden die Proben fünf Sek. lang unter fließendem Wasser abgespült. Dies war besonders bei der Versuchsgruppe mit der 5000 ppm Zahnpasta notwendig, da die Viskosität der Lösung und damit die Benetzung der Dentinoberflächen dauerhafter als bei der 250 ppm Mundspüllösung gewesen wäre. Die längere Benetzung der Proben hätte zu unterschiedlichen Resultaten geführt, da die Fluoridaufnahme mit der Dauer der Applikation steigt [157].

6.1.4 Probandengut

In der Literatur stellen die interindividuellen Unterschiede zwischen verschiedenen Probanden in Ergebnissen von *In-situ*-Studien die größte Variable dar [118]. Aus diesem Grund wurden in dieser Studie alle drei Versuchsdurchläufe, in der jeweils drei unterschiedliche Produkte angewendet wurden, von nur einem Probanden durchgeführt. Die täglichen Produktanwendungen wurden von der Autorin der Studie selbst durchgeführt. So konnten die Streuungen der Ergebnisse, die aus der unterschiedlichen Compliance und unterschiedlichen Mundflora mehrerer Probanden resultieren würden, eliminiert werden.

6.1.5 Methoden zur Auswertung des Mineralverlustes

Nach Abschluss der Versuchsdurchführung erfolgte die Auswertung der Dentinproben mit Hilfe der transversalen Mikroradiographie. Diese stellt ein Verfahren dar, welches sich im Besonderen zur Quantifizierung des Mineralgehalts in Zahnhartsubstanzen eignet. Sie ermöglicht die Analyse initialer Kariesläsionen, indem sie Mineralverlust und Läsionstiefe ermittelt. Arends und ten Bosch untersuchten 1992 neun verschiedene Methoden zur quantitativen und qualitativen Erfassung von Mineralverlust und Läsionstiefe. Dabei verglichen sie die transversale, die longitudinale Mikroradiographie, die Mikrohärtemessung, die wellenlängenunabhängige Mikroradiographie, die Analyse mittels polarisiertem Licht, chemische Verfahren, Iodid-Adsorption und Iodid-Permeabilität und die Methode der Lichtstreuung. Dabei bewerteten sie die TMR und die chemische Analyse als die genauesten und praktikabelsten Methoden für die direkte quantitative Analyse. Sie ermöglicht eine verlässliche Bestimmung des Mineralgehaltes und seiner räumlichen Verteilung. Als nachteilig bewerten die Autoren den hohen Zeitaufwand und die Destruktivität der Methode, da die Analyse der Proben mit deren Zerstörung einhergeht [8]. Die Messungenauigkeit der TMR wird für die Läsionstiefe mit fünf Mikrometer und für den Mineralverlust mit $140 \text{ Vol } \% \times \mu\text{m}$ angegeben. Da die TMR in zahlreichen weiteren vergleichbaren Studien ebenfalls als Messmethode eingesetzt wurde, erschien es für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse sinnvoll, dieselbe Methode zu gebrauchen, die den Goldstandard zur Erfassung von De- und Remineralisationsprozessen darstellt.

6.1.6 TMR = Transversale Mikroradiographie

Bei der Transversalen Mikroradiographie wird der Mineralverlust durch die Messung der Absorption von monochromatischer Röntgenstrahlung durch eine Probe (Zahnhartsubstanz, Knochen) im Vergleich zu der Absorption eines Standards erfasst. Dieses erstmals von Thewlis 1940 [166] eingeführte und 1963 durch Angmar [4] modifizierte und weiterentwickelte Messverfahren stellt eine zur Quantifizierung des Mineralgehaltes etablierte Möglichkeit dar, welche exakte quantitative Aussagen über Veränderungen der Mineraldichte in Zahnhartsubstanzen zulässt. Dabei erfordert die Vermessung der zu untersuchenden Proben zunächst die Anfertigung von Dünnschnitten in einer Dicke von 80 - 100 μm für Schmelz und bis ca. 200 μm für Dentin [32]. Die Zahndünnschliffe werden planparallel zur Oberfläche geschnitten und im rechten Winkel zur anatomischen Zahnoberfläche ausgerichtet. Im Anschluss daran werden mikroradiographische Bilder jeder zu messenden Probe hergestellt. Dazu erfolgt die Bestrahlung der Dünnschnitte mit monochromatischen Strahlen einer Cu-K alpha Röntgenquelle, welche zusammen mit einer mitbelichteten Aluminiumeichtreppe auf einen hochempfindlichen holographischen Film abgelichtet werden [8]. Da demineralisierte Bereiche innerhalb eines Dünnschnittes über eine geringere Röntgenopazität verfügen, werden die Röntgenstrahlen bei Durchdringung der Materie weniger stark geschwächt, und daher in einer dunkleren Färbung auf dem Film abgelichtet. Dabei dienen die Graustufen der mitbelichteten Aluminiumeichtreppe als Referenz, auf deren Basis die quantitative Auswertung der Dentinprobe durch Vergleich der Schwärzung bezüglich Läsionstiefe in μm und Mineralverlust $\text{Vol } \% \times \mu\text{m}$ vorgenommen werden kann. Die Digi-

talisierung des Mikroradiogramms erfolgt mit einem an einen Computer angeschlossenen Stereomikroskop mit CCD-Videokamera, welche die optische Dichte des Mikroradiogramms erfasst. Mit Hilfe der TMR-Software erfolgt die Weiterverarbeitung der Mikroradiogramme und so die graphische Darstellung der zwei Hauptparameter, der Läsionstiefe L_d (μm) und des Mineralverlustwertes Z (in $\text{Vol } \% \times \mu\text{m}$ oder $\text{kg} \times \text{m}^{-2}$). Anhand der Graphik wird die Läsionstiefe (L_d) durch die Distanz zwischen der äußeren Oberfläche der Probe und dem Punkt, an dem der Mineralgehalt wieder 95 % beträgt, ermittelt. Der Mineralverlustwert (Z) ist die Differenz der Integrale zwischen dem Mikroradiogramm der behandelten Probe und der Referenzprobe [7, 35].

6.2 Ergebnisse

In unserer Studie konnte die einmal tägliche Anwendung eines Fluoridpräparates in einer Konzentration von 5000 ppm den Mineralverlust signifikant reduzieren. Dieses Ergebnis unterstützt die bisherigen Erkenntnisse zur karieshemmende Wirkung von Fluorid auf Dentin in der Literatur. Rosen et al. bewies als erster *in vivo* den karieshemmenden Effekt von oberflächlich angewendetem Fluorid auf die Wurzelkaries [141]. Nach unserer Kenntnis gibt es bisher keine Studien mit einer zu dieser Studie vergleichbaren Versuchsanordnung, die *in situ* die Läsionsentwicklung auf menschlichem Dentin in Gegenwart von Fluorid und ohne initiale Vordemineralisierung untersuchen. Studien mit vergleichbaren Teilaspekten bestätigen jedoch die kariespräventive Wirkung von Fluorid [50, 34, 77, 58, 5].

In der Literatur werden im wesentlichen zwei Wirkungsmechanismen für die karieshemmende Wirkung von Fluorid auf Dentin diskutiert. Sowohl eine Reduktion der Demineralisierung als auch eine Förderung der Remineralisierung wurden experimentell nachgewiesen. Feagin und Graves verglichen *in vitro* das Demineralisationsverhalten von Wurzeloberflächen unter Zusatz von Fluorid. Dabei beobachteten sie, dass Fluorid den Mineralverlust konzentrationsabhängig hemmt und ein lineares Verhältnis zwischen der Abnahme der Demineralisierung und dem natürlichen Logarithmus der Fluoridionenkonzentration besteht [50]. Dabei wird der demineralisierungshemmende Effekt der Ausbildung einer calciumfluoridähnlichen Deckschicht zugeschrieben. So konnte Ögard in einer experimentellen Studie nach Applikation hoch konzentrierter Fluoridkonzentrationen die Ausbildung einer kompakten Calciumfluoriddeckschicht (clogging) an der Grenzfläche Zahnhartsubstanz und Mundmilieu beobachten [140]. Dabei vermag Dentin aufgrund seiner im Vergleich zu Schmelz erhöhten Porosität, Permeabilität und Wassergehalt sowie kleineren Kristalliten größere Mengen an Fluorid anzureichern [168]. Nach Hellwig et al. entspricht der Anteil an KOH-löslichem Fluorid an der gesamten Menge des an der Zahnoberfläche gebundenen Fluorids 75 %, das bis zu 30 μm unterhalb der Oberfläche nachweisbar ist [70]. Dabei erfolgt die Ablagerung von calciumfluoridähnlichen Präzipitaten in das Dentin in Form von kleinen globuliartigen Partikel sowohl im peri-, intra- als auch intertubulären Dentin [103, 124]. *In vivo* können diese Schichten als eine Art Fluoridreservoir dienen, aus dem während eines kariogenen Angriffes Fluoridionen freigesetzt werden, die sich um die Kristalle anlagern und so die Löslichkeit der Zahnhartsubstanzen herabzusetzen vermögen, indem sie der Zahnhartsubstanz fluorapatitähnliche Eigenschaften verleihen [70]. Dabei

sind die Calciumfluoriddeckschichten, die sich bei niedrigen pH-Wert gebildet haben, weniger löslich und dadurch als Reservoir beständiger als jene, die bei sich bei höherem pH-Wert ausgebildet haben [27].

Das Ausmaß der Karieshemmung eines Fluoridpräparates ist nach Tveit und Halse auch von der jeweiligen Fluoridkonzentration abhängig [168]. Saxegaard und Rølla erkannten die Abhängigkeit der Ausbildungsmenge des Fluoridpräzipitats von der verwendeten Fluoridkonzentration des Fluoridpräparates [145]. Dies konnte auch in einer Studie von Cruz et al. bestätigt werden, die die Beobachtung machten, dass sich mit zunehmender Fluoridkonzentration signifikant höhere Calciumfluoriddeckschichten ausbilden [31]. Baysan konnte in seiner Studie zeigen, dass bei der Anwendung einer 5000 ppm Fluoridkonzentration im Vergleich zu einer 1100 ppm Fluoridkonzentration signifikant mehr initiale Wurzelkariesläsionen remineralisieren [13]. Diese Erkenntnis konnte auch von Alqvist und Lagerlöf bestätigt werden, die in ihrer Studie zeigen konnten, dass die tägliche Anwendung von Fluoridlösungen in Form von Spülungen, das Entstehen von Wurzelkariesläsionen verhindern konnte und das Ausmaß der Hemmung proportional mit ansteigender Fluoridkonzentration stieg [3].

Da in unserer Studie die intraorale Apparatur drei Wochen lang der Mundhöhle des Patienten ausgesetzt wurde, erfolgte auch eine Anlagerung dentaler Plaque auf den Dentinproben. Aus mehreren Studien geht hervor, dass die Anreicherung von Fluorid nach lokaler Applikation auch in der Plaque erfolgt [24, 116, 175] und sich das Ausmaß der Kariesaktivität umgekehrt proportional zu der Fluoridkonzentration in der Plaque verhält [60]. Das be-

deutete, dass neben der Zahnhartsubstanz auch die adhäsive Plaque als Fluoridreservoir dienen kann, aus der während eines Säureangriffs Fluorid freigesetzt wird.

Fluorid vermag das Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisierung in Richtung Remineralisierung zu verschieben [51, 104, 123]. Im Gegensatz zur Demineralisation wurde für die Remineralisation keine klare Konzentrations-Wirkungsbeziehung von Fluorid auf Dentin gefunden [77, 5]. Heilmann machte in seiner Studie die Beobachtung, dass Läsionen aus Demineralisationslösungen mit Fluoridzusatz in einer Remineralisationslösung mit konstanter Fluoridkonzentration stärker remineralisieren als Läsionen, die ohne Fluorid entstanden sind [69]. Ausschlaggebend für die Remineralisierung ist auch das Ausmaß der initialen Läsion. Sie wird vom verbliebenen Mineral, der verbliebenen organischen Matrix sowie von der Dentinstruktur beeinflusst [5]. Dabei kann die Induktion von Remineralisierungsprozessen nur in Anwesenheit von Fluorid und nur auf verbliebener anorganischer Matrix erfolgen [28]. Die durch die Demineralisation freigelegte organische Matrix kann als Diffusionsbarriere wirken und den Ionenaustausch in und aus dem Demineralisationsbezirk beeinflussen [97]. Demzufolge bestimmt das Ausmaß der Demineralisierung die Ausgangsbedingung für die Remineralisierung. Dies konnte auch Schüpbach in seiner Studie bestätigen. Er kam zu dem Ergebnis, dass vor allem die Schwere der Läsion das spätere Remineralisationsmuster beeinflusst, welches in unterschiedlichen Schichten der Läsion stattfindet [154]. Dieser Zusammenhang kann als Erklärung für die höhere Effektivität der 5000 ppm Fluoridkonzentration im Vergleich zur 250 ppm Fluoridkonzentration dienen. Die stärkere Wirksamkeit der höheren Fluoridkonzentration bedingt eine größere Demi-

neralisationshemmung, welche wiederum in einem geringeren Mineralverlust und einer geringeren Läsionstiefe resultiert. So liegen dann auch für die Remineralisierung der Läsion bessere Voraussetzungen vor. Kawasaki et al. machten die Beobachtung, dass Remineralisierungsprozesse vom Mineralgehalt und der Mineralverteilung innerhalb der ersten 50 μm der Läsion abhängig sind. Unterminierende Läsionen mit gut mineralisierter Oberfläche führen bei hoher Fluoridzufuhr zur Hypermineralisierung der Oberfläche und verhindern die Remineralisierung tieferer Schichten [91]. Unsere Studie lässt die Schlussfolgerung zu, dass die einmal tägliche Anwendung einer Fluoridkonzentration von 5000 ppm in einer Zahnpasta die Läsionsentwicklung innerhalb des Dentins für drei Wochen zwar verringern kann, sie jedoch nicht vollständig zu verhindern vermag und dass die Anwendung von 5000 ppm gegenüber der 250 ppm Fluoridkonzentration den Mineralverlust und die Läsionstiefe effektiver vermindert. Obwohl die Dentinproben in unserer Studie in der sublingualen Region getragen wurden und dadurch während des gesamten Versuchsablaufes mit Speichel umspült waren, konnte auch bei der täglichen Anwendung einer 5000 ppm Fluoridkonzentration in einem Zeitraum von drei Wochen die Läsionsentwicklung nicht verhindert werden. Wie der Mineralverlust wurde die Läsionstiefe durch die Anwendung von 5000 ppm Fluorid in unserer Studie im Vergleich zu 0 ppm und 250 ppm signifikant reduziert. Jedoch konnte die einmal tägliche Anwendung einer 250 ppm Mundspüllösung die Läsionstiefe und den Mineralverlust verglichen mit der Placeboanwendung nicht signifikant vermindern. Nach Herkströter et al. werden zur Remineralisation von Wurzelkaries im Vergleich zu Schmelzkaries höhere Konzentrationen an Fluorid benötigt [72] und nach Arends et al. sowie Featherstone et al. ist für die Inaktivierung eine zehnfach höhere Fluorid-

ridkonzentration als für Schmelzläsionen erforderlich [52, 73]. Baysan et al. verglichen in einer klinischen Studie mit 201 Patienten die Wirksamkeit einer drei Monate angewendeten 5000 ppm Fluoridzahnpaste mit der eines 1100 ppm Fluoridgels auf ihre jeweilige Fähigkeit aktive in arretierte Wurzelkariesläsionen zu überführen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass nach drei Monaten 38 % der mit 5000 ppm und nur 10 % der mit 1100 ppm Fluorid behandelten Läsionen eine harte Oberfläche aufwiesen [13]. Shay et al. empfahlen zur Behandlung von Wurzelkaries eine Fluoridkonzentration von 5000 ppm [155]. Emilson et al. behandelten über einen Zeitraum von einem Jahr 15 Patienten mit aktiven Wurzelkariesläsionen mit Fluoridierung sowie professioneller Zahnreinigung. Die Autoren machten die Beobachtung, dass die frühzeitige Behandlung freiliegender Wurzeloberflächen mit intensiver Fluoridierung nach zuvor erfolgter professioneller Zahnreinigung die Läsionsentwicklungen erfolgreich verhindern kann [47]. Zaura et al. berichteten, dass Fluorid den Mineralverlust in Dentin hemmt, die Läsionstiefe jedoch nicht beeinflusst. Zaura et al. schlagen zur Interpretation dieser Ergebnisse folgenden Mechanismus vor: Das applizierte und gelöste Fluorid hemmt die Demineralisation und wird in die durch den Säureangriff exponierten außenliegenden Dentinkristalle eingebaut. Hierdurch kann weniger Fluorid in die tieferen Regionen des Dentins diffundieren. Gleichzeitig wird bei einem Säureangriff an der fluoridierten Oberfläche weniger Hydroxylapatit aufgelöst und so auch nur ein geringerer Teil der Säure an der Oberfläche neutralisiert. Die Säure kann tiefere Schichten des Dentins erreichen, die nicht durch Fluorid geschützt sind [173].

6.3 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die demineralisierungshemmende Wirkung einer 5000 ppm Fluoridzahnpaste auf die Demineralisation von menschlichem Dentin untersucht. Zu diesem Zweck wurden aus retinierten unteren dritten Molaren Dentinproben gewonnen. Jeweils 15 Dentinproben wurden in jeweils drei herausnehmbaren Apparaturen ca. einen Millimeter unterhalb der Prothesenoberfläche inseriert um eine ausreichende und regelmäßige Plaqueakkumulation zu ermöglichen. Mit Hilfe eines Probanden der die Apparatur 24 Stunden am Tag trug, wurden Untersuchungen über einen Zeitraum von drei Mal drei Wochen durchgeführt. Während der Versuchsdurchläufe wurden die Dentinproben mit den jeweiligen Testprodukten einmal am Tag behandelt. Nach Abschluss aller drei Versuchsdurchläufe erfolgte die mikroradiographische Analyse und Auswertung aller Proben hinsichtlich der Läsionstiefe und des Mineralverlustes mittels TMR. Die Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet. Die Läsionstiefe konnte mit der Anwendung der 5000 ppm Fluoridzahnpaste im Vergleich zur 250 ppm Fluoridmundspüllösung und Aqua dest. signifikant gehemmt werden. Bezüglich des Mineralverlustes ergab sich ein signifikanter Unterschied der 5000 ppm Fluoridzahnpaste zu der 250 ppm Mundspüllösung und der Kontrollgruppe. Es gab keinen statistischen Unterschied in der Läsionstiefe und des Mineralverlustes zwischen 250 ppm und 0 ppm. Die Ergebnisse dieser *In-situ*-Studie zeigen, dass der Gebrauch einer 5000 ppm Fluoridzahnpaste den Mineralverlust und die Läsionstiefe auf freiliegendem Dentin zu reduzieren vermag.

6.4 Summary

The aim of the current study was to examine the inhibitory effect of a 5000 ppm fluoride containing toothpaste on the demineralization of human dentin specimen. The dentin specimen were obtained from impact third molars. Fifteen specimen at a time were inserted in three removable test appliances about 1 mm below the surface of the appliance to allow sufficient and uniform plaque accumulation. Each of the removable appliances was worn by a volunteer 24 hours a day for three consecutive weeks. During the trial period the dentin specimen were treated with the designated test products once a day. Hereafter a microradiographic analysis was conducted to evaluate the specimen with regard to lesion depth and mineral loss by aid of TMR. The results were then evaluated statistically. The use of a 5000 ppm fluoride containing toothpaste significantly inhibited the progress of lesion depth compared to a 250 ppm fluoride containing mouth rinse or distilled water. Furthermore mineral loss was also significantly reduced by a 5000 ppm fluoride toothpaste in comparison to a 250 ppm fluoride mouth rinse and the control group. On the other hand there was no significant difference regarding lesion depth or the mineral loss between 250 ppm and distilled water. The results obtained from the current *in-situ-study* exhibit that the application of a 5000 ppm fluoride toothpaste may reduce the loss of mineral and the progression of lesion depth when applied on exposed dentin.

6.5 Ausblick

In dieser *In-situ*-Studie konnte gezeigt werden, dass die einmal tägliche Anwendung einer 5000 ppm Natriumfluorid Zahnpasta die Läsionstiefe und den Mineralverlust von Dentin stärker zu hemmen vermochte als die einer 250 ppm Aminfluorid Mundspüllösung. Den Ergebnissen zufolge könnte die Verwendung von 5000 ppm Fluorid eine geeignete Prophylaxe der Wurzelkaries bei freiliegenden Dentin darstellen. Die begrenzte Aussagekraft der Ergebnisse dieser *In-situ*-Studie sollten in weiterführenden größer angelegten klinischen Studien mit größeren Probandengruppen bezüglich dieser Arbeitshypothese überprüft und vertieft werden.

Literaturverzeichnis

- [1] ADDY, M. *Antiseptics in Periodontal Therapy. In Clinical Periodontology and Implantat Dentistry. Eds. J. Lindhe, T. Karring, N.P. Lang. 3rd edition.* Munksgaard, Copenhagen, 1997.
- [2] AGEMATSU, H., SAWADA, T., WATANABE, H., YANAGISAWA, T., AND IDE, Y. Immuno-scanning electron microscope characterization of large tubules in human deciduous dentin. *Anat Rec 248*, 3 (1997), 339–45.
- [3] ALMQVIST, H., LAGERLOF, F., AND ANGMAR-MANSSON, B. Automatic pH-cycling caries model applied on root hard tissue. *Caries Res 24*, 1 (1990), 1–5.
- [4] ANGMAR, B., CARLSTROM, D., AND GLAS, J. E. Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel. *J Ultrastruct Res 8* (1963), 12–23.
- [5] ARENDS, J., CHRISTOFFERSEN, J., RUBEN, J., AND JONGEBLOED, W. L. Remineralization of bovine dentine in vitro. The influence of the F content in solution on mineral distribution. *Caries Res 23*, 5 (1989), 309–14.
- [6] ARENDS, J., DIJKMAN, T., AND CHRISTOFFERSEN, J. Average mineral loss in dental enamel during demineralization. *Caries Res 21*, 3 (1987), 249–54.
- [7] ARENDS, J., NELSON, D. G. A., DIJKMAN, A. G., AND JONGEBLOED, W. L. Effect of various fluorides on enamel structure and chemistry. In: *Cariology Today, Int. Congr. Zürich. Karger Basel* (1984), 245–258.
- [8] ARENDS, J., AND TEN BOSCH, J. J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res 71 Spec No* (1992), 924–8.
- [9] ASSOCIATION, C. D. Proceedings of the consensus conference of the canadian dental association (1997) - appropriate use of fluoride supplements for the prevention of dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol 27* (1999).

- [10] BANTING, D. W., AND COURTRIGHT, P. N. Distribution and natural history of carious lesions on the roots of teeth. *Dent J* 41, 1 (1975), 45–9.
- [11] BANTING, D. W., ELLEN, R. P., AND FILLERY, E. D. Prevalence of root surface caries among institutionalized older persons. *Community Dent Oral Epidemiol* 8, 2 (1980), 84–8.
- [12] BAUME, L. J. Allgemeine Grundsätze für eine internationale Normung der Kariesstatistiken. *Int Dent J* 12 (1962), 279–289.
- [13] BAYSAN, A., LYNCH, E., ELLWOOD, R., DAVIES, R., PETERSSON, L., AND BORSBOOM, P. Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5,000 and 1,100 ppm fluoride. *Caries Res* 35, 1 (2001), 41–6.
- [14] BEIGHTON, D., AND LYNCH, E. Comparison of selected microflora of plaque and underlying carious dentine associated with primary root caries lesions. *Caries Res* 29, 2 (1995), 154–8.
- [15] BEIGHTON, D., LYNCH, E., AND HEATH, M. R. A microbiological study of primary root-caries lesions with different treatment needs. *J Dent Res* 72, 3 (1993), 623–9.
- [16] BETKE, H., SCHICK, U., BUCHALLA, W., HELLWIG, E., AND ATTIN, T. [Influence of the buffer capacity of amine fluoride-containing toothpastes and gels in enamel erosion]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 113, 11 (2003), 1158–64.
- [17] BIBBY, B. G., AND VAN KESTEREN, M. The effect of fluorine on mouth bacteria. *J Dent Res*. 19 (1940), 391–402.
- [18] BILLINGS, R. J. Restoration of carious lesions of the root. *Gerodontology* 5, 1 (1986), 43–9.
- [19] BLACK, G. V., AND MCKAY, F. S. Mottled teeth: An endemic developmental imperfection of the enamel of the teeth, hertoforce unknown in the literature of dentistry. *Dent Cosmos* 58 (1916), 129.

- [20] BONESVOLL, P., AND GJERMO, P. A comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque-inhibiting effect in the human mouth after mouth rinses. *Arch Oral Biol* 23, 4 (1978), 289–94.
- [21] BRADSHAW, D. J., MARSH, P. D., HODGSON, R. J., AND VISSER, J. M. Effects of glucose and fluoride on competition and metabolism within in vitro dental bacterial communities and biofilms. *Caries Res* 36, 2 (2002), 81–6.
- [22] BRAILSFORD, S. R., SHAH, B., SIMONS, D., GILBERT, S., CLARK, D., INES, I., ADAMS, S. E., ALLISON, C., AND BEIGHTON, D. The predominant aciduric microflora of root-caries lesions. *J Dent Res* 80, 9 (2001), 1828–33.
- [23] BRATTHALL, D., HANSEL-PETERSSON, G., AND SUNDBERG, H. Reasons for the caries decline: What do the experts believe? *Eur J Oral Sci* 104, 4 (Pt 2) (1996), 416–22; discussion 423–5, 430–2.
- [24] BROWN, L. R., BILLINGS, R. J., AND KASTER, A. G. Quantitative comparisons of potentially cariogenic microorganisms cultured from noncarious and carious root and coronal tooth surfaces. *Infect Immun* 51, 3 (1986), 765–70.
- [25] CARRIGAN, P. J., MORSE, D. R., FURST, M. L., AND SINAI, I. H. A scanning electron microscopic evaluation of human dentinal tubules according to age and location. *J Endod* 10, 8 (1984), 359–63.
- [26] CHRISTENSEN, G. J. A new challenge root caries in mature people. *J Am Dent Assoc* 127, 3 (1996), 379–80.
- [27] CHRISTOFFERSEN, J., CHRISTOFFERSEN, M. R., KIBALCZYC, W., AND PERDOK, W. G. Kinetics of dissolution and growth of calcium fluoride and effects of phosphate. *Acta Odontol Scand* 46, 6 (1988), 325–36.
- [28] CLARKSON, B. H., FEAGIN, F. F., MCCURDY, S. P., SHEETZ, J. H., AND SPEIRS, R. Effects of phosphoprotein moieties on the remineralization of human root caries. *Caries Res* 25, 3 (1991), 166–73.

- [29] CLARKSON, B. H., HALL, D. L., HEILMAN, J. R., AND WEFEL, J. S. Effect of proteolytic enzymes on caries lesion formation in vitro. *J Oral Pathol* 15, 8 (1986), 423–9.
- [30] CROZET, C., AND LEHMANN, S. Prions: Where do we stand 20 years after the appearance of bovine spongiform encephalopathy? *Med Sci (Paris)* 23, 12 (2007), 1148–57.
- [31] CRUZ, R., NG'ANG'A, P. M., OGAARD, B., AND VALDERHAUG, J. Fluoride acquisition on and in fluorotic human enamel after topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 101, 1 (1993), 5–8.
- [32] DAMEN, J. J., EXTERKATE, R. A., AND TEN CATE, J. M. Reproducibility of TMR for the determination of longitudinal mineral changes in dental hard tissues. *Adv Dent Res* 11, 4 (1997), 415–9.
- [33] DEAN, H. T., JAY, P., JR., F. A. A., AND ELVOVE, E. Domestic water and dental caries. ii. a study of 2832 white children, aged 12-14 years, of 8 suburban chicago communities including lactobacillus acidophilus studies of 1761 children. *Publ Health Rep* 56 (1941), 761–792.
- [34] DERAND, T., LODDING, A., AND PETERSSON, L. G. Effect of topical F- solutions on caries-like lesions in root surfaces. *Caries Res* 23, 3 (1989), 135–40.
- [35] DIJKMAN, A. G., SCHUTHOF, J., AND ARENDS, J. In vivo remineralization of plaque-induced initial enamel lesions. A microradiographic investigation. *Caries Res* 20, 3 (1986), 202–8.
- [36] DUMAS, J., HURION, N., WEILL, R., AND KEIL, B. Collagenase in mineralized tissues of human teeth. *FEBS Lett* 187, 1 (1985), 51–5.
- [37] DUNG, T. Z., AND LIU, A. H. Molecular pathogenesis of root dentin caries. *Oral Dis* 5, 2 (1999), 92–9.
- [38] DUNIPACE, A. J., HALL, A. F., KELLY, S. A., BEISWANGER, A. J., FISCHER, G. M., LUKANTSOVA, L. L., ECKERT, G. J., AND STOOKEY, G. K. An in situ

- interproximal model for studying the effect of fluoride on enamel. *Caries Res* 31, 1 (1997), 60–70.
- [39] DUROUX, P., AND CIMASONI, G. Dentin hypersensitivities and their treatment. A review of the literature. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 101, 10 (1991), 1261–72.
- [40] DUSCHNER, H. Fluorid und seine Reaktionsmechanismen im Biotop Mundhöhle. *Zahnärztl Mitt* 77 (1987), 360–62.
- [41] DUSCHNER, H., AND UCHTMANN, H. Etching behaviour of bovine enamel after the formation of precipitates adhering to the surface. *Caries Res* 22, 2 (1988), 72–5.
- [42] EICK, J. D., GWINNETT, A. J., PASHLEY, D. H., AND ROBINSON, S. J. Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Biol Med* 8, 3 (1997), 306–35.
- [43] EISENMENGER, M., PÖTZSCH, O., SOMMER, B., AND BUNDESAMT, S. Bevölkerung deutschlands bis 2050- 11. koordinierte bevölkerungsvorausberechnung . *Pressee exemplar* (2006), 22–23.
- [44] EKENBACK, S. B., LINDER, L. E., SUND, M. L., AND LONNIES, H. Effect of fluoride on glucose incorporation and metabolism in biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *Eur J Oral Sci* 109, 3 (2001), 182–6.
- [45] EMILSON, C. G. Effect of chlorhexidine gel treatment on *Streptococcus mutans* population in human saliva and dental plaque. *Scand J Dent Res* 89, 3 (1981), 239–46.
- [46] EMILSON, C. G., AND FORNELL, J. Effect of toothbrushing with chlorhexidine gel on salivary microflora, oral hygiene, and caries. *Scand J Dent Res* 84, 5 (1976), 308–19.
- [47] EMILSON, C. G., RAVALD, N., AND BIRKHED, D. Effects of a 12-month prophylactic programme on selected oral bacterial populations on root surfaces with active and inactive carious lesions. *Caries Res* 27, 3 (1993), 195–200.

- [48] ESSER, M., TINSCHERT, J., AND MARXL, R. Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnäztl Z* 53 (1998), 713–717.
- [49] FDI. Klassifizierung epidemiologischer Studien bei der Zahnkaries und Definition verwandter Begriffe. *J Dent Res* 26, 4 (1976), 73.
- [50] FEAGIN, F. F., AND GRAVES, C. N. Evaluation of the effects of F in acidified gelatin gel on root surface lesion development in vitro. *Caries Res* 22, 3 (1988), 145–9.
- [51] FEATHERSTONE, J. D. Fluoride, remineralization and root caries. *Am J Dent* 7, 5 (1994), 271–4.
- [52] FEATHERSTONE, J. D., GLENA, R., SHARIATI, M., AND SHIELDS, C. P. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res* 69 Spec No (1990), 620–5; discussion 634–6.
- [53] FEATHERSTONE, J. D., AND RODGERS, B. E. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res* 15, 5 (1981), 377–85.
- [54] FISCHER, C., LUSSI, A., AND HOTZ, P. The cariostatic mechanisms of action of fluorides. A review. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 105, 3 (1995), 311–7.
- [55] FRANK, R. M., STEUER, P., AND HEMMERLE, J. Ultrastructural study on human root caries. *Caries Res* 23, 4 (1989), 209–17.
- [56] FURE, S. Ten-year cross-sectional and incidence study of coronal and root caries and some related factors in elderly Swedish individuals. *Gerodontology* 21, 3 (2004), 130–40.
- [57] FURE, S., AND ZICKERT, I. Prevalence of root surface caries in 55, 65, and 75-year old swedish individuals. *Community Dent Oral Epidemiol* 18, 2 (1990), 100–5.

- [58] GANSS, C., KLIMEK, J., SCHAFFER, U., AND SPALL, T. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res* 35, 5 (2001), 325–30.
- [59] GARBEROGLIO, R., AND BRANNSTROM, M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 21, 6 (1976), 355–62.
- [60] GAUGLER, R. W., AND BRUTON, W. F. Fluoride concentration in dental plaque of naval recruits with and without caries. *Arch Oral Biol* 27, 3 (1982), 269–72.
- [61] GEHRING, F. Wirkung von Aminfluorid und Natriumfluorid auf Keime der Plaqueflora. *Dtsch Zahnärztl Z* 38 (1983), 36–40.
- [62] GOORHUIS, J., AND PURDELL-LEWIS, D. J. .25 % and 0.4 % amine fluoride gel for weekly topical application. An in vivo study on human dental enamel. *Caries Res* 20, 5 (1986), 458–64.
- [63] GÄNGLER, P. Die Bedeutung der Ätiologie der Karies und der Parodontalerkrankungen für die Strategie der Prävention. *Zahn-, Mund- und Kieferheilkd* 66 (1978), 383–388.
- [64] HAMILTON, I. R. Effects of fluoride on enzymatic regulation of bacterial carbohydrate metabolism. *Caries Res* 11 Suppl 1 (1977), 262–91.
- [65] HAMILTON, I. R. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. *J Dent Res* 69 Spec No (1990), 660–7; discussion 682–3.
- [66] HARA, A. T., QUEIROZ, C. S., LEME, A. F. P., SERRA, M. C., AND CURY, J. A. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 37, 5 (2003), 339–44.
- [67] HAZEN, S. P., CHILTON, N. W., AND MUMMA, R. D. J. The problem of root caries. I. Literature review and clinical description. *J Am Dent Assoc* 86, 1 (1973), 137–44.

- [68] HEIJNSBROEK, M., PARASKEVAS, S., AND DER WEIJDEN, G. A. V. Fluoride interventions for root caries: A review. *Oral Health Prev Dent* 5, 2 (2007), 145–52.
- [69] HEILMAN, J. R., JORDAN, T. H., WARWICK, R., AND WEFEL, J. S. Remineralization of root surfaces demineralized in solutions of differing fluoride levels. *Caries Res* 31, 6 (1997), 423–8.
- [70] HELLWIG, E., KLIMEK, J., AND ATTIN, T. *Einführung in die Zahnerhaltung*. Urban und Fischer, München, 2003.
- [71] HENNESSEY, T. S. Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J Periodontal Res Suppl* 12 (1973), 61–7.
- [72] HERKSTROTTER, F. M., WITJES, M., AND ARENDS, J. Demineralization of human dentine compared with enamel in a pH-cycling apparatus with a constant composition during de- and remineralization periods. *Caries Res* 25, 5 (1991), 317–22.
- [73] HERPEN, B. P. V., AND ARENDS, J. Mineral distributions in enamel after in vivo de- and remineralization. *J Biol Buccale* 15, 3 (1987), 199–204.
- [74] HICKS, J., GARCIA-GODOY, F., AND FLAITZ, C. Biological factors in dental caries: Role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). *J Clin Pediatr Dent* 28, 3 (2004), 203–14.
- [75] HILTON, T. J., SCHWARTZ, R. S., AND FERRACANE, J. L. Microleakage of four Class II resin composite insertion techniques at intraoral temperature. *Quintessence Int* 28, 2 (1997), 135–44.
- [76] HOPPENBROUWERS, P. M., DRIESSENS, F. C., AND BORGGREVEN, J. M. The vulnerability of unexposed human dental roots to demineralization. *J Dent Res* 65, 7 (1986), 955–8.
- [77] HOPPENBROUWERS, P. M., DRIESSENS, F. C., AND BORGGREVEN, J. M. The demineralization of human dental roots in the presence of fluoride. *J Dent Res* 66, 8 (1987), 1370–4.

- [78] HOTZ, P., AND LUSSI, A. Root caries. Its diagnosis and therapeutic principles. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 106, 3 (1996), 248–57.
- [79] HOUTE, J. V., JORDAN, H. V., LARAWAY, R., KENT, R., SOPARKAR, P. M., AND DEPAOLA, P. F. Association of the microbial flora of dental plaque and saliva with human root-surface caries. *J Dent Res* 69, 8 (1990), 1463–8.
- [80] HUGO, W. B., AND LONGWORTH, A. R. The effect of chlorhexidine on the electrophoretic mobility, cytoplasmic constituents, dehydrogenase activity and cell walls of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Pharmacol* 18, 9 (1966), 569–78.
- [81] HUNT, R. J., ELDREDGE, J. B., AND BECK, J. D. Effect of residence in a fluoridated community on the incidence of coronal and root caries in an older adult population. *J Public Health Dent* 49, 3 (1989), 138–41.
- [82] ICHIJO, T., YAMASHITA, Y., AND TERASHIMA, T. Observations of structural features and characteristics of biological apatite crystals. 3. Observation on ultrastructure of human dentin crystals. *Bull Tokyo Med Dent Univ.* 40, 1 (1993), 29–44.
- [83] IMFELD, T., AND SENER, B. Wirkung von Zinnfluorid- gels auf Dentin. Zinnaufnahme und Säurelöslichkeit von menschlichen Dentin nach in vitro Behandlung mit verschiedenen Zinnfluoridgels. *Acta Med Dent Helv.* 3 (1998), 54–59.
- [84] INGMAN, T., SORSA, T., LINDY, O., KOSKI, H., AND KONTTINEN, Y. T. Multiple forms of gelatinases/type IV collagenases in saliva and gingival crevicular fluid of periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 21, 1 (1994), 26–31.
- [85] JENSEN, M. E., AND KOHOUT, F. The effect of a fluoridated dentifrice on root and coronal caries in an older adult population. *J Am Dent Assoc.* 117, 7 (1988), 829–32.
- [86] JOHNSON, M. W., TAYLOR, B. R., AND BERMAN, D. S. The response of deciduous dentine to caries studied by correlated light and electron microscopy. *Caries Res* 3, 4 (1969), 348–68.

- [87] JONES, S. J., AND BOYDE, A. Scanning microscopic observations on dental caries. *Scanning Microsc* 1, 4 (1987), 1991–2002.
- [88] KATZ, R. V., HAZEN, S. P., CHILTON, N. W., AND MUMMA, R. D. Prevalence and intraoral distribution of root caries in an adult population. *Caries Res.* 16, 3 (1982), 265–71.
- [89] KATZ, S., PARK, K. K., AND PALENIK, C. J. In-vitro root surface caries studies. *J Oral Med* 42, 1 (1987), 40–8.
- [90] KAWASAKI, K., AND FEATHERSTONE, J. D. Effects of collagenase on root demineralization. *J Dent Res* 76, 1 (1997), 588–95.
- [91] KAWASAKI, K., RUBEN, J., TSUDA, H., HUYSMANS, M. C., AND TAKAGI, O. Relationship between mineral distributions in dentine lesions and subsequent remineralization in vitro. *Caries Res* 34, 5 (2000), 395–403.
- [92] KELTJENS, H., SCHAEKEN, T., VAN DER HOEVEN, H., AND HENDRIKS, J. Epidemiology of root surface caries in patients treated for periodontal diseases. *Community Dent Oral Epidemiol* 16, 3 (1988), 171–4.
- [93] KEYES, P. H. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. *Arch Oral Biol* 1 (1960), 304–320.
- [94] KIDD, E. A. M., AND FEJERSKOV, O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 83 Spec No C (2004), C35–8.
- [95] KINNEY, J. H., BALOOCH, M., HAUPT, D. L. J., MARSHALL, S. J., AND MARSHALL, G. W. J. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralization. *J Dent Res* 74, 5 (1995), 1179–84.
- [96] KINNEY, J. H., POPLE, J. A., MARSHALL, G. W., AND MARSHALL, S. J. Collagen orientation and crystallite size in human dentin: A small angle X-ray scattering study. *Calcif Tissue Int* 69, 1 (2001), 31–7.

- [97] KLETER, G. A., DAMEN, J. J., EVERTS, V., NIEHOF, J., AND CATE, J. M. T. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. *J Dent Res* 73, 9 (1994), 1523–9.
- [98] KÖNIG, K. G. *Karies und Kariesprophylaxe, 2. Auflage*. W. Goldmann Verlag, München, 1971.
- [99] LARMAS, M. Enzymes in carious human dentine. A histochemical and biochemical study. *Acta Odontol Scand* 30, 5 (1972), 555–73.
- [100] LARSEN, M. J. Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res* 69 Spec No (1990), 575–80; discussion 634–6.
- [101] LARSEN, M. J., AND BRUUN, C. M j larsen and c bruun in: Thylstrup and Fejerskov (eds): Textbook of Cariology. *Munksgaard Textbookl Copenhagen* (1986).
- [102] LARSEN, M. J., AND JENSEN, S. J. Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arch Oral Biol* 39, 1 (1994), 23–7.
- [103] LAUFER, B., MAYER, I., GEDALIA, I., DEUTSCH, D., KAUFMAN, H. W., AND TAL, M. Fluoride-uptake and fluoride-residual of fluoride-treated human root dentine in vitro determined by chemical, scanning electron microscopy and X-ray diffraction analyses. *Arch Oral Biol* 26, 3 (1981), 159–63.
- [104] LO, E. C., SCHWARZ, E., AND WONG, M. C. Arresting dentine caries in Chinese preschool children. *Int J Paediatr Dent* 8, 4 (1998), 253–60.
- [105] LOESCHE, W. J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 50, 4 (1986), 353–80.
- [106] LOHMANN, K., AND MEYERHOF, O. Über die enzymatische Umwandlung von Phosphoglycerinsäure in Brenztraubensäure und Phosphorsäure. *Biochem Z* 237 (1934), 60.

- [107] LUSSI, A., MAURER, R., ZAUGG, HOTZ, P., AND SCHAFFNER, M. Prävalenz und Risikofaktoren der Wurzelkaries. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 111, 4 (2001), 423–432.
- [108] LYNCH, E., AND BEIGHTON, D. A comparison of primary root caries lesions classified according to colour. *Caries Res* 28, 4 (1994), 233–9.
- [109] MACK, F., MOJON, P., BUDTZ-JORGENSEN, E., KOCHER, T., SPLIETH, C., SCHWAHN, C., BERNHARDT, O., GESCH, D., KORDASS, B., JOHN, U., AND BIFFAR, R. Caries and periodontal disease of the elderly in Pomerania, Germany: results of the Study of Health in Pomerania. *Gerodontology* 21, 1 (2004), 27–36.
- [110] MALTZ, M., I, AND KRASSE, B. Effect of intensive treatment with chlorhexidine on number of *Streptococcus mutans* in saliva. *Scand J Dent Res* 89, 6 (1981), 445–9.
- [111] MANJI, F., FEJERSKOV, O., NAGELKERKE, N. J., AND BAELUM, V. A random effects model for some epidemiological features of dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 19, 6 (1991), 324–8.
- [112] MANNOCCI, F., PILECKI, P., BERTELLI, E., AND WATSON, T. F. Density of dentinal tubules affects the tensile strength of root dentin. *Dent Mater* 20, 3 (2004), 293–6.
- [113] MASSLER, M. Pulpal reactions to dental caries. *Int Dent J* 17, 2 (1967), 441–60.
- [114] MCCANN, H. G. The solubility of fluorapatite and its relationship to that of calcium fluoride. *Arch Oral Biol* 13, 8 (1968), 987–1001.
- [115] MCCANN, H. G., AND BULLOCK, F. A. Reactions of fluoride ion with powdered enamel and dentin. *J Dent Res* 34, 1 (1955), 59–67.
- [116] MCNEE, S. G., GEDDES, D. A., WEETMAN, D. A., SWEENEY, D., AND BEELEY, J. A. Effect of extracellular polysaccharides on diffusion of NaF and [14C]-sucrose in human dental plaque and in sediments of the bacterium *Streptococcus sanguis* 804 (NCTC 10904). *Arch Oral Biol* 27, 11 (1982), 981–6.

- [117] MELLBERG, J. R. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res 71 Spec No*, NIL (1992), 913–9.
- [118] MELLBERG, J. R., AND SANCHEZ, M. Remineralization by a monofluorophosphate dentifrice in vitro of root dentin softened by artificial caries. *J Dent Res 65*, 7 (1986), 959–62.
- [119] MICHAELIS, W., AND SCHIFFNER, U. *Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV) Neue Ergebnisse zu oralen Erkrankungsprävalenzen, Risikogruppen und zum zahnärztlichen Versorgungsgrad in Deutschland 2005*. Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln, 2006.
- [120] MILNES, A. R., BOWDEN, G. H., AND HAMILTON, I. R. Effect of NaF and pH on the growth and glycolytic rate of recently isolated strains of oral Lactobacillus species. *J Dent Res 64*, 3 (1985), 401–4.
- [121] MJOR, I. A., AND NORDAHL, I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biol 41*, 5 (1996), 401–12.
- [122] MJÖR, I. A. The location of clinically diagnosed secondary caries. *Quintessence Int 29*, 5 (1998), 313–7.
- [123] MUKAI, Y., LAGERWEIJ, M. D., AND TEN CATE, J. M. Effect of a solution with high fluoride concentration on remineralization of shallow and deep root surface caries in vitro. *Caries Res 35*, 5 (2001), 317–24.
- [124] NELSON, D. G., FEATHERSTONE, J. D., DUNCAN, J. F., AND CUTRESS, T. W. Effect of carbonate and fluoride on the dissolution behaviour of synthetic apatites. *Caries Res 17*, 3 (1983), 200–11.
- [125] NOACK, M. J., FRITZ, U., AND SEEMANN, R. Wurzelkaries, ein Prophylaxe- und Behandlungskonzept. *Deutscher Zahnärztekalendar* (1997), 43–78.
- [126] NYVAD, B., AND FEJERSKOV, O. Active and inactive surface caries- structural entities? In: Thylstrup a, leach sa, qvist v, Eds. Dentine and dentine reaction in the oral cavity. *Oxford: IRL Press* (1987), 165–179.

- [127] NYVAD, B., AND KILIAN, M. Microflora associated with experimental root surface caries in humans. *Infect Immun* 58, 6 (1990), 1628–33.
- [128] NYVAD, B., TEN CATE, J. M., AND FEJERSKOV, O. Arrest of root surface caries in situ. *J Dent Res* 76, 12 (1997), 1845–53.
- [129] OGAARD, B., ROLLA, G., RUBEN, J., AND ARENDS, J. Relative cariostatic effects of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in situ. *J Dent Res* 69, 8 (1990), 1505–7.
- [130] OMULLANE, D. M. Introduction and rationale for the use of fluoride for caries prevention. *Int Dent J* 44, 3 Suppl 1 (1994), 257–61.
- [131] PAPAS, A., JOSHI, A., AND GIUNTA, J. Prevalence and intraoral distribution of coronal and root caries in middle-aged and older adults. *Caries Res* 26, 6 (1992), 459–65.
- [132] PEUTZFELDT, A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci* 105, 2 (1997), 97–116.
- [133] PIVA, E., MEINHARDT, L., DEMARCO, F. F., AND POWERS, J. M. Dyes for caries detection: influence on composite and compomer microleakage. *Clin Oral Investig* 6, 4 (2002), 244–8.
- [134] PREZA, D., OLSEN, I., AAS, J. A., WILLUMSEN, T., GRINDE, B., AND PASTER, B. J. Bacterial profiles of root caries in elderly patients. *J Clin Microbiol* 46, 6 (2008), 2015–21.
- [135] RATHKE, A. Klinische anwendung von dentinadhäsiv-systemen. *dentalpraxis* 19 (2002), 195–216.
- [136] RAVALD, N. Root surface caries. *Curr Opin Periodontol* (1994), 78–86.
- [137] RAVALD, N., AND BIRKHED, D. Factors associated with active and inactive root caries in patients with periodontal disease. *Caries Res* 25, 5 (1991), 377–84.

- [138] REIKER, J., VAN DER VELDEN, U., BARENDREGT, D. S., AND LOOS, B. G. A cross-sectional study into the prevalence of root caries in periodontal maintenance patients. *J Clin Periodontol* 26, 1 (1999), 26–32.
- [139] ROBERTS, W. R., AND ADDY, M. Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of antiseptic mouthrinses containing chlorhexidine, alexidine, cetyl pyridinium chloride and hexetidine. Relevance to mode of action. *J Clin Periodontol* 8, 4 (1981), 295–310.
- [140] ROLLA, G., AND OOGARD, B. Studies on the solubility of CaF₂ in human saliva. In: Leach sa (eds.): Factors related to de- and remineralization on the teeth. *Karger Basel* (1986), 45–50.
- [141] ROSEN, S., BECK, F. M., AND BECK, E. X. Inhibition of root surface caries in rice rats: Use of a sodium fluoride dentifrice. *J Dent Res* 64, 6 (1985), 904–5.
- [142] RÖLLA, G., B, B. O., AND CRUZ, R. D. A. Clinical effect and mechanisms of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: A review. *Int Dent J.* 41 (1991), 171–174.
- [143] SAITO, T., YAMAUCHI, M., AND CRENSHAW, M. A. Apatite induction by insoluble dentin collagen. *J Bone Miner Res* 13, 2 (1998), 265–70.
- [144] SANDERICK, R. B. A., BERNHARDT, H., KNOKE, M., MEYER, J., WEBER, C., AND WEIGER, R. *Curriculum Orale Mikrobiologie und Immunologie*. Quintessenz Verlags GMBH, Berlin, 2004.
- [145] SAXEGAARD, E., AND ROLLA, G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 96, 6 (1988), 523–35.
- [146] SCHALLER, H. G., KIELBASSA, A. M., ATTIN, T., AND HELLWIG, E. Die haftung von dentinhaftvermittlern an kariös verändertem dentin . *Dtsch Zahnärztl Z* 53, 1 (1998), 69–72.

- [147] SCHILKE, R., LISSON, J. A., BAUSS, O., AND GEURTSSEN, W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol* 45, 5 (2000), 355–61.
- [148] SCHIOTT, C. R., LOE, H., JENSEN, S. B., KILIAN, M., DAVIES, R. M., AND GLAVIND, K. The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *J Periodontal Res* 5, 2 (1970), 84–9.
- [149] SCHROEDER, H. E. *Orale Strukturbiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1992.
- [150] SCHUPBACH, P., LUTZ, F., AND GUGGENHEIM, B. Human root caries: Histopathology of arrested lesions. *Caries Res* 26, 3 (1992), 153–64.
- [151] SCHUPBACH, P., OSTERWALDER, V., AND GUGGENHEIM, B. Human root caries: Microbiota in plaque covering sound, carious and arrested carious root surfaces. *Caries Res* 29, 5 (1995), 382–95.
- [152] SCHUPBACH, P., OSTERWALDER, V., AND GUGGENHEIM, B. Human root caries: Microbiota of a limited number of root caries lesions. *Caries Res* 30, 1 (1996), 52–64.
- [153] SCHÜPBACH, P., GUGGENHEIM, B., AND LUTZ, F. Human root caries: Histopathology of initial lesions in cementum and dentin. *J Oral Pathol Med* 18 (1989), 146–156.
- [154] SCHÜPBACH, P., GUGGENHEIM, B., AND LUTZ, F. Histopathology of root surface caries. *J Dent Res* 69 (1990), 1195–1204.
- [155] SHAY, K. Root caries in the older patient: Significance, prevention, and treatment. *Dent Clin North Am* 41, 4 (1997), 763–93.
- [156] SHEN, S., SAMARANAYAKE, L. P., YIP, H. K., AND DYSON, J. E. Bacterial and yeast flora of root surface caries in elderly, ethnic Chinese. *Oral Dis* 8, 4 (2002), 207–17.
- [157] SKARTVEIT, L., GJERDET, N. R., AND SELVIG, K. A. Release of fluoride and metal ions from root surfaces after topical application of TiF_4 , SnF_2 , and NaF in vitro. *Acta Odontol Scand* 49, 3 (1991), 127–31.

- [158] STAMM, J. W., BANTING, D. W., AND IMREY, P. B. Adult root caries survey of two similar communities with contrasting natural water fluoride levels. *J Am Dent Assoc* 120, 2 (1990), 143–9.
- [159] STANLEY, A., WILSON, M., AND NEWMAN, H. N. The in vitro effects of chlorhexidine on subgingival plaque bacteria. *J Clin Periodontol* 16, 4 (1989), 259–64.
- [160] SUIDO, H., NAKAMURA, M., MASHIMO, P. A., ZAMBON, J. J., AND GENCO, R. J. Arylaminopeptidase activities of oral bacteria. *J Dent Res* 65, 11 (1986), 1335–40.
- [161] SUMNEY, D. L., JORDAN, H. V., AND ENGLANDER, H. R. The prevalence of root surface caries in selected populations. *J Periodontol* 44, 8 (1973), 500–4.
- [162] TAKEUCHI, K., NAKAGAKI, H., TOYAMA, Y., KIMATA, N., ITO, F., ROBINSON, C., WEATHERELL, J. A., ST-OSSER, L., AND KUNZEL, W. Fluoride concentrations and distribution in premolars of children from low and optimal fluoride areas. *Caries Res* 30, 1 (1996), 76–82.
- [163] TAYLOR, D., FRASER, H., MCCONELL, I., BROWN, D., BROWN, K., LAMZA, K., AND SMITH, G. Decontamination studies with the agents of bse and scrapie. *Arch Virol* 139 (1994), 313–26.
- [164] TEN CATE, J. M., BUIJS, M. J., AND DAMEN, J. J. pH-cycling of enamel and dentin lesions in the presence of low concentrations of fluoride. *Eur J Oral Sci* 103, 6 (1995), 362–7.
- [165] TEN CATE, J. M., AND FEATHERSTONE, J. D. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 2, 3 (1991), 283–96.
- [166] THEWLIS, J. The structure of teeth as shown by x-ray examination. *Med Res Coun Sp Rep* 238 (1940), 5–82.

- [167] TJADERHANE, L., LARJAVA, H., SORSA, T., UITTO, V. J., LARMAS, M., AND SALO, T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 77, 8 (1998), 1622–9.
- [168] TVEIT, A. B., AND HALSE, A. The effect of a NaF solution and a fluoride varnish on the acid resistance of root dentin. *Acta Odontol Scand* 40, 1 (1982), 35–43.
- [169] VAN HOUTE, J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res* 73, 3 (1994), 672–81.
- [170] WALLACE, M. C., RETIEF, D. H., AND BRADLEY, E. L. The 48-month increment of root caries in an urban population of older adults participating in a preventive dental program. *J Public Health Dent* 53, 3 (1993), 133–7.
- [171] WATSON, P. S., PONTEFRACT, H. A., DEVINE, D. A., SHORE, R. C., NATTRESS, B. R., KIRKHAM, J., AND ROBINSON, C. Penetration of fluoride into natural plaque biofilms. *J Dent Res* 84, 5 (2005), 451–5.
- [172] WEFEL, J. S., JENSEN, M. E., TRIOLO, P. T., FALLER, R. V., HOGAN, M. M., AND BOWMAN, W. D. De/remineralization from sodium fluoride dentifrices. *Am J Dent* 8, 4 (1995), 217–20.
- [173] ZAURA-ARITE, E., EXTERKATE, R. A., AND TEN CATE, J. M. Effect of high fluoride concentration on bovine dentin demineralization in narrow grooves in vitro. *Eur J Oral Sci* 107, 6 (1999), 455–60.
- [174] ZERO, D. T. In situ caries models. *Adv Dent Res* 9, 3 (1995), 214–30; discussion 231–4.
- [175] ZERO, D. T., RAUBERTAS, R. F., FU, J., PEDERSEN, A. M., HAYES, A. L., AND FEATHERSTONE, J. D. Fluoride concentrations in plaque, whole saliva, and ductal saliva after application of home-use topical fluorides [published eerratum appears in *J Dent Res* 1993 Jan;72(1):87]. *J Dent Res* 71, 11 (1992), 1768–75.

-
- [176] ZUIDGEEST, T. G., HERKSTROTER, F. M., AND ARENDS, J. Mineral density and mineral loss after demineralization at various locations in human root dentine. A longitudinal microradiographic study. *Caries Res* 24, 3 (1990), 159–63.

A TMR Messwerte

Gruppe	Probe Nr.	Fluorid [ppm]	Mineralverlust mit Bonding	Läsions-tiefe mit Bonding	Mineralverlust ohne Bonding	Läsions-tiefe ohne Bonding	Differenz Mineralverlust	Differenz Läsions-tiefe
1	1	0	1901,5	173,9	1417,6	166,2	483,9	7,7
	2	0	1510,3	125,2	1073,3	101,9	437,0	23,3
	3	0	1849,7	150,7	1454,1	141,8	395,6	8,9
	4	0	2702,7	227,3	2389,1	210,05	313,6	17,25
	5	0	613,0	75,3	420,06	8,0	192,94	67,3
	6	0	1083,2	164,0	638,6	145,1	444,6	18,9
	7	0	1526,2	80,9	1178,8	64,2	347,4	16,7
	8	0	1443,2	138,5	1075,1	125,2	368,1	13,3
	9	0	1441,0	96,4	1210,6	79,8	230,4	16,6
	10	0	938,7	144,0	622,1	124,1	316,6	19,9
	11	0	826,9	138,5	905,9	131,8	-79,0	6,7
	12	0	1507,8	160,6	1174,3	147,4	333,5	13,2
	13	0	1768,2	123,0	1322,3	94,2	445,9	28,8
	14	0	1580,3	182,8	1249,6	165,1	330,7	17,7
	15	0	1461,8	151,8	1030,0	136,3	431,8	15,5

Gruppe	Probe Nr.	Fluorid [ppm]	Mineralverlust mit Bonding	Läsionstiefe mit Bonding	Mineralverlust ohne Bonding	Läsionstiefe ohne Bonding	Differenz Mineralverlust	Differenz Läsionstiefe
2	16	250	1373,9	254,8	1161,0	186,1	212,9	68,7
	17	250	1458,6	187,2	1256,7	178,4	201,9	8,8
	18	250	1327,9	219,4	1176,4	182,8	151,5	36,6
	19	250	1323,4	188,4	1065,3	176,2	258,1	12,2
	20	250	1613,1	155,2	1432,5	135,2	180,6	20,0
	21	250	1204,0	128,2	970,4	117,4	233,6	10,8
	22	250	1229,9	115,2	1004,1	88,6	225,8	26,6
	23	250	935,7	95,3	704,1	71,1	231,6	24,2
	24	250	791,7	137,4	552,9	109,7	238,8	27,7
	25	250	2238,4	209,4	1991,0	199,4	247,4	10,0
	26	250	808,9	183,9	615,6	198,3	193,3	-14,4
	27	250	840,2	149,6	602,7	134,1	237,5	15,5
	28	250	1173,6	87,5	932,0	58,7	241,6	28,8
	29	250	689,1	166,2	486,4	138,7	202,7	27,5
30	250	474,2	108,6	251,9	99,6	222,3	9,0	

Gruppe	Probe Nr.	Fluorid [ppm]	Mineralverlust mit Bonding	Läsionstiefe mit Bonding	Mineralverlust ohne Bonding	Läsionstiefe ohne Bonding	Differenz Mineralverlust	Differenz Läsionstiefe
3	31	5000	741,6	125,2	691,6	120,8	50,0	4,4
	32	5000	513,0	167,3	465,5	159,5	47,5	7,8
	33	5000	634,6	152,9	507,5	146,2	127,1	6,7
	34	5000	542,6	46,5	493,6	32,1	49,0	14,4
	35	5000	1383,1	186,7	1215,2	177,7	167,9	9,0
	36	5000	784,1	108,6	692,4	116,3	91,7	-7,7
	37	5000	991,8	176,2	858,1	171,7	133,7	4,5
	38	5000	932,4	84,2	1083,2	73,1	-150,8	11,1
	39	5000	514,3	82,0	458,5	76,4	55,8	5,6
	40	5000	326,2	5,5	311,7	5,5	14,5	0,0
	41	5000	554,5	157,3	474,1	142,9	80,4	14,4
	42	5000	152,3	5,0	172,7	34,3	-20,4	-29,3
	43	5000	398,3	113,2	352,2	93,1	46,1	20,1
	44	5000	1051,8	191,7	954,2	182,8	97,6	8,9
	45	5000	853,3	90,8	732,9	80,9	120,4	9,9

B Materialliste

Technovit 2000 LC, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland
Technovit 4000, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland
Technotray CU 400-550 nm, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland
Paladur klar Typ II Kl.1, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland
Scheu Anker 0,7 Ref 2049.1, Scheu Dental GmbH, Iserlohn, Deutschland
Exakt Trennschleifsystem, Exakt Apparatebau GmbH, Nordersted, Deutschland
Exakt Lichtpolymerisationsgerät, Exakt Apparatebau GmbH, Nordersted, Deutschland
Exakt Mikroschleifsystem, Exakt Apparatebau GmbH, Nordersted, Deutschland
HighSpeed Holographic Film, Kodak SO-253; Kodack, Stuttgart, Deutschland
CCD Videokamera Module XC77E, Sony, Japan
Stereomikroskop Stemi SV6, Carl Zeiss, Jena, Deutschland
Heraflash tray Ref 66017525, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland
Heraflash, Lichtpolymerisationsgerät, 230V, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland
Daimantschleifkörper, 806104001534035 Lot: 356826, Komet Precision Tools GmbH, Besigheim, Deutschland
Trennscheibe No 692000, Renfert GmbH u. Co, Hilzingen, Deutschland
Schleifpapier, Silikon-Carbamide-Paper 1000/1200 /2000/2000/4000, Struers, Kopenhagen, Dänemark
Plexiglas-Objektträger 50x 100x2 mm, diaplus, Oststeinbek, Deutschland
Plexiglas-Objektträger 25x75x2mm, diaplus, Oststeinbek, Deutschland
Supradent Klebewachs, Oppermann Schwedler, Bonn
Technovit 7210 VLC ein Komponenten- Präzisionskleber, lichthärtend , Kulzer EXAKT Wehrheim, Deutschland
Disposable Scalpel No. 21, Feather Safety Co., LTD. Medical Division Japan;
Meridol Mundspüllösung 250 ppm, Gaba GmbH Lörrach, Deutschland
Duraphat Zahnpasta 5000ppm, Colgate
Nenedent Zahnpasta, Dentinox, Berlin, Deutschland
Ringerlösung, Deltaselect GmbH, Pfullingen, Deutschland

Thymol, Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland

C Danksagung

Mein Besonderer Dank gilt Frau OÄ Dr. Mozhgan Bizhang und Herrn Prof. Dr. Zimmer für die Überlassung des Themas sowie für ihre engagierte und zuverlässige Betreuung über den gesamten Zeitraum der Arbeit.

Zudem Danke ich Herrn Dr. Markus Altenburger und Herrn Prof. Dr. Hellwig für die freundliche Unterstützung und Bereitstellung des Labors in Freiburg.

Nicht zuletzt Danke ich meinen Mann Andreas Winterfeld und meinen Eltern für ihre immer währende Motivation und Unterstützung.

D Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name	Winterfeld, geb. Ha-phuoc
Vorname	Mai-Trinh
Geburtsdatum	10.07.1981
Geburtsort	Rhede
Familienstand	verheiratet
Schulbildung	Mariengymnasium Bocholt (Abitur 2000)

Studium:

2000 – 2006	Studium der Zahnmedizin an der Justus-Liebig-Universität Giessen
Juli 2006	Approbation als Zahnärztin
2006 – 2007	Durchführung des experimentellen Teils der Promotion an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Berufstätigkeit:

Seit Februar 2007	Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Poliklinik für Chirurgische Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde an der Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn unter Leitung von Prof. Dr. Gerhard Wahl
-------------------	---

E Abstract

Untersuchungen zur Hemmung der Demineralisation von humanem Dentin durch 5000 ppm Fluorid in situ

Ziel: Das Ziel dieser Studie war es, die Wirkung einer 5000 ppm Fluorid enthaltenden Zahnpasta auf die Demineralisierung humaner Dentinproben in situ zu untersuchen und ihre Wirkung mit einer Kontrollgruppe ohne Fluorid und einer 250 ppm Fluorid enthaltenden Mundspüllösung zu vergleichen.

Material und Methode: Dentinproben wurden aus der zervikalen Region 45 retinierter unterer dritter Molaren gewonnen. Die Dentinproben wurden mit Schleifpapier aufsteigender Körnung bis zu 4000 Schleifkörper/cm² bearbeitet und poliert. Jede Dentinoberfläche wurde zur Hälfte mit Bonding versiegelt, um später als Kontrollseite zu dienen. Jeweils 15 Dentinproben wurden in drei herausnehmbaren Apparaturen lingual inseriert. Ein Proband trug die Apparatur 24 Stunden am Tag über einen Zeitraum von jeweils drei Wochen. Während der Versuchsdurchläufe wurden die Dentinproben mit den jeweiligen Testprodukten einmal am Tag für 60 Sekunden extraoral behandelt und während der Mahlzeiten in zehnprozentiger Glukoselösung gelagert. Zu Beginn und zwischen allen drei Versuchsreihen erfolgte eine einwöchige Wash-out-Phase. Um die demineralisationshemmende Wirkung der 5000 ppm Fluorid Zahnpasta (Duraphat) (n=15) zu untersuchen, dienten eine 250 ppm Fluorid Mundspüllösung (Meridol) (n=15) und destilliertes Wasser (n=15) als Kontrollgruppen. Die Aufteilung der Dentinproben in die jeweilige Gruppe erfolgte zufällig. Nach Abschluss aller drei Versuchsdurchläufe erfolgte die Analyse und Auswertung aller Proben hinsichtlich der Läsionstiefe (μm) und des Mineralverlustes ($\text{Vol } \% \times \mu\text{m}$) mittels transversaler Mikroradiographie (TMR).

Ergebnisse: Mineralverlust und Läsionstiefe konnten durch die Anwendung der 5000 ppm Fluoridzahnpasta im Vergleich zur 250 ppm Fluoridmundspüllösung und zu destilliertem Wasser (0 ppm) signifikant gehemmt werden. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied des Mineralverlustes und der Läsionstiefe zwischen der 250 ppm Mundspüllösung und destilliertem Wasser (0 ppm).

Schlussfolgerung: In dieser In-situ-Studie konnte gezeigt werden, dass die einmal tägliche Anwendung einer 5000 ppm Natriumfluorid Zahnpasta die Läsionstiefe und den Mineralverlust von Dentin stärker zu hemmen vermochte als die einer 250 ppm Aminfluorid Mundspüllösung. Den Ergebnissen zufolge könnte die Verwendung von 5000 ppm Fluorid eine geeignete Prophylaxe der Wurzelkaries bei freiliegendem Dentin darstellen. Die begrenzte Aussagekraft der Ergebnisse dieser In-situ-Studie sollte in weiterführenden, größer angelegten klinischen Studien mit größeren Probandengruppen bezüglich dieser Arbeitshypothese überprüft und vertieft werden.