

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Endodontologie
Kommissarischer Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. T. Beikler

Untersuchungen zur Remineralisation von initialen
Kariesläsionen an humanem Zahnschmelz mit CPP-ACP und
12500 ppm Fluorid in situ

Dissertation

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

vorgelegt von

Inga Heyfelder

2010

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
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Dr. Handschel

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|---|-----------|
| INHALTSVERZEICHNIS | 2 |
| ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | 3 |
| 1 EINLEITUNG | 4 |
| 2 LITERATURÜBERSICHT | 5 |
| 2.1 ZAHNSCHMELZ | 5 |
| 2.1.1 <i>Amelogenese</i> | 5 |
| 2.1.2 <i>Aufbau des Zahnschmelzes</i> | 11 |
| 2.2 KARIES | 15 |
| 2.2.1 <i>Definition</i> | 15 |
| 2.2.2 <i>Ätiologie</i> | 15 |
| 2.2.2.1 <i>Allgemeines</i> | 15 |
| 2.2.2.2 <i>Karies-Theorien</i> | 15 |
| 2.2.3 <i>Pathogenese</i> | 18 |
| 2.2.4 <i>Schmelzkaries</i> | 19 |
| 2.3 FLUORIDE | 22 |
| 2.3.1 <i>Kariesprophylaktische Wirkung</i> | 22 |
| 2.3.2 <i>Effektivität verschiedener Fluoridierungsmethoden</i> | 26 |
| 2.3.3 <i>Toxikologie</i> | 29 |
| 3 ZIELSTELLUNG | 32 |
| 4 MATERIAL UND METHODE | 34 |
| 4.1 GETESTETE PRODUKTE | 34 |
| 4.2 GEWINNUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN..... | 34 |
| 4.3 HERSTELLUNG DER DEMINERALISATIONS-LÖSUNG..... | 37 |
| 4.4 PROBANDENGUT | 38 |
| 4.5 HERSTELLUNG DER INTRAORALEN APPARATUREN UND EINBETTEN DER SCHMELZPROBEN | 38 |
| 4.6 VERSUCHSDURCHLAUF | 40 |
| 4.7 VORBEREITUNG DER PROBEN FÜR DIE AUSWERTUNG..... | 42 |
| 4.8 AUSWERTUNG DER DÜNNSCHNITTE MITTELS TRANSVERSALER MIKORADIOGRAPHIE | 43 |
| 4.9 STATISTISCHE AUSWERTUNG..... | 45 |
| 5 ERGEBNISSE | 46 |
| 5.1 MINERALISATIONSGEWINN UND RÜCKGANG DER LÄSIONSTIEFE..... | 46 |
| 5.2 AUSWIRKUNG DER POSITION DER PROBEN AUF DIE ERGEBNISSE..... | 47 |
| 5.2.1 <i>Lingual positionierte Proben</i> | 48 |
| 5.2.2 <i>Vestibulär positionierte Proben</i> | 49 |
| 5.3 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE..... | 50 |
| 6 DISKUSSION | 52 |
| 6.1 MATERIAL UND METHODE..... | 52 |
| 6.1.1 <i>Schmelzproben und intraorale Apparatur</i> | 52 |
| 6.1.2 <i>Demineralisation der Schmelzproben</i> | 53 |
| 6.1.3 <i>Recaldent</i> | 54 |
| 6.1.4 <i>Versuchsablauf</i> | 57 |
| 6.1.5 <i>Probandengut</i> | 59 |
| 6.1.6 <i>Auswertung der Proben mittels transversaler Mikroradiographie</i> | 59 |
| 6.2 ERGEBNISSE UND AUSBLICK | 61 |
| 7 ZUSAMMENFASSUNG | 64 |
| TABELLENANHANG | 66 |
| LITERATURVERZEICHNIS | 68 |
| DANKSAGUNG | 77 |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|---------|--|
| AmF | Aminfluorid |
| CPP-ACP | Caseinphosphopeptide-amorphes Kalziumphosphat-Komplexe |
| DAZ | Deutscher Arbeitskreis für Zahnheilkunde |
| DGZMK | Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde |
| DMFS | Decayed, missing and filled surfaces; Kariesindex |
| EAPD | European Academy of Paediatric Dentistry |
| FDI | World Dental Federation |
| KHN | Knoop Härtenummern |
| NaMFP | Natriummonofluorphosphat |
| VH | Vickers Härte |
| WHO | World Health Organisation |

1 EINLEITUNG

In den letzten Jahrzehnten zeigte sich ein deutlicher Rückgang der Karies speziell bei Kindern und Jugendlichen (Marthaler, 2004). Dies ist nicht zuletzt auf die Einführung von fluoridierten Zahnpasten zurückzuführen. Auch durch den Einsatz zusätzlicher Fluoridierungsmaßnahmen wie z. B. Fluorid-Gelées und –Lacken lässt sich besonders bei kariesgefährdeten Gruppen eine Verbesserung der Zahngesundheit beobachten (Bratthall et al., 1996). Die Fluoride wirken hierbei sowohl hemmend auf die Demineralisation, als auch fördernd für die Remineralisation und haben weiterhin Einfluss auf den Stoffwechsel der Bakterien (Brown et al., 1980; Margolis & Moreno, 1990; Schiffner, 2001; ten Cate, 1999).

Ein neu entwickelter spezieller Kalzium-Komplex (Recaldent®, CPP-ACP) verspricht ebenso eine remineralisierende Wirkung.

In der vorliegenden Studie sollte daher der remineralisierende Effekt des CPP-ACP-enthaltenden GC Tooth Mousse auf humanen Zahnschmelz mit dem eines Fluorid-Gelées (Sensodyne Pro Schmelz) verglichen werden. Um die Studie möglichst realitätsnah zu gestalten, wurden die Präparate zusätzlich zur normalen Zahnpflege mit einer fluoridierten Zahnpasta im Rahmen einer In-situ Studie verwendet. Weiterhin sollte untersucht werden, inwieweit die Verwendung zusätzlicher Maßnahmen zur Remineralisation effektiv ist.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Zahnschmelz

2.1.1 Amelogenese

Während der Differenzierung eines Embryos entstehen drei Keimblätter, das Ektoderm, das Mesoderm und das Entoderm. Aus diesen entwickeln sich verschiedene Organgruppen. Das Ektoderm bildet unter anderem das Nervensystem, die Sinnesorgane und die Epidermis mit abgeleiteten Organen. Aus dem Mesoderm entsteht das Stützsystem mit Knochen, Knorpel und Muskulatur, sowie das Blutgefäßsystem und Organe wie das Herz und die Niere. Der überwiegende Teil der inneren Organe entsteht aus dem Entoderm (Hirsch-Kauffmann & Schweiger, 2006).

Die Zahnanlage geht aus zwei verschiedenen Keimblättern hervor. Der Schmelz entsteht aus dem Mundhöhlenepithel und ist somit ektodermalen Ursprungs. Die übrigen Anteile des Zahnes, die Pulpa und das Dentin, sowie das Parodont entstehen aus mesektodermalem Bindegewebe (Ektomesenchym, s. u.) (Arnold, 2006; Schröder, 2000).

Die Odontogenese beginnt etwa in der 5. Embryonalwoche. Das Stomodeum ist zu diesem Zeitpunkt mit einem einschichtigem Epithel ausgekleidet. Aus der Neuralleiste wandern Zellen ektodermalen Ursprungs in das subepitheliale Mesenchym ein, das bereits begonnen hat, sich zu verdichten. Hierbei entsteht das Ektomesenchym, aus welchem sich im weiteren Verlauf die Zahnpapille und das Zahnsäckchen entwickelt. Dieses initiiert die lokal begrenzte Epithelverdickung im Bereich der späteren Frontzähne und Molaren, die einerseits durch die Umwandlung der kuboiden Zellen in höhere, säulenförmige Zellen und andererseits durch die vertikal gegen die Oberfläche gerichtete Zellproliferation bedingt ist. Es entsteht das odontogene Epithel, das bereits um den 44.-48. Tag nach Ovulation ein durchgehendes Band im Ober- und Unterkiefer bildet. Durch Entwicklung und Wachstum aller Kieferabschnitte wird der epitheliale Zellhaufen in die Tiefe verlagert und ragt ins Ektomesenchym. Zum Ende der 7. Woche (Frontzähne) bzw. in der 8. Woche (Molaren) entsteht aus diesen zunächst ungeordneten Zellen die Zahnknospe, in der 8.-12. Woche die Zahnkappe und etwa vier Wochen später die Zahnglocke, bei der die Form der späteren Zahnkrone bereits erkennbar ist (s. Abb. 1) (Jenkins, 1978; Schröder, 2000).

Die Differenzierung des Schmelzorganes beginnt im Kappenstadium (Binus et al., 1987; Schröder, 2000). Das innere Schmelzepithel ist basal gelegen und besteht aus niedrig-säulenförmigen Zellen. Peripher findet sich in Form abgeflachter Zellen das äußere Schmelzepithel. Zwischen diesen zwei Schichten beginnt sich der Interzellularraum zu vergrößern und differenziert sich im Glockenstadium zu zwei weiteren Schichten, dem Stratum reticulare, welches an das äußere Schmelzepithel grenzt, und dem Stratum intermedium. Am Glockenrand geht das äußere in das innere Schmelzepithel über. Dieser Bereich wird als Ansa cervicalis bezeichnet. Eine Basalmembran trennt das innere Schmelzepithel von der Zahnpapille und das äußere vom Zahnsäckchen und umschließt das gesamte Schmelzorgan.

Im späten Glockenstadium verdickt sich die Basalmembran des inneren Schmelzepithels.

Es beginnt eine Kette von Wechselwirkungen zwischen dem Ektoderm und dem Ektomesenchym. Die Zellen des inneren Schmelzepithels induzieren die Differenzierung peripherer Zellen der Zahnpapille in Odontoblasten. Sobald sich diese aufreihen und mit der Produktion der Dentinmatrix beginnen, welche an der Basalmembran abgelagert wird, werden die Zellen des inneren Schmelzepithels länger und nehmen Säulengestalt an. Es handelt sich nun um Präameloblasten. Beeinflusst von den papillären Zellen und dem Prädentin verlieren die Präameloblasten ihre Teilungsfähigkeit. Im Verlauf der Prädentinbildung kommt es zur Auflösung der Basalmembran, so dass die Präameloblasten im direkten Kontakt mit den Odontoblastenfortsätzen stehen. Dies führt zur weiteren Differenzierung der Präameloblasten in Ameloblasten, hoch-säulenförmige Zellen mit hexagonalem Querschnitt und stark vergrößerten Organellenfeldern (s. Abb. 2) (Jenkins, 1978; Schröder, 2000).

Nun beginnt die eigentliche Amelogenese, die Bildung des Zahnschmelzes.

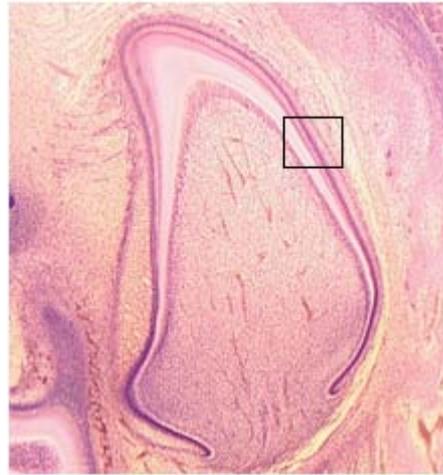


Abb. 1: Histologischer Schnitt durch eine Frontzahnanlage im Glockenstadium der Zahnentwicklung; Färbung: HE; Das gerahmte Feld entspricht Abb. 2

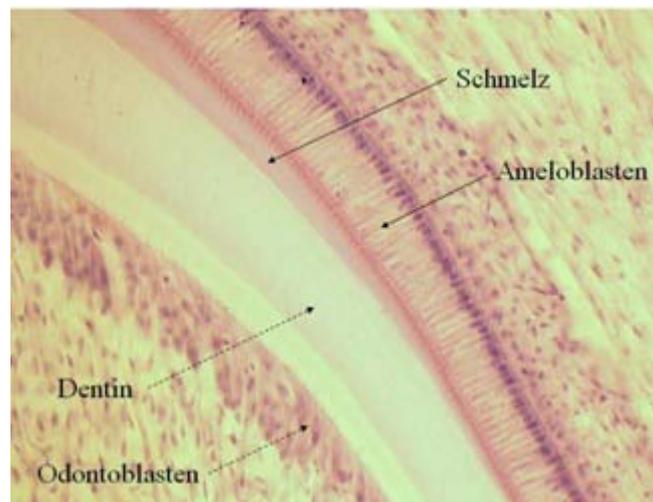


Abb. 2: Vergrößerter Ausschnitt aus Abb. 1

Die Ameloblasten sezernieren die erste Schicht der Schmelzmatrix, die schon initial hochgradig mineralisiert wird. Im Folgenden bildet sich distal eine etwa 4 μm lange, pyramidale Zellausstülpung, der Tomes Fortsatz. Er besitzt zwei verschiedene Oberflächen. An der einen finden sich viele tiefe Membranausstülpungen, an denen von nun an die Matrixsekretion stattfindet. An der anderen, glatteren Oberfläche entsteht der interprismatische Schmelz (s.u.) (Jenkins, 1978; Ronnholm, 1962; Schröder, 2000).

Die frisch sezernierte Matrix ist reich an nicht-kollagenen Proteinen. Früh entstehen Keime von Apatitkristallen, welche im weiteren Verlauf durch Kristallwachstum an Größe gewinnen. Die Anordnung der Kristallite erfolgt dabei nicht zufällig, sondern senkrecht zum Tomes Fortsatz, also mit der Längsachse zwischen distaler Ameloblastenmembran

und Dentinoberfläche. Das Schmelzprisma, die strukturelle Untereinheit des Schmelzes, besteht aus Kristalliten und ist licht- und elektronenoptisch als „Stab“ erkennbar, der von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Schmelzoberfläche reicht. Aufgrund der Ausrichtung des Tomes Fortsatzes ist der Verlauf der Prismenstäbe von einer horizontalen Reihe zur nächsten leicht versetzt und gibt die kompliziert wellenförmige Ameloblastenbewegung während der Matrixsekretion wieder (Binus et al., 1987; Boyde et al., 1988; Jenkins, 1978). Der interprismatische Schmelz ist strukturell und biochemisch mit dem Prismenstabschmelz identisch, die Anordnung der Kristallite ist allerdings verschieden. Der interprismatische Schmelz entsteht zeitlich vor dem Prismenstabschmelz. Im Schliff lässt sich bei Anordnung der Ameloblasten auf Lücke eine „Schlüsselloch“-Konfiguration eines Prismas mit arkadenförmigem Kopf (Prismenstab) und zervikalem Bart (interprismatischer Schmelz) oder bei Anordnung übereinander eine „Pferdehuf“-Konfiguration mit weiten interprismatischen Zonen erahnen (Höhling, 1966; Schröder, 2000). Diese Modelle gehen auf elektronenmikroskopische Untersuchungen von Meckel et al. zurück (s. Abb. 3 und 4) (Meckel et al., 1965).

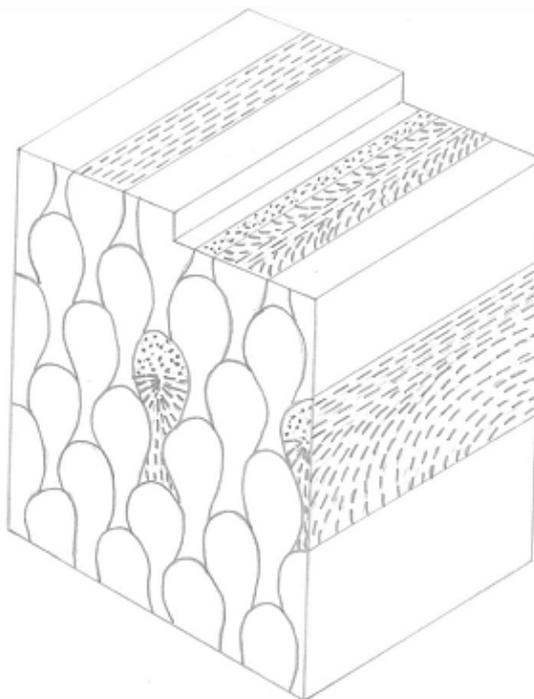


Abb. 3: Schlüssellochmodell der Schmelzprismen mit eingezeichneter Lage der Apatitkristalle (nach Meckel et al., 1965)

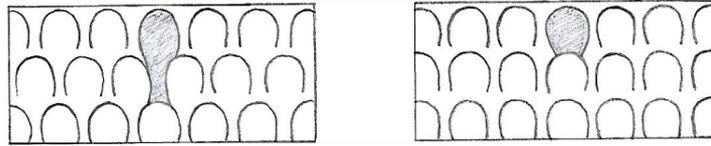


Abb. 4: Durch die Verschiebung der horizontalen Ameloblastenreihen gegeneinander im Verlauf der Prismenstäbe zeigt sich je nach Schnittebene eine Schlüsselloch- (links) oder eine Pferdehufkonfiguration (rechts) bzw. Zwischenstufen beider Typen

Der Tomes Fortsatz dient nicht nur der Matrixsekretion und der Bildung und Anordnung der Kristallite, sondern ebenfalls der ständigen Modifizierung der Matrix. Da er zum Zeitpunkt der Bildung der ersten Schmelzschicht an der Schmelz-Dentin-Grenze noch nicht entwickelt ist, ist diese Schicht prismenlos und die weichste Schicht des Schmelzes (Binus et al., 1987; Osborn, 1973).

Das Schmelzorgan wird zunächst von Gefäßen der Zahnpapille versorgt. Nach Beginn der Amelogenese, wenn Ameloblasten und Odontoblasten sich voneinander entfernen, wird das Stratum intermedium schmäler und die Versorgung der Ameloblasten über perifollikuläre Gefäße gewährleistet (Binus et al., 1987; Schröder, 2000).

Hat der Schmelz seine festgelegte Dicke erreicht, verschwindet der Tomes Fortsatz, weshalb die oberflächlichste Schmelzschicht (20-80 µm) prismenfrei bleibt (Ripa et al., 1966). Die sekretorischen Ameloblasten wandeln sich in reduzierte (d.h. resorbierende) Ameloblasten um und entziehen dem Schmelz überschüssige Matrixanteile und Wasser (Schmelzreifung, s.u.).

Anschließend erfolgt die Umwandlung in Plattenepithelzellen des Saumepithels, die ihre Teilungsfähigkeit nicht wiedergewinnen und letztendlich nach dem Zahndurchbruch gegen den Sulcus gingivae wandern und abgestoßen werden.

Präeruptive Schmelzreifung

Während der Amelogenese kommt es zu drei parallel ablaufenden Prozessen. Zunächst wird die Schmelzmatrix als Primärprodukt der Ameloblasten synthetisiert und initial mineralisiert. Weiterhin wird die sezernierte Matrix rückresorbiert und modifiziert. Dabei kommt es zur Abnahme der organischen Matrix, zur Modifizierung der Matrixproteine und zum Verlust von Wasser. Gleichzeitig erfolgt die sekundäre Mineralisation und Reifung des kristallinen Gefüges (Kristallwachstum) (Deutsch & Pe'er, 1982; Robinson et al., 1995; Schröder, 2000).

Es lassen sich verschiedene Phasen der Schmelzreifung unterteilen. Sie beginnen wie die Bildung der Zahnhartsubstanzen inzisial bzw. okklusal. Die zervikalen Schmelzpartien werden zuletzt mineralisiert.

In einer ersten Phase wird die noch unreife Schmelzmatrix sezerniert. Sie besteht überwiegend aus nicht-kollagenen Proteinen, 1-2% Kohlenhydraten und Lipiden. Man nimmt an, dass die initiale Mineralisation dieser Matrix mit einer gleichzeitig ablaufenden Kalzium-Ausschüttung über eine Ca-ATPase-Pumpe zusammenhängt. Sie beginnt bereits im Abstand von etwa 0,1 μm von der distalen Zellmembran der Ameloblasten mit der Bildung von dünnen nadelartigen Apatitkristallkeimen (Binus et al., 1987; Schröder, 2000). Dennoch ist die Matrix weich, glasig, stark wasserhaltig und besteht nur zu etwa 20 Vol-% aus Kristalliten. Der kristalline Anteil besteht überwiegend aus Kalzium und Phosphor. Der Kalzium-Gehalt schwankt zwischen 21 und 26% und der Phosphor-Gehalt zwischen 9 und 12%.

Während der zweiten und dritten Phase nimmt die gesamte Proteinkonzentration und damit die Matrixmenge rapide ab. Die Proteine werden selektiv durch Gewebsflüssigkeit ersetzt. Der Gehalt an Kalzium und Phosphor nimmt zu. Zum Ende der dritten Phase wurde bereits fast die gesamte Matrix rückresorbiert und durch Flüssigkeit ersetzt. Hierdurch ist der Schmelz zwar bereits hochgradig mineralisiert (Kalzium-Gehalt 35%, Phosphor-Gehalt 17%), aber porös (Deutsch & Pe'er, 1982; Schröder, 2000).

Die endgültige Reife erhält der Schmelz in der Phase der posteruptiven Schmelzreifung. Verbliebene Mikroporositäten und Ionendefekte im Kristallgitter können durch Aufnahme von Mineralien aus dem Speichel bzw. aus Nahrungsmitteln ausgeglichen werden. Der Mineralgehalt erreicht im maximal mineralisierten Schmelz 88 Vol-% bzw. 96 Gewichts-% (Binus et al., 1987; Hellwig et al., 2009).

Während der Schmelzreifung nimmt nicht nur die Konzentration der Proteine ab, sondern es ändert sich auch ihre Zusammensetzung. Die Amelogenine, die reich an den Aminosäuren Prolin, Histidin und Glutaminsäure sind, nehmen ab. Gleichzeitig erhöht sich die Konzentration der Enameline mit hohen Konzentrationen an Serin, Glycin und Asparaginsäure und einem höheren Molekulargewicht (Höhling, 1966; Schröder, 2000).

Alle beschriebenen Änderungen der Zusammensetzung des Zahnschmelzes während der präeruptiven Schmelzreifung sind auf die Funktion der Ameloblasten zurückzuführen und damit eine zelluläre Leistung.

2.1.2 Aufbau des Zahnschmelzes

Der Zahnschmelz ist das härteste Zellprodukt des menschlichen Körpers (5-8 Mohssche Härteskala, 260-360 KHN, 300-430 VH). Er enthält aber nach abgeschlossener Schmelzbildung keine Zellen (s.o.) und kann daher nicht nachgebildet werden (Hellwig et al., 2009). Er bildet einen schützenden Mantel um das weichere Dentin mit einer schwankenden Dicke von einigen Mikrometern am Zahnhals und bis zu 2,5 mm im Bereich der Inzisalkanten bzw. Höckerspitzen. Er besitzt eine Eigenfarbe von grau-bläulich bis gelblich, ist aber im Wesentlichen transparent. Seine Zusammensetzung unterliegt in gewissem Maße Veränderungen, da er im Sinne eines „Ionenaustauschers“ begrenzt permeabel ist. Besonders Wasser und Alkohol können relativ frei diffundieren, aber auch Farbstoffe können sich von innen und außen einlagern. Die Permeabilität nimmt posteruptiv mit steigender Dichte des Schmelzes ab (Brudevold et al., 1982).

Der Schmelz besteht zu 95 Gewichts-% aus anorganischer, zu 1% aus organischer Substanz und zu 4% aus Wasser (Höhling, 1966; Schröder, 2000). Der mineralische Teil liegt überwiegend als Hydroxylapatit (vereinfacht $\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$) vor. Die Hydroxylgruppen können durch Chlor oder Fluor substituiert werden (Binus et al., 1987). Neben Kalzium und Phosphor, welche im Verhältnis von 2,1:1 vorliegen (Robinson et al., 1971), finden sich geringe Anteile an Natrium, Magnesium, Fluor, Chlor und Kalium sowie Spurenelemente wie Eisen, Zink und Strontium. Bezogen auf die Zahnhartgewebe werden auch Elemente mit einer Konzentration über 100 ppm als Spurenelemente angesehen (Nixon, 1969). Weiterhin kommt in variablen Mengen Karbonat vor, das besonders anfällig für einen Säureangriff ist (Weatherell et al., 1968a). Die durchschnittliche Konzentration der Elemente ist dabei wenig aussagekräftig, da sie in den verschiedenen Schmelzschichten starken Schwankungen unterworfen ist (Nixon, 1969). Die durchschnittliche Konzentration an Kalzium beträgt 37,5%, jedoch findet man in den oberflächlichen Schmelzschichten 39-40%, während man in der Nähe der Schmelz-Dentin-Grenze Werte von nur 30% feststellen kann (Davidson et al., 1973; Robinson et al., 1971). Auch das Fluor findet sich in der oberflächlichsten Schicht mit 300-1200 ppm in einer höheren Konzentration als im inneren Schmelzbereich. Hier misst man bis zu 20 mal weniger Fluor. Die Konzentration wird dabei u.a. von der Konzentration des Trinkwassers, der Nahrung und der verwendeten Zahnpasta beeinflusst und ändert sich mit dem Alter und dem Zahntyp. Präeruptiv sind die Konzentrationsschwankungen des Fluors ebenso wie die der anderen Elemente daher weniger ausgeprägt als posteruptiv (Schröder, 2000).

Ebenso wie beim Fluor und Kalzium nimmt auch die Konzentration von Phosphor, Chlor und damit die Mineraldichte von der Oberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze hin ab. Das Kalzium-Phosphor-Verhältnis bleibt aufgrund der Parallelität der Schwankungen dabei gleich (Robinson et al., 1971). Genau entgegengesetzt verhält es sich mit den Konzentrationen an Natrium, Magnesium, Kalium und Carbonat (Robinson et al., 1981; Weatherell, 1975; Weatherell et al., 1968a).

Die Apatitkristallite sind in die organische Matrix eingebettet, die hauptsächlich aus Proteinen (wenige Kohlenhydrate und Lipide) besteht und deren Konzentration innerhalb der Schmelzschicht ebenfalls variiert. Sie liegt zum großen Teil im inneren Drittel des Schmelzmantels als Schmelzbüschel und Lamellen (s.u.) vor (Weatherell et al., 1968b). Weiterhin lässt sich in der Region unterhalb der Fissuren eine große Menge an Proteinen finden (Robinson et al., 1971). Der hohe Proteingehalt korreliert dabei mit einer hohen Magnesiumkonzentration und einer geringeren Dichte in diesen Regionen (Robinson et al., 1981; Weatherell et al., 1968b). Weatherell (1968b) fand einen geringeren Proteingehalt in dünnen Schmelzschichten und in Regionen mit flacher Dentinoberfläche, was eine Erklärung für die generell höhere Dichte des Schmelzes von Inzisiven und Caninen sein kann. Grundsätzlich enthält der Schmelz keine kollagenen Proteine.

Das Wasser ist vor allem an die Apatitkristalle in Form einer Hydratationsschale gebunden. Nur etwa ein Viertel des Wassers ist frei in der organischen Substanz verfügbar. Letzteres kann bei Erwärmung verdampfen und bei Wasserzufuhr wieder eingelagert werden (Dibdin, 1972).

Anordnung der Kristallite

Die Kristallite präsentieren sich als leicht abgeflachte, hexagonale Stäbe. Im voll ausgereiften Schmelz erreichen sie eine Dicke von 20-60 nm, sind 30-90 nm breit und unbestimmbar lang. Damit sind sie deutlich größer als die Kristallite des Dentins, Zements und des Knochens. Chemisch handelt es sich überwiegend um Hydroxylapatit (s.o.).

Die Kristallite lagern sich zum Teil in den Schmelzprismen zusammen. Sie sind mit ihrer Längsachse (optische Achse) parallel zur Prismenachse angeordnet. Daneben existieren interprismatische Bereiche, in denen die Kristallite bis zu 70 Grad gegen die Stabachse geneigt sind und die daher licht- und elektronenoptisch voneinander getrennt werden können. Koronal ist das Schmelzprisma von der Prismenscheide umgeben.

Die Schmelzprismen reichen stabförmig von der Schmelz-Dentin-Grenze bis dicht unter die Schmelzoberfläche. Ihr Durchmesser wird zur Oberfläche hin größer, weshalb die Anzahl der Stäbe pro Fläche hier kleiner ist als im inneren Schmelzbereich. Die Anzahl der Prismenstäbe entspricht dabei der Anzahl der Ameloblasten. Die Stäbe verlaufen nicht geradlinig, sondern zeigen je nach Lokalisation einen wellenförmigen bzw. spiraligen Verlauf. Im äußeren Schmelzdrittel findet sich dagegen ein paralleler Verlauf (Höhling, 1966; Osborn, 1973; Schröder, 2000).

Strukturelle Besonderheiten des Zahnschmelzes

Die Schmelz-Dentin-Grenze ist insbesondere im Bereich der Höcker gewellt. Die Grenzzone nimmt so eine Dicke von etwa 12 μm ein. So entsteht eine mechanische Mikroverzahnung von Schmelz und Dentin, die für eine optimale Haftung des Schmelzes sorgt.

Die Schmelzbüschel finden sich ausschließlich im inneren Schmelzdrittel und entspringen nahe der Grenze zum Dentin. Es handelt sich um präeruptiv entstehende Bereiche, die reich an Matrix sind und deshalb einen niedrigeren Mineralgehalt aufweisen. Einige Büschel durchziehen den gesamten Schmelz und werden dann als Schmelzlamellen bezeichnet. Sie sind parallel zur Zahnachse angeordnet (Osborn, 1973; Weatherell et al., 1968b).

Bei der Hunter-Schregerschen-Streifung handelt es sich um ein optisches Phänomen, das durch Richtungsänderungen im Verlauf der Prismenstäbe hervorgerufen wird. Im auffallenden Licht und polarisationsoptisch zeigt sich in Längs- und Querschnitten eine Folge von hellen und dunklen Streifen. Diese befinden sich ebenfalls im inneren Schmelzbereich (Osborn, 1973).

Die Retzius-Streifen sind Wachstumslinien, die im gesamten Schmelzmantel vorkommen. Anhand eines Schmelzschliffes erkennt man im durchfallenden Licht bräunliche Linien, die von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Schmelzoberfläche ziehen, die aber die Schmelzoberfläche nicht schneiden. Sie stehen hufeisenförmig in variabler Breite und variablem Abstand (zur Oberfläche hin größer werdend) auf dem Dentinkern. Es handelt sich überwiegend um hypomineralisierte Bereiche, die sich aufgrund des ändernden Prismenverlaufs ergeben und die Ruhephasen der Ameloblasten zwischen zwei Sekretionsphasen repräsentieren (Schour & Hoffman, 1939; Schröder, 2000).

Die oberflächlichste Schmelzschicht (ca. 20-80 μm) entsteht zum Ende der Amelogenese. Da sich der Tomes Fortsatz bereits zurückgebildet hat, ist diese Schicht prismenfrei. Bei frisch durchgebrochenen bzw. noch nicht durchgebrochenen Zähnen zeigt sich die Oberfläche in Abständen von etwa 5 μm lamelliert. Diese Lamellen finden sich einige Zeit nach dem Durchbruch nur noch an Stellen, die vor Abrasion und Attrition geschützt sind, beispielsweise interdental und zervikal. Zudem kann man an frisch durchgebrochenen Zähnen ein Linienmuster erkennen. Diese, auch Perikymatien oder Imbrikationslinien genannten, Furchen und Bänder umziehen kreisförmig die Zahnkrone (Osborn, 1973; Ripa et al., 1966).

Weiterhin zeigen frisch durchgebrochene Zähne Besonderheiten in Form von kleinsten Fissuren, grubchenartigen Vertiefungen und pilzartigen Sprossungen, z.B. im Bereich der interdentalen Kontaktpunkte. Hierbei handelt es sich meist um kleinste, örtlich begrenzte Störungen der Schmelzbildung. Auch der Aufbau der Schmelzkristallite unterscheidet sich bei frisch durchgebrochenen Zähnen von dem reiferer Zähne. Vor dem Durchbruch besteht die Schmelzoberfläche aus vielen lose gepackten, kleinen Kristalliten, später sind die Kristallite relativ groß. Unebenheiten an der Zahnoberfläche können die Plaqueakkumulation begünstigen (Binus et al., 1987; Schröder, 2000).

Neben den normalen strukturellen Besonderheiten des Schmelzes treten regelmäßig Strukturfehler auf, die hier kurz erwähnt werden sollen.

Wenn während der Hartschubstanzbildung einige Odontoblasten in die Ameloblastenreihen hineinragen und ihren Fortsatz teilweise nach der Dentinbildung dort belassen, entstehen Schmelzspindeln. Sie erscheinen im durchfallenden Licht dunkel, haben kolbenförmige Gestalt und ragen von der Schmelz-Dentin-Grenze senkrecht in den Schmelz.

Die Schmelzsprünge sind lichtmikroskopisch nicht von den Schmelzbüscheln zu unterscheiden. Sie können im Gegensatz zu diesen jedoch auch posteruptiv entstehen. In den meisten Fällen verlaufen sie von der Schmelz-Dentin-Grenze 100-1000 μm in Richtung Oberfläche. Man nimmt an, dass die Ursache Spannungen aufgrund von Temperatur- oder Druckschwankungen sind (Schröder, 2000).

An allen Milchzähnen und häufig auch an den ersten Molaren tritt die Neonatallinie auf. Die Ursache sieht man in einer metabolischen Störung während der Geburt. Die Linie stellt einen verbreiterten Retzius-Streifen von etwa 10-20 μm dar, der sich, je nach Entwicklungsstand, auf unterschiedlicher Kronenhöhe befindet und der häufig hypomineralisiert, selten hypermineralisiert, ist (Binus et al., 1987).

2.2 Karies

2.2.1 Definition

„Zahnkaries ist ein lokalisierter pathologischer Vorgang (Krankheit) bakteriellen Ursprungs, der mit einem fortschreitenden Verfall (Demineralisation) der Zahnhartsubstanzen einhergeht und schließlich zur Höhlenbildung (Kavität) führt“ (Baume, 1962; FDI, 1976; Klimm, 1997).

Lat. Caries: „Morschheit“, „Fäulnis“

2.2.2 Ätiologie

2.2.2.1 Allgemeines

Das Auftreten von Karies konnte bis in die Zeit der alten Ägypter zurückverfolgt werden (Hoffmann-Axthelm, 1985). Sie kam damals jedoch selten vor, was auf die stark abrasive Ernährung zurückgeführt wird. Seit dem 17.-18. Jahrhundert musste jedoch ein stetiger Anstieg der Karieshäufigkeit registriert werden. Die Gründe liegen vermutlich in der Verfeinerung der Nahrung, was zu reduzierter Kautätigkeit und geringerer Selbstreinigung und Speichelbildung führt. Zudem stieg der Zuckergehalt und die Häufigkeit der Nahrungsaufnahme an. Deshalb wird die Karies auch als „Zivilisationskrankheit“ bezeichnet (Klimm, 1997). Die Erkrankungshäufigkeit nimmt mit steigendem Lebensalter zu und ist in der zweiten Dentition größer (Einwag, 1993).

Seit den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts kam es vor allem bei Kindern in den industrialisierten Ländern zu einem Rückgang der Karies (Marthaler, 2004). Dies führen Wissenschaftler insbesondere auf die Anwendung von Fluoridpräparaten zurück (Bratthall et al., 1996; Petersson & Bratthall, 1996).

2.2.2.2 Karies-Theorien

Schon früh versuchte man, der Kariesursache auf den Grund zu gehen. So kam es um etwa 1800 v. Chr. zu dem Irrglauben, Karies werde von Zahnwürmern verursacht (Hoffmann-Axthelm, 1985). Aristoteles (384-322 v. Chr.) hingegen stellte bereits einen

Zusammenhang zwischen dem häufigen Verzehr von zuckerhaltigen Feigen und der Entstehung der Karies her (Strübig, 1989). Jedoch herrschte auch in den folgenden Jahrhunderten weiterhin große Unklarheit über die tatsächlich ablaufenden Mechanismen.

Erst im Verlauf des 19. Jahrhunderts n. Chr. entwickelten Wissenschaftler wie Erdl und Leuwenhoek die parasitäre Theorie der Kariesätiologie und beschrieben Mikroorganismen in der Zahnplaque. Miller begründete schließlich etwa 50 Jahre später mit seiner chemisch-parasitären Theorie die moderne Kariologie. Er schrieb über die Vergärung von Kohlenhydraten, die Bildung von Säuren durch Mikroorganismen und die dadurch hervorgerufene Entkalkung des Zahnschmelzes. Prädisponierende Faktoren sah er allerdings nur in der Anatomie der Zähne und der Zahnstellung (Klimm, 1997). Die Bedeutung der Plaque sowie die unterschiedliche Kariogenität verschiedener Kohlenhydrate blieb unberücksichtigt.

Trotz dieser Fortschritte kam es im Verlauf der nächsten Jahre weiterhin zur Entwicklung diverser Kariestheorien, wie beispielsweise der Proteolysetheorie nach Gottlieb von 1944.

Beweise für die Bedeutung der Nahrung und der Mikroorganismen brachten schließlich Tierversuche erst über 60 Jahre nach Millers Theorie. Es zeigte sich, dass sondenernährte Ratten im Vergleich zur oral ernährten Kontrollgruppe keine Karies entwickelten, und dass die Entfernung der wichtigsten Speicheldrüsen zu einem höheren Kariesbefall der Ratten führte (Kite et al., 1950). Orland et al. (1954) zeigten, dass keimfrei zur Welt gebrachte und aufgewachsene Ratten trotz kariogener Kost keine Karies entwickelten. Infizierte man diese Ratten allerdings mit einem Enterococcus und proteolytischem Bacillus bei gleicher Ernährung kam es zur Entstehung von Karies (Orland et al., 1955).

Aufgrund dieser wissenschaftlichen Grundlagen definierte Keyes die moderne Trias der Kariesätiologie, bestehend aus den Faktoren Wirt/Zähne, Mikroflora und Substrat (Nahrung) (Keyes, 1962). König ergänzte neun Jahre später den Faktor Zeit (König, 1971). Er beschrieb die Mundhöhle des Wirts als ökologisches System. Beim Fehlen eines der vier Faktoren entsteht keine Karies.

Dem Faktor „Wirt“ lassen sich verschiedene Aspekte zuordnen, die die „Anfälligkeit“ der Zähne gegenüber der Karies beeinflussen. Zum Einen handelt es sich um die Anatomie der Zähne, mit Fissuren, Grübchen, Spalten und Rissen sowie um die Zahnstellung, die die Karies begünstigen kann. Auch eine Entwicklungsstörung wie zum Beispiel die Molaren-Inzisiven-Hypomineralisation kann zu erhöhtem Kariesbefall führen. Eine weitere wichtige Rolle spielt der Speichel. Seine Funktionen sind vielfältig. Er ist wesentlich an der

Aufrechterhaltung des mikroökologischen Gleichgewichtes in der Mundhöhle beteiligt, transportiert Substrate, Ionen (wie Fluoridionen, s.u.) und Abwehrfaktoren wie das Lysozym und das Laktoferrin. Auch der Abtransport von Substraten und Mikroorganismen aus der Mundhöhle wird über den Speichel gewährleistet. Weiterhin enthält der Speichel diverse Puffersysteme, wie das Hydrogenkarbonat-, das Phosphat- und das Proteinpuffersystem, um Säuren in der Plaque zu neutralisieren. Durch das Enzym α -Amylase im Speichel kann der Stärke- und Glykogenabbau eingeleitet werden bzw. können im Mund verbliebende Kohlenhydrate gespalten werden. Wie im Tierversuch bewiesen, führt die Hyposalivation bzw. Xerostomie, wie sie beispielsweise beim Sjögren-Syndrom, postradiatio oder als Nebenwirkung diverser Medikamente auftritt, zu erhöhtem Kariesbefall (Kite et al., 1950). Auch genetische Faktoren spielen eine Rolle, sind aber nicht so bedeutsam wie Umwelteinflüsse (Mansbridge, 1959).

Der Faktor „Mikroflora“ beschreibt unterschiedliche Mikroorganismen, die das Substrat (die Nahrung) in der bakteriellen Plaque umsetzen und Säuren bilden. Im Folgenden sollen nur die wichtigsten an der Kariesentstehung beteiligten Bakterien genannt werden. Die große Gruppe der Streptokokken lässt sich in verschiedene Untergruppen mit diversen Spezies einteilen, die *S.-mutans*-, die *S.-oralis*-, die *S.-salivarius*- und die *S.-milleri*-Gruppe. Es handelt sich um fakultativ anaerobe, gram-positive Kokken, die u.a. Glukose und Saccharose zu Milchsäure abbauen. Die Streptokokken spielen bereits früh in der Entwicklung der Karies eine große Rolle (s.u.). Auch die Laktobazillen mit den wichtigsten Vertretern *L. acidophilus* und *L. casei* und die Aktinomyzeten (*A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*) sind gram-positiv und bilden Milchsäure. Im Gegensatz dazu sind die Veillonellen nicht am Abbau der Kohlenhydrate beteiligt, sondern bauen die von anderen Mikroorganismen gebildete Milchsäure in Essig- oder Propionsäure um.

Dass ohne die orale Nahrungsaufnahme keine Karies entsteht, wurde bereits dargelegt (Kite et al., 1950). Den Einfluss des Zuckergehaltes der Nahrung konnte eine Studie zur Zeit des zweiten Weltkrieges nachweisen. Der reduzierte Zuckerkonsum während der Kriegsjahre bei norwegischen Kindern ging mit einer reduzierten Kariesaktivität einher (Toverud, 1949). Doch nicht alle Kohlenhydrate zeigen die gleiche Kariogenität. Bei der Turku-Studie wurden drei Versuchsgruppen eingeteilt. Die erste ernährte sich von saccharosehaltiger Kost, bei der zweiten wurde die Saccharose fast vollständig durch Fruktose und bei der dritten Gruppe durch Xylit ersetzt. Der Karieszuwachs über zwei Jahre war in der Saccharose-Gruppe am höchsten und unterschied sich statistisch hoch signifikant von der Xylit-Gruppe (Scheinin & Mäkinen, 1977).

Unter dem Faktor „Zeit“ versteht man die Retentionszeit des kariogenen Substrats und die Häufigkeit der Nahrungsaufnahme. Klebrige Nahrungsmittel sind demnach stärker kariogen, da sie längere Zeit im Mund verweilen und in Nischen als eine Art Depot verbleiben können. Dies zeigte die Vipeholm-Studie, die neben der Konsistenz der Nahrung auch die Frequenz der Aufnahme von zuckerhaltigen Lebensmitteln mit einbezog. Bei häufigen, süßen und klebrigen „Zwischenmahlzeiten“ kam es hierbei zu einer höheren Kariesaktivität als bei Verzehr von größeren Zuckermengen zu den Mahlzeiten in flüssiger Form (Gustafsson et al., 1954).

2.2.3 Pathogenese

Die Entstehung der Karies ist an die Entwicklung der Zahnplaque gebunden. Dieser weiche, variabel dicke, gelblich dichte Zahnbelag besteht hauptsächlich aus Bakterien, deren Produkten und Speichelkomponenten und lässt sich nur mechanisch entfernen (Schröder, 1991). Er entsteht in mehreren Schritten.

Zunächst kommt es auf der gereinigten Schmelzoberfläche innerhalb weniger Minuten zur Bildung eines Speichelfilms, dem sogenannten Pellikel (erworbenes Schmelzoberhäutchen). Geladene Anteile von Makromolekülen des Speichels binden dabei an die geladenen Phosphat- und Kalziumionen des Schmelzes. Das Pellikel ist etwa 1 µm dick und semipermeabel und ermöglicht so den Austausch zwischen Schmelz und Speichel. Zudem dient es als Schutz der Zahnoberfläche vor mechanischen Einflüssen und Säuren (Brudevold et al., 1982; Hellwig et al., 2009; Lie, 1975). Weiterhin ermöglicht es jedoch auch die Anheftung von Mikroorganismen, die zunächst reversibel über van-der Waals'sche Anziehungskräfte erfolgt. Diese Adhärenz ist u.a. abhängig von der Konzentration der Mikroorganismen, der Speichelfließrate und der Selbstreinigung durch die Zunge. Günstige Bedingungen der mikrobiellen Retention finden sich etwa in Mikrodefekten des Schmelzes (Marsh & Martin, 2003).

Einige Bakterien sind in der Lage, sogenannte Adhäsine zu bilden und damit die Bindung an die Zahnoberfläche zu stabilisieren. Hierzu gehört die Lipoteichonsäure, die von Streptokokken gebildet werden kann (Ciardi et al., 1977) sowie Oberflächenstrukturen von Streptokokken, Aktinomyzeten, Fibrillen und Fimbrien (Marsh & Martin, 2003). Diese Mikroorganismen werden daher auch als Pionierkeime (insbesondere *S. sanguis*) bei der Besiedlung der Zahnoberfläche betrachtet (Socransky et al., 1977).

Durch die feste Bindung an die Zahnoberfläche wird das Wachstum der Mikroorganismen begünstigt. Die Bildung extrazellulärer Polysaccharide und bakterieller Lektine ermöglicht zudem die Anheftung zwischen gleichen und unterschiedlichen Mikroorganismen, so dass auch solche Bakterien, die nicht primär an das Pellicel binden können, mehr und mehr die Plaque besiedeln (Klimm, 1997).

Die junge Plaque ist gram-positiv und beherbergt Mikroorganismen wie *S. sanguis*, *A. viscosus* und *A. naeslundii* (Socransky et al., 1977). Nach 24-48 Stunden gesellen sich auch Stäbchen und fadenförmige Mikroorganismen hinzu (Lie, 1977). Mit zunehmender Plaquedicke und -dichte sinkt das Sauerstoffangebot, was zur Vermehrung von fakultativ anaeroben Mikroorganismen wie Aktinomyzeten und strikt anaerob lebenden Mikroorganismen wie Fusobakterien und Veillonellen führt.

Unter physiologischen Bedingungen stellt der Speichel eine mit Kalzium- und Phosphat-Ionen gesättigte Lösung dar. An der Zahnoberfläche herrscht ein Gleichgewicht zwischen dem in Lösung gehen von Kalzium- und Phosphat-Ionen aus dem Hydroxylapatit des Schmelzes in den Speichel bzw. die Plaque (Demineralisation) und dem Ausfällen der gelösten Ionen innerhalb des Schmelzes (Remineralisation) (Klimm, 1997). Kommt es im Rahmen der Glykolyse zur Bildung von Säuren aus gelösten Zuckern wie der Saccharose durch kariogene Mikroorganismen in der Plaque (s.o.), resultiert ein pH-Abfall. Bei einem pH-Abfall unter 5,5-5,7 verschiebt sich das physiologische Gleichgewicht in Richtung Demineralisation und es kommt zum Mineralverlust (Hellwig et al., 2009; Klimek, 1998; Klimm, 1997).

2.2.4 Schmelzkaries

Die Schmelz- oder Initialkaries ist eine kariöse Läsion, die auf den Zahnschmelz limitiert ist und noch nicht zur Kavitation geführt hat (Schröder, 1991). Klinisch kann sie durch opake, kalkig-weiße Flecken, die als „white spot“ bezeichnet werden, imponieren. Bestehen diese über einen längeren Zeitraum können sich exogene Farbstoffe aus der Nahrung oder aus Genussmitteln einlagern und zu einem „brown spot“ führen. Dieser ist im Gegensatz zum white spot Ausdruck einer arretierten, also nicht aktiven Karies. Bei Sondierung lässt sich bezüglich der Härte kein Unterschied zu gesundem Zahnschmelz feststellen, da sich der Defekt langsam unter der Oberfläche ausbreitet („subsurface lesion“) und die oberflächliche Schmelzschicht zunächst relativ intakt bleibt (Silverstone,

1973). Bei Betrachtung mittels Elektronenmikroskop lassen sich allerdings auch schon vor dem Auftreten klinischer Anzeichen Veränderungen dieser Oberflächenschicht erkennen, weshalb sie auch als „pseudointakt“ bezeichnet wird (siehe Abbildungen 5 und 6). Die in der Plaque gebildeten Säuren führen zur Auflösung der interprismatischen Bereiche entlang der Prismenscheiden bis in die Tiefe sowie zu erweiterten interkristallinen Räumen innerhalb der Prismenstäbe und des Zwischenstabschmelzes (Haikel et al., 1983; Holmen et al., 1985). Hierdurch entstehen wiederum Diffusionskanäle für die Säuren, die im Schmelzinneren Protonen abgeben und so weitere Ionen aus der Kristallstruktur des Schmelzes herauslösen. Die gelösten Ionen wandern entsprechend ihrem Konzentrationsgradienten zur Oberfläche, können aber auf dem Weg und besonders an der Schmelzoberfläche aufgrund des geringeren Gradienten zum Speichel und der Plaque dort ausfallen. Auf diese Weise entsteht die pseudointakte Oberfläche, die weiterhin Säuren den Weg in die tieferen Schichten ermöglicht (Binus et al., 1987; Hellwig et al., 2009).

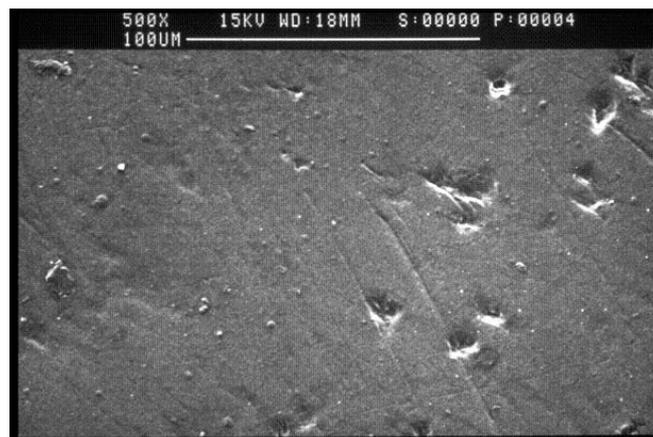


Abb. 5: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer gesunden Schmelzoberfläche (Bildmaterial Prof. Dr. S. Zimmer)

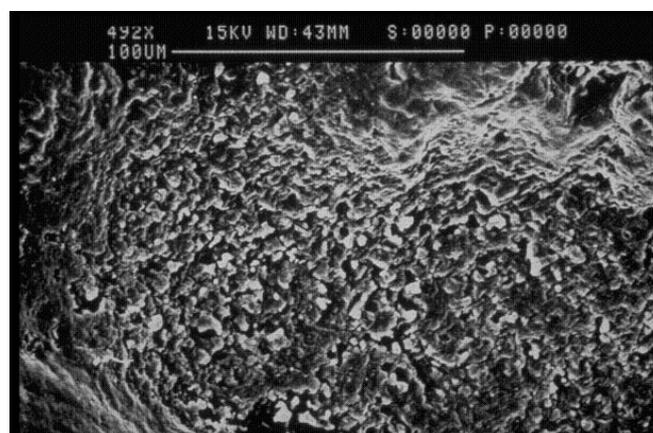


Abb. 6: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Oberfläche einer Initialläsion (Bildmaterial Prof. Dr. S. Zimmer)

Der Schmelzdefekt hat die Form eines Kegels, dessen Basis sich an der Oberfläche befindet und dessen Spitze dentinwärts zeigt. Histopathologisch lassen sich vier Zonen unterscheiden, die als Ausdruck von De- und Remineralisationsprozessen aufgefasst werden können (Klimm, 1997; Schröder, 1991).

Die innerste Zone wird als lichtdurchlässige oder transluzente Zone bezeichnet. Die Porosität ist gegenüber gesundem Schmelz leicht erhöht, aber immer noch unter 1%. Die Schmelzkristallite sind etwas kleiner als im gesunden Schmelz.

Die anschließende, im Durchlicht dunkel erscheinende Zone enthält etwa 2-4% Mikroporen. Die Kristallite sind hier mit 50-100 nm Durchmesser wesentlich größer als im gesundem Schmelz (40 nm). Bei rasch fortschreitenden kariösen Läsionen ist diese Zone schmal, bei langsam fortschreitenden Läsionen breiter.

Die dritte Zone repräsentiert das Zentrum der Läsion. Hier zeigt sich der größte Mineralverlust mit bis zu 25%. Die Kristalle sind klein (10-30 nm) und die Retziusstreifen sind gegenüber gesundem Schmelz verstärkt.

Die oberflächliche pseudointakte Schicht ist etwa 20-50 µm dick und zeigt einen geringen Mineralverlust mit einem Porenvolumen von 1-5%. Die Kristallite sind größer als im gesundem Schmelz. Diese Zone kann als das Resultat von Remineralisationsprozessen angesehen werden (Arends & Christoffersen, 1986; Binus et al., 1987; Schröder, 1991; Silverstone, 1973).

Die initiale Schmelzkaries ist reversibel und muss nicht (minimal-) invasiv versorgt werden (Holmen et al., 1987). Voraussetzung dafür ist allerdings eine intakte Oberflächenschicht, die schon bei unvorsichtiger klinischer Sondierung einbrechen kann (Ekstrand et al., 1987). Aktive „white spot“-Läsionen können zum Einen durch Nahrungsumstellung oder verbesserte Mundhygiene in passive, arretierte Läsionen überführt werden. Ein typisches Beispiel ist die initiale Approximalkaries, die nach Entfernung des Nachbarzahns und die dadurch gegebene bessere Reinigungsmöglichkeit und Umspülung mit Speichel zum Stillstand kommt. Zum Anderen können initiale Läsionen u.a. durch Fluoridpräparate remineralisiert werden (s.u.). Der Durchmesser der Kristallite wird durch Remineralisation in den drei Zonen unterhalb der intakten Oberflächenschicht größer (50-150 nm) als im gesunden Schmelz (40 nm) und es kann gegenüber gesundem Schmelz zur Hypermineralisation kommen, so dass diese Bereiche bei folgenden kariösen Angriffen zum Teil weniger anfällig sind als gesunde Schmelzpartien (Klimek, 1998; Möller & Schröder, 1986; Schröder, 1991). Weite Bereiche

des Läsionskörpers nehmen durch die Remineralisation die Struktur der dunklen Zone an und die Läsion wird volumenmäßig kleiner (Binus et al., 1987; Holmen et al., 1987).

Ab einem Mineralverlust von über 60 % im Bereich des Läsionskörpers ist nur noch eine partielle Remineralisation möglich, so dass ein Restdefekt verbleibt (Klinger & Wiedemann, 1986).

2.3 Fluoride

2.3.1 Kariesprophylaktische Wirkung

Fluoride kommen ubiquitär vor und finden sich beispielsweise in verschiedensten Nahrungsmitteln (besonders in Seefisch und Tee), dem Trinkwasser, aber auch im Erdboden und in der Luft. In Deutschland, Österreich und der Schweiz werden als Richtwert für eine angemessene Zufuhr von Fluorid 3,1-3,8 mg pro Tag für einen Erwachsenen angegeben (D-A-CH, 2008). Durchschnittlich nimmt ein Erwachsener in Deutschland jedoch nur 0,4-1,5 mg Fluorid zu sich (Bergmann et al., 1983; Hesecker, 1999; WHO, 1996).

Aufgrund der hohen Affinität zu Knochen wird das Fluorid hier vermehrt eingebaut. So steigt die Fluoridkonzentration des Skelettsystems mit dem Lebensalter. Während der Zahnentwicklung kann es ebenso in die Zahnhartsubstanzen und hier besonders in das Kristallgitter des Hydroxylapatits eingebaut werden (Schiffner, 2001).

Die Fluoride sind für die Prophylaxe der Zahnkaries von zentraler Bedeutung und wurden in diesem Zusammenhang intensiv untersucht. Sie wirken dabei zum Einen direkt auf den Zahnschmelz und zum Anderen auf die Mikroorganismen.

Wirkung von Fluorid auf den Zahnschmelz

Freie Fluoridionen können auf verschiedene Weise mit dem Schmelz reagieren. Dabei steigt zunächst die Fluoridkonzentration an der Schmelzoberfläche.

Kommt es bei sauren pH-Werten zur Auflösung der oberflächlichen Schmelzschicht, können aus dem Zahn stammende Kalziumionen mit den Fluoridionen reagieren. Es bildet sich eine Kalziumfluorid-Deckschicht. Damit diese möglichst ausgeprägt ist, werden therapeutisch Fluoridpräparate mit niedrigem pH-Wert verwendet, damit dem Fluorid mehr

Kalziumionen zur Verfügung stehen (Larsen & Jensen, 1994; Ögaard, 1990; Schiffner, 2001). Weiterhin können Fluoridionen in die Kristallstruktur eingebaut werden und es entsteht fluoridiertes Hydroxylapatit bzw. Fluorapatit (ten Cate, 1999). Nachfolgend kommt es zur Fluoridanreicherung in den tieferen Schmelzschichten. Das Fluorid diffundiert langsam in den Schmelz hinein und kann dort freie Bindungsstellen der Kristallstrukturen besetzen. Ebenso kann es aber auch in unspezifischer Bindung in der wässrigen Hülle der Kristalle verbleiben (Hellwig et al., 2009).

Liegt das Fluorid nicht in freier Form sondern kovalent gebunden vor, wie z.B. im Natriummonofluorophosphat, unterscheiden sich die Reaktionsmechanismen. Das Fluorid kann in den Zahnschmelz diffundieren und dort im Austausch mit Phosphat eingebaut werden. Zum Anderen kommt es durch Enzyme des Speichels und der Mikroorganismen der Plaque sowie durch Säuren zur Hydrolyse des Monofluorophosphates. Die nun frei werdenden Fluoridionen können wie oben beschrieben mit dem Schmelz reagieren. Die Reaktion von Schmelz mit kovalent gebundenem Fluorid benötigt generell mehr Zeit als die Reaktion mit freien Fluoridionen (Jackson, 1982; Pearce & Dibdin, 1995).

Die kariesprophylaktische Wirkung von Fluorid auf den Zahnschmelz besteht in der Verminderung der Säurelöslichkeit des Schmelzes und, noch entscheidender, in der Hemmung der Demineralisation und Förderung der Remineralisation (Margolis & Moreno, 1990; Schiffner, 2001; ten Cate, 1999). Die dabei im Detail ablaufenden Reaktionsmechanismen konnten bisher nicht abschließend geklärt werden. Es wird vermutet, dass das in Form von fluoridiertem Apatit fest eingebaute Fluorid eine geringere Rolle bezüglich des Kariesschutzes einnimmt als das KOH-lösliche Fluorid (d.h. das Kalziumfluorid) (Saxegaard & Rölla, 1989).

Durch festen Einbau von Fluorid in das Kristallgitter wird die Säurelöslichkeit des Zahnschmelzes reduziert (Margolis & Moreno, 1990). Die Schmelzkristalle weisen regelmäßig Defekte und Fehlstellen auf, die die Säurelöslichkeit erhöhen. Diese können präeruptiv durch systemische Fluoridwirkung oder posteruptiv durch das Binden von Fluorid an unbesetzte Stellen ausgeglichen werden. So kommt es zu einer verbesserten Kristallinität mit größeren Kristallen. Parallel können Hydroxylionen durch Fluoridionen ausgetauscht werden. Präeruptiv wird jedoch nur etwa ein Zehntel der Hydroxylionen ausgetauscht (Hellwig et al., 2009). Der präeruptive Einbau von Fluorid spielt gegenüber dem posteruptiven Fluorideinbau daher nur eine untergeordnete Rolle. Das gebildete Fluorapatit bzw. fluoridierte Hydroxylapatit ist stabiler und weniger säurelöslich.

Allerdings zeigen Studien an Haizähnen, dass selbst nahezu reines Fluorapatit demineralisiert werden kann (Ögaard, 1990).

Noch bedeutender für die Kariesprophylaxe ist daher die Wirkung von Fluorid auf die De- und Remineralisation. Unter physiologischen Bedingungen kommt es an der Zahnoberfläche regelmäßig zum pH-Abfall durch mikrobielle Stoffwechselaktivität und damit zur Demineralisation. Durch Abtransport der Substrate und Pufferwirkung des Speichels folgen Perioden der Remineralisation. Besteht auf der Zahnoberfläche eine Kalziumfluorid-Deckschicht, wird bei pH-Abfall zunächst diese aufgelöst und Fluoridionen werden frei (Ögaard, 1990). Weiterhin können Fluoridionen, die sich in der wässrigen Hülle rund um die Kristalle befinden, diese schützen und ihre Löslichkeit herabsetzen. Beim folgendem pH-Anstieg kommt es aufgrund seiner geringeren Löslichkeit und der zur Verfügung stehenden Fluoridionen frühzeitig zur Ausfällung von Fluorapatit. Auf diese Weise verkürzt sich die Demineralisationszeit. Das entstehende Fluorapatit sorgt zudem dafür, dass der Schmelz gegenüber späteren kariösen Angriffen weniger anfällig ist (Hellwig et al., 2009).

Demineralisierter Schmelz kann generell mehr Fluorid aufnehmen als gesunder Schmelz (Hallsworth & Weatherell, 1969; Hellwig et al., 1987; White & Nancollas, 1990). Im Gegensatz zu gesundem Schmelz, bei dem das Fluorid hauptsächlich der Bildung der Kalziumfluorid-Deckschicht dient, wird hier mehr Fluorid als fluoridiertes Apatit eingebaut (Saxegaard & Rølla, 1989). Zusätzlich ist die Kalziumfluoridschicht ausgeprägter.

Auch bei frisch durchgebrochenen Zähnen zeigt sich in der Phase der posteruptiven Schmelzreifung eine relativ hohe Fluoridaufnahme. Dies kann therapeutisch genutzt werden, indem die noch nicht vollständig mineralisierte und recht anfällige Zahnoberfläche durch lokale Fluoridierungsmaßnahmen geschützt wird (Brudevold et al., 1982; Schiffner, 2001).

Auch in der Plaque kann es zu einer Fluoridanreicherung aus Trinkwasser und Nahrung kommen, wodurch es zu einer höheren Fluoridkonzentration als im Speichel kommen kann. So kann eine Art Fluoriddepot entstehen (Ekstrand & Oliveby, 1999). Bei sinkendem pH-Wert werden Fluoridionen aus Kalzium-Phosphat-Fluorid-Komplexen freigesetzt und können in den Schmelz diffundieren. Bei geringer Fluoridaufnahme und hoher Stoffwechselaktivität kann die Plaque allerdings umgekehrt das Fluorid dem Schmelz entziehen und ein Kalziumfluorid-Depot der Schmelzoberfläche auflösen. Untersuchungen

zeigen, dass die Kalziumfluorid-Deckschicht bei gesundem Schmelz bereits einen Tag nach Bildung deutlich reduziert ist (Saxegaard & Rølla, 1989). Für die Kariesprophylaxe ist daher die Ausbildung einer möglichst dicken CaF_2 -Schicht bzw. die häufige Aufnahme kleinerer Fluoridmengen, die zur Ausbildung einer solchen Deckschicht führen, bedeutend (Ögaard, 1990; Schiffner, 2001; ten Cate, 1999).

Wirkung von Fluorid auf Mikroorganismen

Je nach Konzentration kann das Fluorid lediglich die Stoffwechselaktivität oder zusätzlich das Wachstum der Mikroorganismen beeinflussen (Brown et al., 1980). Konzentrationen, die nötig sind, um die Mikroorganismen abzutöten, werden unter physiologischen Bedingungen nicht erreicht.

Die Wachstumshemmung durch Fluorid ist pH-Wert abhängig. Demnach sind bei niedrigerem pH-Wert, wie er unter kariogenen Bedingungen herrscht, erheblich geringere Fluoridkonzentrationen nötig, um das mikrobielle Wachstum zu hemmen (Schiffner, 2001). Säuretolerante (kariogene) Mikroorganismen werden jedoch weniger in ihrem Wachstum, sondern auf folgende Weise indirekt gehemmt. Einige Mikroorganismen können sich an die Anwesenheit von regelmäßigen hohen Fluoridkonzentrationen adaptieren, wobei jedoch ihre Stoffwechselaktivität abnimmt. Dies führt zu einem weniger ausgeprägten pH-Abfall in der Plaque, in der sich nun auch Mikroorganismen ansiedeln können, die weniger säuretolerant sind. Auf diese Weise ändert sich die mikrobielle Zusammensetzung der Plaque (Hellwig et al., 2009).

Von besonderer Bedeutung ist die Hemmung der metabolischen Aktivität der Mikroorganismen. Diese bauen niedermolekulare Kohlenhydrate über die Glykolyse ab. Fluorid bindet Magnesium und hemmt so das Enzym Enolase, das nur magnesiumabhängig funktioniert und im Rahmen der Glykolyse die Entstehung von Phosphoenolpyruvat katalysiert. So kann die Reaktionsfolge unterbrochen werden (Hamilton, 1990).

Das Phosphoenolpyruvat wird zusätzlich bei der Phosphorylierung der Glukose benötigt, damit sie als Glukose-6-Phosphat in die Bakterienzelle aufgenommen wird. Gleichzeitig wird also die Glukose-Aufnahme in die Bakterienzelle erschwert. Bei niedrigem pH-Wert kann die Glukose auch alternativ protonenbetrieben in die Zelle aufgenommen werden. Auch dieser Transportweg wird durch das Fluorid gehemmt. Es bindet Protonen im

Extrazellularraum und reduziert so den für den Glukose-Transport nötigen Protonengradienten.

Der durch Bindung der Protonen entstehende Fluorwasserstoff diffundiert in die Bakterienzelle, dissoziiert und führt durch Freisetzung der Protonen zum pH-Abfall. Da die Enzyme der Glykolyse bei niedrigem pH-Wert gehemmt werden, reduziert sich auf diese Weise erneut die Stoffwechselaktivität (Hamilton, 1990). Weiterhin hemmt Fluorid die Bildung von Lipoteichonsäure und erschwert so die Adhärenz der Mikroorganismen an der Zahnoberfläche. Durch das Fehlen von Glukose-6-Phosphat (s.o.) ist die Bildung intrazellulärer Polysaccharide reduziert und die Mikroorganismen können weniger Vorräte für Zeiten geringer Substratzufuhr anlegen (Brown et al., 1980; Hellwig et al., 2009; Streckfuss et al., 1980).

2.3.2 Effektivität verschiedener Fluoridierungsmethoden

In der Kariesprophylaxe finden verschiedene Fluoridverbindungen Anwendung. Dabei kann das Fluorid in ionischer Form vorliegen (NaF, AmF, SnF) oder kovalent gebunden sein (NaMFP). Grundsätzlich lassen sich systemische und lokale Fluoridierungsmaßnahmen unterscheiden. Eine strikte Trennung ist dabei allerdings schwierig, da lokal angewendete Fluoridpräparate verschluckt werden können und so auch systemisch wirksam sein können. Ebenso können systemisch wirkende Fluoridpräparate vor dem Verschlucken mit den Zähnen in Kontakt kommen und eine Wirkung entfalten (Schiffner, 2001). Desweiteren können systemisch eingenommene Fluoridpräparate auch lokal wirken, in dem sie nach der Einnahme proportional zum Anstieg der Plasmafluoridkonzentration auch die Fluoridkonzentration des Speichels erhöhen (Ekstrand & Oliveby, 1999). Dieser Konzentrationsunterschied und die damit verbundene lokale Wirkung auf die Zähne ist allerdings im Vergleich zu den erreichten Konzentrationen bei lokaler Fluoridgabe vernachlässigbar. Gleichermaßen kann die systemische Wirkung der lokal angewendeten Fluoridpräparate eingeschätzt werden.

Zunächst nahm man an, der präeruptive Einbau von Fluorid in den Zahnschmelz sei maßgeblich an der kariesprophylaktischen Wirkung der Fluoride beteiligt. Leverett et al. (1997) fanden jedoch heraus, dass die tägliche Einnahme von 1 mg Fluorid in Tablettenform in den letzten sechs Monaten der Schwangerschaft keine signifikante Karieshemmung bei den Kinder nach sich zieht (Leverett et al., 1997). Aus diesem Grund

kann die Fluoridgabe während der Schwangerschaft nicht empfohlen werden (Gülzow et al., 2005).

Gegenstand weiterer Untersuchungen war die Effektivität von systemisch eingenommenen Fluoriden im Vergleich zu lokal wirkenden Fluoriden. Es zeigte sich, dass die Einnahme von Fluorid in Form von Lutschtabletten im Vergleich zu Fluoridtabletten, die direkt geschluckt wurden, bei Kindern zu einem signifikant geringeren Kariesanstieg führte (Bibby et al., 1955). Auch Thylstrup kommt in seiner Übersicht zu dem Schluss, dass lokale Fluoridierungsmaßnahmen nach Zahndurchbruch effektiver sind als die Fluoridsupplementierung von Geburt an (Thylstrup, 1990). Daher wird heute die Verwendung überwiegend systemisch wirkender Fluoridpräparate zur Kariesprophylaxe nicht mehr empfohlen (Hellwig & Lennon, 2004; Zimmer et al., 2003). Zu den lokal wirksamen Fluoridierungsmaßnahmen zählen die Trinkwasserfluoridierung, die Speisesalzfluoridierung, Fluoridtabletten, vorausgesetzt sie werden vor dem Verschlucken gekaut oder gelutscht, fluoridierte Zahnpasta, Fluorid-Spülungen, -Gelées und -Lacke.

Die Speisesalzfluoridierung ermöglicht ebenso wie die Trinkwasserfluoridierung eine breitenwirksame und kollektive Kariesprophylaxe und ist dieser hinsichtlich wirtschaftlicher Aspekte überlegen (Gillespie & Marthaler, 2005; Hellwig, 2001). Studien in Kolumbien und Ungarn untersuchten den Effekt von fluoridiertem Speisesalz sowie fluoridiertem Trinkwasser bei Kindern im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, bei der keinerlei Fluoridierungsmaßnahmen zur Anwendung kamen. Dabei stellte sich heraus, dass die Verwendung von Trinkwasser mit einem Fluoridgehalt von 1 ppm zu einer signifikanten Kariesreduktion führte. Auch die Versuchsgruppen, in denen fluoridiertes Speisesalz mit einer Fluoridkonzentration von 200 ppm angewendet wurde, zeigte einen signifikanten Kariesrückgang (Marthaler et al., 1978). Dabei bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Verwendung von NaF und NaMFP. In der Schweiz durchgeführte Studien wiesen insofern andere Reduktionsraten auf, weil neben dem fluoridiertem Speisesalz auch verschiedene andere Fluoridpräparate, wie etwa Zahnpasten und Fluoridtabletten, verwendet wurden und die Ergebnisse beeinflussten. Jedoch zeigte sich auch hier in den Kantonen Glarus und Vaud vier bzw. acht Jahre nach Einführung des fluoridierten Speisesalzes eine deutliche Kariesreduktion. Diese konnte einzig in einer Gruppe von Schulkindern mit niedrigem Kariesrisiko und zuvor durchgeführter Tablettenfluoridierung nicht festgestellt werden (Marthaler & Steiner, 1981).

Die Speisesalz- und die Trinkwasserfluoridierung können hinsichtlich ihres kariespräventiven Effekts als gleichwertig angesehen werden (Kunzel, 1993). Allerdings konnte die Trinkwasserfluoridierung im Gegensatz zu den USA und Kanada in Deutschland nicht etabliert werden. Hingegen wurde das fluoridierte Speisesalz in Deutschland 1991 eingeführt und hatte im Jahr 2007 einen Marktanteil von fast 70% (DAZ, 2008). Allerdings wird es bisher ausschließlich im privaten Haushalt verwendet. Die Ausdehnung der Verwendung auf den Bereich von Großküchen und Bäckereien könnte den Effekt verstärken. Die Speisesalzfluoridierung stellt ein einfaches, kostengünstiges und effektives Mittel zur Kariesprophylaxe dar, von dem alle Bevölkerungsschichten profitieren können. Daher kann sie uneingeschränkt empfohlen werden (EAPD, 2000; Gülzow et al., 2005; WHO, 1994).

Die Verwendung von Fluoridtabletten (1 mg pro Tag) bei Schulkindern führte in Langzeitstudien zu einem signifikant geringeren Karieszuwachs als in der Placebo-Kontrollgruppe, wenn die Tabletten vor dem Verschlucken für einige Zeit im Mund belassen wurden, um dort ihre lokale Wirkung zu entfalten (Driscoll et al., 1981; Gülzow & Strübig, 1984). Die Durchführung der Studien in Schulen bot dabei den Vorteil, dass die Tablettengabe regelmäßig und kontrolliert stattfinden konnte. Jedoch besteht bei der Gabe von Fluoridtabletten besonders im frühen Kindesalter die Gefahr der Dentalfluorose (Wang & Riordan, 1999). Es wird daher dazu geraten, vor allem bei Kindern unter sechs Jahren eine detaillierte Fluoridanamnese zu erheben, um dieses Risiko zu minimieren. Bei einem lokalen Trinkwassergehalt über 0,7 ppm Fluorid sollten keine Fluoridsupplemente verabreicht werden (Whitford, 1987). Die gleichzeitige Verwendung von fluoridiertem Speisesalz und Fluoridtabletten wird nicht empfohlen (Gülzow et al., 2005; Hellwig, 2001).

Die Verbreitung fluoridierter Zahnpasta hat aus kariespräventiver Sicht besondere Bedeutung und wird als Hauptursache für den Kariesrückgang der letzten Jahrzehnte gesehen (Bratthall et al., 1996; Rölla et al., 1991). Marinho et al. ermittelten in ihrer Review einen Kariesrückgang durch fluoridierte Zahnpasta von 24% (Marinho et al., 2003). Der kariesprophylaktische Effekt steigt dabei mit höherem DMFS-Index zu Beginn der Studie, höherer Fluoridkonzentration, häufigerer Anwendung und bei überwachtem Zähneputzen. Dabei besteht eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen 1000 und 2800 ppm Fluorid (Stephen, 1993). Frei verkäufliche Zahnpasten unterliegen der Kosmetikverordnung und ihr Fluoridgehalt darf 1500 ppm nicht überschreiten. Die DGZMK empfiehlt Erwachsenen daher die mehrmals tägliche Verwendung einer

Zahnpasta mit einem Fluoridgehalt über 1000 ppm. Kinder unter sechs Jahren sollten aus toxikologischen Gründen eine erbsengroße Menge einer Zahnpasta mit einem reduzierten Fluoridgehalt von 500 ppm verwenden und beim Zähne putzen beaufsichtigt werden (Gülzow et al., 2005). Diese Konzentration zeigte eine noch ausreichende kariespräventive Wirkung (Koch et al., 1982). Der Vergleich verschiedener Fluoridverbindungen bezüglich der Effektivität brachte uneinheitliche Ergebnisse. So kommt Stephen in seiner Übersicht zu dem Schluss, NaF sei NaMFP überlegen, während Röllä et al. diese beiden Fluoridverbindungen als gleichwertig einstuft (Röllä et al., 1991; Stephen, 1993). Es kann daher keine spezielle Fluoridverbindung empfohlen werden (Gülzow et al., 2005).

Fluoridlacke enthalten in der Regel wesentlich höhere Fluoridkonzentrationen als Gelees und Spülungen und gehören deshalb in die Hände von zahnmedizinischem Fachpersonal. Der am häufigsten untersuchte und aus diesem Grund empfohlene Lack ist Duraphat mit einer Fluoridkonzentration von 22500 ppm (Gülzow et al., 2005). Studien belegen eine signifikante Kariesreduktion gegenüber der Negativkontrolle bei einer mindestens zweimal jährlichen Anwendung bei Kindern mit hoher Kariesaktivität (Dohnke-Hohrmann & Zimmer, 2004; Zimmer et al., 1999). Fluoridlacke stellen somit eine effektive Möglichkeit der Kariesprophylaxe dar und sind gut für die Gruppenprophylaxe geeignet. Sie sollten zweimal pro Jahr, bei hohem Kariesrisiko auch häufiger, und unabhängig von anderen Fluoridierungsmaßnahmen angewendet werden.

Fluoridgelees können in der zahnärztlichen Praxis oder auch zuhause angewendet werden und enthalten üblicherweise etwa 12500 ppm Fluorid. Studien belegen eine Kariesreduktion von bis zu 41%, wenn sie alle 7-14 Tage eingebürstet werden oder wenn eine professionelle Tray-Applikation 3-4 mal pro Jahr erfolgt (Maiwald et al., 1993; Szöke & Kozma, 1989; van Rijkom et al., 2004). Es wird daher empfohlen, die Applikationsmethode von der Compliance des Patienten abhängig zu machen. Das Gelee sollte zusätzlich zu Basisfluoridierungsmaßnahmen wie fluoridierter Zahnpasta, und nur bei Kindern, die in der Lage sind, auszuspucken, verwendet werden (Gülzow et al., 2005).

2.3.3 Toxikologie

„Dosis sola venenum facit“ (deutsch: „Allein die Menge macht das Gift“) (Paracelsus 1493-1541).

Wie alle dem Organismus zugeführten Stoffe können auch Fluoridverbindungen, die eine bestimmte Menge überschreiten, unerwünschte Nebenwirkungen und Vergiftungserscheinungen hervor rufen. Dabei ist die Menge Fluorid, die bei korrektem Gebrauch fluoridhaltiger Kariostatika eingenommen wird, nicht als schädlich anzusehen, sie kann im Gegenteil das tägliche Fluoriddefizit ausgleichen.

Kommt es zu überhöhter Fluoridaufnahme während der Schmelzbildung, kann es zunächst zur Ausbildung von weißen Schmelzflecken (mottled enamel, milde Fluorose) kommen. Diese haben zwar funktionell keine Auswirkungen, können aber zu kosmetischen Beeinträchtigungen führen, die aufgrund des gestiegenen Stellenwertes der Ästhetik besonders bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen von Bedeutung sind (Hellwig, 2001; Schiffner, 2001). Dabei ist zu beachten, dass bereits das einmalige Verschlucken einer bestimmten Fluoriddosis zu weißen Schmelzflecken führen kann (Möller, 1982). Bei Einnahme einer höheren Fluoriddosis kann es auch zur Entstehung einer schwerwiegenderen Form der Fluorose kommen. Der gebildete Schmelz ist dann poröser als gesunder Schmelz (Bronckers et al., 2009). Deshalb sollten höher konzentrierte bzw. höher dosierte Fluoridpräparate wie Fluoridgelees und –spülungen nur bei Kindern verwendet werden, die das Ausspucken beherrschen. Erhöhte Gefahr besteht aber vor allem bei hochdosierten, systemisch verabreichten Präparaten wie Fluoridtabletten. Hierbei gilt es, vor Verschreibung eine detaillierte Fluoridanamnese aufzunehmen, um die ideale tägliche Gesamtfluoridaufnahme nicht zu überschreiten.

Bei extremer chronischer Überdosierung (z.B. einem Trinkwasserfluoridgehalt von über 8 mg pro Liter) kann es zur Skelettfluorose mit Verkrüppelung und Verkalkung und zur Wachstumshemmung kommen (Hellwig et al., 2009).

Zu akuten Vergiftungserscheinungen kann es bei Kindern nach einer Fluoridaufnahme über 5 mg pro kg Körpergewicht kommen, weshalb diese Dosis als probably toxic dose (PTD; wahrscheinlich toxische Dosis) bezeichnet wird (Whitford, 1987). Sie kann sich in Symptomen wie Übelkeit, Erbrechen oder abdominalen Schmerzen äußern, die wenige Minuten bis Stunden nach der Fluorideinnahme auftreten. In diesem Fall sollten Notfallmaßnahmen eingeleitet werden. Dazu gehört die Einnahme von Kalzium-haltigen Lösungen, da das Kalzium die Fluoridionen bindet. Die Patienten sollten anschließend streng beaufsichtigt werden. Therapeutische Fluoriddosen stellen kein Risiko zur Vergiftung dar. Jedoch sollten hochdosierte Fluoridpräparate in den Händen von zahnmedizinischem Fachpersonal verbleiben, damit die korrekte Anwendung gesichert ist.

Die wahrscheinlich toxische Dosis entspricht beispielsweise bei einem 30 kg schweren Kind einer Aufnahme von etwa 150 Fluoridtabletten à 1 mg, 500 g Fluoridsalz oder einer Tube Zahnpasta à 100 ml und 1500 ppm Fluorid. Da selbst die Einnahme solch großer Mengen in der Literatur beschrieben wird, sollten Fluoridtabletten nur in beschränkter Menge und möglichst mit einem Fluoridgehalt von 0,25 mg verschrieben und außerhalb der Reichweite von Kindern aufbewahrt werden (Whitford, 1987). Die Verwendung fluoridhaltiger Präparate wie Zahnpasten bei Kindern sollte grundsätzlich von den Eltern beaufsichtigt werden. Zudem sollten Geschmacksrichtungen, die an Früchte oder Nahrungsmittel erinnern, vermieden werden, da sie zum Verschlucken anregen. Zu beachten ist, dass Fluoriddosen unterhalb der PTD nicht automatisch als unbedenklich angesehen werden können, sondern, besonders bei Säuglingen und Kleinkindern, ebenfalls Vergiftungssymptome hervorrufen können.

Je höher die Dosis und je hochgradiger die Vergiftung desto eher kann es zu einem schwerwiegendem Verlauf mit exzessivem Speichel- und Tränenfluss, Kopfschmerzen, Schwächeanfall, Tetanie und Herz-Kreislauf-Symptomen wie dramatisch sinkendem Blutdruck, Pulsrasen, Herzarrhythmie, Depression des Atemzentrums und schließlich zum Tod kommen. Dabei liegt die akut letale Dosis bei Erwachsenen zwischen 32 und 64 mg Fluorid pro kg Körpergewicht, je nach Art der eingenommenen Fluoridverbindung, der Löslichkeit, der Resorptionsgeschwindigkeit im Gastrointestinaltrakt, dem Säure-Basen-Haushalt und dem pH-Wert (Hellwig et al., 2009; Whitford, 1987).

3 ZIELSTELLUNG

Ziel der vorliegenden Studie war es, den remineralisierenden Effekt des GC Tooth Mousse mit Recaldent®-Kalzium-Komplex mit dem des Sensodyne Fluorid-Gelées Pro Schmelz mit 1,25%-Fluoridgehalt zu vergleichen und die Effektivität beider Maßnahmen gegenüber der üblichen häuslichen Mundhygiene herauszustellen. Zu diesem Zweck sollten zunächst artifiziell initiale Kariesläsionen an menschlichen Schmelzproben in vitro erzeugt werden. Anschließend sollten die Proben mit einem der beiden Präparate in situ behandelt werden.

Um humane Schmelzproben zu erhalten, wurden frisch extrahierte Zähne gesammelt, die zuvor keinen Kontakt zum Mundhöhlenmilieu besaßen. Hierfür kamen ausschließlich dritte Molaren zum Einsatz. Die Beschaffung extrahierter Weisheitszähne mit ausreichender Schmelzdicke erwies sich jedoch als schwierig, da diese häufig in einem frühen Keimstadium entfernt wurden oder bereits die Schleimhaut durchbrochen hatten, wodurch sie für die Versuchsreihen ausschieden.

Bei der Herstellung eines geeigneten Demineralisationsbades konnte auf vorangegangene Studien zurückgegriffen werden (White, 1988). Eine Hälfte jeder demineralisierten Schmelzprobe wurde zu Beginn der Versuchsphasen abgedeckt und blieb so unbehandelt. Sie diente bei der Auswertung als Kontrolle.

Die demineralisierten Proben wurden anschließend in drei Gruppen aufgeteilt und jeweils in eine intraorale Apparatur eingebettet. Diese sollten nach vorangegangener Wash-out-Periode für je vier Wochen von einer Probandin getragen werden, um die Proben realen Mundbedingungen auszusetzen. Während der gesamten Versuchszeit sollte die Mundhygiene standardisiert mit einer Zahnpasta mit einem Fluoridgehalt von 1350 ppm betrieben werden. Zudem wurde keine Nahrungsumstellung geplant, um keine künstlichen Versuchsbedingungen zu schaffen und die Präparate unter möglichst realen Bedingungen zu testen.

Im ersten Versuchsdurchlauf sollte zusätzlich zur Zahnpasta täglich das GC Tooth Mousse gemäß Herstellerempfehlungen verwendet werden. Im zweiten Versuchsdurchlauf sollte statt des Tooth Mousse wöchentlich das Sensodyne Fluorid-Gelée Pro Schmelz angewendet werden. Der dritte Versuchsdurchlauf sollte der Kontrolle dienen. Es sollte ausschließlich zur Verwendung der Zahnpasta kommen.

Die Auswertung der Schmelzproben sollte mittels transversaler Mikroradiographie (TMR) erfolgen. Hierbei konnte auf die Erfahrung vorangegangener Studien hinsichtlich Dosis und Zeit zurückgegriffen werden (Frank, 2003).

Es wurde vermutet, dass die zusätzlichen Maßnahmen der ersten und zweiten Versuchsphase zur Remineralisation von initialen Schmelzläsionen beitragen und dass diese Proben schließlich einen größeren Mineralgewinn zeigen als die Proben der dritten Kontrollgruppe. Dabei blieb abzuklären, ob sich die unterschiedlichen Präparate in ihrer Effektivität signifikant voneinander unterscheiden. Aufgrund der täglichen Anwendung des Tooth Mousse im Vergleich zur wöchentlichen Anwendung des Fluorid-Gelées Pro Schmelz über vier Wochen wurde im erstgenannten Versuchsdurchlauf eine höhere Remineralisation erwartet.

4 MATERIAL UND METHODE

4.1 Getestete Produkte

Während der drei Versuchsdurchläufe wurden folgende Produkte angewendet.

GC Tooth Mousse (GC, J-Tokio), Geschmacksrichtung Minze; Inhaltsstoffe: Pure Water, Glycerol, CPP-ACP, D-Sorbitol, Silicon Dioxide, CMC-Na, Propylene Glycol, Silicon Dioxide, Titanium Dioxide, Xylitol, Phosphoric Acid, Guar Gum, Zinc Oxide, Sodium Saccharin, Ethyl p-Hydroxybenzoate, Magnesium Oxide, Propyl p-Hydroxybenzoate, Butyl p-Hydroxybenzoate; Chargennummer: 0605181

Sensodyne Pro Schmelz Fluorid-Gelée (GlaxoSmithKline, D-Bühl); Fluoridgehalt: 12500 ppm Natriumfluorid; Sonstige Inhaltsstoffe: Gereinigtes Wasser, Dinatriumhydrogenphosphat, Carbomer 956, Natriumdodecylsulfat, Aromastoffe, Saccharin-Natrium, Natriumhydroxid, Patentblau V; Chargennummer: 6269013

Odol-med 3 Original Zahnpasta (GlaxoSmithKline, D-Bühl); Fluoridgehalt: 1350 ppm Natriumfluorid; Inhaltsstoffe: Aqua, Hydrated Silica, Sorbitol, Glycerin, PEG-6, Sodium Lauryl Sulfate, Aroma, Xanthan Gum, Titanium Dioxide, Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, Sodium Fluoride, Sodium Saccharin, Chondrus Crispus (Carrageenan), Sodium Hydroxide, Limonene, CI 73360, CI 74160; Chargennummer: BN 407B

4.2 Gewinnung und Vorbereitung der Proben

In zwei oralchirurgischen Praxen in Duisburg und Düsseldorf wurden operativ entfernte retinierte Weisheitszähne gesammelt. Diese wurden unmittelbar postoperativ in 0,1%-Thymollösung bei Zimmertemperatur gelagert. Die Thymollösung diente der Desinfektion und verhinderte die Austrocknung der Zähne. Es wurde darauf geachtet, dass die Zähne vor der Extraktion von einer intakten Schleimhaut bedeckt waren. So bestand keinerlei Kontakt zum Mundhöhlenmilieu und eine bereits bestehende Demineralisation konnte

ausgeschlossen werden. Die Zähne wurden dann zügig zu Schmelzproben weiter verarbeitet.

Hierzu wurden sie zunächst durch Entfernung von Blut- und Geweberesten mittels Zahnbürste grob gereinigt. Dann wurden mithilfe eines Trepanbohrers unter Wasserkühlung bei max. 10.000 U/min zylindrische Schmelzproben mit einem Durchmesser von 4 mm entnommen (Abb. 7). Der Trepanbohrer wurde dabei bukkal und möglichst weit koronal angesetzt, um eine ausreichende Schmelzdicke zu erzielen.



Abb. 7: Entnahme zylindrischer Schmelzproben mithilfe eines Trepanbohrers

Im Anschluss wurden die Schmelzzylinder mithilfe von rosa Plattenwachs auf Kunststoffobjektträgern fixiert, die in einer rotierenden Nass-Schleifmaschine befestigt werden konnten. Die Proben wurden mit handelsüblichem Schleifpapier mit einer Körnung von 500 Schleifkörper/cm² beidseitig plan geschliffen und auf eine Höhe von etwa 2 mm reduziert. Aufgrund der dünnen Schmelzschicht humaner Zähne besonders im zervikalen Kronenbereich setzten sich die Proben aus der Schmelzschicht und auf der Rückseite aus einem Teil der Dentinschicht zusammen. Der verbliebene Dentinanteil spielte für die Versuche keine Rolle, da sich die späteren De- und Remineralisationsvorgänge ausschließlich im oberflächlichen Teil der Schmelzschicht abspielten.

Anschließend erfolgte eine Politur der Schmelzoberfläche mit Schleifpapier aufsteigender Körnung bis zu einer maximalen Körnung von 2000 Schleifkörper/cm² (Abb. 8 und 9).

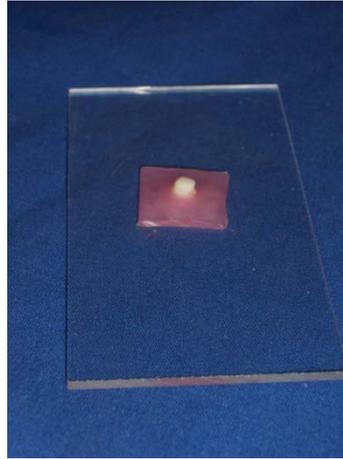


Abb. 8: Mit Plattenwachs auf dem Objektträger fixierte Schmelzprobe



Abb. 9: Nass-Schleifmaschine

Die so erhaltenen, polierten Schmelzproben wurden nun einer Gamma-Sterilisation unterworfen. Hierzu diente eine Dosis von 60 Gray über 20 Minuten. Bei der Gamma-Sterilisation werden ionisierende Strahlen verwendet, die eine Sterilisation von Materialien mit hoher Dichte ermöglichen. Bei der Aufbereitung bieten sich weitere Vorteile. Zunächst kommt es zu keiner Temperaturerhöhung und auch zu keiner unter Umständen damit zusammenhängenden thermischen Schädigung des Probenmaterials. Zum Anderen läuft dieses Sterilisationsverfahren relativ zügig ab und das sterilisierte Probenmaterial kann sofort weiter verwendet werden. Weiterhin ist die Gamma-Strahlung vollkommen rückstandsfrei und zeichnet sich durch ihre Durchdringtiefe aus, so dass die Proben vollständig der Sterilisation zugeführt werden konnten.

Anschließend wurden die Proben zur Erzeugung initialer kariöser Läsionen für 96 Stunden bei 37° Celsius in einer Carbopol-Demineralisationslösung (s.u.) gelagert. Diese Lösung enthielt 0,1 mol/l Milchsäure und 0,2 % Carbopol 907 (B.F. Goodrich, Co.), war zu 50 % mit Hydroxylapatit gesättigt und hatte einen pH-Wert von 5. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Schmelzproben in destilliertem Wasser aufbewahrt.

4.3 Herstellung der Demineralisationslösung

Vorbereitung

Herstellung einer alten Milchsäure-Lösung

Eine Stammlösung von etwa 1M-Milchsäure-Lösung mit neutralem pH-Wert wurde für 50 Tage bei Raumtemperatur gelagert. Bei dieser Prozedur kommt es zur Hydrolyse der Laktat-Polymere zu Monomeren. Durch basische Titration wurde dann die exakte Konzentration festgelegt.

Herstellung einer mit Hydroxylapatit gesättigten 0,1M-Milchsäure-Lösung

850 ml entionisiertes Wasser wurden zu 100 ml der 1-molaren, alten Milchsäure-Lösung hinzugefügt. Der pH-Wert wurde dann mit 50% Natronlauge auf 5 adjustiert. Dann wurden 3 g Hydroxylapatit-Pulver zugegeben. Der beim Auflösen des Pulvers ansteigende pH-Wert wurde diesmal mit Salzsäure auf 5 kontinuierlich eingestellt. Nachdem das Gleichgewicht hergestellt wurde, wurde die Lösung auf ein Volumen von 1000 ml gebracht. Es handelte sich nun um eine mit Hydroxylapatit gesättigte 0,1M-Milchsäure-Lösung.

Herstellung einer 1%-Carbopol-Stammlösung

10 g Carbopol 907 (B.F. Goodrich) wurden in 900 ml entionisiertem Wasser aufgelöst. Der saure pH-Wert der Lösung wurde mittels 50%-Natronlauge auf einen pH-Wert von 7 adjustiert. Nach 2-3 Stunden und kontinuierlichem Adjustieren des pH-Wertes hatte sich das Carbopol aufgelöst. Das Volumen der Lösung wurde dann auf 1000 ml gebracht. Um mikrobielles Wachstum zu verhindern wurden zusätzlich zwei Tropfen Äther hinzugefügt.

Herstellung der Demineralisationslösung

200 ml der 1%-Carbopol-Stammlösung wurden zu 500 ml der mit Hydroxylapatit gesättigten 0,1M-Milchsäure-Lösung hinzugefügt. Dann wurden der Reihe nach 50 ml der 1M, alten Milchsäure-Lösung und 200 ml entionisiertes Wasser dazu gegeben. Mithilfe von 50%-Natronlauge wurde der pH-Wert auf 5 eingestellt. Das Volumen der Lösung wurde dann auf 1000 ml erhöht und der pH-Wert erneut überprüft.

Die Demineralisationslösung wurde anschließend sofort zur Erzeugung initialer Kariesläsionen, wie oben beschrieben, verwendet.

4.4 Probandengut

Die Probandin der Studie war 24 Jahre alt und bei guter Allgemeingesundheit. Sie nahm während des Versuchsdurchlaufs keinerlei Medikamente ein. Die Mundhygiene konnte als sehr gut eingestuft werden. Sie trug keinen festsitzenden oder herausnehmbaren Zahnersatz und befand sich nicht in kieferorthopädischer Behandlung. Durch ihr laufendes Studium der Zahnmedizin zeigte sie eine sehr gute Compliance. Sie war nach eigenen Angaben unvoreingenommen, was die Effektivität der angewendeten Mittel anging. Die Studie konnte nicht als (Doppel-) Blindstudie durchgeführt werden, da sich die zu testenden Präparate in ihrer Anwendung deutlich unterschieden.

4.5 Herstellung der intraoralen Apparaturen und Einbetten der Schmelzproben

Zunächst wurde eine Situationsabformung vom Unterkiefer der Probandin mit Alginat genommen. Diese diente zur Herstellung eines Arbeitsmodells aus Hartgips, auf dem dann eine intraorale Apparatur zur Aufnahme der Schmelzproben hergestellt werden sollte. Aufgrund der Platzverhältnisse konnten insgesamt zwölf Proben in die Apparatur eingegliedert werden. Diese verteilten sich so, dass rechts und links lingual jeweils vier Proben im Molaren- und Prämolarenbereich und rechts und links vestibulär jeweils zwei Proben im Molarenbereich angeordnet wurden. (Abbildung 10 zeigt die Apparatur vor Einbringen der Schmelzproben).

Zur Herstellung der intraoralen Apparatur wurde zunächst ein kieferorthopädischer Draht (Ø 0,8 mm, federhart; Dentaureum, Ispringen) gebogen, der dem Unterkieferzahnbogen im

lingualen Anteil im Zahnhalsbereich anlag und der distal der beiden zweiten Molaren die Verbindung zur vestibulären Probenverankerung darstellte. Die dritten Molaren waren zehn Jahre zuvor extrahiert worden. Entlang des Drahtes wurde dann kaltpolymerisierender Kunststoff (Orthocryl, Dentaaurum, Ispringen) lingual und vestibulär in Streutechnik angebracht. Der Kunststoff wurde dabei besonders im lingualen Frontzahnbereich sehr dünn aufgetragen, um das Tragen der Apparatur für die Probandin so angenehm wie möglich zu gestalten und unnötige Sprachbehinderungen durch Irritation der Zunge zu vermeiden.

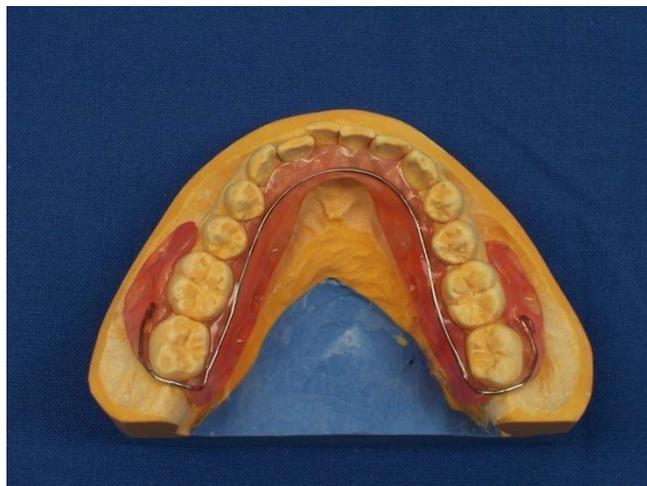


Abb. 10: Intraorale Apparatur vor Insertion der Proben

Die Oberfläche der demineralisierten Schmelzproben sollte in den anschließenden Versuchsreihen zur Hälfte dem Mundmilieu ausgesetzt werden und mit zwei verschiedenen Testpräparaten behandelt werden. Bei der anderen Hälfte jeder Schmelzprobe sollte der Zustand nach der Demineralisation fixiert werden, d.h. es sollten während der Versuchsdurchläufe keine Ionenaustauschvorgänge stattfinden. Diese Hälfte diente später als Kontrolle.

Die Oberfläche der Schmelzproben wurde hierfür mit einem Skalpell in der Mitte eingeritzt um eine Markierung zwischen der einen, später behandelten, und der anderen, später nicht behandelten Hälfte zu erhalten.

Eine Hälfte jeder Probe wurde dann mittels Klarlack (Helena Rubinstein) und kaltpolymerisierendem Kunststoff (Orthocryl; Dentaaurum, Ispringen) abgedeckt. Diese Methode zeigte bereits in früheren Studien eine gute Versiegelung ohne Beeinflussung der Schmelzstruktur (Frank, 2003).

In die intraorale Apparatur wurden Mulden zur Aufnahme der Proben gefräst. Zur Fixierung der Schmelzproben wurde der schmale Spalt zwischen den Proben und der Ausdehnung der Mulden mit kaltpolymerisierendem Kunststoff (Orthocryl, Dentaurem, Ispringen) ausgefüllt, so dass der Kunststoff auf einer Ebene mit den Proben abschloss.

Jeder Versuchsdurchlauf begann wenige Stunden nach Insertion der Proben. Die intraorale Apparatur wurde in dieser Zeit trocken gelagert.

4.6 Versuchsdurchlauf

Jedem der drei Versuchsdurchläufe ging eine sogenannte Wash-Out-Periode von zwei Wochen voraus. In dieser Zeit wurden die Zähne mit einer weichen Handzahnbürste (Sensodyne® sensitive; GlaxoSmithKline, D-Bühl) und einer herkömmlichen Zahnpasta mit einem Fluoridgehalt von 1350 ppm in Form von Natriumfluorid (Odol Med 3 Original, GlaxoSmithKline, D-Bühl) zweimal täglich geputzt. Die Putzprozedur wurde weitgehend standardisiert. Die Zähne wurden jeweils nach dem Frühstück und dem Abendessen für exakt 3 Minuten geputzt. Die Hälfte der Zeit entfiel auf den Oberkiefer, die andere auf den Unterkiefer. Anschließend wurde der Mund mit 10 ml Leitungswasser, mithilfe einer Einmalspritze dosiert, ausgespült. Es wurden keine weiteren Fluoridierungsmaßnahmen vorgenommen. Jedoch wurde zugunsten realitätsnaher Bedingungen auf eine Nahrungsumstellung, wie beispielsweise den Verzicht auf Nahrungsmittel mit hohem Fluoridgehalt, bewusst verzichtet.

Nach jeder Wash-Out-Periode folgte ein Versuchsdurchlauf. Jeder der drei Versuchsdurchläufe lief über vier Wochen. In dieser Zeit wurde die intraorale Apparatur mit jeweils zwölf Proben Tag und Nacht getragen. Während der Mahlzeiten wurde Sie in 10%-Saccharose-Lösung gelegt. Diese Lösung wurde stets frisch angemischt. Anschließend wurde die Apparatur für zehn Sekunden mit Leitungswasser abgespült und wieder eingesetzt.

Die Zähne wurden während der Versuchsdurchläufe weiterhin wie in der Wash-Out-Periode standardisiert zweimal täglich für drei Minuten geputzt. Die Zahnbürste wurde zu Beginn und Ende der Wash-Out-Periode stets erneuert. Während der Putzzeit wurde die Apparatur heraus genommen. Die Proben wurden anschließend ebenfalls mit der verwendeten Zahnpasta durch einmaliges Hin- und Herstreichen vorsichtig geputzt und vor dem Wiedereinsetzen mit 10 ml Leitungswasser abgespült.

Im ersten Versuchsdurchlauf wurde zusätzlich zur verwendeten Zahnpasta das GC Tooth Mousse (Wirkstoff: Recaldent®; GC, J-Tokio) verwendet. Es wurde wie vom Hersteller für die Heimanwendung empfohlen einmal täglich am Abend nach dem Zähneputzen verwendet. Hierzu wurde nach dem Putzen der Zähne und Proben eine bohngroße Menge der Creme mit dem Finger auf Ober- und Unterkiefer sowie auf den Proben in der Apparatur aufgebracht. Die Apparatur befand sich zu diesem Zeitpunkt noch außerhalb des Mundes. Dann wurde die Creme für drei Minuten auf Zähnen und Proben belassen, bevor die Apparatur wieder eingesetzt wurde. Das verbliebene Tooth Mousse wurde mit der Zunge im Mund verteilt und für weitere zwei Minuten im Mund belassen. In dieser Zeit wurde das Tooth Mousse-Speichel-Gemisch im Mund hin- und herbewegt, damit das Tooth Mousse zusammen mit dem Speichel wirken konnte. Anschließend wurden die Reste ausgespuckt. Auf das Ausspülen des Mundes mit Wasser wurde verzichtet.

Nach einer weiteren Wash-Out-Periode folgte der zweite Versuchsdurchlauf. Zusätzlich zur standardisierten Zahnputzprozedur wurde nun einmal wöchentlich ein Fluorid-Gelée mit 12500 ppm Fluorid in Form von Natriumfluorid (Sensodyne® Pro Schmelz; GlaxoSmithKline, D-Bühl) verwendet. Die erste Anwendung erfolgte dabei am 3. Versuchstag. Wie vom Hersteller empfohlen wurde ein 2 cm langer Strang des Fluorid-Gelées abends nach dem Zähneputzen mit einer neuen, ausschließlich für diesen Zweck verwendeten Zahnbürste (Sensodyne® sensitiv) auf Zähne und Proben aufgebracht. Die Apparatur befand sich dabei extraoral. Das Fluorid-Gelée wurde für zwei Minuten belassen, bevor die Apparatur wieder eingesetzt wurde. Mit der Apparatur in situ wurde das Gelée-Speichel-Gemisch eine weitere Minute im Mund hin- und herbewegt. Wie vom Hersteller empfohlen, wurde dann das Fluorid-Gelée ausgespuckt und der Mund mit 10 ml Leitungswasser ausgespült.

Die Proben des 3. Versuchsdurchlaufs dienten der Kontrolle. Nach der Wash-Out-Periode wurde die Apparatur wiederum für vier Wochen getragen. In dieser Zeit wurden Zähne und Proben lediglich zweimal täglich wie für die Wash-Out-Periode beschrieben geputzt. Auf weitere Maßnahmen wurde verzichtet. Die Tabelle 1 zeigt schematisch den kompletten Versuchsablauf.

| | Wash-Out Periode 1 | Versuchs- periode 1 | Wash-Out Periode 2 | Versuchs- periode 2 | Wash-Out Periode 3 | Versuchs- periode 3 |
|--------------------------|--|--------------------------------|-----------------------|---|-----------------------|------------------------|
| Woche | 1-2 | 3-6 | 7-8 | 9-12 | 13-14 | 15-18 |
| Tägliche Zahnpflege | 2 x 3 min Zähneputzen (Odol med 3 Original) morgens und abends | | | | | |
| Zusätzliche Maßnahmen | - | 1 x täglich Tooth Mousse | - | 1 x wöchentlich Fluorid- Gelée | - | - |

Tabelle 1: Versuchsprotokoll

4.7 Vorbereitung der Proben für die Auswertung

Im Anschluss an jeden Versuchsdurchlauf wurden die Proben aus der Apparatur ausgebettet und bis zur weiteren Verarbeitung bei +8° Celsius feucht gelagert.

Im Folgenden wurden die Proben in lichthärtendem Kunststoff (Technovit 7200 VLC, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim) eingebettet. Die Kunststoffblöcke wurden dann mit lichthärtendem Präzisionskleber (Technovit 7210 VLC, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim) zwischen zwei Objektträgern fixiert. Mithilfe einer wassergekühlten Diamantsäge wurden die Proben nun zwischen den beiden Objektträgern im rechten Winkel zur Grenze zwischen behandelter und unbehandelter Seite mittig durchtrennt (Abbildung 11, links, zeigt schematisch die Schnittebene). Die beiden Schnittflächen wurden mittels rotierender Nass-Schleifmaschine bis auf eine Körnung von 2000 Schleifkörper/cm² poliert und wiederum mit Präzisionskleber auf neuen Objektträgern befestigt. Nun wurde mit der wassergekühlten Diamantsäge ein weiterer Schnitt jeweils im Abstand von etwa 500 µm vom zuletzt befestigten Objektträger durchgeführt (Sandwich-Technik; Abbildung 11, rechts, zeigt die zweite Schnittebene).

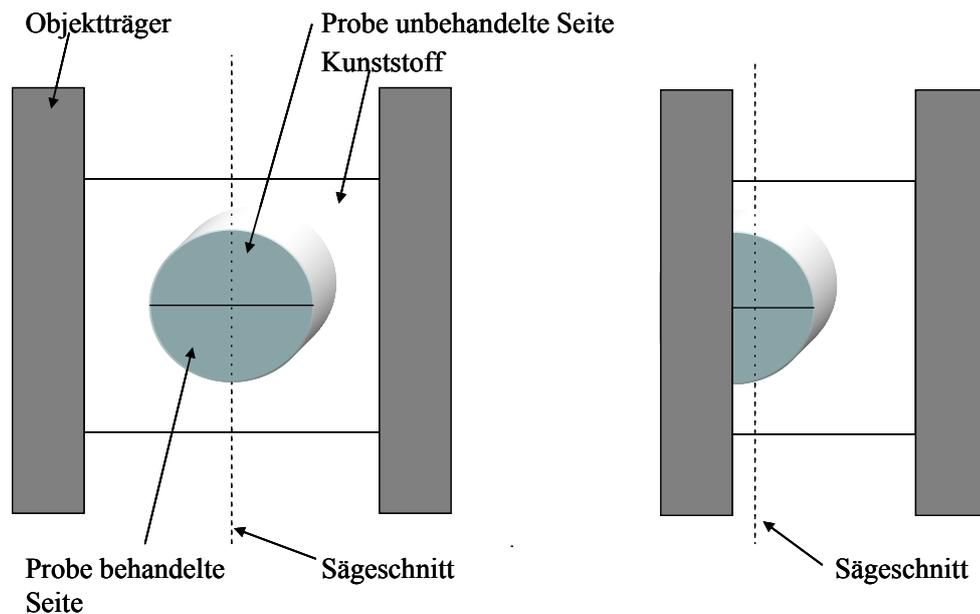


Abb. 11: Schematische Darstellung zur Herstellung der Dünnschnitte; 1. Schnittenebene (links) und 2. Schnittenebene (rechts) nach Anbringen eines neuen Objektträgers auf die 1. Schnittenebene. Der zweite Schnitt erfolgte pro Schmelzprobe zweimal, um je zwei Dünnschnitte zu erhalten. Erläuterungen s. Text

Diese 500 μm dicken Schnitte wurden dann mittels rotierender Nass-Schleifmaschine mit Schleifpapier aufsteigender Körnung bis 4000 Schleifkörper/ cm^2 auf 100 μm Dicke herunter poliert. So entstanden aus jeder Schmelzprobe zwei Dünnschnitte, die aus behandelter und unbehalteter Seite gebildet wurden.

4.8 Auswertung der Dünnschnitte mittels transversaler Mikroradiographie

Die Auswertung der Dünnschnitte erfolgte mittels transversaler Mikroradiographie (TMR) in der Universitätszahnklinik Freiburg. Dieses Verfahren ermöglicht es, mithilfe von Röntgenstrahlen den Mineralisationsgehalt von Zahnhartsubstanzen zu messen. Dabei werden zwei Parameter bestimmt, der Mineralisationsverlust (in $\text{Vol}\% \cdot \mu\text{m}$) und die Läsionstiefe (in μm).

Die Dünnschnitte wurden mit einem Skalpell von den Objektträgern vorsichtig gelöst und mithilfe von 2 mm breiten Klebestreifen auf die Objektträger des Kameragehäuses des TMR-Gerätes aufgeklebt (Abb. 12). Jeder Dünnschnitt wurde zusammen mit einem Aluminiumstufenkeil als Referenz mit einem TMR-Gerät der Marke Philipps für 12s bei einer Spannung von 20 kV und einer Stromstärke von 20 mA belichtet (Abb. 13 zeigt das

TMR-Gerät). Diese Einstellungen hatten sich in vorangegangenen Studien als optimal zur späteren Auswertung herausgestellt (Frank, 2003). Zur Belichtung diente eine Cu-K-Röntgenquelle.

Es wurde ein hochauflösender Film (Kodak High Speed Holographic Film, SO-253, Kodak, D-Stuttgart) verwendet und unter standardisierten Bedingungen entwickelt.

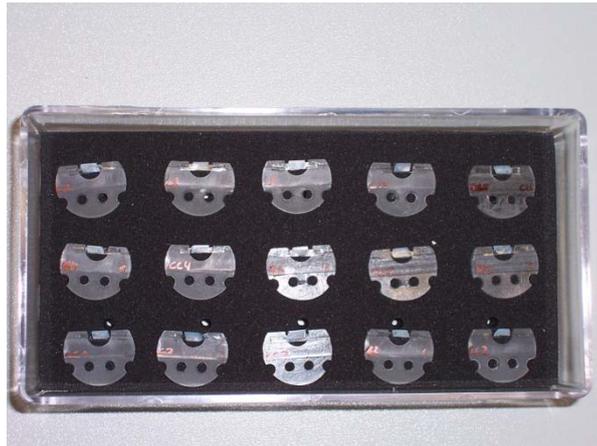


Abb. 12: Auf den Objektträgern der Kamera befestigte Dünnschnitte



Abb. 13: TMR-Gerät

Zur Auswertung wurden die Röntgenfilme unter einem Mikroskop (Axioplan, Zeiss, D-Oberkochen) betrachtet, um die relevanten Ausschnitte einzustellen. Diese wurden dann als Bildinformation über eine digitale Kamera (CCD-Videokamera, Modul XC 77 CE,

Sony, Japan) auf einen PC übertragen, wo sie mithilfe einer speziellen Software (TMR 1.25e, Inspector research Systems BV, NL-Amsterdam) verarbeitet werden konnten (Abb. 14).

Vor Auswertung jedes Dünnschnittes wurde zunächst der parallel belichtete Aluminiumstufenkeil zur Kalibrierung genutzt. Anhand dieser Referenzwerte konnte das Programm nun die Dicke des Dünnschnittes, den Mineralisationsgehalt der Läsion und die Läsionstiefe bestimmen. Da pro Schmelzprobe zwei Dünnschnitte hergestellt worden waren, erhielt man zwei Werte für den Mineralisationsverlust der behandelten und zwei Werte für den der unbehandelten Seite sowie je zwei Werte für die Läsionstiefe auf beiden Seiten. Um je Probe einen Wert für jeden Parameter zu erhalten wurde das arithmetische Mittel gebildet. Zu jedem Dünnschnitt erhält man so den Mineralisationsverlust in $\text{Vol}\% \cdot \mu\text{m}$ und die Läsionstiefe in μm , jeweils für die behandelte und die unbehandelte Seite.

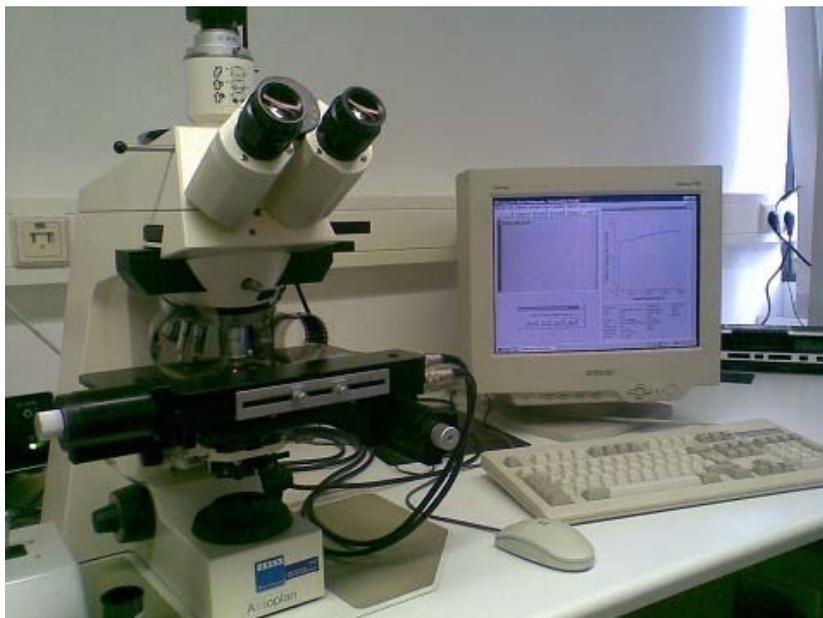


Abb. 14: Mikroskop mit befestigter CCD-Kamera und PC zur Auswertung der Röntgenfilme

4.9 Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung dienen der Kolmogorov-Smirnov-Test, die Varianzanalyse (ANOVA) und der Post-hoc-Test nach Bonferroni.

5 ERGEBNISSE

Der Grad der Demineralisation der Schmelzproben ließ sich mithilfe der transversalen Mikroradiographie durch die Parameter Mineralisationsverlust ($\text{Vol}\% \cdot \mu\text{m}$) und Läsionstiefe (μm) darstellen. Bei den abgedeckten Probenhälften blieben die Werte für den Mineralisationsverlust und die Läsionstiefe vor und nach dem Versuchsdurchlauf konstant. Bei den behandelten Probenhälften hingegen kam es zu einer Änderung des Mineralisationsverlustes und der Läsionstiefe. Der Mineralisationsgewinn ($\text{Vol}\% \cdot \mu\text{m}$) wurde als die Differenz zwischen dem Mineralisationsverlust der unbehandelten und dem der behandelten Seite definiert. Gleiches galt für die Läsionstiefe. Die Differenz zwischen der Läsionstiefe der unbehandelten und der Läsionstiefe der behandelten Seite ergab den Rückgang der Läsionstiefe (μm).

5.1 Mineralisationsgewinn und Rückgang der Läsionstiefe

Durch Anwendung des Kolmogorov-Smirnov-Tests ergab sich, dass die Messwerte als normalverteilt angesehen werden können (für die Einzelwerte siehe Tabellenanhang).

Im ersten Versuchsdurchlauf, bei dem das Produkt GC Tooth Mousse (Recaldent®) angewendet wurde, wurde ein mittlerer Mineralisationsgewinn von $329,9 \pm 203,3 \text{ Vol}\% \cdot \mu\text{m}$ und ein mittlerer Rückgang der Läsionstiefe von $33,8 \pm 22,2 \mu\text{m}$ ermittelt.

Für den zweiten Versuchsdurchlauf ergab sich nach Anwendung des Sensodyne Fluorid-Gelées Pro Schmelz ein Mittelwert für den Mineralisationsgewinn von $375,1 \pm 193,3 \text{ Vol}\% \cdot \mu\text{m}$ und für den Rückgang der Läsionstiefe von $35,0 \pm 17,3 \mu\text{m}$.

Für die Kontrollgruppe im 3. Versuchsdurchlauf ergab sich ein mittlerer Mineralisationsgewinn von $36,1 \pm 122,6 \text{ Vol}\% \cdot \mu\text{m}$ und ein mittlerer Rückgang der Läsionstiefe von $7,4 \pm 28,7 \mu\text{m}$ (Werte gerundet).

Die Mittelwerte der drei Versuchsdurchläufe (Tooth Mousse, Fluorid-Gelée Pro Schmelz und Kontrolle) wurden mithilfe des ANOVA Tests verglichen. Hieraus ergab sich ein höchst signifikant ($p \leq 0,001$) größerer Mineralisationsgewinn nach Anwendung von Tooth Mousse bzw. Fluorid-Gelée im Vergleich zur Kontrolle. Der Mineralisationsgewinn durch Tooth Mousse unterschied sich nicht signifikant von dem Mineralisationsgewinn durch das Fluorid-Gelée.

Der Rückgang der Läsionstiefe nach Anwendung von Tooth Mousse bzw. nach Anwendung des Fluorid-Gelées Pro Schmelz war signifikant ($p < 0,05$) größer als der Rückgang der Läsionstiefe in der Kontrollgruppe. Wie für den Mineralisationsgewinn ergab sich für den Rückgang der Läsionstiefe kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsdurchläufen Tooth Mousse und Fluorid-Gelée.

Abbildung 15 stellt graphisch den Mineralisationsgewinn und den Rückgang der Läsionstiefe für die drei Versuchsdurchläufe dar.

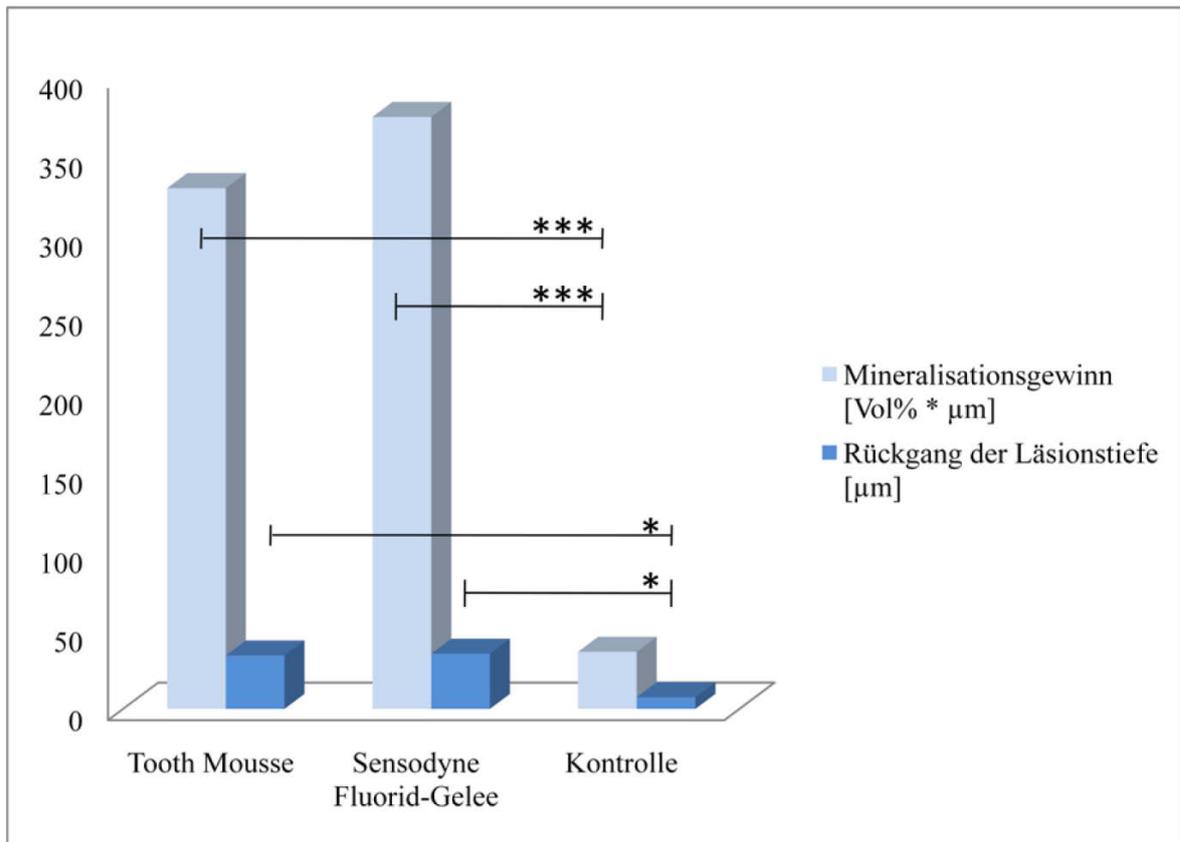


Abb. 15: Mittelwerte für den Mineralisationsgewinn und den Rückgang der Läsionstiefe für die drei Versuchsdurchläufe. Die Linien geben statistisch signifikante (*, $p < 0,05$) bzw. höchst signifikante (***, $p \leq 0,001$) Unterschiede zwischen den Gruppen an.

5.2 Auswirkung der Position der Proben auf die Ergebnisse

Die intraorale Apparatur wurde jeweils im Unterkiefer getragen. Acht der zwölf Proben befanden sich im lingualen Anteil, vier im vestibulären Anteil der Apparatur. Die Auswertung der Dünnschnitte ergab eine Auswirkung der Position der Proben auf die Remineralisationswirkung.

5.2.1 Lingual positionierte Proben

Für den Mineralisationsgewinn des ersten Versuchsdurchlaufs mit Anwendung von Tooth Mousse ergab sich für die lingual positionierten Proben ein Mittelwert von $448,8 \pm 117,5$ Vol%* μm und für die Läsionstiefe ein Mittelwert von $44,5 \pm 17,1$ μm .

Im zweiten Versuchsdurchlauf mit Anwendung des Fluorid-Gelées Pro Schmelz ergab sich ein mittlerer Mineralisationsgewinn von $365,8 \pm 200,1$ Vol%* μm und ein mittlerer Rückgang der Läsionstiefe von $30,2 \pm 18,1$ μm .

Für die Kontrollgruppe ergab sich ein mittlerer Mineralisationsgewinn von $30,3 \pm 149,7$ Vol%* μm und ein mittlerer Rückgang der Läsionstiefe von $2,2 \pm 23,4$ μm .

Nach ANOVA Test resultierte hieraus ein höchst signifikant ($p \leq 0,001$) größerer Mineralisationsgewinn durch Anwendung von Tooth Mousse bzw. Fluorid-Gelée. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen dem Mineralisationsgewinn durch Tooth Mousse und dem Mineralisationsgewinn durch das Fluorid-Gelée.

Die Anwendung von Tooth Mousse reduzierte die Läsionstiefe höchst signifikant ($p \leq 0,001$) im Vergleich zur Kontrolle. Die Anwendung des Fluorid-Gelées reduzierte die Läsionstiefe signifikant ($p < 0,05$). Es bestand kein signifikanter Unterschied im Rückgang der Läsionstiefe zwischen Tooth Mousse und Fluorid-Gelée.

Abbildung 16 zeigt graphisch die Mittelwerte der drei Versuchsgruppen für den Mineralisationsgewinn und den Rückgang der Läsionstiefe.

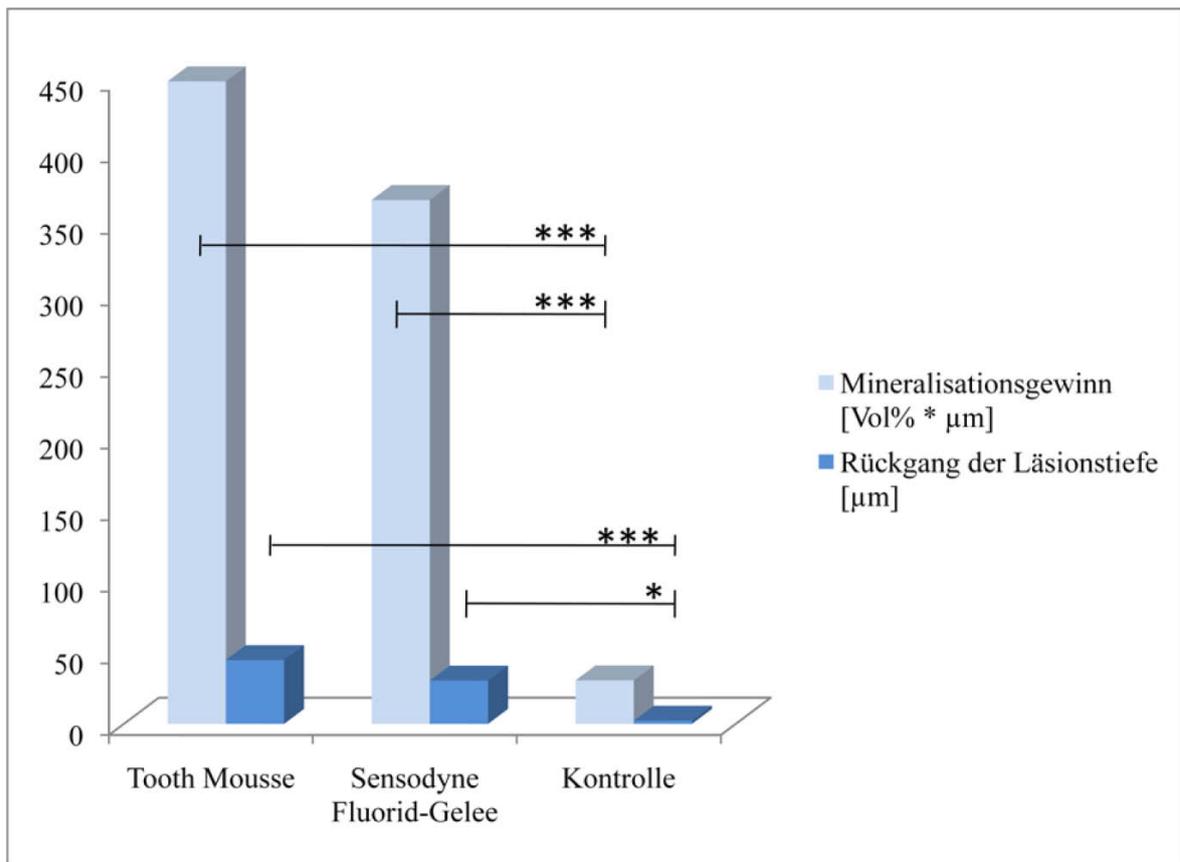


Abb. 16: Mittelwerte für den Mineralisationsgewinn und den Rückgang der Läsionstiefe für die lingual positionierten Proben. Die Linien geben statistisch signifikante (*, $p < 0,05$) bzw. höchst signifikante (***, $p \leq 0,001$) Unterschiede zwischen den Gruppen an.

5.2.2 Vestibulär positionierte Proben

Für die vestibulär positionierten Proben ergab sich nach Anwendung von Tooth Mousse ein mittlerer Mineralisationsgewinn von $92,2 \pm 79,6 \text{ Vol}\% \cdot \mu\text{m}$ und ein mittlerer Rückgang der Läsionstiefe von $12,4 \pm 14,4 \mu\text{m}$.

Die Proben des zweiten Versuchsdurchlaufs mit Fluorid-Gelée wiesen einen mittleren Mineralisationsgewinn von $393,5 \pm 206,9 \text{ Vol}\% \cdot \mu\text{m}$ und einen Rückgang der Läsionstiefe von $44,5 \pm 12,4 \mu\text{m}$ auf.

Für die Kontrollgruppe wurde als Mittelwert für den Mineralisationsgewinn $47,7 \pm 51,1 \text{ Vol}\% \cdot \mu\text{m}$ und für den Rückgang der Läsionstiefe $17,9 \pm 39,0 \mu\text{m}$ ermittelt.

Der Vergleich der Mittelwerte ergab keinen signifikanten Unterschied für den Mineralisationsgewinn zwischen den mit Tooth Mousse behandelten Proben und den Proben der Kontrolle. Die Proben des Versuchsdurchlaufs mit Fluorid-Gelée wiesen einen

signifikant ($p < 0,05$) größeren Mineralisationsgewinn im Vergleich zu den Proben des Versuchsdurchlaufs mit Tooth Mousse bzw. den unbehandelten Proben auf.

Tooth Mousse reduzierte die Läsionstiefe nicht signifikant im Vergleich zum Fluorid-Gelée bzw. zur Kontrolle. Auch die Ergebnisse der Versuchsgruppen Fluorid-Gelée und Kontrolle unterschieden sich hinsichtlich der Läsionstiefe nicht signifikant.

Abbildung 17 stellt die Ergebnisse für die vestibulär positionierten Proben graphisch dar.

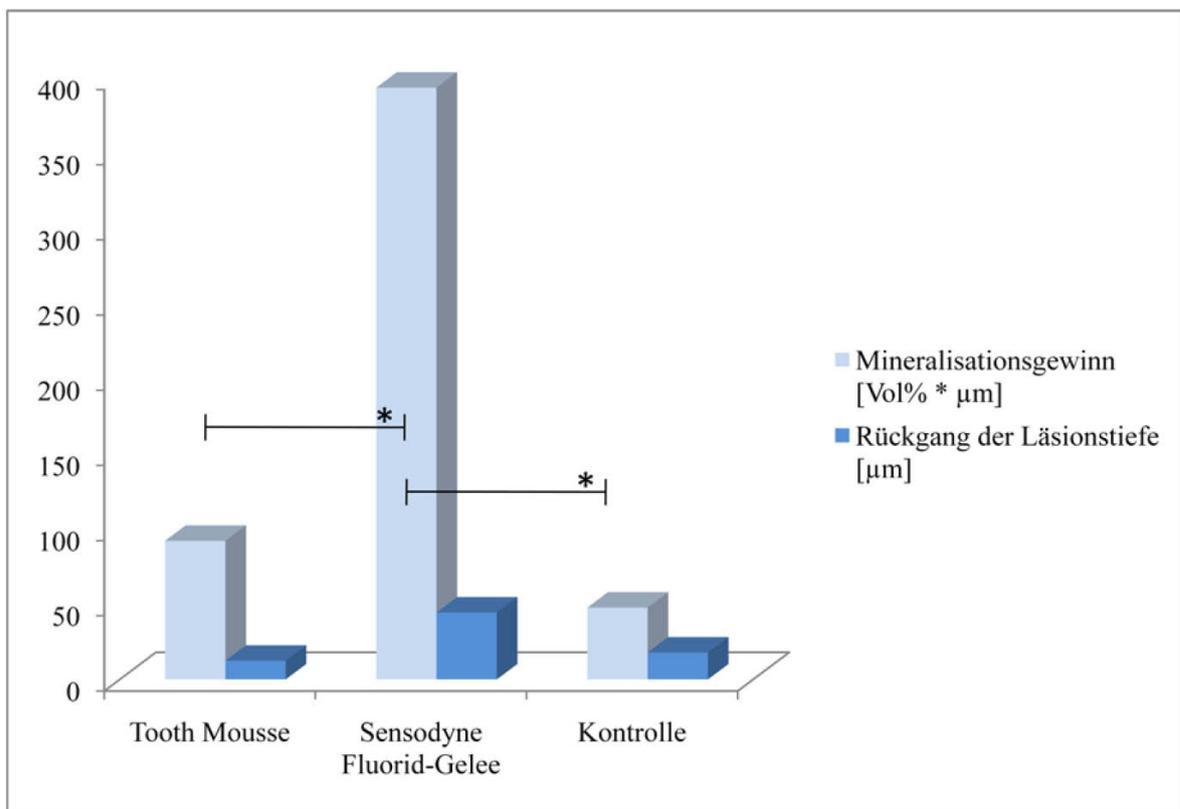


Abb. 17: Mittelwerte für den Mineralisationsgewinn und den Rückgang der Läsionstiefe für die vestibulär positionierten Proben. Die Linien geben statistisch signifikante (*, $p < 0,05$) bzw. höchst signifikante (***, $p \leq 0,001$) Unterschiede zwischen den Gruppen an.

5.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die tägliche Anwendung von Tooth Mousse (Recaldent®) führte zur Remineralisation initialer kariöser Läsionen, die sich signifikant von der der Kontrollgruppe unterschied. Die wöchentliche Anwendung des Fluorid-Gelées Pro Schmelz (Sensodyne®) führte ebenfalls zu einer signifikant erhöhten Remineralisation im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Die Remineralisation initialer kariöser Läsionen durch Tooth Mousse unterschied sich nicht signifikant von der, die durch Anwendung des Fluorid-Gelées Pro Schmelz erreicht wurde. Somit konnte die Vermutung, dass das Tooth Mousse aufgrund der häufigeren Anwendung eine höhere Remineralisationswirkung als das Fluorid-Gelée Pro Schmelz zeigte, nicht belegt werden.

Gleichartige signifikante Differenzen ergaben sich bei einem Vergleich der lingual positionierten Proben.

Verglich man ausschließlich die Ergebnisse der vestibulär positionierten Proben, ließ sich ein signifikant größerer Mineralisationsgewinn in der Gruppe des Fluorid-Gelées Pro Schmelz im Vergleich zu den Gruppen Tooth Mousse bzw. Kontrolle feststellen. Zwischen der Gruppe Tooth Mousse und der Kontrollgruppe bestand dabei kein signifikanter Unterschied. Ebenso bestand zwischen den drei Versuchsgruppen bei den vestibulär positionierten Proben kein signifikanter Unterschied bezüglich des Rückganges der Läsionstiefe.

6 DISKUSSION

6.1 Material und Methode

6.1.1 Schmelzproben und intraorale Apparatur

Zur Gewinnung von Schmelzproben wurden in zwei oralchirurgischen Praxen in Duisburg und Düsseldorf frisch extrahierte dritte Molaren gesammelt. Dabei handelte es sich ausschließlich um Molaren, die aufgrund von Retention und/oder Verlagerung entfernt werden mussten. Die regionale Nähe der Praxen und die Verwendung eines einzigen Zahntyps sollte eine möglichst einheitliche Ausgangssituation bezüglich des Mineralgehaltes des Schmelzes schaffen. Auf die Verwendung von Rinderschmelz wurde verzichtet, obwohl seine Verfügbarkeit höher ist als die humanen Schmelzes. Zum Einen besitzt Rinderschmelz eine höhere Vickershärte und Bruchfestigkeit und ist poröser als menschlicher Zahnschmelz (Esser et al., 1998). Dies könnte negative Auswirkungen auf De- und Remineralisationsvorgänge haben. Zum Anderen besteht für den Probanden das Risiko, dass das Spenderrind Infektionen wie die bovine spongiforme Enzephalopathie aufweist. Diese Prionenerkrankung könnte beim Menschen die neue Variante der Creutzfeld-Jakob-Krankheit auslösen. Prionen können zudem durch übliche Sterilisationsverfahren nicht unschädlich gemacht werden (Taylor et al., 1994).

Es wurde streng darauf geachtet, dass die verwendeten Zähne präoperativ keinerlei Kontakt zum Mundhöhlenmilieu besaßen, um eine abgelaufene Demineralisation im Schmelz auszuschließen. Dies bedeutete allerdings auch, dass die posteruptive Schmelzreifung nicht stattgefunden haben konnte. In dieser Reifungsphase werden verbliebene Mikroporositäten und Ionendefekte im Kristallgitter durch Einbau von Ionen aus dem Speichel und aus der Nahrung ausgeglichen (Hellwig et al., 2009). Gleichzeitig verringert sich posteruptiv die Permeabilität des Zahnschmelzes. Dieses Phänomen wird z.T. ausgeglichen, da extrahierte Zähne eine geringere Permeabilität aufweisen als Zähne in situ (Brudevold et al., 1982). Damit die präeruptive Schmelzreifung weitestgehend abgeschlossen war, wurden nur Zähne verwendet, bei denen die Zahnkrone vollständig ausgebildet war. Zahnkeime und Weisheitszähne, bei denen der Verdacht auf pathologische Veränderungen wie Zysten oder Tumoren bestand, wurden ausgeschlossen. Da die zervikalen Schmelzpartien zuletzt mineralisiert werden und die dünnste Schmelzschicht aufweisen, erfolgte die Probenentnahme im Bereich der bukkalen

Höckerabhänge (Schröder, 2000). Der Trepanbohrer wurde hierzu nur unter Wasserkühlung verwendet, um eine thermische Schädigung des Schmelzes in Form von Schmelzbrüchen und Verbrennungen zu verhindern (Brown et al., 1978; Spierings et al., 1985). Die oberflächliche Schmelzschicht wurde mithilfe einer Nass-Schleif-Maschine abgetragen und poliert. Dabei wurde die prismenlose Oberflächenschicht entfernt (Ripa et al., 1966). Gleichzeitig wurden auch die Oberflächen-Charakteristika frisch durchgebrochener Zähne, die Perikymatien, Fissuren und Grübchen, entfernt. Hierdurch wurde die Plaqueakkumulation auf der gesamten Schmelzprobe einheitlich.

Sowohl die Zähne als auch die polierten Proben wurden bis zum Beginn des Versuchsdurchlaufs stets in wässriger Lösung gelagert, um eine Austrocknung des Zahnschmelzes und Schmelzsprünge zu verhindern (Wolf & Neuwirt, 1941). Das zugesetzte Thymol wirkte fungizid und bakterizid.

Zur abschließenden Sterilisation der Schmelzproben wurde die Gamma-Sterilisation gewählt. Hierbei handelt es sich um eine sehr schonende Methode der Entkeimung, bei der ionisierende Gamma-Strahlen verwendet werden. Diese zeichnen sich durch ihre gute Durchdringtiefe aus und ermöglichen die Sterilisation von Geweben mit hoher Dichte. Es kommt zu keiner Temperaturerhöhung des Probenmaterials und somit zu keiner thermischen Schädigung. Die Gamma-Sterilisation hat keinen Einfluss auf die Schmelzhärte und die Resistenz des Schmelzes gegenüber Demineralisationsvorgängen (Rodrigues et al., 2004). Somit bestehen im Vergleich zu anderen Sterilisationsverfahren, die sich für die Sterilisation von Zahnschmelz eignen, wie der Dampfsterilisation im Autoklaven oder der chemischen Sterilisation mittels Natriumhypochlorit und Povidonjod, die geringsten unerwünschten Nebenwirkungen (Amaechi et al., 1998). Das sterilisierte Gut kann anschließend sofort weiter verwendet werden.

6.1.2 Demineralisation der Schmelzproben

Zur (In-vitro-) Herstellung von künstlichen initialen Schmelzläsionen sind verschiedene Verfahren bekannt. Diese können zu wesentlichen Unterschieden in Bezug auf die Mineralverteilung, die chemische Zusammensetzung und die Härte der Läsionen führen (Arends et al., 1987; Lynch & Ten Cate, 2006), was Auswirkungen auf spätere De- und Remineralisationsversuche haben kann. Aus diesem Grund wird angestrebt, künstliche Kariesläsionen zu produzieren, die natürlichen Schmelzläsionen möglichst ähnlich sind.

Da die Karies eine multifaktorielle Genese aufweist, bei der insbesondere Bakterien, die Ausbildung einer Plaque sowie die Speichelfunktionen eine große Rolle spielen, ist die Erzeugung von künstlichen Läsionen, die mit natürlichen Läsionen identisch sind, nicht möglich. Jedoch kann *in vitro* eine einfache und standardisierte Demineralisation von Schmelzproben erfolgen. Als wichtigstes Merkmal sollten künstliche Initiailläsionen eine „pseudointakte“ Oberflächenschicht aufweisen.

In der vorliegenden Studie wurde das Verfahren von White (wie oben beschrieben) genutzt, um solche Initiailläsionen zu erzeugen (White, 1987). Die formulierte Gel-Lösung enthält Polyacrylsäure (Carbopol 907, Molekulargewicht 450000 Da), welche als Oberflächenschutz agiert und die Ausbildung einer einer natürlichen Läsion ähnlichen Oberflächenschicht bewirkt.

Magalhaes et al. verglichen diese Initiailläsionen nach White mithilfe der transversalen Mikroradiographie und mechanischen Härtetests mit Läsionen, die durch ein Methylzellulose-Gel (MC) (ten Cate et al., 1996), eine Methylhydroxydiphosphonat-Lösung (MHDP) (Buskes et al., 1985), eine Acetat-Puffer-Lösung (Magalhaes et al., 2008; Queiroz et al., 2008) oder durch pH-Wechsel (Vieira et al., 2005) hervorgerufen wurden. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die Läsionen, die durch die Puffer-Lösung und die Polyacryl-Säure erzeugt wurden, den höchsten durchschnittlichen Mineralverlust zeigten. Die Pufferlösung führte jedoch zur Ausbildung der dünnsten Oberflächenschicht der fünf Versuchsgruppen mit dem geringsten maximalen Oberflächenmineralgehalt. Zudem zeigten die Polyacryl-Säure-Läsionen eine größere Läsionstiefe als die der Puffer-Lösung (Magalhaes et al., 2009). Budz et al. verglichen Läsionen, die durch eine MHDP-Lösung hervorgerufen wurden, mit Läsionen, die durch die Polyacryl-Säure erzeugt wurden und kamen zu dem Schluss, dass die Polyacryl-Säure zur Ausbildung einer „pseudo-intakten“ Oberflächenschicht geeigneter ist als das MHDP (Budz et al., 1988).

Das Demineralisationsverfahren nach White wurde daher in mehreren Studien für anschließende Remineralisationsversuche verwendet (Cai et al., 2007; Iijima et al., 2004; Kumar et al., 2008; Shen et al., 2001; Walker et al., 2006).

6.1.3 Recaldent

Milch und Milchprodukte zeigten in mehreren Studien antikariogene Eigenschaften (u.a.): (Bibby et al., 1980; Reynolds & Johnson, 1981; Rosen et al., 1984). Die wirksamen

Komponenten sind dabei unter anderem Kalzium, Phosphat und das Milchprotein Casein (Grenby et al., 2001; Guggenheim et al., 1999). Letzteres findet sich in dem Wirkstoff des getesteten Produktes GC Tooth Mousse, dem Recaldent oder CPP-ACP (Casein-Phosphopeptide-amorphes Kalziumphosphat), wieder.

Casein-Phosphopeptide (CPP) mit der Cluster-Sequenz Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu haben die Fähigkeit, Kalzium und Phosphat zu stabilisieren, indem sie Nanokomplexe bilden (Cross et al., 2005). Durch die multiplen Phosphoseryl-Reste wird die Kristallbildung zwischen dem Kalzium und dem Phosphat verhindert und es kommt nicht zur Ausfällung des unlöslichen Kalziumphosphats. Stattdessen verbleiben die Kalzium- und Phosphationen in amorphem Zustand (ACP) (Holt et al., 1996; Reynolds, 1997). Die CPP-ACP-Nanokomplexe können durch tryptische Hydrolyse von großen bovinen Casein-Mizellen und anschließender Ultrazentrifugation gewonnen werden (Gagnaire et al., 1996). Wirtschaftlich praktikabler ist die 1991 von Reynolds patentierte Technik der Ultrafiltration (Reynolds, 1991).

Die Casein-Phosphopeptide-amorphen Kalziumphosphat-Komplexe (CPP-ACP) zeigten in mehreren Studien eine antikariogene Wirkung. Reynolds et al. applizierten eine CPP-ACP-Lösung zweimal täglich auf die Molaren von gnotobiotischen Ratten, die mit *Streptococcus sobrinus* infiziert worden waren. Es zeigte sich eine konzentrationsabhängige Reduktion der Kariesaktivität, wobei 0,1 g CPP-ACP pro 100 ml die Kariesaktivität um 14 % im Vergleich zur Kontrolle (destilliertes Wasser) reduzierte und 1 g CPP-ACP pro 100 ml zu einer 55 %-Reduktion führte (Reynolds et al., 1995). In einer humanen In-situ-Studie reduzierte die zweimal tägliche Applikation einer CPP-ACP-Lösung die Demineralisation des Zahnschmelzes, die durch eine Zuckerlösung hervorgerufen wurde (Reynolds, 1998). CPP-ACP-Lösungen konnten ebenfalls die Remineralisation von initialen Kariesläsionen signifikant erhöhen. Eine 1 %-CPP-ACP-Lösung führte in vitro zu einem Mineralgewinn von 64 ± 20 % (Reynolds, 1997). Shen et al. (2001) untersuchten die Wirkung von CPP-ACP in zuckerfreiem Kaugummi in einer doppelblinden, randomisierten In-situ-Studie. Die Probanden trugen dabei künstlich demineralisierte Schmelzproben in einer intraoralen Apparatur und kauten viermal täglich für 20 Minuten ein (zuckerfreies) Kaugummi mit 18,8 mg CPP-ACP (Gruppe 1), ein Kaugummi mit 56,4 mg CPP-ACP (Gruppe 2) oder ein Kaugummi ohne CPP-ACP (Gruppe 3). Nach 14 Tagen erfolgte die Auswertung. In Gruppe 1 und 2 zeigte sich eine signifikant erhöhte Remineralisation der Schmelzläsionen im Vergleich zur Kontrollgruppe 3 (Erhöhung der Remineralisation um 102 bzw. 152 %) (Shen et al., 2001). Iijima et al.

wiederholten die Studie und untersuchten anschließend die Säureresistenz der mit CPP-ACP remineralisierten Schmelzläsionen. Es zeigte sich, dass diese im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant resistenter gegenüber einem Säureangriff waren (Iijima et al., 2004). In einer weiteren In-situ-Studie wurde die Wirkung von mit CPP-ACP-versetzter Kuhmilch auf demineralisierte Schmelzproben untersucht. Die Probanden tranken täglich 200 ml Kuhmilch mit einer Konzentration von 2 bzw. 5 g CPP-ACP pro Liter und trugen dabei intraorale Apparaturen, in die die Proben eingebettet waren. Die Remineralisation durch die CPP-ACP-enthaltende Milch war dosisabhängig mit einem Mineralgewinn von 70 bzw. 148 % im Vergleich zur Kontrollmilch (Walker et al., 2006). Kumar et al. verglichen in einer In-vitro-Studie die Wirkung des CPP-ACP enthaltenden Tooth Mousse mit der einer fluoridierten Zahnpasta (1100 ppm) auf demineralisierte Schmelzproben. Dabei zeigte das Tooth Mousse ein höheres Remineralisationspotential als die fluoridierte Zahnpasta und die Kombination beider Präparate ein höheres Remineralisationspotential als Tooth Mousse allein. Die Ergebnisse wichen jeweils signifikant von der Negativkontrolle (Zahnpasta ohne Fluorid) ab (Kumar et al., 2008). Bei Kombination von CPP-ACP und Fluorid in einer Mundspülung bzw. Zahnpasta konnte in situ eine erhöhte Einlagerung von Fluorid in die Plaque beobachtet werden (Reynolds et al., 2008). Elsayad et al. bestätigten den synergistischen Effekt von CPP-ACP und Fluorid in vitro (Elsayad et al., 2009).

Der Wirkmechanismus des CPP-ACP kann dabei wie folgt erklärt werden: CPP-ACP bindet gut an die Plaque bzw. das Pellikel und die Bakterienoberfläche. Es konnte bis zu drei Stunden nach dem Kauen eines Kaugummis mit CPP-ACP in der Plaque nachgewiesen werden (Reynolds, 1998; Reynolds et al., 1999; Reynolds et al., 2003). Hierdurch werden der Kalziumgehalt und der Anteil an anorganischem Phosphat signifikant erhöht. Dies führt zur Ausbildung eines Kalzium-Depots, das in Phasen der Remineralisation genutzt werden kann. Weiterhin ist die Diffusion von freiem Kalzium in der Plaque verlangsamt. Dies begrenzt den Mineralverlust in Zeiten der Demineralisation (Rose, 2000). Da CPP-ACP die Remineralisation mit Hydroxylapatit fördert (Reynolds, 1997) vermuten Iijima et al. eine bessere Kristallinität der mit CPP-ACP remineralisierten Schmelzbereiche im Vergleich zu gesundem Schmelz, welcher Defekte in der Gitterstruktur und einen höheren Karbonatanteil aufweist (Iijima et al., 2004). Aus diesem Grund sei der mit CPP-ACP remineralisierte Schmelzanteil resistenter gegenüber Säureangriffen.

Übersichtsarbeiten sehen im CPP-ACP ein großes Potential zur Kariesprophylaxe sowie zur non-invasiven Therapie der frühen Schmelzläsionen (Llena et al., 2009; Neuhaus & Lussi, 2009; Reynolds, 2009; Yengopal & Mickenautsch, 2009). Weitere Studien seien jedoch nötig, um die Wirkung von CPP-ACP zu belegen. So kritisierte Vogel, dass in der Studie von Shen et al. (2001) die intraoralen Apparaturen mit den Schmelzproben nur für 160 Minuten pro Tag, die Behandlungsintervalle eingeschlossen, getragen wurden (Vogel, 2002). Dies limitiere u. a. ein Abwandern der CPP-ACP-Testsubstanz von der Plaque in den Speichel und somit stelle die Studie keine realen klinischen Bedingungen dar.

Das vorliegende Studiendesign wurde daher so gewählt, dass die Präparate unter möglichst realistischen Bedingungen getestet wurden (s.u.). Hierzu wurden u. a. die intraoralen Apparaturen mit den eingebetteten Schmelzproben nahezu 24 Stunden pro Tag für vier Wochen getragen. Das Ernährungsverhalten wurde bewusst nicht umgestellt. Das in vitro nachgewiesene Remineralisationspotential von Tooth Mousse (Kumar et al., 2008) sollte so im Rahmen einer In-situ-Studie überprüft werden.

6.1.4 Versuchsablauf

Jede Versuchsphase erstreckte sich über vier Wochen. In dieser Zeit wurden die intraoralen Apparaturen mit den eingebetteten Schmelzproben, mit Unterbrechung während der Mahlzeiten, 24 Stunden pro Tag getragen. Die Unterbrechung diente zum Einen dem mechanischen Schutz der Proben. Zum Anderen konnte die Nahrungsaufnahme für die Proben mit kariogener Kost standardisiert erfolgen. Während der Mahlzeiten wurden sie in einer 10%-Saccharose-Lösung gelagert und anschließend sofort wieder eingesetzt.

Vor jeder Versuchsphase erfolgte eine Wash-Out-Periode von zwei Wochen, um zu verhindern, dass das zuvor verwendete Präparat eine Spätwirkung auf die nächste Versuchsphase entfalten konnte. Eine zweiwöchige Wash-Out-Periode wurde dabei in Relation zu einer vierwöchigen Versuchsphase wie in früheren In-situ-Studien als ausreichend angesehen (Basting et al., 2007; Stephen et al., 1992).

In dieser Zeit erfolgte das Zähneputzen bereits standardisiert. Dabei sollte eine möglichst realistische häusliche Mundhygiene simuliert werden. Zu diesem Zweck wurde eine herkömmliche Zahnpasta mit einem Fluoridgehalt von 1350 ppm zweimal täglich für drei Minuten mit einer weichen Zahnbürste verwendet. Die Zahnbürste wurde jeweils zu

Beginn der Wash-Out-Periode gewechselt. Nach dem Zähneputzen wurde der Mund mit einer festgelegten Menge Leitungswasser (10 ml) ausgespült.

In jeder Versuchsperiode wurde diese standardisierte Putztechnik fortgeführt. Zusätzlich wurden die Proben in der Apparatur durch einmaliges Hin- und Herstreichen extraoral geputzt. Das extraorale Putzen sorgte für ein vergleichbares Putzergebnis der Proben, während beim intraoralen Putzen die distal platzierten Proben vermutlich schlecht erreichbar gewesen wären und das Ergebnis hätten verfälschen können. Da sich die getesteten Präparate in ihrer Anwendung deutlich unterschieden, musste auf ein (doppel-) blindes Studiendesign verzichtet werden.

In der ersten Versuchsphase wurde zusätzlich zur standardisierten Putztechnik das GC Tooth Mousse verwendet. Es wurde gemäß Herstellerempfehlung einmal täglich vor dem Zu-Bett-Gehen und nach dem Zähneputzen eine bohnengroße Menge mit dem Finger auf Zähnen und (sich extraoral befindlichen) Proben verteilt. Dort verblieb es für drei Minuten. Anschließend wurde die Apparatur in den Mund gesetzt, das Mousse für weitere zwei Minuten belassen und dabei im Mund verteilt. Dann wurden die Reste ausgespuckt.

In der zweiten Versuchsphase wurde zusätzlich zur standardisierten Putztechnik einmal wöchentlich ein Fluoridgelee mit 12500 ppm Natriumfluorid verwendet. Von diesem wurde gemäß Herstellerangabe mit einer speziell zu diesem Zweck verwendeten Zahnbürste ein 2-cm-langer Strang vor dem Zu-Bett-Gehen auf Zähnen und extraoralen Proben verteilt und dort für zwei Minuten belassen. Dann wurde die Apparatur mit den Proben in den Mund gesetzt und für eine weitere Minute belassen, bevor der Mund mit 10 ml Leitungswasser ausgespült wurde.

Das Verwenden der Zahnbürste beim Fluoridgelee ermöglichte ein gleichmäßigeres Verteilen des Präparates auf Proben und Zähnen als das Einreiben mit dem Finger beim Tooth Mousse. Auf das Einhalten der Einwirkzeiten wurde streng geachtet, da die Fluoridaufnahme mit der Expositionsdauer zunimmt (Watson et al., 2005). Schwankungen der Einwirkzeiten könnten die Ergebnisse negativ beeinflussen.

Die dritte Versuchsphase diente der Kontrolle. Es wurde lediglich die standardisierte Zahnputz-Prozedur durchgeführt. Auf die Verwendung weiterer Präparate wurde verzichtet.

6.1.5 Probandengut

Bei der Durchführung von In-situ-Studien werden häufig mehrere Probanden eingesetzt. In diesem Fall kann nicht von einem einheitlichen Versuchsmilieu ausgegangen werden. Frank (2003) stellte individuelle Unterschiede bezüglich der Speichelfließrate, der Pufferkapazität des Speichels und dessen mikrobieller Zusammensetzung bei den Probanden seiner In-situ-Studie fest. Zudem traten Unterschiede bezüglich der Compliance auf. Dies führte zu einer Streuung der Ergebnisse. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie nur eine Probandin eingesetzt. So konnten interindividuelle Unterschiede das Ergebnis der Studie nicht beeinflussen.

Die Probandin war bei bester Gesundheit und nahm keinerlei Medikamente ein. Sie zeigte durch ihr laufendes Studium der Zahnmedizin eine sehr gute Compliance. Das Versuchsmilieu konnte somit als einheitlich und standardisiert angesehen werden.

6.1.6 Auswertung der Proben mittels transversaler Mikroradiographie

Die Schmelzproben wurden nach dem beendeten Versuchsdurchlauf in lichthärtendem Kunststoff (Technovit 7200 VLC) eingebettet. Dieser Kunststoff ermöglicht die Herstellung von Dünnschliffen aus Hartgeweben ohne vorherige Entkalkung und eignet sich daher speziell für die Auswertung von De- und Remineralisationsvorgängen mittels transversaler Mikroradiographie. Die Lichtpolymerisation erfolgte bei maximal 40 Grad Celsius, einer Temperatur, die selbst bei der gewöhnlichen Nahrungsaufnahme überschritten werden kann. So konnte es nur zu einer minimalen thermischen Belastung des Schmelzes kommen (Gräf, 1960). Die Schnitte und Politur der Proben erfolgte stets unter Wasserkühlung, um auch hierbei eine Schädigung des Schmelzes auszuschließen.

Die transversale Mikroradiographie

Die transversale Mikroradiographie (TMR) beschreibt eine Analysemethode, die von Thewlis begründet wurde und der Bestimmung des Mineralgehaltes in Zahnhartgeweben dient (Thewlis, 1940). Der Begriff „Mikroradiographie“ meint dabei die mikroskopische

Auswertung von Röntgenbildern. Angmar et al. modifizierten die Methode und benutzten einen Aluminiumkeil, der zusammen mit der zu analysierenden Probe belichtet wurde und so als Referenz diente (Angmar et al., 1963). Das Prinzip der transversalen Mikroradiographie lässt sich wie folgt beschreiben. Demineralisierte Bereiche einer Probe von Zahnhartgewebe besitzen eine geringere Röntgenopazität als gesunde Bereiche und absorbieren Röntgenstrahlen deshalb weniger stark. Dies führt zu einer dunkleren Färbung des Röntgenfilms. Durch Vergleich der verschiedenen Schwärzungen mit den Graustufen des Aluminiumkeils lassen sich exakte quantitative Aussagen über Veränderungen der Mineraldichte treffen. Diese Veränderungen können nach Übertragung des Mikroradiogramms über eine Kamera und anschließender Digitalisierung und Verarbeitung der Daten mithilfe der TMR-Software auf dem Computer graphisch dargestellt werden. Die Hauptparameter der Auswertung sind die Läsionstiefe und der Mineralverlust bzw. -gewinn. Die Läsionstiefe wurde definiert als die Tiefe, in der der Mineralgehalt des Zahnschmelzes wieder 95 % beträgt. Der Mineralgewinn entspricht der Differenz der Integrale des Mikroradiogramms der behandelten Probe und des Mikroradiogramms der Referenzprobe (Dijkman et al., 1986).

Arends und Ten Bosch (1992) verglichen neun verschiedene Methoden zur direkten und indirekten Bestimmung von Mineralverlust und Läsionstiefe von Kariesläsionen. Dabei handelte es sich um die transversale, die longitudinale und die wellenlängenunabhängige Mikroradiographie, die Ionenabsorptionsmessung, die Mikrohärtmessung, die Messung der Iodidpermeabilität, die Analyse mittels polarisiertem Lichtmikroskop, die Methode der Lichtstreuung sowie um chemische Analyseverfahren. Sie kommen zu dem Schluss, dass die transversale Mikroradiographie die praktikabelste Methode zur direkten und quantitativen Bestimmung des Mineralgehaltes sowie von Veränderungen und Verteilung des Mineralgehaltes ist. Sie besticht weiterhin mit einer hohen Messgenauigkeit von 5 μm für die Läsionstiefe und 140 Vol%* μm für den Mineralverlust (Arends & ten Bosch, 1992). Aus diesem Grund gilt die TMR als Goldstandard (Damen et al., 1997) und wurde bereits in zahllosen Studien angewendet (u.a.): (Arends & ten Bosch, 1992; Bizhang et al., 2009; Buchalla et al., 2002; Buskes et al., 1987; Frank, 2003).

Als nachteilig ist der hohe Zeitaufwand der Auswertung, die extrem techniksensitive Herstellung der Dünnschliffe und die mit der Herstellung der Dünnschliffe einhergehende Zerstörung der Proben zu sehen.

6.2 Ergebnisse und Ausblick

Bei der Auswertung der Ergebnisse fiel zunächst eine Streuung der Werte für die Läsionstiefe und den Mineralgewinn der unbehandelten Seite der Schmelzproben auf. Dies lässt darauf schließen, dass die Proben ursprünglich einen unterschiedlichen Demineralisationsgrad aufwiesen bzw. dass sie während der Erzeugung der künstlichen Initialläsionen in unterschiedlichem Maße demineralisiert wurden und keine absolute Gleichheit bezüglich der Initialläsionen vor den Versuchsreihen bestand. Das Ausmaß der Remineralisation der behandelten Seite der Proben lässt jedoch im Vergleich zur unbehandelten Seite eindeutige Aussagen über das Remineralisationspotential der getesteten Präparate zu.

Nach Anwendung des GC Tooth Mousse über vier Wochen zeigte sich ein höchst signifikant erhöhter Mineralgewinn und eine signifikant reduzierte Läsionstiefe der initialen Schmelzläsionen im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen vorausgegangener In-vitro- und In-situ Studien (Kumar et al., 2008; Reynolds, 1997; Shen et al., 2001; Walker et al., 2006). Die Auswirkung der Position der Schmelzproben im Mund auf die Remineralisationswirkung von Tooth Mousse wurde, soweit bekannt, bisher nicht untersucht. In der vorliegenden Studie zeigte sich kein signifikanter Unterschied des Mineralgewinns und kein signifikanter Unterschied der Läsionstiefe im Vergleich zur Kontrollgruppe bei den vestibulär positionierten Proben, sondern nur bei den lingual positionierten Proben. Da die Proben stets extraoral behandelt wurden, konnten Ursachen in der Anwendung des Präparates ausgeschlossen werden. Das Ergebnis könnte vielmehr auf die stärkere Speichelwirkung im lingualen Bereich zurückzuführen sein. Dem entgegen stehen die Ergebnisse von Studien, die ein signifikant erhöhtes Remineralisationspotential von Tooth Mousse in situ mithilfe von palatinal positionierten Proben nachweisen konnten (Iijima et al., 2004; Shen et al., 2001). Bei Wertung der vorliegenden Ergebnisse muss die geringe Fallzahl der vestibulären Proben mit berücksichtigt werden (s.u.). Die Auswirkung der Position der Proben auf die remineralisierende Wirkung wird daher in weiterführenden Studien abzuklären sein.

Die Wirkung von Fluorid auf den Zahnschmelz wurde in zahlreichen Studien untersucht. Abgesehen von einer gewissen Wirkung auf die oralen Mikroorganismen hemmt das Fluorid die Demineralisation des Zahnschmelzes und fördert dessen Remineralisation. Dabei spielen die Ausbildung einer Kalzium-Fluorid-Deckschicht und die Anreicherung

des Fluorids in der Plaque eine entscheidende Rolle (Ekstrand & Oliveby, 1999; Ögaard, 1990; Zero et al., 1992). Höhere Fluoridkonzentrationen führten in Studien zur Ausbildung eines ausgeprägteren Fluoridreservoirs an der Zahnoberfläche und zeigten eine bessere kariesprophylaktische Wirkung als niedrige Fluoridkonzentrationen (u.a.) (Cruz et al., 1993; Frank, 2003; Marinho et al., 2003; Stephen, 1993). Weiterhin verstärkt sich die Fluoridwirkung bei häufigerer Anwendung. Die Anwendung eines Fluoridgelees mit einer Fluoridkonzentration von 12500 ppm alle 7-14 Tage führte nachweislich zu einer Kariesreduktion von bis zu 41 % und wird aus diesem Grund von der DGZMK empfohlen (Gülzow et al., 2005; Maiwald et al., 1993; Szöke & Kozma, 1989; van Rijkom et al., 2004). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie. Die zusätzliche Anwendung des Fluoridgelees führte im Vergleich zur alleinigen Anwendung einer fluoridhaltigen Zahnpasta zu einem höchst signifikant erhöhten Mineralgewinn und einer signifikant reduzierten Läsionstiefe. Bei isolierter Betrachtung der vestibulären Proben fällt auf, dass im Gegensatz zu den lingual positionierten Proben hierbei bezüglich der Läsionstiefe kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe besteht. Auch in diesem Fall liegt die Vermutung nahe, dass die Speichelwirkung für die unterschiedlichen Ergebnisse der vestibulären und lingualen Proben verantwortlich ist.

Ziel der vorliegenden Studie war der Vergleich der Wirkung von 12500 ppm Fluorid auf initiale Schmelzläsionen mit der Wirkung von Tooth Mousse. Dabei zeigte sich, dass es bei Anwendung beider Präparate zu einem höchst signifikant erhöhten Mineralgewinn und einer signifikant reduzierten Läsionstiefe im Vergleich zur Kontrollgruppe kommt. Die beiden Präparate unterscheiden sich dabei nicht signifikant voneinander.

Unter Einbeziehung der Position der Schmelzproben innerhalb der intraoralen Apparatur weichen die Ergebnisse ab. In Bezug auf die lingualen Proben zeigt das Tooth Mousse tendenziell eine bessere remineralisierende Wirkung als das Fluoridgelee, die beiden Präparate unterscheiden sich jedoch nicht signifikant. Bei Betrachtung der vestibulär positionierten Proben ist das Fluoridgelee jedoch dem Tooth Mousse bezüglich des Mineralgewinns signifikant überlegen. Das Tooth Mousse unterscheidet sich hierbei nicht signifikant von der Kontrollgruppe. Desweiteren führen beide Präparate bei den vestibulären Schmelzproben zu einer tendenziellen, aber nicht signifikanten, Reduktion der Läsionstiefe. Dabei ist zu erwähnen, dass die Auswirkung der Position der Schmelzproben ursprünglich nicht Gegenstand der Untersuchung war. So ist die ungleiche Aufteilung der Proben in acht lingual positionierte und nur vier vestibulär positionierte Proben zu

erklären. Da die Fallzahl der vestibulären Proben als zu gering eingestuft werden muss, kann eine lokalisationsabhängige Wirkung von Tooth Mousse lediglich vermutet werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sollten in weiterführenden klinischen Untersuchungen vertieft werden. Dabei sollte mithilfe von größeren Probenzahlen und einer größeren Probandengruppe insbesondere die remineralisierende Wirkung und der Effekt der Lokalisation der Proben weitergehend untersucht werden.

Obwohl die relativ aufwendige und kostenintensivere Anwendung des Tooth Mousse im Vergleich zum Fluoridgelee als nachteilig gewertet werden kann, sollte seine Position als Alternative zu Fluoridpräparaten in der Kariesprophylaxe nicht unterschätzt werden. Das Tooth Mousse könnte, sofern seine Wirkung in weiteren klinischen Studien bestätigt wird, ideal bei Kindern unter sechs Jahren, bei denen Fluoridpräparate aufgrund der Fluorose-Gefahr kontraindiziert sind, zur non-invasiven Therapie von initialen Kariesläsionen eingesetzt werden.

7 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Remineralisationswirkung von GC Tooth Mousse (CPP-ACP, Recaldent®) auf initiale Schmelzläsionen mit der des Sensodyne Fluorid-Gelées Pro Schmelz mit 12500 ppm Fluorid unter möglichst realen Bedingungen in situ zu vergleichen.

Dazu wurden 36 Schmelzproben aus frisch extrahierten dritten Molaren entnommen. Nach Erzeugung künstlicher kariöser Schmelzläsionen wurden die Proben randomisiert in drei Gruppen aufgeteilt (je 12 Proben) und jeweils in eine intraorale Apparatur eingebettet, wobei die Proben teils lingual, teils vestibulär im Unterkiefer positioniert wurden. Die Hälfte jeder Schmelzprobe wurde abgedeckt, in den Versuchsreihen nicht behandelt und diente der Kontrolle. Die Proben wurden jeweils vier Wochen von derselben Probandin getragen. Jeder Versuchsphase ging eine Wash-Out-Periode von zwei Wochen voraus. In dieser Zeit wurden die Zähne und die Proben mit einer fluoridierten Zahnpasta (1350 ppm NaF) standardisiert geputzt.

In Gruppe 1 wurde zusätzlich zur täglichen Putzprozedur einmal täglich das GC Tooth Mousse (GC, J-Tokio) verwendet. In Gruppe 2 wurde stattdessen das Sensodyne Fluorid-Gelée Pro Schmelz (GlaxoSmithKline, D-Bühl) einmal wöchentlich angewendet. Gruppe 3 diente der Kontrolle. In dieser Zeit wurden die Zähne und Schmelzproben ausschließlich mit der fluoridierten Zahnpasta geputzt.

Der Mineralgewinn und der Rückgang der Läsionstiefe der Schmelzproben (Vergleich behandelte und unbehandelte Seite) wurden mittels transversaler Mikroradiographie (TMR) bestimmt. Die statistische Analyse erfolgte durch ANOVA mit Bonferroni-Adjustierung.

Es ergab sich ein mittlerer Mineralgewinn (in Vol%* μm) für Gruppe 1 von $329,9 \pm 203,3$, für Gruppe 2 von $375,1 \pm 193,2$ und für die Kontrollgruppe (3) von $36,1 \pm 122,6$. Die Reduktion der Läsionstiefe (in μm) betrug (1) $33,8 \pm 22,2$, (2) $34,9 \pm 17,3$ und (3) $7,4 \pm 28,7$. Die Anwendung von Tooth Mousse und Pro Schmelz-Fluorid-Gelée führten zu einem höchst signifikant erhöhten Mineralgewinn ($p < 0,001$) und einer signifikant reduzierten Läsionstiefe ($p < 0,05$) im Vergleich zur Kontrolle. Bei Vergleich beider Präparate ergab sich kein signifikanter Unterschied.

Bei isolierter Auswertung der vestibulären Proben ergab sich im Vergleich zur Kontrolle kein signifikant erhöhter Mineralgewinn durch das Tooth Mousse. Die Anwendung des

Fluorid-Gelées Pro Schmelz hingegen erhöhte den Mineralgewinn im Vergleich zum Tooth Mousse und der Kontrolle signifikant. Die Reduktion der Läsionstiefe ergab bei Vergleich der drei Versuchsreihen keinen signifikanten Unterschied.

Schlussfolgerungen: Die Anwendung von GC Tooth Mousse sowie die Anwendung von Sensodyne Fluorid-Gelée Pro Schmelz führen zu einer signifikant erhöhten Remineralisation von initialen Schmelzläsionen. Es kann vermutet werden, dass die Wirkung von Tooth Mousse dabei lokalisationsabhängig ist. Dies wird in weiteren Studien zu untersuchen sein.

TABELLENANHANG

| | Testseite | | Kontrollseite | |
|-----|--|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
| | Mineralisations- verlust (Vol%* μm) | Läsionstiefe (μm) | Mineralisations- verlust (Vol%* μm) | Läsionstiefe (μm) |
| A1 | 2.568 | 216 | 2.921 | 233 |
| A2 | 1.470 | 159 | 2.217 | 193 |
| A3 | 1.637 | 148 | 1.984 | 208 |
| A4 | 1.112 | 111 | 1.793 | 180 |
| A5 | 1.986 | 191 | 2.396 | 240 |
| A6 | 1.494 | 149 | 1.926 | 192 |
| A7 | 1.470 | 150 | 2.050 | 204 |
| A8 | 2.125 | 201 | 2.353 | 221 |
| A9 | 2.065 | 194 | 2.146 | 201 |
| A10 | 1.443 | 128 | 1.497 | 155 |
| A11 | 2.034 | 191 | 2.035 | 179 |
| A12 | 1.544 | 197 | 1.738 | 216 |

Tabelle 2: Proben der Versuchsreihe 1; A1-A8 bezeichnen die lingual positionierten Proben, A9-A12 die vestibulär positionierten Proben; Werte auf ganze Zahlen gerundet

| | Testseite | | Kontrollseite | |
|-----|--|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
| | Mineralisations- verlust (Vol%* μm) | Läsionstiefe (μm) | Mineralisations- verlust (Vol%* μm) | Läsionstiefe (μm) |
| B1 | 1.708 | 156 | 1.983 | 172 |
| B2 | 2.766 | 225 | 3.098 | 256 |
| B3 | 1.870 | 185 | 2.630 | 249 |
| B4 | 2.408 | 222 | 2.635 | 243 |
| B5 | 2.526 | 227 | 3.080 | 275 |
| B6 | 2.188 | 199 | 2.488 | 216 |
| B7 | 2.370 | 208 | 2.757 | 224 |
| B8 | 2.510 | 209 | 2.674 | 243 |
| B9 | 2.319 | 181 | 2.416 | 210 |
| B10 | * | * | * | * |
| B11 | 1.631 | 153 | 2.036 | 203 |
| B12 | 1.001 | 23 | 1.621 | 68 |

Tabelle 3: Proben der Versuchsreihe 2; B1-B8 bezeichnen die lingual positionierten Proben, B9-B12 die vestibulär positionierten Proben; Werte auf ganze Zahlen gerundet

*Die Dünnschnitte der Probe B10 konnten nicht ausgewertet werden

| | Testseite | | Kontrollseite | |
|-----|--|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
| | Mineralisations- verlust (Vol%* μm) | Läsionstiefe (μm) | Mineralisations- verlust (Vol%* μm) | Läsionstiefe (μm) |
| C1 | 1.698 | 122 | 1.714 | 142 |
| C2 | 1.486 | 149 | 1.535 | 148 |
| C3 | 2.561 | 200 | 2.226 | 166 |
| C4 | 704 | 25 | 856 | 20 |
| C5 | 2.454 | 193 | 2.284 | 187 |
| C6 | 1.727 | 162 | 2.296 | 197 |
| C7 | 1.911 | 153 | 2.048 | 168 |
| C8 | 1.808 | 180 | 1.982 | 175 |
| C9 | 2.198 | 193 | 2.321 | 191 |
| C10 | 1.798 | 152 | 1.775 | 153 |
| C11 | 2.701 | 188 | 2.898 | 200 |
| C12 | * | * | * | * |

Tabelle 4: Proben der Versuchsreihe 3; C1-C8 bezeichnen die lingual positionierten Proben, C9-C12 die vestibulär positionierten Proben; Werte auf ganze Zahlen gerundet

***Die Dünnschnitte der Probe C12 konnten nicht ausgewertet werden**

LITERATURVERZEICHNIS

1. Amaechi, B. T., Higham, S. M. & Edgar, W. M. (1998). *Efficacy of sterilisation methods and their effect on enamel demineralisation*. Caries Res, 32, 441-446.
2. Angmar, B., Carlstrom, D. & Glas, J. E. (1963). *Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel*. J Ultrastruct Res, 8, 12-23.
3. Arends, J. & Christoffersen, J. (1986). *The nature of early caries lesions in enamel*. J Dent Res, 65, 2-11.
4. Arends, J., Dijkman, T. & Christoffersen, J. (1987). *Average mineral loss in dental enamel during demineralization*. Caries Res, 21, 249-254.
5. Arends, J. & ten Bosch, J. J. (1992). *Demineralization and remineralization evaluation techniques*. J Dent Res, 71 Spec No, 924-928.
6. Arnold, W. H. (2006). *Mikromorphologie und Molekularbiologie der Dentinogenese und Amelogenese*. Dtsch Zahnärztl Z, 61, 524-534.
7. Basting, R. T., Rodrigues, A. L. & Serra, M. C. (2007). *Micromorphology and surface roughness of sound and demineralized enamel and dentin bleached with a 10% carbamide peroxide bleaching agent*. Am J Dent, 20, 97-102.
8. Baume, L. J. (1962). *Allgemeine Grundsätze für eine internationale Normung der Kariesstatistiken*. Int Dent J, 12, 279.
9. Bergmann, K. E., Bergmann, R. L., Turba, H. & Zwemke, H. (1983). *Fluoridgesamtaufnahme im ersten Lebensjahr*. Dtsch Zahnärztl Z, 38, 145-147.
10. Bibby, B. G., Huang, C. T., Zero, D., Mundorff, S. A. & Little, M. F. (1980). *Protective effect of milk against in vitro caries*. J Dent Res, 59, 1565-1570.
11. Bibby, B. G., Wilkins, E. & Witol, E. (1955). *A preliminary study of the effects of fluoride lozenges and pills on dental caries*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 8, 213-216.
12. Binus, W., Pilz, M. E. W. & Stiefel, A. (1987). *Initialkaries*. Leipzig: J. A. Barth.
13. Bizhang, M., Chun, Y. H., Winterfeld, M. T., Altenburger, M. J., Raab, W. H. & Zimmer, S. (2009). *Effect of a 5000 ppm fluoride toothpaste and a 250 ppm fluoride mouth rinse on the demineralisation of dentin surfaces*. BMC Res Notes, 2, 147.
14. Boyde, A., Fortelius, M., Lester, K. S. & Martin, L. B. (1988). *Basis of the structure and development of mammalian enamel as seen by scanning electron microscopy*. Scanning Microsc, 2, 1479-1490.
15. Bratthall, D., Hansel-Petersson, G. & Sundberg, H. (1996). *Reasons for the caries decline: what do the experts believe?* Eur J Oral Sci, 104, 416-422; discussion 423-415, 430-412.
16. Bronckers, A. L., Lyaruu, D. M. & DenBesten, P. K. (2009). *The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel fluorosis*. J Dent Res, 88, 877-893.
17. Brown, L. R., Handler, S. F., Horton, I. M., Streckfuss, J. L. & Dreizen, S. (1980). *Effect of sodium fluoride on the viability and growth of Streptococcus mutans*. J Dent Res, 59, 159-167.
18. Brown, W. S., Christensen, D. O. & Lloyd, B. A. (1978). *Numerical and experimental evaluation of energy inputs, temperature gradients, and thermal stresses during restorative procedures*. J Am Dent Assoc, 96, 451-458.
19. Brudevold, F., Aasenden, R. & Bakhos, Y. (1982). *A preliminary study of posteruptive maturation of teeth in situ*. Caries Res, 16, 243-248.

20. Buchalla, W., Attin, T., Schulte-Monting, J. & Hellwig, E. (2002). *Fluoride uptake, retention, and remineralization efficacy of a highly concentrated fluoride solution on enamel lesions in situ*. J Dent Res, 81, 329-333.
21. Budz, J. A., Lo Re, M. & Nancollas, G. H. (1988). *The influence of high- and low-molecular-weight inhibitors on dissolution kinetics of hydroxyapatite and human enamel in lactate buffers: a constant composition study*. J Dent Res, 67, 1493-1498.
22. Buskes, J. A., Christoffersen, J. & Arends, J. (1985). *Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications*. Caries Res, 19, 490-496.
23. Buskes, J. A., de Josselin de Jong, E., Christoffersen, J. & Arends, J. (1987). *Microradiographic study on the demineralization of thick enamel sections: a constant composition study*. Caries Res, 21, 15-21.
24. Cai, F., Manton, D. J., Shen, P., Walker, G. D., Cross, K. J., Yuan, Y., Reynolds, C. & Reynolds, E. C. (2007). *Effect of addition of citric acid and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to a sugar-free chewing gum on enamel remineralization in situ*. Caries Res, 41, 377-383.
25. Ciardi, J. E., Rolla, G., Bowen, W. H. & Reilly, J. A. (1977). *Adsorption of Streptococcus mutans lipoteichoic acid to hydroxyapatite*. Scand J Dent Res, 85, 387-391.
26. Cross, K. J., Huq, N. L., Palamara, J. E., Perich, J. W. & Reynolds, E. C. (2005). *Physicochemical characterization of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplexes*. J Biol Chem, 280, 15362-15369.
27. Cruz, R., Ng'ang'a, P. M., Ogaard, B. & Valderhaug, J. (1993). *Fluoride acquisition on and in fluorotic human enamel after topical application in vitro*. Scand J Dent Res, 101, 5-8.
28. D-A-CH (2008). *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), Österreichische Gesellschaft für Ernährung (ÖGE), Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung (SGE), Schweizerische Vereinigung für Ernährung (SVE) (1.Auflage). (3.korrigierter Nachdruck), Frankfurt a. M.: Umschau Braus GmbH, Verlagsgesellschaft.*
29. Damen, J. J., Exterkate, R. A. & ten Cate, J. M. (1997). *Reproducibility of TMR for the determination of longitudinal mineral changes in dental hard tissues*. Adv Dent Res, 11, 415-419.
30. Davidson, C. L., Boom, G. & Arends, J. (1973). *Calcium distribution in human and bovine surface enamel*. Caries Res, 7, 349-359.
31. DAZ (2008). *Deutscher Zahnärztetag: Gesunde Zähne mit fluoridiertem Speisesalz: Informationsstelle für Kariesprophylaxe des Deutschen Arbeitskreises für Zahnheilkunde.*
32. Deutsch, D. & Pe'er, E. (1982). *Development of enamel in human fetal teeth*. J Dent Res, Spec No, 1543-1551.
33. Dibdin, G. H. (1972). *The stability of water in human dental enamel studied by proton nuclear magnetic resonance*. Arch Oral Biol, 17, 433-437.
34. Dijkman, A. G., Schuthof, J. & Arends, J. (1986). *In vivo remineralization of plaque-induced initial enamel lesions--a microradiographic investigation*. Caries Res, 20, 202-208.
35. Dohnke-Hohrmann, S. & Zimmer, S. (2004). *Change in caries prevalence after implementation of a fluoride varnish program*. J Public Health Dent, 64, 96-100.
36. Driscoll, W. S., Heifetz, S. B. & Brunelle, J. A. (1981). *Caries-preventive effects of fluoride tablets in schoolchildren four years after discontinuation of treatments*. J Am Dent Assoc, 103, 878-881.

37. EAPD (2000). (*Oulis, C. J., Raadal, M. & Martens, L.*) *Guidelines on the use of fluoride in children: an EAPD policy document*. *Europ J Paediatr Dent*, 1, 7-12.
38. Einwag, J. (1993). *Ergebnisse zur Prävalenz von Karies und Dentalfluorose In Mundgesundheitszustand und -verhalten in Ostdeutschland*. ed. W. Micheelis, Bauch, J. Köln: Deutscher Ärzteverlag.
39. Ekstrand, J. & Oliveby, A. (1999). *Fluoride in the oral environment*. *Acta Odontol Scand*, 57, 330-333.
40. Ekstrand, K., Qvist, V. & Thylstrup, A. (1987). *Light microscope study of the effect of probing in occlusal surfaces*. *Caries Res*, 21, 368-374.
41. Elsayad, I., Sakr, A. & Badr, Y. (2009). *Combining casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate with fluoride: synergistic remineralization potential of artificially demineralized enamel or not?* *J Biomed Opt*, 14, 044039.
42. Esser, M., Tinschert, J. & Marx, R. (1998). *Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humaner Zahnhartsubstanz*. *Dtsch Zahnärztl Z*, 53, 713-717.
43. FDI (1976). (*dt. Bearbeitung: Franke, G.*) *Klassifizierung epidemiologischer Studien über Zahnkaries und Definitionen verwandter Begriffe*. *J Dent Res*, 26, 73.
44. Frank, L. V. (2003). *Ein In-situ-Versuch über die De- und Remineralisierungswirkung von Zahnpasten von 0 bis 1500 ppm Fluoridgehalt*, Inaugural-Dissertation, Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg.
45. Gagnaire, V., Pierre, A., Molle, D. & Leonil, J. (1996). *Phosphopeptides interacting with colloidal calcium phosphate isolated by tryptic hydrolysis of bovine casein micelles*. *J Dairy Res*, 63, 405-422.
46. Gillespie, G. M. & Marthaler, T. M. (2005). *Cost aspects of salt fluoridation*. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 115, 778-784.
47. Gräf, W. (1960). *Die thermische Belastung der Zähne beim Verzehr extrem heißer und kalter Speisen*. *Dtsch Zahnärztl Z*, 15.
48. Grenby, T. H., Andrews, A. T., Mistry, M. & Williams, R. J. (2001). *Dental caries-protective agents in milk and milk products: investigations in vitro*. *J Dent*, 29, 83-92.
49. Guggenheim, B., Schmid, R., Aeschlimann, J. M., Berrocal, R. & Neeser, J. R. (1999). *Powdered milk micellar casein prevents oral colonization by Streptococcus sobrinus and dental caries in rats: a basis for the caries-protective effect of dairy products*. *Caries Res*, 33, 446-454.
50. Gülzow, H.-J., Hellwig, E. & Helzer, G. (2005). *DGZMK-Leitlinie zu Fluoridierungsmaßnahmen: DGZMK*.
51. Gülzow, H.-J. & Strübig, W. (1984). *Über die Notwendigkeit der kontinuierlichen Einnahme von Fluoridtabletten*. *Dtsch Zahnärztl Z*, 39, 512-514.
52. Gustafsson, B. E., Quensel, C. E., Lanke, L. S., Lundqvist, C., Grahnén, H., Bonow, B. E. & Krasse, B. (1954). *The Vipeholm dental caries study; the effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years*. *Acta Odontol Scand*, 11, 232-264.
53. Haikel, Y., Frank, R. M. & Voegel, J. C. (1983). *Scanning electron microscopy of the human enamel surface layer of incipient carious lesions*. *Caries Res*, 17, 1-13.
54. Hallsworth, A. S. & Weatherell, J. A. (1969). *The microdistribution, uptake and loss of fluoride in human enamel*. *Caries Res*, 3, 109-118.
55. Hamilton, I. R. (1990). *Biochemical effects of fluoride on oral bacteria*. *J Dent Res*, 69 Spec No, 660-667; discussion 682-663.
56. Hellwig, E. (2001). *Neue Empfehlungen zur Kariesprophylaxe mit Fluoriden*. *Oralprophylaxe*, 23, 17-21.

57. Hellwig, E., Klimek, J. & Attin, T. (2009). *Einführung in die Zahnerhaltung* (5.Auflage). Köln: Deutscher Zahnärzte Verlag.
58. Hellwig, E., Klimek, J. & Wagner, H. (1987). *The influence of plaque on reaction mechanism of MFP and NaF in vivo*. J Dent Res, 66, 46-49.
59. Hellwig, E. & Lennon, A. M. (2004). *Systemic versus topical fluoride*. Caries Res, 38, 258-262.
60. Hesecker, H. (1999). *Fluorid. Funktionen, Physiologie, Stoffwechsel. Empfehlungen und Versorgung in der Bundesrepublik Deutschland*. Ernährungs-Umschau, 46, 305-307.
61. Hirsch-Kauffmann, M. & Schweiger, M. (2006). *Biologie für Mediziner und Naturwissenschaftler* (6.Auflage). Stuttgart: Thieme.
62. Hoffmann-Axthelm, W. (1985). *Die Geschichte der Zahnheilkunde* (2.Auflage). Berlin: Quintessenz.
63. Höhling, H.-J. (1966). *Die Bauelemente von Zahnschmelz und Dentin aus morphologischer, chemischer und struktureller Sicht* München: Hanser Verlag.
64. Holmen, L., Thylstrup, A. & Artun, J. (1987). *Clinical and histological features observed during arrestment of active enamel carious lesions in vivo*. Caries Res, 21, 546-554.
65. Holmen, L., Thylstrup, A., Ogaard, B. & Kragh, F. (1985). *A scanning electron microscopic study of progressive stages of enamel caries in vivo*. Caries Res, 19, 355-367.
66. Holt, C., Wahlgren, N. M. & Drakenberg, T. (1996). *Ability of a beta-casein phosphopeptide to modulate the precipitation of calcium phosphate by forming amorphous dicalcium phosphate nanoclusters*. Biochem J, 314 (Pt 3), 1035-1039.
67. Iijima, Y., Cai, F., Shen, P., Walker, G., Reynolds, C. & Reynolds, E. C. (2004). *Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate*. Caries Res, 38, 551-556.
68. Jackson, L. R. (1982). *In vitro hydrolysis of monofluorophosphate by dental plaque microorganisms*. J Dent Res, 61, 953-956.
69. Jenkins, G. N. (1978). *The Physiology and Biochemistry of The Mouth* (4.Auflage). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
70. Keyes, P. H. (1962). *Recent advances in dental caries research. Bacteriology. Bacteriological findings and biological implications*. Int Dent J, 12, 443.
71. Kite, O. W., Shaw, J. H. & Sognaes, R. F. (1950). *The prevention of experimental tooth decay by tube-feeding*. J Nutr, 42, 89-105.
72. Klimek, J. (1998). *Initiale Karies und ihre Behandlung*. Zahnärztlicher Gesundheitsdienst, 28.
73. Klimm, W. (1997). *Kariologie*. München Wien: Carl Hanser Verlag.
74. Klinger, H. G. & Wiedemann, W. (1986). *Enhancement of in-vivo remineralization of approximal initial caries in man by an organic and inorganic remineralization agent*. Arch Oral Biol, 31, 269-272.
75. Koch, G., Petersson, L. G., Kling, E. & Kling, L. (1982). *Effect of 250 and 1000 ppm fluoride dentifrice on caries. A three-year clinical study*. Swed Dent J, 6, 233-238.
76. König, K. G. (1971). *Karies und Kariesprophylaxe*. München: Goldmann.
77. Kumar, V. L., Itthagarun, A. & King, N. M. (2008). *The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study*. Aust Dent J, 53, 34-40.
78. Kunzel, W. (1993). *Systemic use of fluoride--other methods: salt, sugar, milk, etc*. Caries Res, 27 Suppl 1, 16-22.

79. Larsen, M. J. & Jensen, S. J. (1994). *Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite*. Arch Oral Biol, 39, 23-27.
80. Leverett, D. H., Adair, S. M., Vaughan, B. W., Proskin, H. M. & Moss, M. E. (1997). *Randomized clinical trial of the effect of prenatal fluoride supplements in preventing dental caries*. Caries Res, 31, 174-179.
81. Lie, T. (1975). *Pellicle formation on hydroxyapatite splints attached to the human dentition: morphologic confirmation of the concept of adsorption*. Arch Oral Biol, 20, 739-742.
82. Lie, T. (1977). *Early dental plaque morphogenesis. A scanning electron microscope study using the hydroxyapatite splint model and a low-sucrose diet*. J Periodontal Res, 12, 73-89.
83. Llana, C., Forner, L. & Baca, P. (2009). *Anticariogenicity of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: a review of the literature*. J Contemp Dent Pract, 10, 1-9.
84. Lynch, R. J. & Ten Cate, J. M. (2006). *The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de- and remineralisation behaviour*. Caries Res, 40, 530-535.
85. Magalhaes, A. C., Comar, L. P., Rios, D., Delbem, A. C. & Buzalaf, M. A. (2008). *Effect of a 4% titanium tetrafluoride (TiF4) varnish on demineralisation and remineralisation of bovine enamel in vitro*. J Dent, 36, 158-162.
86. Magalhaes, A. C., Moron, B. M., Comar, L. P., Wiegand, A., Buchalla, W. & Buzalaf, M. A. (2009). *Comparison of cross-sectional hardness and transverse microradiography of artificial carious enamel lesions induced by different demineralising solutions and gels*. Caries Res, 43, 474-483.
87. Maiwald, H. J., Unger, C. & Zimmer, S. (1993). *Bewertung der Effektivität angeleiteter Mundhygieneaktionen mittels verschiedener Indices*. Quintessenz, 44, 701-712.
88. Mansbridge, J. N. (1959). *Heredity and dental caries*. J Dent Res, 38, 337-347.
89. Margolis, H. C. & Moreno, E. C. (1990). *Physicochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides*. J Dent Res, 69 Spec No, 606-613; discussion 634-606.
90. Marinho, V. C., Higgins, J. P., Sheiham, A. & Logan, S. (2003). *Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents*. Cochrane Database Syst Rev, CD002278.
91. Marsh, P. & Martin, M. V. (2003). *Orale Mikrobiologie*. Stuttgart: Thieme.
92. Marthaler, T. M. (2004). *Changes in dental caries 1953-2003*. Caries Res, 38, 173-181.
93. Marthaler, T. M., Mejia, R., Toth, K. & Vines, J. J. (1978). *Caries-preventive salt fluoridation*. Caries Res, 12 Suppl 1, 15-21.
94. Marthaler, T. M. & Steiner, M. (1981). *[Dental caries in the cantons of Glarus and Waadt, 4 years and 8 years after the introduction of fluordized salt]*. Soz Praventivmed, 26, 302-303.
95. Meckel, A. H., Griebstein, W. J. & Neal, R. J. (1965). *Structure of mature human dental enamel as observed by electron microscopy*. Arch Oral Biol, 10, 775-783.
96. Möller, H. & Schröder, U. (1986). *Early natural subsurface caries. A SEM study of the enamel surface before and after remineralization*. Caries Res, 20, 97-102.
97. Möller, I. J. (1982). *Fluorides and dental fluorosis*. Int Dent J, 32, 135-147.
98. Neuhaus, K. W. & Lussi, A. (2009). *[Casein phosphopeptide--amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) and its effect on dental hard tissues]*. Schweiz Monatsschr Zahnmed, 119, 110-116.
99. Nixon, G. S. (1969). *Trace element content of the hard dental tissues and dental plaque*. Caries Res, 3, 60-74.

100. Øgaard, B. (1990). *Effects of fluoride on caries development and progression in vivo*. J Dent Res, 69 Spec No, 813-819; discussion 820-813.
101. Orland, F. J., Blayney, J. R., Harrison, R. W., Reyniers, J. A., Trexler, P. C., Ervin, R. F., Gordon, H. A. & Wagner, M. (1955). *Experimental caries in germfree rats inoculated with enterococci*. J Am Dent Assoc, 50, 259-272.
102. Orland, F. J., Blayney, J. R., Harrison, R. W., Reyniers, J. A., Trexler, P. C., Wagner, M., Gordon, H. A. & Luckey, T. D. (1954). *Use of the germfree animal technic in the study of experimental dental caries. I. Basic observations on rats reared free of all microorganisms*. J Dent Res, 33, 147-174.
103. Osborn, J. W. (1973). *Variations in Structure and Development of Enamel In Oral Sciences Reviews: Dental Enamel - Development, Structure and Caries*. ed. A. H. Melcher, Zarb, G.A. (3.Auflage). Copenhagen: Munksgaard.
104. Pearce, E. I. & Dibdin, G. H. (1995). *The diffusion and enzymic hydrolysis of monofluorophosphate in dental plaque*. J Dent Res, 74, 691-697.
105. Petersson, G. H. & Bratthall, D. (1996). *The caries decline: a review of reviews*. Eur J Oral Sci, 104, 436-443.
106. Queiroz, C. S., Hara, A. T., Paes Leme, A. F. & Cury, J. A. (2008). *pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization*. Braz Dent J, 19, 21-27.
107. Reynolds, E. C. (1991). Anticariogenic phosphopeptides. US patent 5015628.
108. Reynolds, E. C. (1997). *Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions*. J Dent Res, 76, 1587-1595.
109. Reynolds, E. C. (1998). *Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review*. Spec Care Dentist, 18, 8-16.
110. Reynolds, E. C. (2009). *Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence*. Adv Dent Res, 21, 25-29.
111. Reynolds, E. C., Black, C. L., Cai, F., Cross, K. J., Eakins, D., Huq, N. L., Morgan, M. V., Nowicki, A., Perich, J. W., Riley, P. F., Shen, P., Talbo, G. & Webber, F. W. (1999). *Advances in enamel remineralization: Anticariogenic casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate*. J Clin Dent, 10, 86-88.
112. Reynolds, E. C., Cai, F., Cochrane, N. J., Shen, P., Walker, G. D., Morgan, M. V. & Reynolds, C. (2008). *Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate*. J Dent Res, 87, 344-348.
113. Reynolds, E. C., Cai, F., Shen, P. & Walker, G. D. (2003). *Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum*. J Dent Res, 82, 206-211.
114. Reynolds, E. C., Cain, C. J., Webber, F. L., Black, C. L., Riley, P. F., Johnson, I. H. & Perich, J. W. (1995). *Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat*. J Dent Res, 74, 1272-1279.
115. Reynolds, E. C. & Johnson, I. H. (1981). *Effect of milk on caries incidence and bacterial composition of dental plaque in the rat*. Arch Oral Biol, 26, 445-451.
116. Ripa, L. W., Gwinnett, A. J. & Buonocore, M. G. (1966). *The "prismless" outer layer of deciduous and permanent enamel*. Arch Oral Biol, 11, 41-48.
117. Robinson, C., Kirkham, J., Brookes, S. J., Bonass, W. A. & Shore, R. C. (1995). *The chemistry of enamel development*. Int J Dev Biol, 39, 145-152.
118. Robinson, C., Weatherell, J. A. & Hallsworth, A. S. (1971). *Variations in composition of dental enamel within thin ground tooth sections*. Caries Res, 5, 44-57.
119. Robinson, C., Weatherell, J. A. & Hallsworth, A. S. (1981). *Distribution of magnesium in mature human enamel*. Caries Res, 15, 70-77.

120. Rodrigues, L. K., Cury, J. A. & Nobre dos Santos, M. (2004). *The effect of gamma radiation on enamel hardness and its resistance to demineralization in vitro*. J Oral Sci, 46, 215-220.
121. Rølla, G., Øgaard, B. & Cruz Rde, A. (1991). *Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: a review*. Int Dent J, 41, 171-174.
122. Ronnholm, E. (1962). *An electron microscopic study of the amelogenesis in human teeth. I. The fine structure of the ameloblasts*. J Ultrastruct Res, 6, 229-248.
123. Rose, R. K. (2000). *Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques*. Arch Oral Biol, 45, 569-575.
124. Rosen, S., Min, D. B., Harper, D. S., Harper, W. J., Beck, E. X. & Beck, F. M. (1984). *Effect of cheese, with and without sucrose, on dental caries and recovery of Streptococcus mutans in rats*. J Dent Res, 63, 894-896.
125. Saxegaard, E. & Rølla, G. (1989). *Kinetics of acquisition and loss of calcium fluoride by enamel in vivo*. Caries Res, 23, 406-411.
126. Scheinin, A. & Mäkinen, K. K. (1977). *Turku-Zuckerstudien*. Dtsch Zahnärztl Z, 32.
127. Schiffner, U. (2001). *Grundlagen der Fluoridanwendung*. Oralprophylaxe, 23, 23-26.
128. Schour, I. & Hoffman, M. M. (1939). *Studies in Tooth Development: I. the 16 Microns Calcification Rhythm in the Enamel and Dentin from Fish to Man*. J Dent Res, 18, 91-102.
129. Schröder, H. E. (1991). *Pathobiologie oraler Strukturen: Zähne, Pulpa, Parodont* (2.Auflage). Basel: Karger.
130. Schröder, H. E. (2000). *Orale Strukturbiologie* (5.Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
131. Shen, P., Cai, F., Nowicki, A., Vincent, J. & Reynolds, E. C. (2001). *Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate*. J Dent Res, 80, 2066-2070.
132. Silverstone, L. M. (1973). *Structure of Carious Enamel, Including the Early Lesion In Oral Sciences Reviews: Dental Enamel - Development, Structure and Caries*. ed. A. H. Melcher, Zarb, G.A. (3.Auflage). Copenhagen: Munksgaard.
133. Socransky, S. S., Manganiello, A. D., Propas, D., Oram, V. & van Houte, J. (1977). *Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque*. J Periodontal Res, 12, 90-106.
134. Spierings, T. A., Peters, M. C. & Plasschaert, A. J. (1985). *Thermal trauma to teeth*. Endod Dent Traumatol, 1, 123-129.
135. Stephen, K. W. (1993). *Dentifrices: recent clinical findings and implications for use*. Int Dent J, 43, 549-553.
136. Stephen, K. W., Damato, F. A. & Strang, R. (1992). *An in situ enamel section model for assessment of enamel re/demineralization potential*. J Dent Res, 71 Spec No, 856-859.
137. Streckfuss, J. L., Perkins, D., Horton, I. M., Brown, L. R., Dreizen, S. & Graves, L. (1980). *Fluoride resistance and adherence of selected strains of Streptococcus mutans to smooth surfaces after exposure to fluoride*. J Dent Res, 59, 151-158.
138. Strübig, W. (1989). *Geschichte der Zahnheilkunde*. Köln: Dt. Ärzte-Verlag.
139. Szöke, J. & Kozma, M. (1989). *Ergebnisse einer dreijährigen Untersuchung über Zähneputzen mit einem Aminfluorid Gel*. Oralprophylaxe, 11, 137-143.
140. Taylor, D. M., Fraser, H., McConnell, I., Brown, D. A., Brown, K. L., Lamza, K. A. & Smith, G. R. (1994). *Decontamination studies with the agents of bovine spongiform encephalopathy and scrapie*. Arch Virol, 139, 313-326.
141. ten Cate, J. M. (1999). *Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride*. Acta Odontol Scand, 57, 325-329.

142. ten Cate, J. M., Dundon, K. A., Vernon, P. G., Damato, F. A., Huntington, E., Exterkate, R. A., Wefel, J. S., Jordan, T., Stephen, K. W. & Roberts, A. J. (1996). *Preparation and measurement of artificial enamel lesions, a four-laboratory ring test*. Caries Res, 30, 400-407.
143. Thewlis, J. (1940). *The structure of teeth as shown by x-ray examination*. Med Res Coun Sp Rep, 238, 5-82.
144. Thylstrup, A. (1990). *Clinical evidence of the role of pre-eruptive fluoride in caries prevention*. J Dent Res, 69 Spec No, 742-750; discussion 820-743.
145. Toverud, G. (1949). *Decrease in caries frequency in Norwegian children during World War II*. J Am Dent Assoc, 39, 128-136.
146. van Rijkom, H. M., Truin, G. J. & van't Hof, M. A. (2004). *Caries-Inhibiting Effect of Professional Fluoride Gel Application in Low-Caries Children Initially Aged 4.5-6.5 Years*. Caries Res, 38, 115-123.
147. Vieira, A. E., Delbem, A. C., Sasaki, K. T., Rodrigues, E., Cury, J. A. & Cunha, R. F. (2005). *Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel*. Caries Res, 39, 514-520.
148. Vogel, G. L. (2002). *RE: Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC (2001). Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing phosphopeptide-amorphous calcium phosphate*. J Dent Res 80:2066-2070. J Dent Res, 81, 228.
149. Walker, G., Cai, F., Shen, P., Reynolds, C., Ward, B., Fone, C., Honda, S., Koganei, M., Oda, M. & Reynolds, E. (2006). *Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate*. J Dairy Res, 73, 74-78.
150. Wang, N. J. & Riordan, P. J. (1999). *Fluoride supplements and caries in a non-fluoridated child population*. Community Dent Oral Epidemiol, 27, 117-123.
151. Watson, P. S., Pontefract, H. A., Devine, D. A., Shore, R. C., Nattress, B. R., Kirkham, J. & Robinson, C. (2005). *Penetration of fluoride into natural plaque biofilms*. J Dent Res, 84, 451-455.
152. Weatherell, J. A. (1975). *Composition of dental enamel*. Br Med Bull, 31, 115-119.
153. Weatherell, J. A., Robinson, C. & Hiller, C. R. (1968a). *Distribution of carbonate in thin sections of dental enamel*. Caries Res, 2, 1-9.
154. Weatherell, J. A., Weidmann, S. M. & Eyre, D. R. (1968b). *Histological appearance and chemical composition of enamel proteins from mature human molars*. Caries Res, 2, 281-293.
155. White, D. J. (1987). *Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation*. Caries Res, 21, 228-242.
156. White, D. J. (1988). *Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries. II. Effects on subsurface lesions: F uptake, F distribution, surface hardening and remineralization*. Caries Res, 22, 27-36.
157. White, D. J. & Nancollas, G. H. (1990). *Physical and chemical considerations of the role of firmly and loosely bound fluoride in caries prevention*. J Dent Res, 69 Spec No, 587-594; discussion 634-586.
158. Whitford, G. M. (1987). *Fluoride in dental products: safety considerations*. J Dent Res, 66, 1056-1060.
159. WHO (1994). *Fluorides and oral health. Report of a WHO Expert Committee on Oral Health Status and Fluoride Use*. World Health Organ Tech Rep Ser, 846, 1-37.
160. WHO (1996). *Guidelines for drinking-water quality (2.Auflage)*. Genf: World Health Organization.

161. Wolf, J. & Neuwirt, F. (1941). *Reparative Vorgänge an der Oberfläche natürlich und künstlich hervorgerufener Schmelzdefekte*. Dtsch. Zahn Mund und Kieferheilk, 8, 349.
162. Yengopal, V. & Mickenautsch, S. (2009). *Caries preventive effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis*. Acta Odontol Scand, 1-12.
163. Zero, D. T., Raubertas, R. F., Fu, J., Pedersen, A. M., Hayes, A. L. & Featherstone, J. D. (1992). *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, 1768-1775.
164. Zimmer, S., Jahn, K. R. & Barthel, C. R. (2003). *Recommendations for the use of fluoride in caries prevention*. Oral Health Prev Dent, 1, 45-51.
165. Zimmer, S., Robke, F. J. & Roulet, J. F. (1999). *Caries prevention with fluoride varnish in a socially deprived community*. Community Dent Oral Epidemiol, 27, 103-108.

DANKSAGUNG

Zunächst möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Univ.-Prof. Dr. Stefan Zimmer, für die Überlassung des interessanten Promotionsthemas und die engagierte und freundschaftliche Betreuung herzlich bedanken.

Ich danke Herrn PD Dr. Dr. Jörg Handschel für die bereitwillige Übernahme der Zweitkorrektur. Ebenfalls danke ich Prof. Dr. Hugger, der als 3. Prüfer fungierte.

Danke an das Zahntechniker-Team der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Heinrich-Heine-Universität für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes und die nette Stimmung bei der Arbeit und an Frau Hartig vom Labor für die Hilfe bei der Herstellung des Demineralisationsbades.

Weiterhin geht mein Dank nach Freiburg an Dr. Altenburger, Frau Hess und das Team vom Fotolabor der Universitätszahnklinik Freiburg für die Einweisung in die transversale Mikroradiographie sowie an Frau Dölle für die Beherbergung während dieser Zeit.

Danke an Frau Dr. Mai-Trinh Winterfeld, die mir mit praktischen Ratschlägen bei der Durchführung der Studie zur Seite stand.

Weiterhin möchte ich mich bei Dr. Partenheimer und der Praxis Prof. Dr. Dr. Fritzemeier, Dr. Dr. Biermann, Dr. Dr. Stroink, Dr. Dr. Clasen und Dr. Dr. Schmitt für das Sammeln der Weisheitszähne sowie bei Prof. Dr. Däubener vom Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene für die Hilfe bei der Sterilisation der Proben bedanken.

Danke an meinen Chef, Dr. Willebrand, für die Freistellung in den finalen Zügen dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank geht an meinen Freund Marcel für die Motivation und nötige Energie, um diese Arbeit zu Ende zu bringen sowie die unermüdliche Hilfe im Kampf mit MS Office. Weiterhin danke ich meiner Familie, insbesondere meinen Eltern und Schwestern, und meinen Freunden für die moralische Unterstützung, das Korrekturlesen und die nötige Ablenkung.

Zum Schluss noch Danke an alle, die auf ihre Weise zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.