

Aus der Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie  
(Direktor: Prof. Dr. C. Dörfer)  
Universitätsklinikum Schleswig Holstein, Campus Kiel  
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Wirksamkeit einer CPP-ACP-haltigen Creme im Vergleich zur verlängerten  
Retention von NaF-Zahnpasta *in situ***

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der  
Würde eines Doktors der Zahnheilkunde  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Timo Schellwien**

aus Kiel

Kiel 2011

1. Berichterstatter: PD Dr. Meyer-Lückel, Klinik für Zahnerhaltungskunde

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Wenz, Klinik für Zahnärztliche Prothetik

Tag der mündlichen Prüfung: 18.06.2012

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 10.04.2012

gez.: Prof. Dr. Dr. I. Cascorbi

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	1
2. Literaturübersicht .....	3
2.1. Gesunder Zahnschmelz .....	3
2.1.1. Chemische Zusammensetzung.....	3
2.1.2. Mikroskopischer und makroskopischer Aufbau.....	4
2.2. Karies .....	5
2.2.1. Histologie der Schmelzkaries.....	7
2.2.2. Aspekte zur Epidemiologie.....	8
2.3. Prävention und Therapiemöglichkeiten der Karies .....	8
2.4. Fluoride .....	9
2.4.1. Wirkungsweise der Fluoride.....	10
2.4.2. Fluoridierungsmöglichkeiten .....	11
2.5. Alternative Ansätze zur Remineralisation .....	13
2.5.1. Kalzium und Phosphat .....	13
2.5.2. Casein.....	14
2.5.3. Recaldent™ .....	15
3. Ziel der Studie .....	19
4. Material und Methode .....	20
4.1. Schmelzproben.....	20
4.1.1. Gewinnung der Rinderzähne .....	20
4.1.2. Vorbereitung der Schmelzproben .....	20
4.1.3. Sterilisation .....	21
4.1.4. Erzeugung von künstlichen Initialläsionen <i>in vitro</i> .....	21
4.2. Probanden.....	23
4.2.1. Voruntersuchung der Probanden .....	24
4.2.2. Aufklärung und Votum der Ethikkommission.....	24
4.2.3. Instruktion .....	24
4.2.4. Führen eines Ernährungsprotokolls .....	25
4.3. In-situ-Apparaturen.....	25
4.3.1. Herstellung der Apparaturen .....	25
4.3.2. Glatflächenmodell .....	27

4.3.3.	Approximalmodell .....	27
4.4.	Testprodukt, Positiv- und Negativkontrolle .....	28
4.5.	Randomisierung und Verblindung .....	29
4.6.	In-situ-Exposition .....	29
4.7.	Herstellung von Dünnschliffen .....	31
4.8.	Mikroradiographische Auswertung (TMR) .....	33
4.9.	Auswertung der gewonnenen Bilder .....	33
4.10.	Statistische Auswertung .....	36
5.	Ergebnisse .....	37
5.1.	Allgemeine Ergebnisse .....	37
5.2.	Quantitative Ergebnisse .....	38
5.2.1.	Ergebnisse des Bukkalmodells .....	41
5.2.2.	Ergebnisse des Approximalmodells .....	45
5.3.	Qualitative Ergebnisse .....	49
5.3.1.	Bukkalmodell .....	49
5.3.2.	Approximalmodell .....	51
6.	Diskussion .....	54
6.1.	Material und Methode .....	54
6.2.	Ergebnisse .....	58
7.	Schlussfolgerungen .....	64
8.	Zusammenfassung .....	65
9.	Summary .....	66
10.	Literaturverzeichnis .....	67
11.	Anhang .....	72
11.1.	Materialliste .....	72
11.2.	Ernährungsprotokoll .....	74
11.3.	Votum der Ethik-Kommission .....	75
11.4.	Publikationen der vorliegenden Arbeit .....	76
11.5.	Danksagung .....	77
11.6.	Eidesstattliche Versicherung .....	78
11.7.	Lebenslauf .....	79

## 1. Einleitung

Unter dem Begriff Karies werden Veränderungen von Schmelz und Dentin, die aufgrund eines Ungleichgewichtes der Homöostase von Biofilm und Zahnhartsubstanz entstehen, subsumiert. Die hieraus resultierende Demineralisation wird von lokalen und anderen Ko-Faktoren beeinflusst (FEATHERSTONE 2000). Die Therapie der Volkskrankheit Zahnkaries hat sich, nicht zuletzt aufgrund des besseren Verständnisses des Kariesprozesses, in den vergangenen Jahrzehnten stark gewandelt. Man geht davon aus, dass durch alleinige non-invasive Maßnahmen, wie eine effektive Mundhygiene, regelmäßige Fluoridierungen und eine zahngesunde Ernährung das Auftreten von kariösen Läsionen prinzipiell verhindert werden kann (KIDD & FEJERSKOV 2008). Durch die Applikation vor allem von Fluoriden können nicht-kavitierte kariöse Läsionen zumindest oberflächlich remineralisiert werden. Die Löslichkeit der entstehenden Kalziumphosphatverbindungen scheint sogar leicht verringert im Vergleich zum gesunden Schmelz (TEN CATE & FEATHERSTONE 1991).

Die vierte deutsche Mundgesundheitsstudie von 2006 zeigte gegenüber den Erhebungen von 1997 einen Rückgang der Kariesprävalenz in allen Altersgruppen auf. Es ist aber davon auszugehen, dass Kindern und Jugendliche nach wie vor eine Vielzahl von Initialläsionen, die in diesen Studien nicht erfasst wurden, aufweisen. Darüber hinaus hat sich die Kariespolarisation sogar weiter verstärkt, denn 10 % der Kinder vereinigen 61 % der Karieserfahrung ihrer Altersgruppe auf sich (MICHEELIS 2006). Da die derzeitigen non-invasiven Maßnahmen folglich nicht in allen Bevölkerungsgruppen ausreichend zu sein scheinen, könnte die Anwendung zusätzlicher remineralisationsfördernder Mittel sinnvoll sein (FEATHERSTONE 2009). Ein relativ neuer Ansatz zur Remineralisation früher Stadien der Karies ist die Anwendung von Präparaten, die Caseinphosphopeptid (CPP) enthalten. Durch dieses Protein soll amorphes Kalziumphosphat (ACP) in hohen Konzentrationen in Lösung gehalten werden, wodurch vermehrt Kalzium- und Phosphationen zur Remineralisation auch tieferer Läsionsbereiche zur Verfügung stehen. Diese Wirkstoffkombination soll demnach über eine erhöhte Bioverfügbarkeit dieser Ionen remineralisierend wirken (REYNOLDS 1997). In-situ-Studien der Entwicklergruppe konnten eine Remineralisationsteigerung bei der Verwendung von CPP-ACP-haltigen im Vergleich zu gewöhnlichen Kaugummis aufzeigen (SHEN et al. 2001, IJIMA et al. 2004). In-situ-Studien anderer Arbeitsgruppen konnten diesen

zusätzlichen Nutzen jedoch nicht bestätigen (ITTHAGARUN et al. 2005, SCHIRRMEISTER et al. 2007). Zur Wirksamkeit von CPP-ACP in Pastenform (Handelsname Tooth Mousse) liegen bisher nur wenige Studien mit widersprüchlichen Ergebnissen vor. Einige In-vitro-Studien zeigten einen protektiven Effekt vor Demineralisation (OSHIRO et al. 2007, POGGIO et al. 2009). Allerdings war dieser beobachtete Effekt in einer anderen Studie weniger ausgeprägt als bei der Verwendung von herkömmlicher fluoridierter Zahnpasta (REHDER NETO et al. 2009). Eine klinische Studie zur Remineralisation von ‚White-Spots‘ nach kieferorthopädischer Behandlung konnte eine erhöhte Anzahl an ‚Regressionen‘ unter Verwendung von Tooth Mousse ohne Fluorid gegenüber einer Placebomousse zeigen (BAILEY et al. 2009). Wiederum zeigte eine andere klinische Studie zu kieferorthopädisch bedingten kariösen Läsionen (‚White-Spots‘) keine Überlegenheit von CPP-ACP ohne Fluorid gegenüber fluoridierter Zahnpasta (BROCHNER et al. 2010).

Hinsichtlich der Auswirkungen der Benutzung von Tooth Mousse mit oder ohne Fluorid auf plaqueretentive Zahnflächen gibt es allerdings keine hinreichenden Daten aus In-situ- oder klinischen Studien. Deshalb war es das Ziel dieser doppelblinden, randomisierten Kreuzstudie, das Remineralisationspotential von Tooth Mousse (ohne Fluorid) im Vergleich zur prolongierten Applikation von regulärer fluoridhaltiger Zahnpasta mit Hilfe von zwei verschiedenen In-situ-Modellen zu untersuchen.

## 2. Literaturübersicht

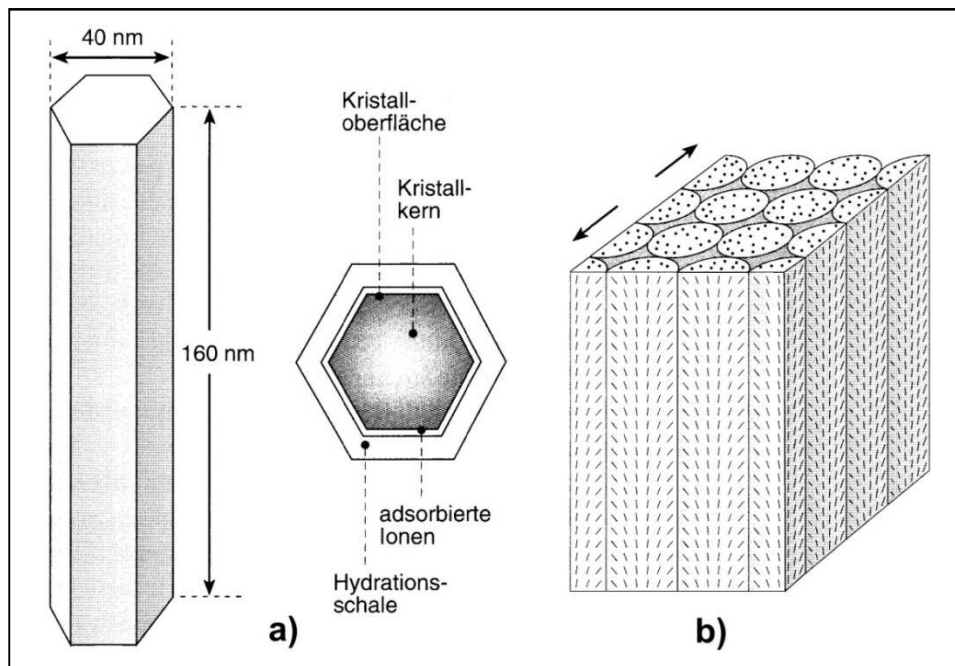
### 2.1. Gesunder Zahnschmelz

#### 2.1.1. Chemische Zusammensetzung

Ausgereifter Zahnschmelz ist die härteste Substanz des menschlichen Körpers. Der Schmelz bedeckt koronal das elastische Dentin, welches die Hauptmasse des Zahnes bildet. Seine Härte, die durch den hohen Anteil an anorganischen Bestandteilen (95 Gew. %) bedingt ist, liegt im Durchschnitt zwischen 250 KHN (Knoop-hardness numbers) an der Schmelz-Dentin-Grenze und 390 KHN an der Schmelzoberfläche. Die Bestandteile der anorganischen Phase sind Kalzium, Phosphor, Karbonat, Magnesium und Natrium, sowie über 40 weitere Spurenelemente. Die exakte Zusammensetzung wird durch Alter, Ernährung und zahlreiche Umweltfaktoren bestimmt. Der kristalline Aufbau ist auf die Anordnung der Hauptbestandteile Kalzium und Phosphat zurückzuführen, die in einem Verhältnis von 1:1,2 als Apatitverbindungen vorliegen (Hellwig 2006). Die Schmelzkristalle sind hierbei ähnlich wie Hydroxylapatit ( $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ ) aufgebaut. Allerdings erlauben die chemischen und strukturellen Eigenschaften der Kristalle in gewissem Maße den Austausch von Kalzium- und Phosphationen. Hierbei werden erstere vor allem durch Natrium-, Zink- oder Strontiumionen und letztere beispielsweise durch Karbonat substituiert, ohne dass der Zahnschmelz seine essentiellen Eigenschaften verliert (TEN CATE & FEATHERSTONE 1991). Bekannt ist außerdem die Bildung von Fluorapatit und fluoridiertem Hydroxylapatit, die eine stabilere Kristallgitterstruktur aufweisen, als die Reinform des Kristalls. Diese Substitutionen und ein Defizit an Kalzium-, Phosphat- und Hydroxylionen sind dafür ursächlich, dass es sich um nichtstöchiometrisch aufgebaute Apatitkristalle handelt. Den restlichen Anteil machen Wasser (bis zu 4 Gew. %) und organische Bestandteile wie Proteine und Lipide (1 Gew. %) aus (Schroeder 1992). Zahnschmelz ist nach seiner Bildung zellfrei und unterliegt auch keinen zellulären Reparaturmechanismen mehr. Dennoch demineralisierter Zahnschmelz in der Lage zu remineralisieren. Der poröse Schmelz ‚funktioniert‘ hierbei wie ein Molekularsieb bzw. Ionenaustauscher, da mit dem Flüssigkeitsstrom z.B. auch Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen hinein gelangen und inkorporiert werden (Hellwig 2006).

### 2.1.2. Mikroskopischer und makroskopischer Aufbau

Im Gegensatz zu anderen biologischen Hartgeweben wie Knochen oder Dentin enthält Zahnschmelz keine vitalen Zellen oder Zellfortsätze. Die Grundeinheit sind die stäbchenförmigen, annähernd hexagonalen Schmelzkristalle, die durchschnittlich 160 nm lang, 40-70 nm breit und 26 nm dick sind (Abb. 1). Je nach Reifegrad und Lokalisation können Form und Größe variieren. Jeweils etwa 100 Apatitkristalle liegen im Querschnitt zusammengefügt und bilden die sogenannten Schmelzprismen, die sich von der Schmelz-Dentin-Grenze bis fast zur Schmelzoberfläche erstrecken und hierbei in horizontaler und vertikaler Richtung wellenförmig verlaufen. Die aneinandergelagerten Kristalle verlaufen im Zentrum der Prismen parallel zu deren Längsachse, in der Prismenperipherie dagegen zunehmend auf gefiedert. Die Schmelzoberfläche besteht häufig aus einer 20-30 µm dicken Schicht prismenfreien Schmelzes (Hellwig 2006). Alle Kristalle besitzen eine Hülle aus adsorbierten Ionen, Lipiden, Proteinen und Wasser. Die Schmelzprismen liegen wiederum eingebettet in eine, ebenfalls aus ungeordneten Schmelzkristallen bestehende, interprismatische Substanz. Diese Zwischenräume dienen als Diffusionswege für Säuren und mineralische Bestandteile wie Fluoride (TEN CATE & FEATHERSTONE 1991).



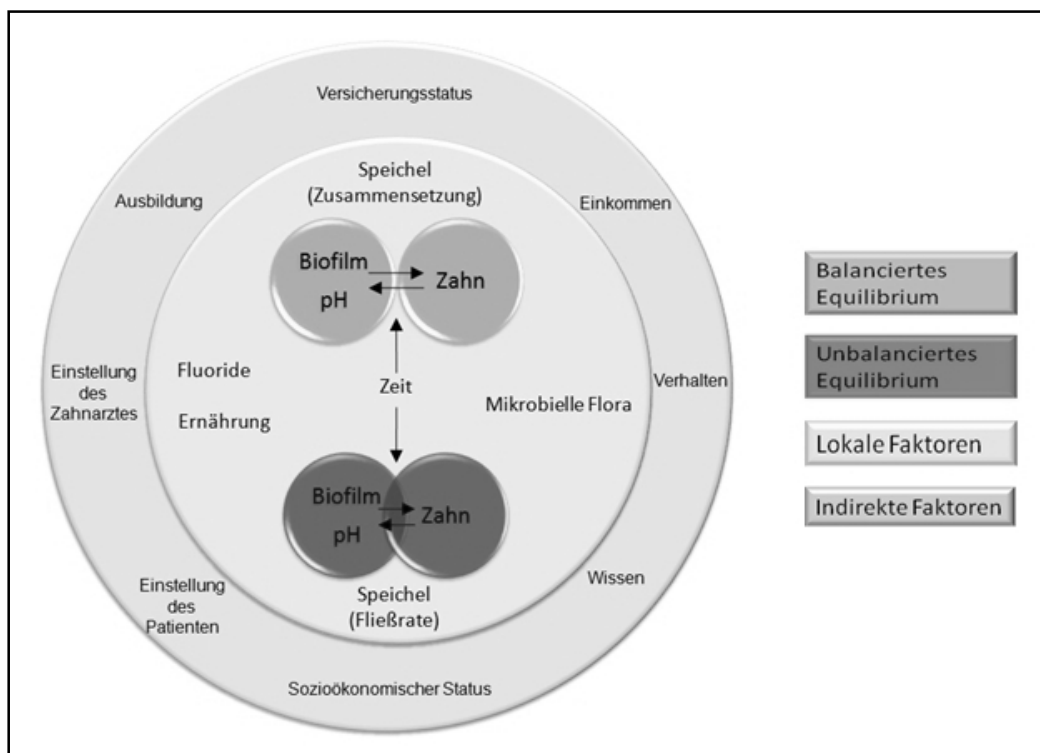
**Abb. 1: a)** Schematische Darstellung eines Hydroxylapatitkristalls (Nikifurok 1985)

**b)** Ausrichtung der Schmelzkristalle innerhalb der Schmelzprismen (Hellwig 2006)



## 2.2. Karies

Unter dem Begriff Karies wird in der Bevölkerung eine fortgeschrittene, bereits kavitierte Läsion verstanden, das sogenannte ‚Loch‘. Diese Betrachtungsweise ist sicherlich nur unvollständig, da sich der Begriff ‚Karies‘ sowohl auf den Prozess der Kariesentstehung bezieht, als auch auf die tatsächliche Erscheinung und die Symptome der kariösen Läsion selbst, die das Resultat dieses fortschreitenden Prozesses darstellt (KIDD & FEJERSKOV 2004). Die durch diesen Prozess hervorgerufenen symptomatischen Veränderungen der Zahnhartsubstanzen reichen hierbei von submikroskopischen Störungen im Kristallgitter, über erste klinisch sichtbare Veränderungen, bis hin zu offenen Kavitäten (Hellwig 2006). Die auch heute noch in ihren Grundzügen akzeptierte Theorie der chemoparasitären Ätiologie geht auf MILLER zurück (Miller 1889). Diese Theorie wurde später fortlaufend erweitert, so dass man heutzutage von einem multikausalen Geschehen ausgeht. Als die vier wichtigsten Faktoren für die Kariesentstehung beschreibt KÖNIG das Vorhandensein von Zahnhartsubstanz (Wirt), kariogenen Mikroorganismen, Substrat und Zeit (Koenig 1987). In einem nochmals erweiterten Modell (Abb. 2) werden diese essentiellen Faktoren zu diversen Ko-Faktoren in Bezug gesetzt.



**Abb. 2:** Determinanten des Kariesprozesses nach FEJERSKOV & MANJI (FEJERSKOV 1990)

Dieses komplexere Modell illustriert zum einen wie das Gleichgewicht zwischen Demineralisation und Remineralisation gestört, zum anderen aber auch wiederhergestellt werden kann. Außerdem gibt es darüber Aufschluss, worauf die interindividuellen Unterschiede bei der Kariesprogression beruhen können und an welchen Punkten ein wirkungsvolle Prophylaxe angreifen kann.

Wie viele andere Erkrankungen kann auch die Karies durch Phasen der Progression, Stagnation und Regression gekennzeichnet sein (Hellwig 2006). Häufig überwiegt jedoch auf lange Sicht die Progression. Nach der Besiedlung des erworbenen Pellikels (JENSEN et al. 1992) durch sogenannte Erstbesiedler beginnt der Prozess der Kariesbildung mit der Bildung eines Biofilms auf der Zahnoberfläche aus verschiedenen Mikroorganismen der Mundflora. In der Folge fermentieren azidogene Plaquebakterien insbesondere niedermolekulare Kohlenhydrate und bilden organische Säuren. Milchsäure und andere diffundieren in die Zahnhartsubstanz und lösen Ionen aus dem Kristallgitter, welche wiederum aus dem Zahn heraus diffundieren (Featherstone 2000). Für Zahnschmelz gilt, dass dieser Prozess solange anhält, bis der pH-Wert im Biofilm wieder über den kritischen Bereich von 5,2-5,7 steigt. Prinzipiell ist dieser Prozess bei nicht kavitierten Läsionen reversibel. Die Remineralisation durch Kalzium und Phosphat, verstärkt durch Fluoride, basiert ebenfalls auf Diffusion. An den verbliebenen Kristalloberflächen lagert sich neue Zahnhartsubstanz ab, die über eine relativ hohe Säureresistenz verfügt. Der Prozess von Demineralisation und Remineralisation findet generell mehrmals am Tag statt (Featherstone 2004). Überwiegt die Progression und die Karies erreicht das Dentin, nimmt die Wahrscheinlichkeit für eine Kavitation der Läsion zu. Dies ist klinisch ein wichtiger Moment, denn in der Folge wird der Prozess schneller voranschreiten, da dieser Bereich i.d.R. vom Patienten nicht mehr zu reinigen ist. Zusätzlich zur Demineralisation der Zahnhartsubstanz kommt es hierbei dann zur bakteriellen Invasion und zum enzymatischen Abbau des Kollagens (KIDD & FEJERSKOV 2004).

### 2.2.1. Histologie der Schmelzkaries

Eine frühe kariöse Läsion stellt sich klinisch häufig als weißlicher, opaker Schmelzleck („White spot“) dar. Eine Lufttrocknung dieser Stelle verstärkt den Effekt (ARENDS & CHRISTOFFERSEN 1986). Die Kontinuität der Oberfläche ist erhalten, kann aber leicht aufgeraut erscheinen. An Schmelzdünnschliffen lassen sich im polarisationsmikroskopischen Bild vier Zonen differenzieren (Silverstone 1973). Die innerste ist die transluzente Zone, die die Zone der fortschreitenden Demineralisation darstellt. Das Porenvolumen ist hier mit 1 % noch relativ gering. Die im polarisationsoptischen Bild dunkle Zone besitzt bereits ein Porenvolumen von 2 - 4 %, wobei die einzelnen Poren aufgrund von Remineralisationserscheinungen kleiner sind (Hellwig 2006). Nach außen hin, noch unter der Oberfläche liegt der Läsionskörper, die Zone des höchsten Mineralverlustes. Dieser beträgt 10 - 70 % und das Porenvolumen zwischen 5 und 25 %. Die Oberflächenschicht dagegen erscheint im mikroskopischen Bild intakt, weist aber dennoch einen gewissen Mineralverlust von 1-10 % auf (ARENDS & CHRISTOFFERSEN 1986, HELLWIG 2006). Daher wird diese auch als „pseudointakte Oberflächenschicht“ bezeichnet. Bereits in zahlreichen In-vitro-Studien konnten künstliche Läsionen mit den oben genannten Charakteristiken erzeugt werden (FEATHERSTONE et al. 1978). Anhand von In-vivo-Studien konnte darüber hinaus an Zähnen, die für die Extraktion aus kieferorthopädischen Gründen vorgesehen waren, gezeigt werden, dass „White Spots“ nicht nur durch gezielte Plaqueanlagerung provoziert, sondern nach Entfernung des Biofilms auch remineralisiert werden können (KIDD & FEJERSKOV 2004). Mit anderen Worten: klinisch aktive Läsionen können also durch regelmäßige Entfernung des Biofilms arretiert werden und eventuell kann es sogar zu einer vollständigen Regression kommen.

### 2.2.2. Aspekte zur Epidemiologie

In den westlichen Industrienationen ist die Kariesprävalenz und -erfahrung bei Kindern und Jugendlichen in den letzten Jahrzehnten erheblich gesunken. In Deutschland ist nach der Vierten Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS IV) bei 12-Jährigen ein Rückgang des international gebräuchlichen DMFT-Index von 4,1 (1989) auf 0,7 im Jahre 2006 zu beobachten (Micheelis 2006).

**DMFT-Index:** kariöse/decayed (D), fehlende/missing (M), gefüllte/filled (F) Zähne/teeth (T)

Für den erneuten Rückgang gegenüber der letzten Untersuchung 1997 wurde in der DMS IV die Zunahme von zahnärztlichen Kontrolluntersuchungen und Fissurenversiegelungen als hauptursächlich angesehen. 70 % der Kinder und 46 % der Jugendlichen haben mittlerweile ein ‚kariesfreies‘ Gebiss, d.h. es konnten in epidemiologischen Untersuchungen keine Dentinläsionen beobachtet werden. Erstmals konnte 2006 auch ein dezenter Rückgang der Karieserfahrung bei Erwachsenen und Senioren verzeichnet werden. Als ‚Karies‘ werden aber bei der Ermittlung des DMFT-Indexes lediglich klinisch diagnostizierbare Dentinläsionen (so genannter D3-Level) gezählt. Schmelzläsionen (D1-Level), wie oben beschrieben, werden nicht erfasst. Ein weiteres Ergebnis der DMS IV ist allerdings auch, dass die positiven Entwicklungen zwar alle sozialen Schichten betreffen, sich die Polarisierung im Vergleich zu 1997 jedoch weiter verstärkt hat. Bei den Jugendlichen vereinen beispielsweise 27 % der Untersuchten 79 % der Karieserfahrung auf sich (Micheelis 2006).

### 2.3. Prävention und Therapiemöglichkeiten der Karies

Die essentielle Voraussetzung für die Entstehung von kariösen Veränderungen der Zahnhartsubstanzen ist, wie in Abschnitt 2.2. beschrieben, der Biofilm. Präventive Bemühungen sollten folglich in erster Linie auf die Entfernung bzw. Modifikation des Biofilms zielen. Der Biofilm gilt allerdings als ein ubiquitär und schnell in der Mundhöhle auftretendes Phänomen (FEJERSKOV & KIDD 2008). Somit erscheint eine dauerhaft vollständige Plaqueentfernung als unwahrscheinlich. Neben der häuslichen Mundhygiene gelten daher Ernährungsberatung und Fluoridapplikation als die wichtigsten Maßnahmen zur Primärprävention. Hierdurch sollen Neuerkrankungen verhindert werden (Hellwig 2006), oder aber zumindest durch Förderung der

Remineralisation invasive Maßnahmen auf einen späteren Zeitpunkt verschoben werden (FEJERSKOV & KIDD 2008). Primärprävention kann als Kollektiv-, Gruppen- oder Individualprophylaxe erfolgen.

Sekundärpräventive Maßnahmen wie die Fissurenversiegelung, die Kariesinfiltration und die gezielte Applikation von Fluoridlacken zielen darauf ab, vorhandene Schäden früh und weitgehend non-invasiv zu behandeln. Die Beseitigung von Kariesprädispositionsstellen und die Überführung von aktiven in inaktive Läsionen sind somit Aufgaben der Sekundärprävention. Voraussetzung ist hierfür eine adäquate Diagnostik.

Da der Remineralisation zumindest bei kavitierten Läsionen Grenzen gesetzt sind, wird auf tertiärer Präventionsebene schadensgerecht, d.h. minimal-invasiv behandelt (Hellwig 2006). Restaurationen haben neben der funktionalen Aufgabe, die Eigenschaft das Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern. Darüber hinaus hat der Patient nun wieder die Möglichkeit die entsprechende Zahnfläche adäquat zu reinigen.

## **2.4. Fluoride**

Bereits vor ca. 100 Jahren stellten BLACK und MCKAY, fest, dass ein Trinkwasserfluoridgehalt von ca. 1 ppm eine kariesprophylaktische Wirkung besitzt (Hellwig 2006). Auch für die Reduktion der Kariesprävalenz in den letzten 30 Jahren wird die breite Verfügbarkeit von fluoridierten Zahnpasten, Mundspüllösungen und Gelen als hauptverantwortlich angesehen. Heute weiß man, dass Kariesprogression oder -regression davon abhängen, in welchem Verhältnis protektive und pathologische Faktoren zueinander stehen (siehe Abb. 2). Praktisch bedeutet dies, dass Patient und Zahnarzt dafür sorgen müssen, dass die Summe der protektiven Faktoren überwiegt (Featherstone 2000). Neben der mechanischen Biofilmentfernung, die aus verschiedenen Gründen nicht immer und überall gleich gut möglich ist, haben Fluoride eine Schlüsselstellung inne. Nach aktuellem Stand der Wissenschaft beruhen ihre Wirkungen hauptsächlich auf drei lokalen Mechanismen. Die Verhinderung bzw. Verlangsamung der Demineralisation und die Förderung der Remineralisation durch Fluoride wurden in zahlreichen Studien und Reviews belegt und werden im Folgenden noch näher erläutert (TEN CATE & FEATHERSTONE 1991, FEATHERSTONE 2000, CURY & TENUTA 2009). Umstrittener ist der dritte Mechanismus,

die Inhibition des Metabolismus oraler Bakterien. Die wichtigste Wirkung soll hierbei auf der Bildung von Flusssäure und deren Diffusion in die Zellen beruhen, wodurch dann bakterielle Enzyme inhibiert werden (Van Loveren 1990). Andere Autoren schreiben diesem Anteil an der Effektivität von Fluoriden allerdings die geringste Bedeutung zu, da der beschriebene Mechanismus erst bei, für die praktische Anwendung unverhältnismäßigen, hohen Dosierungen zum Tragen kommt (ten Cate 1999).

#### **2.4.1. Wirkungsweise der Fluoride**

Während sich die tatsächliche klinische Effizienz von Produkten zur Kariesprävention am besten in epidemiologischen Untersuchungen und In-vivo-Studien nachweisen lässt, sind Studien *in situ* sehr gut geeignet, um beispielsweise kleinere Veränderungen der Rezeptur zu testen. Die Wirksamkeit von verschiedensten fluoridhaltigen Präparaten war bereits Gegenstand von In-situ-Studien (Faller 1995). Eine Erkenntnis aus diesen Studien ist, dass bei Fluoriden eine Dosis-Wirkungs-Beziehung besteht (MELLBERG et al. 1992). Allerdings wurde auch gezeigt, dass ab einer bestimmten Dosis keine weitere Steigerung der Wirksamkeit hinsichtlich der Remineralisation möglich zu sein scheint. Auch die Frage nach einer optimalen Fluoridkonzentration für diesen Prozess kann zumindest derzeit nicht beantwortet werden (HELLWIG & LUSSI 2001). In-vitro-Experimente reflektieren die physiologische Situation nur unzureichend. Dennoch können manche chemische Reaktionsmechanismen nur auf diese Weise im Detail geklärt werden. So wurde beispielsweise in Modellen mit zyklischem pH-Verlauf, welcher das Wechselspiel von Demineralisation durch mikrobiogene Säuren und Remineralisation durch Speichelbestandteile widerspiegeln soll, gezeigt, dass bereits Fluoridkonzentrationen von unter 1 ppm einen stark antikariogenen Effekt haben können (ten Cate 1999). Die Ergebnisse einer anderen In-vitro-Studie deuten an, dass für die Verhinderung der Demineralisation von gesundem Zahnschmelz deutlich geringere Konzentrationen nötig sind, als bei bereits vorhandenen Läsionen (YAMAZAKI et al. 2007).

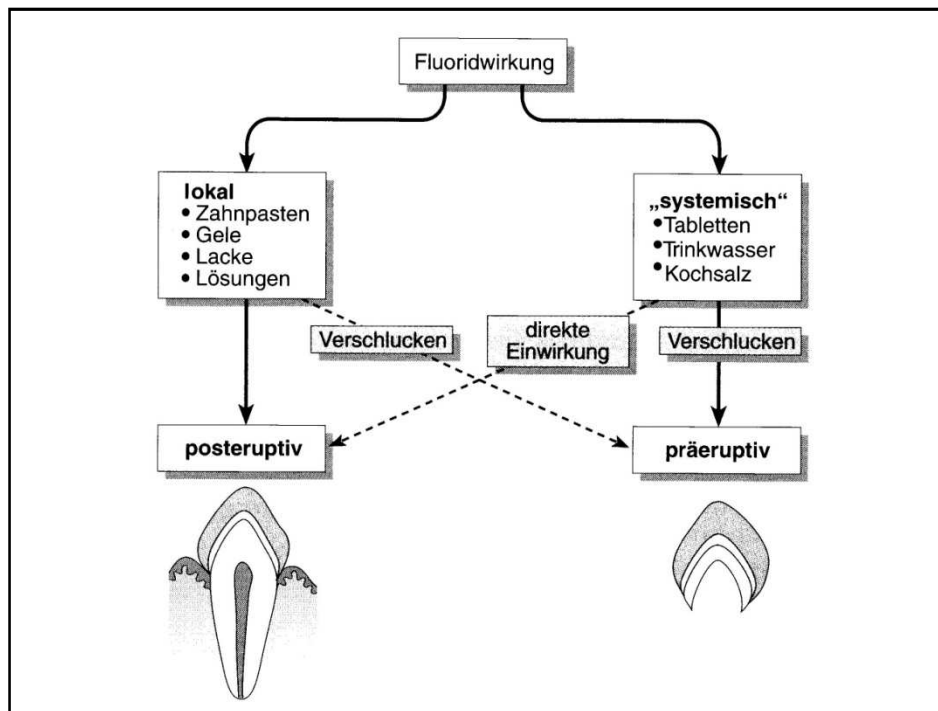
Während früher das Dogma bestand, dass der wichtigste Mechanismus die präeruptive Bildung von Fluorapatit sei, herrscht heute in der Zahnmedizin weitestgehend Konsens darüber, dass die maßgeblichen Mechanismen erst

posteruptiv zum Tragen kommen (HELLWIG & LENNON 2004, CURY & TENUTA 2009). Dafür spricht auch, dass der Fluoridgehalt im äußeren Schmelzbereich am höchsten ist (Hellwig 2006). Die Beeinflussung von Remineralisation und Demineralisation kommt im Detail durch mehrere Effekte zustande. Entscheidend ist, dass die Säureresistenz von Fluorapatit (FA,  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2]$ ) größer und das Löslichkeitsprodukt kleiner ist, als bei Hydroxylapatit (HA). Das bedeutet, dass im pH-Bereich unterhalb von 5,7, wenn HA zu dissoziieren beginnt, gleichzeitig FA gebildet werden kann. Dieser pH-Abfall ist während und kurz nach der Kohlenhydratzufuhr gegeben. Ist zu diesem Zeitpunkt ausreichend Fluorid vorhanden, kommt es zusammen mit Kalzium und Phosphat zur Präzipitatbildung bzw. Mineralneubildung aufgrund des geringeren Löslichkeitsproduktes von FA. Die partiell demineralisierten Kristalloberflächen wirken als Reaktionszentren. Somit ist die Fluoridkonzentration im Speichel neben dem bereits inkorporierten Anteil von großer Wichtigkeit. Ist der pH-Abfall allerdings so stark, dass die Lösung auch in Bezug auf FA untersättigt ist kommt es zur Erosion. Neu gebildetes Mineral unter Fluorideinfluss, also unter Bildung von FA und fluoridiertem HA, ist jedoch sogar säurestabiler als die ursprüngliche Zahnhartsubstanz (TEN CATE & FEATHERSTONE 1991, TEN CATE 1999). Vielleicht noch ausschlaggebender für die antikariogene Wirkung als die ‚primäre‘ Bildung von Fluorapatit ist die Formierung von Kalziumfluorid ( $\text{CaF}_2$ ). Dieses entsteht insbesondere unter Einwirkung sehr hoher Fluoridkonzentrationen und kann eine Schicht auf der Zahnoberfläche bilden oder aber in hoher Konzentration im Biofilm angereichert werden. Kalziumfluorid kann dann als ein Reservoir dienen, dass über einen längeren Zeitraum pH-abhängig Fluoride abgibt. Auf diese Art und Weise wird die weitere Demineralisation verlangsamt, sowie die Remineralisation gefördert. Auch die ‚sekundäre‘ Bildung von Fluorapatit aus  $\text{CaF}_2$  ist denkbar (Ogaard 2001). Dieser letztere Effekt ist maßgeblich für die Wirkung von hoch konzentrierten Fluoridpräparaten (HELLWIG & LUSSI 2001), da nachgewiesen wurde, dass die Fluoridkonzentration im Speichel schon eine halbe Stunde nach Applikation wieder um mehrere Zehnerpotenzen abgesunken ist (ten Cate 1999).

#### **2.4.2. Fluoridierungsmöglichkeiten**

Fluoridquellen können danach unterschieden werden, ob sie kollektiv wirksam sind (Wasser, Salz), selbst appliziert werden (Zahnpasta, Mundspülung, Gel, Tabletten)

oder professionell appliziert werden (Lack, Gel) (ELLWOOD et al. 2008). Außerdem muss differenziert werden, ob diese primär lokal oder eher systemisch wirksam sind (Abb. 3). Einige Autoren fordern, dass die systemische Zufuhr auf ein Präparat beschränkt werden sollte, d.h. entweder fluoridiertes Salz, Trinkwasser oder Tabletten (Hellwig 2006). Die Gründe hierfür sind toxikologische Bedenken, das Fluoroserisiko und wie oben beschrieben, die eingeschränkte Wirksamkeit systemischer Fluoridierung. Fluoridtabletten bei Kleinkindern scheinen demnach nur bei Kindern mit niedriger Zahnputz-Compliance sinnvoll, auch wenn deren Effektivität generell gegeben ist (MEYER-LUECKEL et al. 2010b). Man sollte diese Tabletten lutschen und nicht verschlucken (HELLWIG & LENNON 2004).



**Abb. 3:** Möglichkeiten der Fluoridgabe und ihre Wirkung (Hellwig 2006)

Für die Mehrheit der Erwachsenen mit geringem bis mittlerem Kariesrisiko ist, neben der Benutzung von Speisesalz, die tägliche Verwendung von fluoridhaltiger Zahnpasta in Verbindung mit effektiver Mundhygiene als Fluoridierungsmaßnahme ausreichend. Der Einsatz von Mundspüllösungen, Fluoridgelen und halbjährlichen professionellen Lackapplikationen ist insbesondere bei Hochrisikoindividuen, wie dies beispielsweise Patienten mit festsitzenden kieferorthopädischen Apparaturen darstellen, sinnvoll (TEN CATE & FEATHERSTONE 1991, HELLWIG & LENNON 2004).



## 2.5. Alternative Ansätze zur Remineralisation

Wie bereits beschrieben scheinen die heutzutage erhältlichen Fluoridpräparate zumindest bei Hochrisikopatienten nicht ausreichend, um eine Kariesentwicklung nachhaltig zu verhindern (HELLWIG & LUSI 2001). Eine Studie beispielsweise, die die Effizienz von Fluoridlack bei der Kariesprävention zeigt, dokumentiert allerdings zugleich auch, dass trotz der Kombination von Fluoridlack und Zahnpasta immer noch 18% der Kinder neue Läsionen entwickelten (WEINTRAUB et al. 2006). Ein weiteres verbreitetes Problem sind die sogenannten ‚White Spots‘, die im Rahmen von kieferorthopädischen Behandlungen aufgrund der eingeschränkt möglichen Mundhygiene entstehen (BAILEY et al. 2009). Neben der intensiven Forschung an verbesserten Rezepturen oder neuen Applikationsformen im Zusammenhang mit Fluoriden fordern einige Autoren daher neue Herangehensweisen zur Remineralisation von initialen kariösen Läsionen (TEN CATE 1999, FEATHERSTONE 2009). Gelänge es innovative Methoden zur frühen Intervention, die auf dem mittlerweile deutlich verbesserten Verständnis des Kariesprozesses beruhen, zu etablieren, würde die Notwendigkeit der invasiven Behandlung deutlich weniger Patienten betreffen (Featherstone 2000).

### 2.5.1. Kalzium und Phosphat

Fluoride allein können Zahnhartsubstanzen nicht remineralisieren (Featherstone 2009). Nur zusammen mit den im Speichel befindlichen Kalzium- und Phosphationen können diese eine Remineralisation befördern. Obwohl Kalzium und Phosphate in hohen Konzentrationen vorliegen, präzipitieren aufgrund der im Speichel vorhandenen Proteine keine Kalziumphosphatverbindungen. Angesichts der essenziellen Bedeutung von Kalzium und Phosphaten im Remineralisationsprozess werden entsprechende Lösungen und Pasten schon seit einiger Zeit hinsichtlich ihrer antikariogenen Wirkung untersucht. Streng stöchiometrisch gedacht, werden für die Bildung von Fluorapatit ( $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2]$ ) für je zwei Fluoridionen auch zehn Kalzium- und sechs Phosphationen benötigt. Gegebenenfalls kann somit die Verfügbarkeit dieser Ionen der limitierende Faktor bei der Remineralisation sein (Reynolds 2009). Auch die Inhibition der Demineralisation durch Fluoride scheint abhängig von der Kalzium-Phosphat-Konzentration zu sein. Ein detailliertes Review über diese Mechanismen (TEN CATE & FEATHERSTONE 1991) fasst die Ergebnisse mehrerer In-

vitro-Studien zusammen. Hiernach besteht eine inverse Korrelation zwischen der Fluorid- und der Kalziumphosphatkonzentration hinsichtlich der Inhibition der Demineralisation. Die höchste Fluoridkonzentration wird demnach benötigt, wenn die Lösung ansonsten ionenfrei ist. Der inhibierende Effekt kann folglich erst zustande kommen, wenn genügend Kalzium und Phosphat aus den Zahnproben herausgelöst worden ist. Auch anhand von Experimenten zur Erosivität von sauren Getränken konnte gezeigt werden, dass eine im Hinblick auf Kalzium und Phosphat gesättigte Lösung auch bei niedrigem pH kaum zur Auflösung von Zahnhartsubstanz führt (LARSEN & NYVAD 1999). Weitere Hinweise auf das Potential von Kalzium-Phosphat-Verbindungen liefern Studien zur Kariesprotektion durch Milch. Trotz des Milchzuckers wirkt Milch über verschiedene Mechanismen antikariogen. In ihrer Gegenwart sinkt die Löslichkeit des Zahnschmelzes, da Milch eine in Bezug auf die Kalziumphosphate Brushit und amorphes Kalziumphosphat übersättigte Lösung darstellt. Diese können im weiteren Remineralisationsverlauf zu Hydroxylapatit kristallisieren (NEUHAUS & LUSSI 2009).

### 2.5.2. Casein

Die antikariogene Wirksamkeit von Milch bzw. Milchprodukten wird aber nicht nur dem beschriebenen Mineralgehalt, sondern auch verschiedenen Milchproteinen zugeschrieben (GRENBY et al. 2001). Eine Untersuchung zur Wirksamkeit von Lösungen mit hoch konzentrierten, wasserlöslichen Käseextrakten und anschließender Zuckereexposition *in situ*, zeigte, dass die Mikrohärtigkeit signifikant höher war als in der Kontrollgruppe (SILVA et al. 1987). Eine mögliche Erklärung für das Ergebnis lieferte die erhöhte Kalzium- und in geringerem Maß erhöhte Phosphatkonzentration in der Plaque der experimentell behandelten Seite. Schon Jahrzehnte zuvor wurde für das Milchprotein Casein im Tierversuch eine antikariogene Wirksamkeit nachgewiesen. Allerdings blieb der praktische Nutzen zunächst fraglich, da Casein in Milch und Milchprodukten nicht in entsprechend hoher Konzentration vorliegt (NEUHAUS & LUSSI 2009). Des Weiteren handelt es sich im Detail um ein Gemisch verschiedener Caseinsubtypen, die sich in ihren chemischen Eigenschaften unterscheiden. So weisen einige Caseine wie  $\alpha_{s1}$ -Casein,  $\beta$ -Casein und  $\kappa$ -Casein eine starke Bindungsaffinität zu Hydroxylapatit auf und setzen die Löslichkeit herab. Entscheidend sind hierbei die Fähigkeit zur Pufferung

von Säuren und die Bindungskapazität bestimmter Caseinate für Kalzium und Phosphat (NEUHAUS & LUSSI 2009). Darüber hinaus konnte für  $\kappa$ -Casein *in vitro* eine Verringerung der Adhärenz von *Streptococcus mutans*, der als einer der Leitkeime der Karies gilt, zu speichelbedecktem Hydroxylapatit nachgewiesen werden (VACCA-SMITH et al. 1994).

### 2.5.3. Recaldent™

Den Durchbruch zur Entwicklung des Wirkstoffes CPP-ACP (Caseinphosphopeptid-Amorphes Calciumphosphat, Handelsname Recaldent™) lieferte die Erkenntnis, dass mittels des Enzyms Trypsin hydrolysiertes  $\alpha_{s1}$ -Casein ebenfalls eine antikariogene Wirksamkeit besitzt (Reynolds 1987). Die bei der Hydrolyse entstehenden Peptide werden auch Tryptone genannt und können aufgrund ihres geringen Molekulargewichtes (3 kDa) leicht in die Plaque und sogar in die vergrößerten Poren von Initialläsionen diffundieren und dort mit großer Affinität an Hydroxylapatit binden. Ein besonders wirksames Peptid wurde im Folgenden als Wirkstoff Recaldent™ patentiert (Reynolds 1991). Dieses Peptid (CPP) besitzt nicht nur weiterhin die positiven Eigenschaften des Ausgangsproteins ( $\alpha_{s1}$ -Casein), sondern ist in Bezug auf Diffusionsfähigkeit, Hydroxylapatitaffinität und Geschmack sogar überlegen (REYNOLDS 1987, NEUHAUS & LUSSI 2009). Die entscheidende Eigenschaft aber vermittelt die namensgebende Phosphoserylpeptidgruppe mit drei Serinresten. Über diese Seitenketten mit freien Hydroxylgruppen ist das Peptid in der Lage Kalzium- und Phosphationen zu stabilisieren (REYNOLDS et al. 1995). Ohne die Bindung an ein solches Peptid oder Protein neigen mit Kalziumphosphat übersättigte Lösungen zur Präzipitation. Je alkalischer die Lösung ist, desto geringer ist die Löslichkeit solcher Verbindungen. In Verbindung mit CPP wird amorphes Kalziumphosphat (ACP), eines von vielen biologischen Kalziumphosphaten, aber auch in einer metastabilen Lösung stabilisiert (NEUHAUS & LUSSI 2009). Diese ACP-Nanocluster in Einheit mit CPP können wie beschrieben in der Plaque und an der Zahnoberfläche verweilen und als Kalziumphosphatreservoir dienen. Kommt es nun zu einem pH-Abfall durch die bakterielle Milchsäureproduktion und steigt damit die Löslichkeit von Kalzium und Phosphat, werden diese aus den Nanoclustern freigesetzt und erhöhen die Bioverfügbarkeit dieser Ionen (REYNOLDS 1987, ROSE

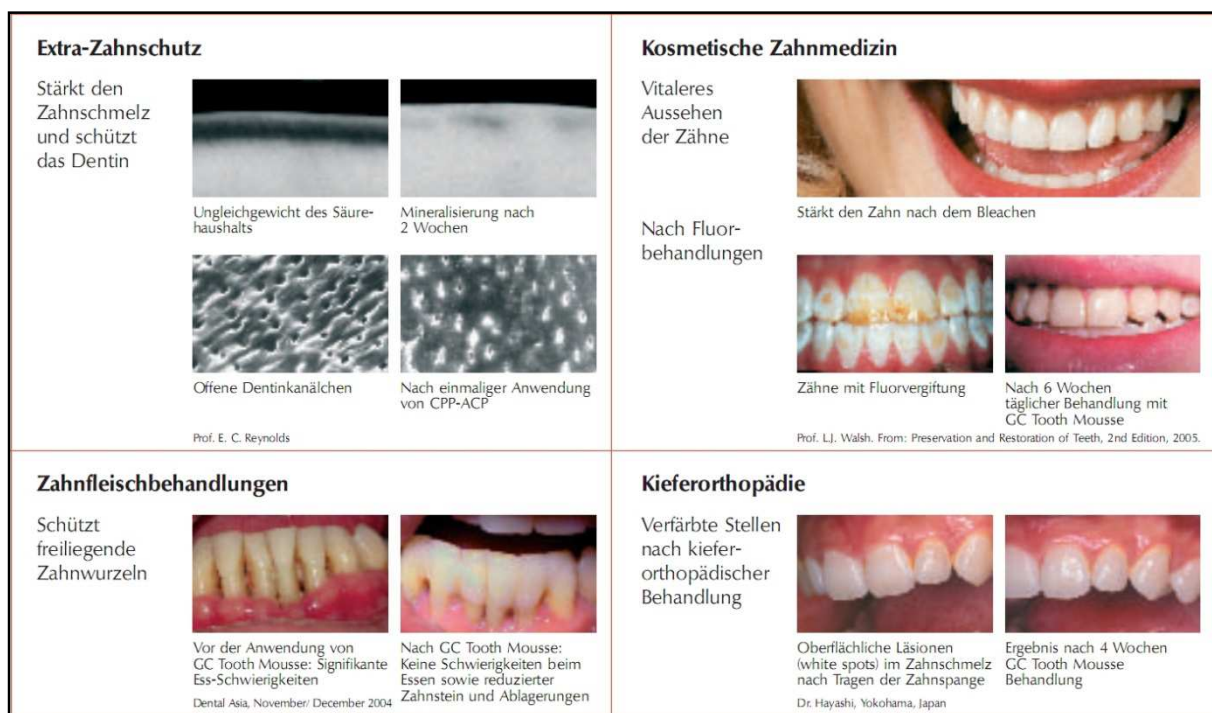
2000, REYNOLDS 2009). Die Prozesse der De- und Remineralisation werden somit in beschriebener Art und Weise beeinflusst.

Die Wirksamkeit von modifizierten Caseinaten wurde *in vitro* (Reynolds 1997) und im Tiermodell bestätigt. In einem Experiment mit Ratten wurde über eine dosisabhängige Reduktion der Kariesaktivität an Glattflächen und Fissuren gegenüber der Negativkontrolle (Wasser) berichtet (REYNOLDS et al. 1995). Um das tatsächliche klinische Potential unter physiologischen Bedingungen zu untersuchen, wurden in der Folge von verschiedenen Autoren In-situ- und klinische Studien durchgeführt.

Am besten untersucht ist derzeit die Wirksamkeit von in Kaugummis inkorporiertem CPP-ACP (SHEN et al. 2001, REYNOLDS et al. 2003, IJIMA et al. 2004, ITTHAGARUN et al. 2005, SCHIRRMEISTER et al. 2007, MORGAN et al. 2008). Kaugummikauen selbst gilt als eine wirksame Möglichkeit zur non-invasiven Kariesprävention (LEACH et al. 1989). Zum zusätzlichen Nutzen von inkorporiertem CPP-ACP liegen allerdings widersprüchliche Ergebnisse vor. Eindeutig positive Resultate finden sich in den Studien aus der Forschungsgruppe um die Patentinhaber (AZARPAZHOOH & LIMEBACK 2008). Diese Studien, bei denen vordemineralisierte Schmelzproben in palatinal getragene Apparaturen eingelassen wurden, zeigten eine dosisabhängige Remineralisation der Proben. Bei der höchsten Dosierung von 56,4 mg CPP-ACP beispielsweise war die mikroradiographisch ermittelte Netto-Remineralisation um 152% höher als bei der Kontrollgruppe mit Kaugummi ohne CPP-ACP (SHEN et al. 2001). Weitere Studien dokumentieren die Überlegenheit von CPP-ACP-haltigen gegenüber anderen Kalziumformen (REYNOLDS et al. 2003, CAI et al. 2009). Desweiteren zeigte die Forschergruppe eine überlegene Säurestabilität des durch CPP-ACP remineralisierten Schmelzes (IJIMA et al. 2004). Dagegen konnten SCHIRRMEISTER ET AL., in einer In-situ-Studie mit bukkal gelagerten Proben, keine signifikante Remineralisation unter Verwendung von Kaugummis mit oder ohne Kalziumadditive (eines davon mit CPP-ACP) feststellen (SCHIRRMEISTER et al. 2007). Außerdem konnte in einer weiteren unabhängigen Studie mit lingual gelagerten Proben zumindest keine signifikante Überlegenheit von CPP-ACP zu anderen Kalziumformen festgestellt werden (ITTHAGARUN et al. 2005). Evidenz dafür, dass tatsächlich Teile der Bevölkerung von CPP-ACP-Kaugummis zusätzlich zum Gebrauch von fluoridierter Zahnpasta profitieren können, ergab sich aus einer großen klinischen Studie mit 2720 Teilnehmern über 24 Monate (MORGAN et al.

2008). Voruntersuchung und Endauswertung wurden anhand von digitalen Röntgenaufnahmen (Bissflügel) vorgenommen. Nach Ablauf der 24 Monate waren 94,2 % der Approximalläsionen in der CPP-ACP-Gruppe auf demselben Level geblieben (93,3 % Kontrollgruppe) und 5,4 % bzw. 6,5 % schritten radiographisch voran.

Geringere Evidenz liegt bisher über die Wirksamkeit von anderen Applikationsformen (Mundspüllösungen, Lutschpastillen, Paste) von CPP-ACP vor. Insbesondere zur die Applikation in Pastenform (Tooth Mousse, MI Paste) fehlten bis vor kurzem qualitativ hochwertige Studien *in situ* und *in vivo* (Zero 2009). Seit ca. 2 Jahren ist eine ‚Mousse‘ auch in Deutschland und Europa (Tooth Mousse, GC Europe) kommerziell erhältlich (Anwendungsbeispiele laut Hersteller siehe Abb. 4).



**Abb. 4:** Anwendungsbeispiele von GC Tooth Mousse ([www.gceurope.com](http://www.gceurope.com))

Die zum Zeitpunkt dieser Studie vorliegenden Forschungsergebnisse sind uneinheitlich. *In vitro* ergaben sich Hinweise auf einen Schutz des Zahnschmelzes durch Tooth Mousse vor Demineralisation (OSHIRO et al. 2007, POGGIO et al. 2009). Dennoch kam eine andere In-vitro-Studie zu dem Ergebnis, dass normale, fluoridierte Zahnpasta immer noch die beste Wahl ist, um das Voranschreiten von kariösen Läsionen zu verlangsamen (REHDER NETO et al. 2009). Eine In-situ-Studie zu Tooth Mousse beschäftigte sich mit dem Thema Erosionen und stellte fest, dass CPP-ACP

in Kombination mit Fluorid eine bessere Wirksamkeit aufweist als CPP-ACP allein (SRINIVASAN et al. 2010). *In vivo* wurde die Mousse bisher vor allem in Bezug auf die Remineralisation von ‚White Spots‘ nach kieferorthopädischer Behandlung untersucht. In einer Studie der australischen Forschungsgruppe gab es bei Betrachtung aller Läsionen 23 % mehr Regressionen bei zusätzlicher Benutzung von Tooth Mousse gegenüber Placebomousse nach 12 Wochen Beobachtungszeit (BAILEY et al. 2009). Als Regression wurde hierbei die Inaktivierung der Karies und nicht etwa eine Veränderung der Kariesausprägung bezeichnet. Die ICDAS Stadien veränderten sich in beiden Gruppen gleichermaßen bei ca. 10 % der Läsionen zum Besseren. In einer anderen aktuellen Studie zur Remineralisation von ‚White Spots‘ wurde keine zusätzliche Verbesserung der Kariesausprägung durch Tooth Mousse gegenüber dem alleinigen Gebrauch von fluoridierter Zahnpasta gefunden (BROCHNER et al. 2010). Auch Tooth Mousse mit Fluorid (900 ppm) zeigte in einer klinischen Studie zu ‚White Spots‘ in Bezug auf Remineralisation und Plaquezusammensetzung keine signifikanten Unterschiede im Vergleich mit einer fluoridfreien, kalziumhaltigen Kontrollpaste (BEERENS et al. 2010).

### 3. Ziel der Studie

Die Schlussfolgerungen aktueller Übersichtsarbeiten hinsichtlich der Wirksamkeit einer CPP-haltigen Mousse auf Basis der vorgestellten Literatur sind ähnlich heterogen wie die einzelnen Studien selbst. Während ein Review mit Metaanalyse (YENGOPAL & MICKENAUTSCH 2009) eine Empfehlung für die Benutzung von CPP-ACP-Präparaten ausspricht, sind andere Autoren zurückhaltender und verweisen auf die in Quantität und Qualität nicht ausreichende Datenlage (AZARPAZHOOH & LIMEBACK 2008, ZERO 2009). Alle Reviews fordern weitere hochwertige In-situ- und In-vivo-Studien.

Die vorliegende randomisierte, doppelblinde In-situ-Kreuzstudie hatte daher das Ziel, einen unabhängigen Beitrag zur Klärung des remineralisierenden Potentials von CPP-ACP-haltiger Mousse zu leisten. Hierbei wurde geprüft, ob die Anwendung der Mousse einen zusätzlichen Effekt zum Zähneputzen mit fluoridierter Zahnpasta besitzt.

#### 1. Haupthypothese:

Die Behandlung mit der Negativkontrolle (Putzen mit fluoridfreier Zahnpasta + verlängerte Anwendung dieser Paste als Mousse) führt zu einer signifikant niedrigeren Remineralisation im Vergleich zum Test- (Putzen mit fluoridhaltiger Zahnpasta + GC Tooth Mousse ohne Fluorid) und Standardvorgehen (Putzen mit fluoridhaltiger Zahnpasta und verlängerter Anwendung dieser Paste als Mousse).

#### 2. Sekundärhypothesen:

Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Test- und dem Standardvorgehen hinsichtlich der Remineralisation von Zahnschmelz.

Mechanische Plaqueentfernung mit Zahnbürste oder Interdentalbürstchen führt bei allen drei Behandlungsgruppen zu einer signifikant höheren Remineralisation im Vergleich zu ungeputzten Proben.

Die Proben des Approximalmodells zeigen bei allen drei Behandlungsgruppen und unter der Berücksichtigung des Putzstatus eine signifikant geringere Remineralisation im Vergleich zu denjenigen des Bukkalmodells.

## **4. Material und Methode**

### **4.1. Schmelzproben**

#### **4.1.1. Gewinnung der Rinderzähne**

Bei denen zur Herstellung der Schmelzproben verwendeten Zähne handelte es sich ausschließlich um die ersten und zweiten Rinderinzisiven der zweiten Dentition. Alle Zähne wurden an zwei Tagen von dem Doktoranden selbst auf einem Schlachthof in Bad Bramstedt (VION Bad Bramstedt GmbH) extrahiert. Ein Gesundheitszeugnis des Doktoranden und die Genehmigung durch die betreuende Tierärztin lagen vor. Die Extraktion erfolgte schonend mittels Skalpellen (No. 10; Feather Safety Razor, Osaka, Japan) und einer Frontzahnextraktionszange (Fig. 1734; Pluradent AG & Co KG, Offenbach). Bis zur Bestätigung eines negativen BSE-Tests aller Rinder des jeweiligen Schlachttages wurde die Charge getrennt von anderen Zähnen in einer wässrigen 0,08%igen Thymollösung (Thymol; Merck, Darmstadt) aufbewahrt.

#### **4.1.2. Vorbereitung der Schmelzproben**

Die Zähne wurden vorsichtig gereinigt und anschließend mit einer diamantierten Bandsäge (EXAKT 300; Exakt-Apparatebau, Norderstedt) unter ständiger Wasserkühlung in mehreren Schritten zerteilt. Die Proben mit einer vorläufigen Größe von ca.  $5 \times 3,5 \times 3 \text{ mm}^3$  wurden ausschließlich aus der Labialfläche heraus präpariert. Die gewonnenen Proben konnten dann mit Hilfe von Silikonformen in einen kaltpolymerisierenden Kunststoff (Technovit 4071; Hareus Kulzer, Hanau, Deutschland) eingebettet werden. Hierbei lag die Schmelzoberfläche zum Boden der Silikonform orientiert. Die Oberfläche der einzelnen, eingebetteten Proben wurde anschließend mittels einer Poliermaschine (Saphir 360E; ATM, Mammelzen) und Nassschleifpapier (Waterproof Silicon Carbide Paper, Körnung: 800, 1200, 2400, 4000; Struers, Willich) in aufsteigender Korngröße plan geschliffen und poliert. Ihre endgültige Größe von  $3,5 \times 3,5 \times 3 \text{ mm}^3$  erhielten die Probekörper erst nach Herstellung der Dünnschliffe für die Auswertung der In-vitro-Demineralisation (Baseline-Auswertung).

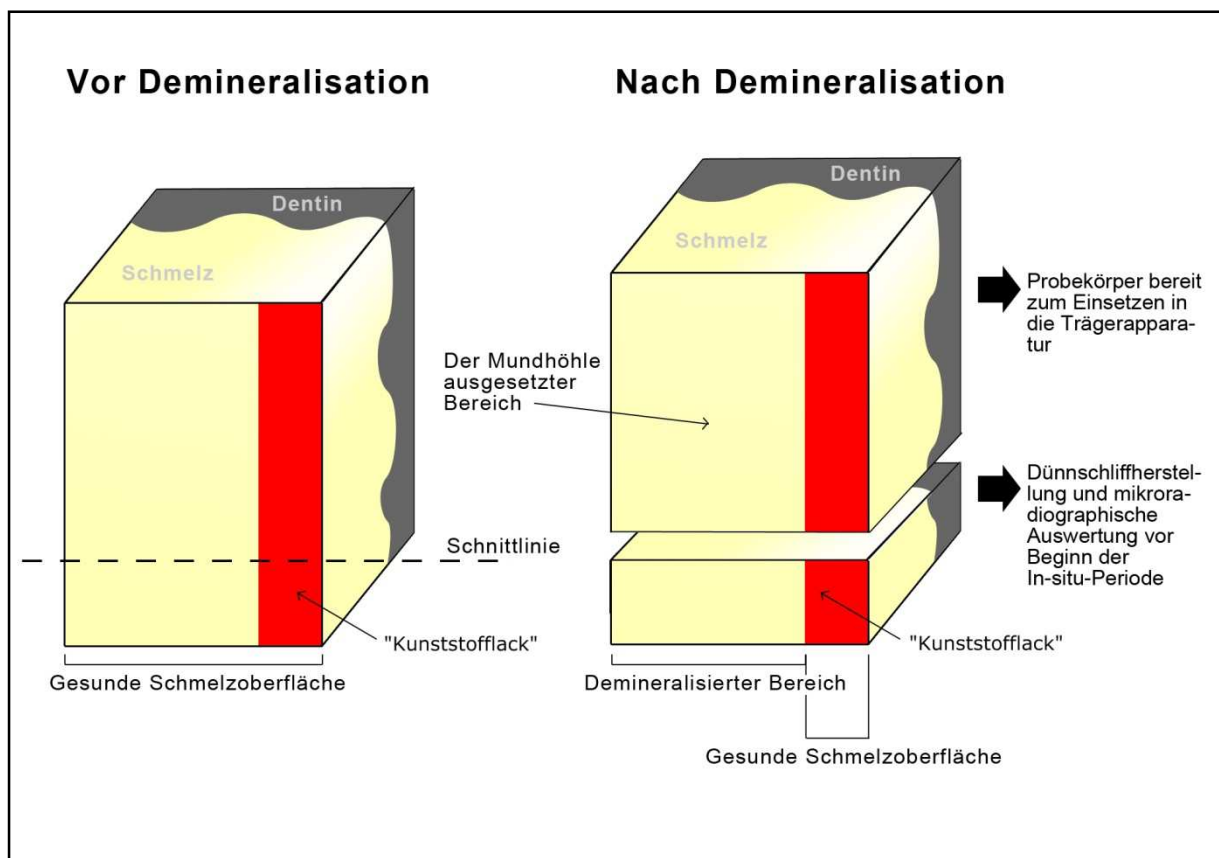


#### 4.1.3. Sterilisation

Die vorbereiteten Proben wurden mit Ethylenoxid bei 55 °C bedampft und somit gassterilisiert. Anschließend wurden die Proben über vier Wochen in Thymollösung gelagert, die regelmäßig ausgewechselt wurde, um eventuell verbliebene Reste des Ethylenoxids auszuwaschen.

#### 4.1.4. Erzeugung von künstlichen Initialläsionen *in vitro*

Bei allen eingebetteten Proben wurde ein Bereich von etwa 1 mm längs der Probe mit einem selbst hergestellten, lichthärtenden ‚Kunststofflack‘ (Tab. 2) abgedeckt. Dieser röntgentransluzente ‚Lack‘ hatte sich in einem Vorversuch als effizienter Schutz vor Säure erwiesen. Der abgedeckte Probenanteil (vgl. Abb. 5), der somit vor Demineralisation geschützt war, lieferte bei den späteren Messungen den Ausgangsreferenzwert.



**Abb. 5:** Schematische Darstellung der Probekörper vor und nach der Demineralisation. Übersichtshalber nicht dargestellt: Seitliche Abdeckung durch Einbettungskunststoff.

Die Erzeugung von kariesähnlichen Läsionen mit pseudointakter Oberflächenschicht erfolgte mittels einer Demineralisationslösung (BUSKES et al. 1985) nach BUSKES (Tab. 1). Alle Proben wurden gleichzeitig in die Demineralisationslösung gelegt und dort für sieben Tage bei 38,5°C (Wärmeschrank: B606 0; Heraeus Instruments, Hanau) belassen.

**Tab. 1:** Demineralisationslösung nach BUSKES (Ansatz für 5 l)

Inhaltsstoff	Menge
Kalziumchloriddihydrat (CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O)	2,205 g
Kaliumhydrogenphosphat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	2,041 g
Methylendiphosphonsäure (MHDP-Stammlösung: 0,0528 g auf 100 ml Aqua dest.)	10,0 ml
Eisessig (100% CH <sub>3</sub> COOH)	14,3 ml
Kalilauge (KOH 10M)	23 ml
Aqua dest.	ad 5 L

**Tab. 2:** Zusammensetzung des lichthärtenden Kunststoffes

Inhaltsstoff	Menge
BisGMA	5,00 g
TEGDMA	1,2 g
Campherchinon	0.05 g
DABE (Ethyl-4-dimethylaminobenzoat)	0.05 g
<b>Anmerkung:</b> Der derart hergestellte Kunststoff besitzt keine röntgenopaken Füllstoffe, die die TMR-Auswertung stören könnten. Alle Komponenten stammen von der Fa. Aldrich (UK).	

Aufgrund der großen Anzahl an Proben (746 Stück) wurden diese zu gleichen Teilen auf zwei luftdichte Gefäße mit jeweils fünf Litern der Demineralisationslösung aufgeteilt. Die genaue Mengenbestimmung der Inhaltsstoffe wurde mittels Pipetten (10 ml; Sarstedt, Nürnberg) und einer Analysenwaage (A 200 s; Sartorius Analytic, Göttingen) sichergestellt. Der gleichmäßigen Verteilung der Inhaltsstoffe wurde durch die Verwendung eines Magnetrührgerätes (IKA-Combimag RCT; IKA-Werke, Staufen) Sorge getragen. Der pH-Wert der Lösung wurde während der Demineralisationsphase durch tägliche Kontrollen konstant bei pH 4,95 gehalten. Die Überprüfung erfolgte mit einem geeichten, elektronischen pH-Meter (GMH 3530; Greisinger electronic, Regenstauf). Sollwertabweichungen des pH wurden mittels

geringer Mengen Kaliumhydroxidlösung (10 M) nach oben, oder Salzsäure (15% HCl) nach unten korrigiert.

Nach Ablauf der sieben Tage wurden die Proben gründlich abgespült und zwischen allen weiteren Arbeitsschritten bei ca. 6 °C in Thy molllösung gelagert. Vor der Auswertung der Proben mittels Dünnschliffherstellung, Mikroradiographie und Mikrodensitometrie (siehe Abschnitt 4.7. - 4.9.) wurden die Proben mikroskopisch kontrolliert und bereits zu diesem Zeitpunkt stark zerkratzte, erodierte und unregelmäßig demineralisierte Proben aussortiert. Im Weiteren wurden nach der Auswertung nur die 312 Proben in die Studie übernommen, die die geringste Abweichung vom Median des Mineralverlustes zeigten.

## 4.2. Probanden

Die Studienteilnehmer wurden per Aushang im Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, gesucht. Alle Interessenten wurden eingehend befundet und über die Ein- und Ausschlusskriterien der Studie (Tab. 3) aufgeklärt und befragt.

**Tab. 3:** Ausschlusskriterien der Studie

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proband jünger als 18 Jahre</li> <li>• Keine schriftliche Einwilligung</li> <li>• Teilnahme an weiteren klinischen Studien</li> <li>• Mangelnde Kooperationsbereitschaft, sehr schlechte Mundhygiene</li> <li>• Keine Bereitschaft zum Verzicht auf den Konsum von fluoridhaltigen Lebensmitteln (bestimmte Tee- und Fischarten)</li> <li>• Personen mit schlechtem Allgemeinzustand</li> <li>• Drogen- oder Alkoholabusus</li> <li>• Bulimie</li> <li>• Vorliegen einer Schwangerschaft oder Stillzeit</li> <li>• Akute Infektionen und schwere Allgemeinerkrankungen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Letzte Einnahme von Antibiotika weniger als zwei Monaten vor Beginn oder während der Studie</li> <li>• Einnahme anderer Medikamente, die das Ergebnis der Studie beeinträchtigen könnten</li> <li>• Allergie oder Unverträglichkeit gegen eines der verwendeten Materialien, insbesondere Milcheiweißallergie</li> <li>• Xerostomie (SSFR &lt;0,7 ml/min)</li> <li>• Weniger als 20 Zähne</li> <li>• Zum Zeitpunkt des Studienbeginns unversorgte kariöse Läsionen</li> <li>• Schwere Parodontalerkrankungen</li> <li>• Herausnehmbare kieferorthopädische oder prothetische Apparaturen oder Schienen</li> </ul>
--	--

#### **4.2.1. Voruntersuchung der Probanden**

Anamnestisch wurden die häusliche Verwendung von Fluoridpräparaten, sowie Eckpunkte der Ernährungsgewohnheiten erfasst. Teil der Befundung waren die dentale und parodontale Untersuchung, ein Mundhygienestatus und die Messung der stimulierten Speichelflussrate (SSFR). Die Studienteilnehmer hatten für das jeweilige Alter eine niedrige bis mittlere Karieserfahrung (DMF-T: 0-23, vgl. Abschnitt 2.2.2.) und keine schweren Parodontalerkrankungen. Alle Probanden wurden hinsichtlich offener kariöser Läsionen untersucht und ggf. vor Beginn der Studie behandelt. Insgesamt wurden 13 gesunde Probanden im Alter zwischen 22 und 55 Jahren in die Studie aufgenommen.

#### **4.2.2. Aufklärung und Votum der Ethikkommission**

Aufgrund des In-situ-Studiendesigns mit Verwendung boviner Schmelzproben wurde ein Antrag auf Erteilung eines Votums an die Ethikkommission gestellt (No. A125/09, siehe Anhang). Die Teilnehmer wurden einzeln schriftlich mittels Probandeninformation und in der gesamten Gruppe mit Hilfe einer Präsentation über Sinn und Zweck der geplanten Studie aufgeklärt, und bekamen anschließend die Möglichkeit Fragen zu stellen. Besonders hingewiesen wurde auf für die Probanden entstehende Belastungen und auf Kriterien, die zum Abbruch der Studie führen können. Des Weiteren wurde den Teilnehmern eine Aufwandsentschädigung in Höhe von 300 € pro Person für das Einhalten des Studienprotokolls über die gesamte Studiendauer zugesagt.

#### **4.2.3. Instruktion**

Neben der schriftlichen Instruktion durch die Probandeninformation wurde jeder der Probanden persönlich mit der Handhabung der Apparatur und den Studienpräparaten vertraut gemacht. Eine Re-Instruktion und Motivation erfolgte vor Beginn jeder In-situ-Phase. Außerdem erhielt jeder Teilnehmer einen genauen Zeitplan und ein Putzprotokoll im DIN A5 Format als Gedächtnisstütze für das Badezimmer.

#### **4.2.4. Führen eines Ernährungsprotokolls**

Die Probanden wurden zur Führung eines Ernährungsprotokolls (siehe Anhang) instruiert, welches für jede der drei Phasen gesondert Zuckerkonsum, Fluoridexposition und Tragedauer erfasst. Dieses Protokoll sollte ein Bewusstsein für die Einhaltung der Verhaltensregeln während der Studie schaffen und Abweichungen dokumentieren.

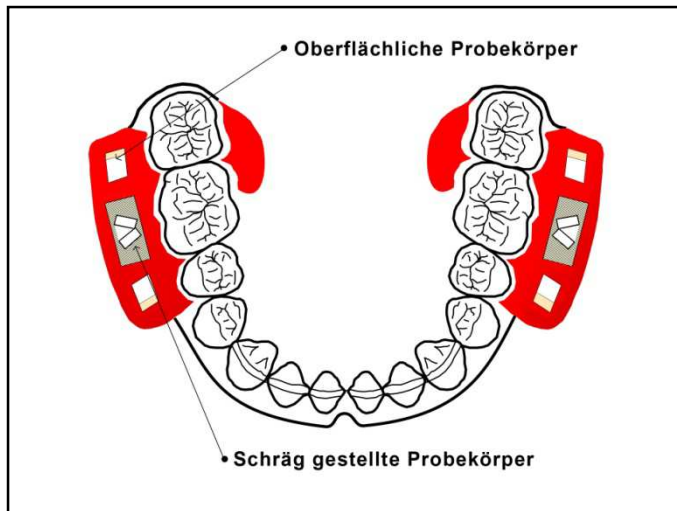
#### **4.3. In-situ-Apparaturen**

In der vorliegenden Studie wurde zur Fixierung der Proben eine intraorale Apparatur für den Unterkiefer hergestellt (Abb. 6 und 7). In die beiden bukkalen Kunststoffflügel wurden anschließend die Proben eingelassen (MEYER-LUECKEL et al. 2007, SCHIRRMEISTER et al. 2007). Die Art der Apparatur geht in ihrer Form auf KOULOURIDES zurück (KOULOURIDES et al. 1974).

##### **4.3.1. Herstellung der Apparaturen**

Zur individuellen Herstellung der Apparaturen wurden die Kiefer von allen Probanden mit Alginat abgeformt und Situationsmodelle angefertigt. Bei der Herstellung wurde von Beginn an auf eine grazile Gestaltung der Apparaturen geachtet, um die Ästhetik und Phonetik so geringfügig wie möglich zu beeinträchtigen.

Zunächst wurden die Umrisse der Apparatur auf das Modell gezeichnet und Verbindungselemente für die Kunststoffpelotten aus 0,8 mm dickem federharten Stahldraht (Dentaurum, Ispringen) gebogen und mit Wachs am Modell fixiert. Das anteriore Verbindungselement führte hierbei, ohne Kontakt zur den Kieferknochen bedeckenden Schleimhaut, durch das Unterkiefervestibulum. Zwei jeweils distal an den letzten Molaren anliegend verlaufende Drahtelemente bildeten zusammen mit der lingualen Kunststoffpelotte in begrenztem Maße ein Widerlager gegen Schubkräfte. Dieser linguale und der zur Aufnahme der Proben konzipierte bukkale Kunststoffanteil wurden aus einem kaltpolymerisierenden Kunststoff (Orthocryl; Dentaurum, Pforzheim, Deutschland) nach Art einer kieferorthopädischen Apparatur gestreut.

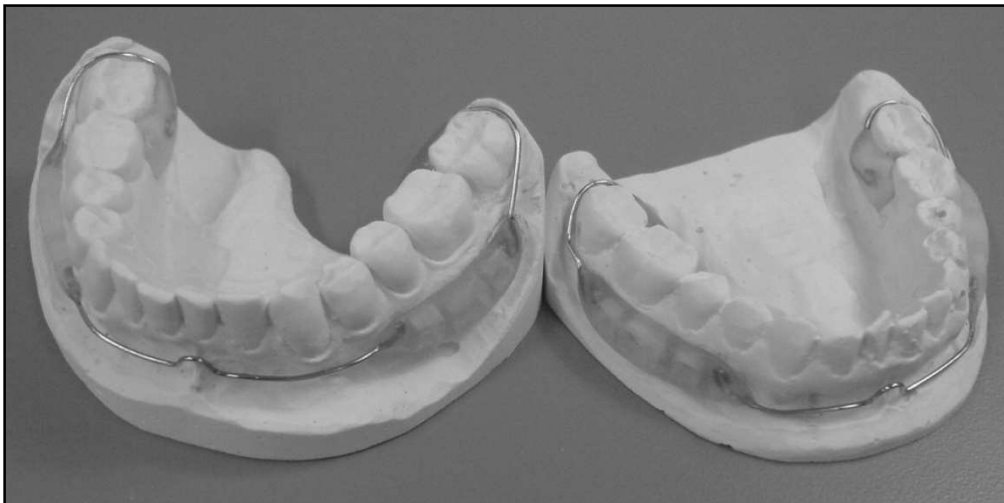


**Abb. 6:** Schematische Darstellung der In-situ-Apparatur.

Anterior befindet sich eine Aussparung für das Lippenbändchen.

Auf jeder Seite befinden sich vier Proben: Zwei als Glattflächenmodell und ein mit der Oberfläche zueinander nach innen orientiertes Pärchen als Approximalmodell.

Als Platzhalter für die Vertiefungen und ‚Slots‘ (siehe Abschnitt 4.3.3.), die zur späteren Aufnahme der Probekörper dienten, wurden entsprechende Silikonkörper (Silagum light; DMG, Hamburg) zugeschnitten. Um den Informationsgewinn aus der vorliegenden Studie zu erweitern, war außerdem vorgesehen, dass die Probanden nur eine Seite der Apparatur putzen. Zur einfacheren Handhabung wurde die zu putzende Seite aus weißem und die anderweitig zu behandelnde Seite aus rotem Kunststoff gefertigt (Abb. 7). Abschließend wurden die Apparaturen ausgearbeitet und poliert.



**Abb. 7:** Individuell hergestellte intraorale Apparaturen vor Insertion der Probekörper. Bei der Hälfte der Probanden befand sich die weiße Seite links, bei der anderen rechts.

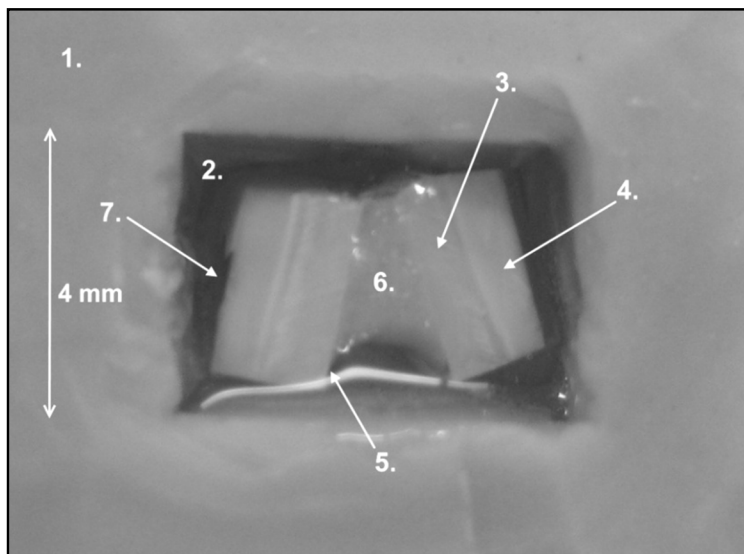
### 4.3.2. Glattflächenmodell

Zur Simulation der Bukkalflächen von Zähnen wurden jeweils zwei Proben pro Seite mittels Klebewachs in den dafür vorbereiteten Vertiefungen befestigt. Die Oberfläche der Proben befand sich dann in einer Ebene mit dem umgebenden Kunststoff. Der ‚gesunde‘ Bereich jeder Probe (vgl. Abb. 5 & Abb. 9) wurde erneut unter Zuhilfenahme eines Mikroskops (475022; Zeiss, Oberkochen) mit dem Kunststofflack (siehe Tab. 2) abgedeckt und 20 s lichtgehärtet (Bluephase C8 LED; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), um diesen Teil der Probe als Referenz zu erhalten. Um einem Verlust der Schutzschicht beim Putzen der Apparaturen vorzubeugen, wurde der Lack auch auf den unmittelbar umgebenden und vorher konditionierten (Luxatemp-Glaze&Bond; DMG, Hamburg) Kunststoff der Apparatur ausgedehnt.

### 4.3.3. Approximalmodell

Das Modell zur Simulation von Zahnzwischenräumen wurde in Anlehnung an vergleichbare Modelle entwickelt, bei denen die approximalen Kontakte in vorhandene Teilprothesen eingearbeitet wurden (THOMAS et al. 2007a).

Die Herstellung der ‚Approximalkontakte‘ lief wie folgt ab: Nach dem Abdecken des Referenzbereichs mit dem Lack (siehe Abschnitt 4.3.2.) wurden die Proben zueinander mit Zuckerguss fixiert.



**Abb. 8:** Silikonform (1.) mit eingebetteten Proben in „Approximalkontakt“. Schmelz (3.) und Dentin (4.) sind allseits von Kunststoff (2.) umgeben. Die Schmelzoberfläche ist bis auf den Referenzbereich (5.) mit Zuckerguss (6.) vor dem Kunststoff geschützt. Eine Markierung (7.) schützt vor Verwechslung der Proben.

**Anmerkung:** Zur Herstellung dieses Schaumodells wurde kein Komposit (s.u.), sondern der transluzente Kunststoff (siehe Tab. 2) verwendet.

Dann erfolgte die Einbettung der Proben in einer Form (Abb. 8) aus Knetsilikon (gammasil TEC A 85, Mueller-Omicron, Lindlar) derselben Dimensionierung wie die mittleren Slots der Apparatur mit fließfähigem, lichthärtendem Dentalkomposit (Tetric EvoFlow, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). Nach gründlicher Lichthärtung konnte der Zuckerguss unter fließend Wasser schonend entfernt und die Durchgängigkeit für ein Interdentalbürstchen sichergestellt werden. Zuletzt wurde die Sauerstoffinhibitionsschicht zirkulär mittels Polierern entfernt.

#### 4.4. Testprodukt, Positiv- und Negativkontrolle

Das Testprodukt der Studie war GC Tooth Mousse (GC Corporation, Tokyo, Japan) mit einem Gehalt des Wirkstoffes CPP-ACP von 10 % (w/v). Außerhalb Europas wird das gleiche Produkt teilweise auch unter dem Namen MI Paste angeboten. MI Paste Plus enthält dagegen zusätzlich Fluoride. In der vorliegenden Studie wurde GC Tooth Mousse ohne Fluorid, wie vom Hersteller in der Gebrauchsanweisung für die Heimanwendung empfohlen, nach dem Putzen mit fluoridierter Zahnpasta (siehe Abschnitt 4.6.) aufgebracht.

Als Positiv- und Negativkontrolle (Tab. 4) wurden Zahnpasten mit beziehungsweise ohne Fluorid der Reihe LAVERA basis sensitiv (Laverana, Wenningsen) ausgewählt, da diese in Geschmack und Erscheinungsbild GC Tooth Mousse ähnlich waren. Ein Vorversuch ergab außerdem, dass diese Pasten den Speichelfluss nicht stärker anregten als das Testprodukt. Positiv- und Negativkontrolle bestanden ebenfalls aus Zahnpasta und ‚Mousse‘, wobei beide Tuben im ersten Fall LAVERA basis sensitiv mit 1400ppm Natriumfluorid und im zweiten LAVERA basis sensitiv ohne Fluorid enthielten.

**Tab. 4:** Interventionsgruppen

Gruppe	Zahnpasta + Mousse
Negativkontrolle	fluoridfreie Paste + fluoridfreie Paste als Mousse
Positivkontrolle	fluoridhaltige Paste + fluoridhaltige Paste als Mousse
Test	fluoridhaltige Paste + GC Tooth Mousse ohne Fluorid



#### **4.5. Randomisierung und Verblindung**

Jeder der 13 Probanden erhielt alle drei Präparate. Die Teilnehmer wurden randomisiert in drei Untergruppen eingeteilt. Die Studie war im Crossover-Design konzipiert, so dass zu einem bestimmten Zeitpunkt jede Gruppe ein anderes Präparat verwendete. Welches Präparat die jeweiligen Gruppen gerade verwendete war weder den Probanden selbst noch dem Betreuer sondern nur dem Studienleiter bekannt (doppelblindes Design). Dies wurde durch eine neutrale Verpackung (Aluminium Tuben, weiß beschichtet, 60 ml; Klindwort Apotheke, Bad Schwartau) sichergestellt, die lediglich mit Probandennummer, Nummer des Testzyklus und der Aufschrift „Zahnpasta“ oder „Mousse“ versehen wurde. Die Verblindung des Betreuers wurde erst nach der durch ihn erfolgten vollständigen Auswertung aufgelöst.

#### **4.6. In-situ-Exposition**

Die Studie gliederte sich in drei In-situ-Phasen von jeweils vier Wochen Tragezeit und einer vorherigen Auswaschzeit von einer Woche. Zusammen mit der Abschlussuntersuchung wurden die Probanden zu insgesamt acht Kontrollterminen von jeweils etwa 10 min. Dauer in die Klinik gebeten. Vor dem Beginn jeder Phase bekamen die Probanden zunächst nur die jeweilige Zahnpasta, eine Handzahnbürste (Oral-B Indicator; Proctor&Gamble, Schwalbach am Taunus) und ein Ernährungsprotokoll ausgehändigt. Auf diese Weise wurde eine Auswaschphase (Wash-out) von einer Woche eingehalten. Außerdem wurden in dieser Zeit neue Proben in die Apparaturen eingelassen.

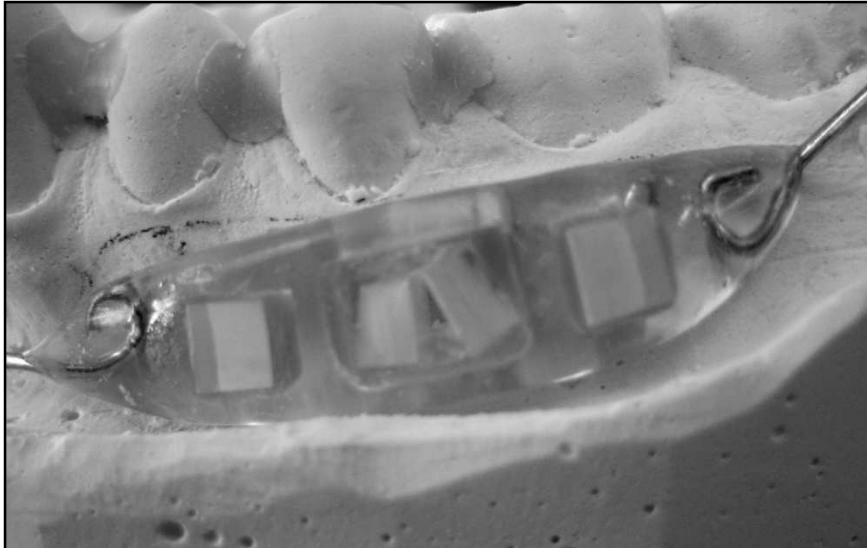
Nach sieben Tagen Auswaschzeit bekamen die Probanden die restlichen Utensilien für die jeweilige Phase: die ‚Mousse‘, vier Interdentalbürstchen (0,4 mm Durchmesser, TePe, Hamburg), einen Liter wässrige 10%ige Zuckerlösung und die feucht gelagerte, vollständig bestückte Apparatur (vgl. Abb. 9). Darüber hinaus wurde jeder Proband instruiert und daran erinnert, keine Mundhygienemittel außer den jeweils zugeteilten zu verwenden, sowie kein Kaugummi zu kauen und fluoridhaltige Lebensmittel zu meiden. Zur Vermeidung von Verwechslungen wurde jedem Probanden ein Päckchen fluoridfreies Kochsalz ausgehändigt. Um die Bildung einer potentiell kariogenen Plaque auf den Proben zu ermöglichen, wurden die Probanden explizit darauf hingewiesen, die Apparaturen nicht unter einem starken Wasserstrahl

abzuspülen und die Proben zu allen extraoralen Zeiten feucht zu lagern (ausgehändigte Spangendose (Quick Box; Dr. Hinz Dental, Herne) mit feuchtem Taschentuch). Generell sollten die Apparaturen außerhalb der nachfolgend genannten Zeiten so viel wie möglich getragen werden. Die Probanden wurden instruiert, die in Tabelle 5 aufgelisteten Interventionsmaßnahmen zweimal täglich durchzuführen.

**Tab. 5:** Auszug aus der Probandeninformation über die durchzuführenden Maßnahmen

**Jeweils morgens und abends:**

1. Entnahme der In-situ-Apparatur aus dem Mund.
2. Zähneputzen für 30 Sekunden mit Zahnbürste und der jeweiligen Zahnpasta (ca. 1 cm langer Strang).
3. Ausspucken einer kleinen Menge (wird gezeigt) des Speichel-Zahnpasta-Gemisches auf eine Seite der Apparaturen (Seite mit rotem Kunststoff).
4. Putzen der anderen Seite (weißer Kunststoff) mit dem auf der Zahnbürste befindlichen Speichel-Zahnpasta-Gemisch für 10 s.
5. Das Speichel-Zahnpasta-Gemisch verbleibt anschließend auf beiden Seiten der Apparatur für weitere 110 s außerhalb der Mundhöhle. Während dieser Zeit werden die Zähne für weitere 90 s geputzt und anschließend der Mund ausgespült. Die Apparatur wird nach Ablauf der 110 s unter dem Wasserhahn abgespült.
6. Putzen des ‚approximalen Modells‘ (wird gezeigt) einer Seite der Apparatur (weißer Kunststoff) mit einer Interdentälbürste (10 Bewegungen).
7. Applikation einer kleinen Menge (wird gezeigt) des jeweiligen Mousse-Präparates mit dem Finger (ohne Bürsten) auf beide Seiten der Apparatur außerhalb des Mundes
8. Sofortige Insertion der Apparatur in den Mund.
9. Dort verbleibt die Apparatur für mindestens 30 Minuten, ohne dass Sie essen, trinken oder rauchen sollten.



**Abb. 9:** Vollständig mit Proben bestückte intra-orale Apparatur auf dem Modell. Der „Approximalkontakt“ ist für ein Interdental-Brüstchen durchgängig gestaltet. Alle Proben wurden vorsichtig mittels Klebewachs fixiert.

Zusätzlich zu diesen Maßnahmen wurden die Probanden gebeten, die Apparaturen dreimal täglich (während der Hauptmahlzeiten) für jeweils ca. 20 Minuten in der ausgehändigten Zuckerlösung, die die Probanden in die wasserdichten Aufbewahrungsboxen füllen sollten, zu lagern. Die Probanden wurden ebenso darauf hingewiesen, dass nur die vom Betreuer ausgehändigte Zuckerlösung zu verwenden ist und sie, wie bei den anderen Studienutensilien auch, jederzeit weitere Materialien bekommen könnten. Die Zuckerlösung diente als Substrat für die Demineralisation der In-situ-Apparaturen.

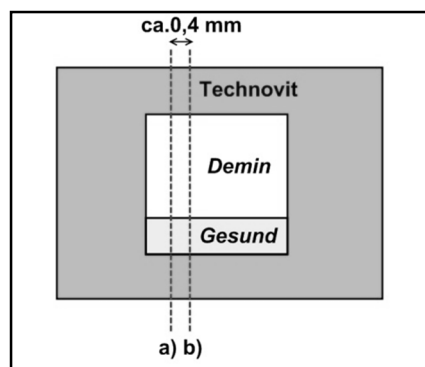
Die Probanden wurden gebeten am Ende jeder In-situ-Phase alle Studienutensilien und das Ernährungsprotokoll wieder abzugeben. An diesem Tag begann die neue Auswaschphase und die oben genannten Utensilien wurden wiederum ausgehändigt. Der Verbrauch an Zahnpasta sowie des Mousse-Präparates wurde nach jeder der drei Phasen der Studie protokolliert.

Die Lagerung der Proben erfolgte für jeden Probanden getrennt in mit Thymollösung gefüllten Platten (24 Well Platte; Sarstedt, Nürnberg) mit 24 Fächern. Durch die Beschriftung waren jederzeit Probennummer, Position und Phase nachvollziehbar.

#### **4.7. Herstellung von Dünnschliffen**

Die Vorgehensweise zur Bestimmung der Zielparameter Mineralverlust und Läsionstiefe unterschied sich nicht für die beiden Auswertungen der Baseline (nach Demineralisation *in vitro*) und des Effekts (nach Exposition *in situ*). Auch die *in situ*

exponierten Proben wurden, ähnlich wie in Abschnitt 4.1.2. dargestellt, mit Hilfe von Silikonformen in einen kaltpolymerisierenden Kunststoff (Technovit 4071, Hareus Kulzer, Hanau, Deutschland) eingebettet. Hierbei lag die Schmelzoberfläche zum Boden der Silikonform orientiert und wurde vorab mit Vaseline gegen den Kunststoff isoliert.



**Abb. 10:** Schematische Darstellung einer eingebetteten „Effekt-Probe“. Der erste Sägeschnitt a) erfolgte freihand, der zweite b) mit Vakuumanfunktion.

Bei jeder eingebetteten Probe (Baseline: n= 623, Effekt: n= 312) wurde mittels eines ersten Sägeschnitts (Bandsäge: EXAKT 300; Exakt-Apparatebau, Norderstedt), wie in Abb. 10 a) gezeigt, der Querschnitt der Probe freigelegt. Die Schnittfläche wurde im Anschluss mit Schleifpapier (Waterproof Silicon Carbide Paper, Körnung: 800, 1200, 2400, 4000; Struers, Willich) freihändig poliert (Poliermaschine: Saphir 360E; ATM, Mammelzen). Die polierte Schnittfläche wurde anschließend mit Sekundenkleber (Loctite 493; Henkel, Hemel Hempstead, UK) auf einen zuvor mit Doppelfolie (gudy clear 23; Neschen AG, Bückeburg) beschichteten Objektträger (25x75x2 mm; Patho-Service GmbH, Hamburg) geklebt. Mit Hilfe der Vakuumanfunktion der Bandsäge konnte nun ein zweiter geführter Sägeschnitt, wie in Abb. 10 b) gezeigt, durchgeführt werden. Die Dünnschnitte hatten vorerst eine Dicke von ca. 300-400  $\mu\text{m}$  und wurden derart von der Probe abgeschnitten, dass keine Randartefakte die Auswertung stören würden und gleichzeitig noch genug von der Probe für einen eventuell nötigen zweiten Versuch vorhanden wäre. Anschließend wurden die Dünnschnitte mit Schleifpapier (wie oben ausgeführt) und einer Poliermaschine (EXAKT 400CS; Exakt-Apparatebau, Norderstedt) planparallel geschliffen und poliert. Die endgültige Dicke der Dünnschliffe betrug 100  $\pm$  10  $\mu\text{m}$ . Dies wurde durch Zwischenkontrollen bei den einzelnen Politurabschnitten und bei der Endkontrolle mit einer auf den jeweiligen Objektträger geeichten digitalen Mikrometerschraube (IP65; Mitutoyo Europe, Neuss) sichergestellt.

#### **4.8. Mikroradiographische Auswertung (TMR)**

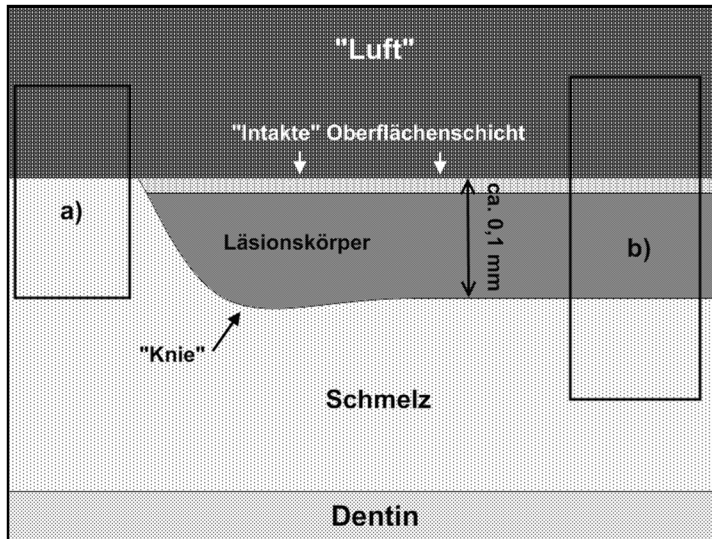
Zur mikroradiographischen Darstellung der Proben wurden diese vorsichtig von den Objektträgern gelöst, wobei sich das erwähnte Doppelfoliensystem sehr bewährte. Die Dünnschliffe wurden am nicht auszuwertenden Bereich mittels eines dünnen Streifens Tesafilm auf speziellen Probenhaltern (Medizintechnische Werkstatt Charité – Universitätsmedizin Berlin) fixiert. Die Dünnschliffe auf den Probenhaltern wurden anschließend in eine Apparatur, bestehend aus Röntgenstrahlgenerator (PW 3830 X-Ray Generator; PANalytical, Kassel) und einem linsenlosen Fotoapparatgehäuse mit einer Aluminiumeichtreppe, eingesetzt. Ein speziell auf diese Probenhalter abgestimmter Schieber konnte fünf Probenhalter zur Zeit fixieren und nacheinander durch das Kameragehäuse (Aufbau für TMR-Applikation; Medizintechnische Werkstatt Charité – Universitätsmedizin Berlin) schleusen. Unmittelbar hinter der jeweils aufzunehmenden Probe befand sich ein hochauflösender Film (Fuji 35; Fujifilm, Düsseldorf). Auf diese Art und Weise konnte der Objekt-Film Abstand sehr klein gehalten werden, was das Auftreten von Unschärfeeffekten minimierte. Die Strahlung aus dem Röntgentubus traf im rechten Winkel auf die Schnittfläche der Probe auf. Bei dieser Apparatur wurde für TMR-Aufnahmen eine Belichtungszeit von 10 Sekunden bei einer Röhrenspannung von 20 kV und einer Stromstärke von 20 mA gewählt. Die Filmentwicklung verlief nach einem standardisierten Verfahren nach Herstellerangaben.

#### **4.9. Auswertung der gewonnenen Bilder**

Die entwickelten Filme wurden, den Aufnahmeprotokollen entsprechend beschriftet und unter einem Stereomikroskop (Axioplan 2; Zeiss, Oberkochen) mit eingebauter Videokamera mit CCD-Chip (Grayscale Digital Camera; Scion Corp., Frederick, USA) untersucht. Das zum Betrachten der Filme und zum Speichern der gewählten Ausschnitte (vgl. Abb. 11) verwendete Programm (Scion VisiCapture; Scion Corp., Frederick, USA) war auf die Kamera abgestimmt. Vor der Aufnahme eines jeden Bildes bei zehnfacher Vergrößerung wurden Ausrichtung, Schärfe und Lichtintensität adjustiert.

Zur konkreten Auswertung einer Probe wurden aus diesen Aufnahmen wiederum nur Bildausschnitte (Abb. 11 a) + b) und 12) verwendet. Diese gewonnen Bildausschnitte wurden mit einer speziellen Software (TMR/WIM Calculation Program, v5.25; University of Groningen, Niederlande, ©Joop de Vries) densitometrisch ausgewertet.

Eine Eichung über die bei jedem TMR-Bild ebenfalls festgehaltene Aluminiumeichtreppe erfolgte nur einmal vor Beginn der gesamten Untersuchung. Im Computerprogramm sind Dicke und Röntgenabsorption der einzelnen Stufen der Eichtreppe gespeichert, so dass aus den Grauwerten der Probe der Mineralgehalt (Vol.% x  $\mu\text{m}$ ) als Funktion der Tiefe ( $\mu\text{m}$ ) in Form eines Mikroradiogrammes dargestellt werden kann.



**Abb. 11:** Schematische Darstellung einer typischen Übersichtsaufnahme, aus der für die Ausschnitte **a)** (=Referenzbereich) und **b)** (=Läsion) die Zielparameter bestimmt werden können. Wichtig bei der Wahl der Ausschnitte sind genügend „Luft“ und gesunder Schmelz für die Kalibrierung der Software.

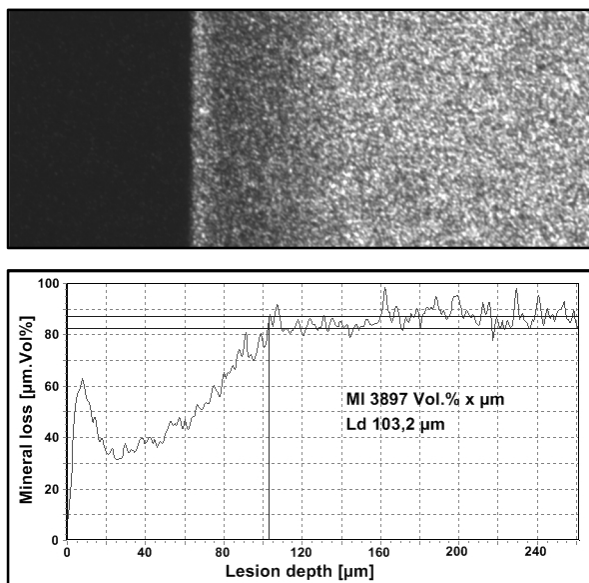
Die erwähnte Software berechnet die Zielparameter Mineralverlust und Läsionstiefe, indem sie sich ober- und unterhalb der Läsion kalibriert. Dabei steht der Bereich außerhalb der Probe (‚Luft‘) für 0% Mineralgehalt und der Bereich unterhalb (im gesunden Schmelz) für 87 % Mineralgehalt (= ‚gesund‘). Weiteren Einfluss auf die zu erhaltenden Werte hatten die beiden Programmparameter „Zero Point“ und „%Line“ die in dieser Studie einheitlich auf den Wert 5,0 festgelegt wurden.

**Zero Point:** Beginn der Läsionsmessung von der ‚Luft‘ aus bei 5% des ermittelten Grauwertes für ‚gesund‘.

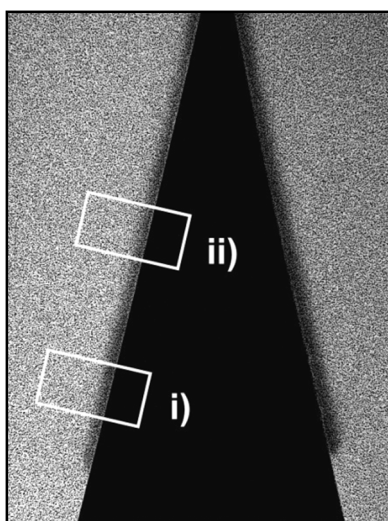
**%Line:** Beeinflussung der Grenze zwischen dem Ende der Läsion und ‚gesund‘. Bei einem Wert von 5,0 liegt diese bei ca. 83 % des Grauwertes für ‚gesund‘.

Die Mineralverlust- und Läsionstiefenmessungen wurden bei allen Proben vor und nach der In-situ-Exposition durchgeführt. Die erste Messung erfolgte jeweils in dem auch vor der Demineralisation *in vitro* abgedeckten und somit zu keinem Zeitpunkt exponierten Bereich (Referenzbereich, Abb. 11 a)). Die zweite Messung wurde

typischerweise in einem Abstand von etwa 300-400  $\mu\text{m}$  zum Referenzbereich durchgeführt (Abb. 11 b) bzw. Abb. 13 i)). Auf diese Weise konnte der in Bezug auf das Ausmaß der Läsion nicht repräsentative Bereich des ‚Läsionsknies‘ (vgl. Abb. 11) ausgelassen und ein standardisierter Abstand für die Messung vor und nach der In-situ-Phase eingehalten werden. Bei allen Proben, die dem Approximalmodell zugeordnet wurden, erfolgte eine dritte Messung in der Mitte der Läsion (Abb. 13 ii)), um eventuelle Abweichungen aufgrund der speziellen Morphologie des ‚Approximalkontakts‘ mit zu erfassen.



**Abb. 12:** Darstellung einer exemplarisch ausgewählten Probe. Der TMR-Ausschnitt (vgl. Abb. 11 b)) und der dazugehörige densitometrische Graph zeigen eine ‚pseudointakte‘ Oberflächenschicht.



**Abb. 13:**

Schematische Darstellung der beiden Messbereiche innerhalb der Läsion beim Approximalmodell. Der Bereich i) entspricht demjenigen des Bukkalmodells (vgl. Abb. 11 b)). Zusätzlich wurde beim Approximalmodell der Bereich ii) in der Mitte Läsion ausgewertet.

#### 4.10. Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurden die erhaltenen Daten tabellarisch geordnet (Excel 2007; Microsoft, Unterschleißheim), so dass jede Probe in Bezug auf Probennummer, Proband, Modell (bukkal / approximal), Lokalisation (mesial / distal), Intervention (geputzt / ungeputzt) und ihre Zugehörigkeit zu einer der Kontrollgruppen oder zum Testvorgehen eindeutig identifizierbar war.

Anschließend wurden die Daten mit einer Statistiksoftware (SPSS v12.0; SPSS, München) analysiert. Es wurden die Differenz zwischen dem Mineralverlust nach Demineralisation *in vitro* (Baseline) und nach Exposition *in situ* (Effekt) sowie die entsprechenden Läsionstiefenänderungen gebildet.

**Änderung des Mineralverlustes:**  $\Delta\Delta Z = \Delta Z_{\text{Baseline}} - \Delta Z_{\text{Effekt}}$  [Vol.% x  $\mu\text{m}$ ]

**Änderung der Läsionstiefe:**  $\Delta LD = LD_{\text{Baseline}} - LD_{\text{Effekt}}$  [ $\mu\text{m}$ ]

**Anmerkung:** Positive Werte für  $\Delta\Delta Z$  und  $\Delta LD$  zeigen eine Remineralisation an, negative Werte entsprechend eine weitere Demineralisation.

Die genannten Zielvariablen wurden hinsichtlich der Normalverteilung getestet (Shapiro-Wilk-Test). Bei den approximalen Proben wurden die Messwerte für die beiden unterschiedlichen Auswertungsbereiche verglichen (Wilcoxon Test). Anschließend wurden für beide Modelle getrennt die mesialen mit den distalen Proben unter Berücksichtigung der Faktoren Putzen und Intervention verglichen (Wilcoxon Test). Mineralverluste und Läsionstiefen wurden dann bei Proben, die sich in nur einem Parameter (Intervention, Putzen, Modell) unterschieden, mittels Friedman und Wilcoxon Test analysiert. Alle Tests wurden mit einem Signifikanzniveau von 5% durchgeführt.



## 5. Ergebnisse

### 5.1. Allgemeine Ergebnisse

Alle teilnehmenden Probanden (vier Frauen und neun Männer im Alter zwischen 22 und 55 Jahren) hatten einen guten allgemeinen Gesundheitszustand, eine für das jeweilige Alter durchschnittliche Karieserfahrung (DMF-T 0-23) und eine gute parodontale Gesundheit. Zum Zeitpunkt des Studienbeginns hatte keiner der Probanden kavitierte kariöse Läsionen. Die stimulierten Speichelflussraten lagen zwischen 0,7 und 2,1 ml/min. Alle Teilnehmer wohnten während der Studie in Kiel. Somit war ein einheitlicher Trinkwasserfluoridgehalt von 0,18 mg F<sup>-</sup>/l gewährleistet. Darüber hinaus zeigte die Auswertung der Ernährungsprotokolle bei keinem der Probanden einen regelmäßigen Konsum von hoch fluoridhaltigen Speisen oder Getränken; auf zusätzliche Mundhygieneprodukte wurde generell verzichtet. Die Analyse der zurückgegebenen Tuben der zur Verfügung gestellten Mundhygieneprodukte (Tab. 6) ergab einen durchschnittlichen Verbrauch an Zahnpasta von 37,3 g (SD 12,1) und an Mousse von 15,1 g (SD 9,2). Alle Probanden absolvierten alle drei In-situ-Perioden vollständig und trugen die Apparaturen in dieser Zeit 22-23 Stunden täglich.

**Tab. 6:** Durchschnittlicher (SD) Verbrauch der Produkte während der In-situ-Phase.

	Verbrauch Zahnpasta	Verbrauch Mousse
Negativkontrolle	39,0 (13,0)	17,9 (10,2)
Positivkontrolle	40,2 (12,6)	15,2 (8,8)
Testvorgehen	32,7 (9,0)	12,1 (7,6)

Von den 312 Proben der In-situ-Phase, konnten bei 266 Proben Ergebnisse für Mineralverlust und Läsionstiefe ermittelt und in die statistische Auswertung übernommen werden. Insgesamt 46 Probekörper gingen nicht in die Auswertung ein. Die Gründe waren überwiegend technisch bedingt. Bei der Herstellung der Dünnschliffe bestand das größte Risiko für einen vollständigen Probenverlust. Einige Proben zeigten bei der nachfolgenden Analyse der TMR-Bilder stark inhomogene oder erodierte Läsionen, die eine zuverlässige Auswertung nicht zuließen. Aufgrund der paarweisen Auswertung von mesialer und distaler Probe einer Gruppe (s.u.)

konnten trotz einer Verlustrate von 14,7 % alle Gruppen mit N = 12 oder N = 13 in die statistische Auswertung eingehen.

## 5.2. Quantitative Ergebnisse

Das Ausmaß der Mineralverlustes und der Läsionstiefen vor und nach der In-situ-Phase wurde in der in Abschnitt 4.9 beschriebenen Art und Weise mittels densitometrischer Analyse der TMR-Bilder bestimmt. Der Mineralverlust ergab sich als Integral der Fläche über der Kurve im Mikroradiogramm. Der mediane (Q25/Q75) Mineralverlust nach der Demineralisation *in vitro* betrug 5173 (4247/5743) Vol.% x  $\mu\text{m}$  für die bukkal zu liegen kommenden Proben und 4519 (4053/5090) Vol.% x  $\mu\text{m}$  für die Proben des Approximalmodells. Analog betrug die Läsionstiefen 107 (97/118)  $\mu\text{m}$  bukkal und 111 (99/125)  $\mu\text{m}$  approximal.

Die Ausgangswerte für Mineralverluste und Läsionstiefen nach In-vitro-Demineralisation unterschieden sich zwischen allen Untergruppen nicht signifikant. Trotz des etwas höheren medianen Mineralverlusts der bukkalen Proben bestanden somit keine signifikanten Unterschiede vor In-situ-Phase zwischen allen bukkalen und approximalen Proben ( $p > 0,05$ ; Friedman-Test).

Der Vergleich der beiden Auswertungsbereiche der approximalen Proben zeigte in keiner der Untergruppen signifikante Unterschiede ( $p > 0,05$ ; Wilcoxon Test), weshalb für die weitere Auswertung aus beiden Messwerten jeder Probe eine Mittelwertbildung erfolgte.

Die Änderungen der Mineralverluste und Läsionstiefen in Bezug auf die Lokalisation (mesial / distal) sind in den Tabellen 7 und 8 dargestellt.

**Tab. 7:** Vergleich der Änderungen der Mineralverluste nach Aufteilung in Gruppe, Putzstatus und Lokalisation für die beiden In-situ-Modelle

Modell	Gruppe	Putzen	Lokalisation	N	$\Delta\Delta Z$ [Vol.% x $\mu\text{m}$ ]	p	
Bukkall	Negativkontrolle	ja	mesial	10	431 (-353/818)	0,767	
			distal	12	276 (-144/1372)		
		nein		mesial	12	-197 (-784/382)	0,575
				distal	9	331 (-377/1021)	
	Positivkontrolle	ja		mesial	12	1326 (906/1601)	0,286
				distal	11	954 (556/2012)	
	nein		mesial	9	1081 (41/2304)	0,575	
			distal	12	1361 (247/2357)		
TM-Gruppe	ja		mesial	13	651 (-368/968)	0,929	
			distal	11	90 (-852/685)		
	nein		mesial	11	84 (-640/1192)	0,401	
			distal	10	-58 (-251/378)		
Approximal	Negativkontrolle	ja	mesial	9	391 (87/1261)	0,139	
			distal	13	946 (587/1468)		
		nein		mesial	10	909 (201/1496)	<b>0,025</b>
				distal	11	473 (-109/800)	
	Positivkontrolle	ja		mesial	11	1438 (978/1822)	0,203
				distal	12	1795 (675/2974)	
	nein		mesial	10	1576 (858/2371)	0,678	
			distal	12	1791 (1244/2472)		
TM-Gruppe	ja		mesial	10	1056 (-118/2210)	0,799	
			distal	12	1091 (636/1703)		
	nein		mesial	13	207 (-737/875)	<b>0,050</b>	
			distal	12	813 (434/1070)		

Angegeben ist jeweils der Median der Änderung des Mineralverlustes  $\Delta\Delta Z$  (25. Perzentil/75. Perzentil) nach der In-situ-Phase. Positive Werte bedeuten einen Mineralgewinn gegenüber der Baseline (p-Werte basierend auf Wilcoxon Test; TM-Gruppe = Fluoridierte Zahnpasta + Tooth Mousse).

Der Vergleich zwischen den mesialen und distalen Proben ergab bei jeweils einer Untergruppe des Approximalmodells bei den beiden Zielvariablen einen statistisch signifikanten Unterschied (Wilcoxon Test ohne Adjustierung). Diese geringen Unterschiede wurden bei der Auswertung nicht weiter berücksichtigt, sondern die Mittelwerte aus den jeweiligen Probenpaaren (mesial/distal) herangezogen.

**Tab. 8:** Vergleich der Änderungen der Läsionstiefen nach Aufteilung in Gruppe, Putzstatus und Lokalisation für die beiden In-situ-Modelle

Modell	Gruppe	Putzen	Lokalisation	N	$\Delta$ LD [ $\mu$ m]	p	
Bukkal	Negativkontrolle	ja	mesial	10	6 (1/12)	0,374	
			distal	12	3 (-15/21)		
		nein	mesial	12	-4 (-17/14)		0,889
			distal	9	1 (-15/4)		
	Positivkontrolle	ja	mesial	12	10 (-2/16)	0,505	
			distal	11	12 (7/27)		
		nein	mesial	9	13 (-13/14)		0,176
			distal	12	16 (9/27)		
	TM-Gruppe	ja	mesial	13	8 (-8/24)	0,182	
			distal	11	-5 (-17/7)		
		nein	mesial	11	0 (-18/9)		0,674
			distal	10	-7 (-14/2)		
Approximal	Negativkontrolle	ja	mesial	9	10 (3/28)	0,086	
			distal	13	28 (11/31)		
		nein	mesial	10	22 (5/49)		0,050
			distal	11	15 (-2/24)		
	Positivkontrolle	ja	mesial	11	22 (10/23)	<b>0,022</b>	
			distal	12	34 (15/39)		
		nein	mesial	10	18 (9/33)		0,767
			distal	12	29 (16/41)		
	TM-Gruppe	ja	mesial	10	24 (11/52)	0,878	
			distal	12	30 (11/41)		
		nein	mesial	13	4 (-15/25)		0,859
			distal	12	19 (10/31)		

Angegeben ist jeweils der Median der Änderung der Läsionstiefe  $\Delta$ LD (25. Perzentil/75. Perzentil) nach der In-situ-Phase. Positive Werte bedeuten eine Reduktion der Läsionstiefe gegenüber der Baseline (p-Werte basierend auf Wilcoxon Test. TM-Gruppe = Fluoridierte Zahnpasta + Tooth Mousse).

Die Mineralverluste und Läsionstiefen vor und nach der In-situ-Phase werden für die einzelnen Gruppen für das Bukkal- und das Approximalmodell in den Tabellen 9 und 10 bzw. 11 und 12 gegenübergestellt. Proben, die sich ausschließlich in ihrer Lokalisation (mesial / distal) unterschieden, waren hier bereits gemittelt.

### 5.2.1. Ergebnisse des Bukkalmodells

**Tab. 9:** Mineralverluste der Proben des Bukkalmodells vor (Baseline) und nach (Effekt) der In-situ-Phase.

Gruppe	Baseline		Effekt		
	Mineralverlust [Vol.% x $\mu\text{m}$ ]	N	Mineralverlust [Vol.% x $\mu\text{m}$ ]	N	p
Negativkontrolle					
geputzt	5008 (4371/5928)	13	4698 (4211/5060)	13	0,116
ungeputzt	5011 (4549/5704)	13	5426 (4484/5952)	13	0,422
Positivkontrolle					
geputzt	4914 (4658/5258)	12	3598 (3274/4129)	12	<b>0,003</b>
ungeputzt	5321 (5016/5802)	13	4276 (3048/4874)	13	<b>0,002</b>
TM-Gruppe					
geputzt	4645 (4379/5299)	13	4501 (3854/4809)	13	0,249
ungeputzt	4923 (4310/5545)	13	4987 (3616/5401)	13	0,422

Angegeben ist jeweils der Median (25.Perzentil/75. Perzentil) vor und nach der In-situ-Phase (p-Werte basierend auf Wilcoxon Test. TM-Gruppe = Fluoridierte Zahnpasta + Tooth Mousse).

Die Proben der geputzten Negativkontrolle wiesen einen leichten Mineralgewinn auf. Bei den ungeputzten Läsionen der Negativkontrolle wurde dagegen ein Voranschreiten des Mineralverlustes festgestellt ( $p > 0,05$ ; Wilcoxon Test). Auch die Änderung der Läsionstiefen zeigt bei den geputzten Proben eine Abnahme, bei den ungeputzten Proben eine Zunahme der medianen Läsionstiefe ( $p > 0,05$ ). Der höchste Netto-Mineralgewinn zeigte sich bei der Positivkontrolle. Die Proben wiesen nach der In-situ-Phase signifikant geringere Mineralverluste und Läsionstiefen gegenüber der Baseline auf ( $p < 0,05$ ). In der Testgruppe zeigten sich weder bei den geputzten noch bei den ungeputzten Proben signifikante Veränderungen der Mineralverluste und Läsionstiefen nach In-situ-Exposition ( $p > 0,05$ ).

**Tab. 10:** Läsionstiefen der Proben des Bukkalmodells vor (Baseline) und nach (Effekt) der In-situ-Phase.

Gruppe	Baseline		Effekt		
	Läsionstiefe [µm]	N	Läsionstiefe [µm]	N	p
Negativkontrolle					
geputzt	110 (94/116)	13	102 (95/115)	13	0,279
ungeputzt	103 (96/114)	13	113 (100/119)	13	0,311
Positivkontrolle					
geputzt	116 (99/119)	12	102 (90/106)	12	<b>0,041</b>
ungeputzt	112 (104/124)	13	104 (90/110)	13	<b>0,007</b>
TM-Gruppe					
geputzt	104 (96/109)	13	101(90/115)	13	0,701
ungeputzt	103 (96/110)	13	100 (93/119)	13	0,382

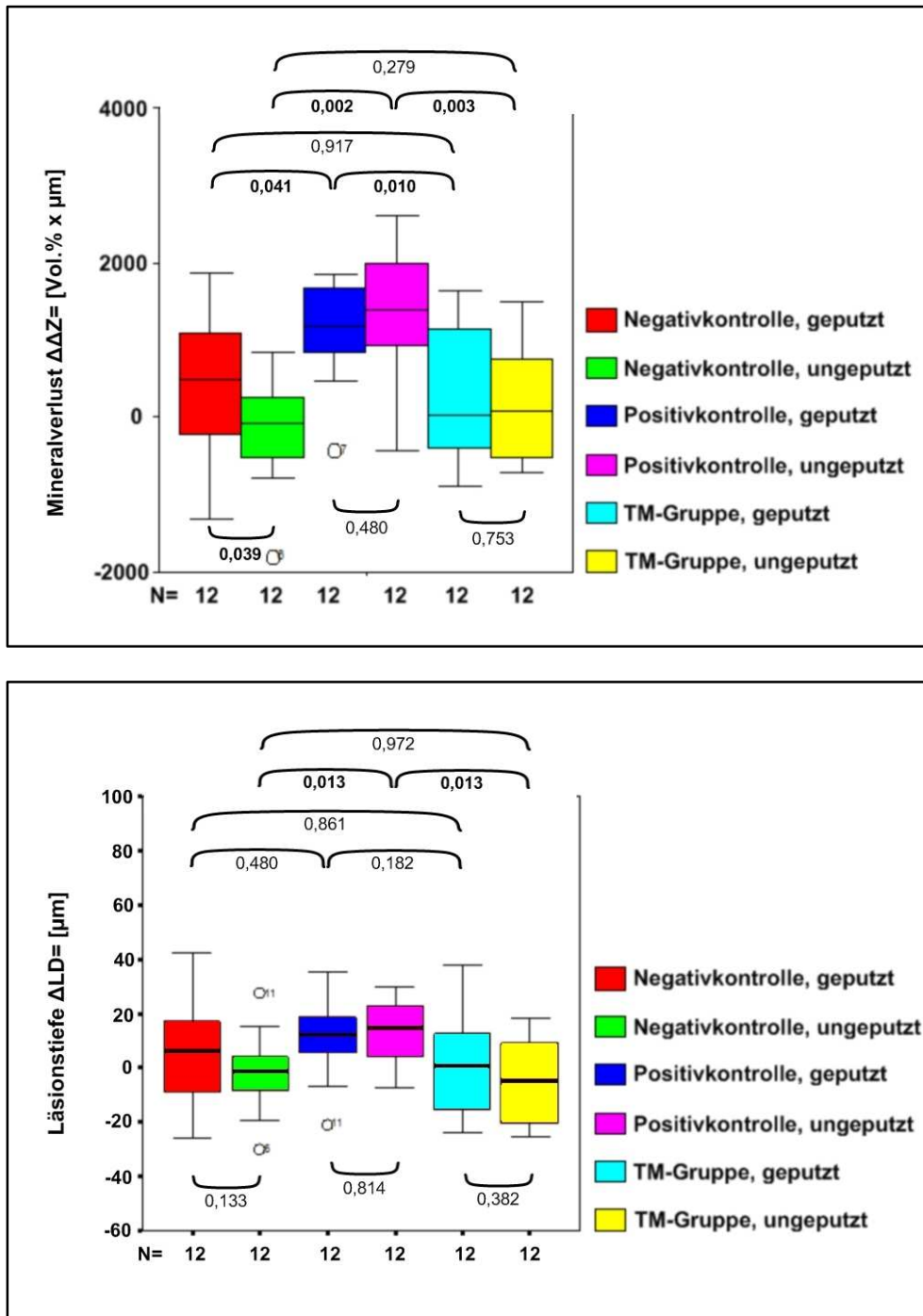
Angegeben ist jeweils der Median (25.Perzentil/75. Perzentil) vor und nach der In-situ-Phase (p-Werte basierend auf Wilcoxon Test. TM-Gruppe = Fluoridierte Zahnpasta + Tooth Mousse).

Hinsichtlich des Putzstatus konnte gezeigt werden, dass die geputzten gegenüber den ungeputzten Proben innerhalb der Negativkontrolle eine signifikant höhere Remineralisation erfuhren ( $p < 0,05$ ; siehe Abb. 14). Im Gegensatz dazu remineralisierten die ungeputzten Läsionen der Positivkontrolle etwas stärker als die geputzten. Dieser Unterschied war aber nicht signifikant ( $p > 0,05$ ). Die Ergebnisse der Testgruppe zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den vor Behandlung mit Tooth Mousse geputzten und ungeputzten Proben ( $p > 0,05$ ).

Zur internen Validierung des Modells sollte der Vergleich der Positivkontrolle mit der Negativkontrolle dienen. Es konnte für die fluoridierte Zahnpasta gegenüber der fluoridfreien Zahnpasta sowohl bei den geputzten, als auch für die ungeputzten Proben eine signifikant höhere Remineralisation gezeigt werden ( $p < 0,05$ ). Die Änderung der Läsionstiefen war bei diesem Vergleich nur für die ungeputzten Proben signifikant unterschiedlich.

Der Vergleich der Ergebnisse der experimentellen Gruppe mit denen der Negativkontrolle zeigte im Bukkalmodell unabhängig vom Putzstatus keinen signifikanten Unterschied ( $p > 0,05$ ).

Die Positivkontrolle zeigte dem gegenüber signifikant höhere Werte hinsichtlich der Remineralisation ( $p < 0,05$ ). Die prolongierte Wirkdauer von fluoridierter Zahnpasta führte somit bei geputzten und insbesondere bei ungeputzten Proben zu einem signifikant höheren Mineralgewinn als das Auftragen von Tooth Mousse. Jedoch wiesen nur die ungeputzten Proben der Positivkontrolle im Vergleich mit den ungeputzten Proben der Testgruppe auch eine signifikant höhere Reduktion der Läsionstiefen auf ( $p < 0,05$ ).



**Abb. 14:** Boxplots der Änderungen der Mineralverluste ( $\Delta\Delta Z$ ) und der Läsionstiefen ( $\Delta LD$ ) der sechs Gruppen (berücksichtigt sind die Faktoren Intervention und Putzstatus) beim Bukkalmodell. Die Boxen stellen die Werte innerhalb des 25. - 75. Perzentils, die Kreise Ausreißer dar. Gruppen, die sich nur hinsichtlich eines Faktors unterschieden wurden statistisch verglichen (Wilcoxon-Test). Das ‚N‘ berücksichtigt nur Probanden, bei denen alle Werte vorhanden waren.



## 5.2.2. Ergebnisse des Approximalmodells

**Tab. 11:** Mineralverluste der Proben des Approximalmodells vor (Baseline) und nach (Effekt) In-situ-Phase.

Gruppe	Baseline		Effekt		
	Mineralverlust [Vol.% x µm]	N	Mineralverlust [Vol.% x µm]	N	p
Negativkontrolle					
geputzt	4522 (4074/4838)	13	3822 (3103/3911)	13	<b>0,002</b>
ungeputzt	4466 (4155/4953)	13	4086 (3289/4697)	13	<b>0,046</b>
Positivkontrolle					
geputzt	4546 (4088/4979)	13	2851(2253/3697)	13	<b>0,001</b>
ungeputzt	4763 (4356/5211)	13	3059 (2411/3549)	13	<b>0,001</b>
TM-Gruppe					
geputzt	4549 (4028/5139)	12	3594 (3262/3838)	12	<b>0,002</b>
ungeputzt	4666 (4139/5136)	13	4069 (3781/4741)	13	0,133

Angegeben ist jeweils der Median (25.Perzentil/75. Perzentil) vor und nach der In-situ-Phase (p-Werte basierend auf Wilcoxon Test. TM-Gruppe = Fluoridierte Zahnpasta + Tooth Mousse).

Bei der Negativkontrolle des Approximalmodells zeigte sich sowohl bei den geputzten als auch bei den ungeputzten Proben eine signifikante Reduktion der Mineralverluste und Läsionstiefen nach In-situ-Exposition ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Test). Auch die Positivkontrolle zeigte unabhängig vom Putzstatus eine signifikante Remineralisation mit gleichzeitiger Reduktion der Läsionstiefen ( $p < 0,05$ ). Bei der Testgruppe zeigten geputzte und ungeputzte Proben eine signifikante Verringerung der Läsionstiefen, aber nur bei den geputzten Proben ging dies auch mit einem signifikanten Mineralgewinn einher ( $p < 0,05$ ).

**Tab. 12:** Läsionstiefen der Proben des Approximalmodells vor (Baseline) und nach (Effekt) In-situ-Phase.

Gruppe	Baseline		Effekt		
	Läsionstiefe [µm]	N	Läsionstiefe [µm]	N	p
Negativkontrolle					
geputzt	117 (97/123)	13	94 (89/98)	13	<b>0,005</b>
ungeputzt	114 (101/122)	13	94 (87/101)	13	<b>0,023</b>
Positivkontrolle					
geputzt	110 (102/119)	13	88 (81/92)	13	<b>0,001</b>
ungeputzt	113 (103/127)	13	91 (79/95)	13	<b>0,001</b>
TM-Gruppe					
geputzt	118 (106/121)	12	84 (80/97)	12	<b>0,003</b>
ungeputzt	114 (103/125)	13	106 (91/113)	13	<b>0,039</b>

Angegeben ist jeweils der Median (25.Perzentil/75. Perzentil) vor und nach der In-situ-Phase (p-Werte basierend auf Wilcoxon Test. TM-Gruppe = Fluoridierte Zahnpasta + Tooth Mousse).

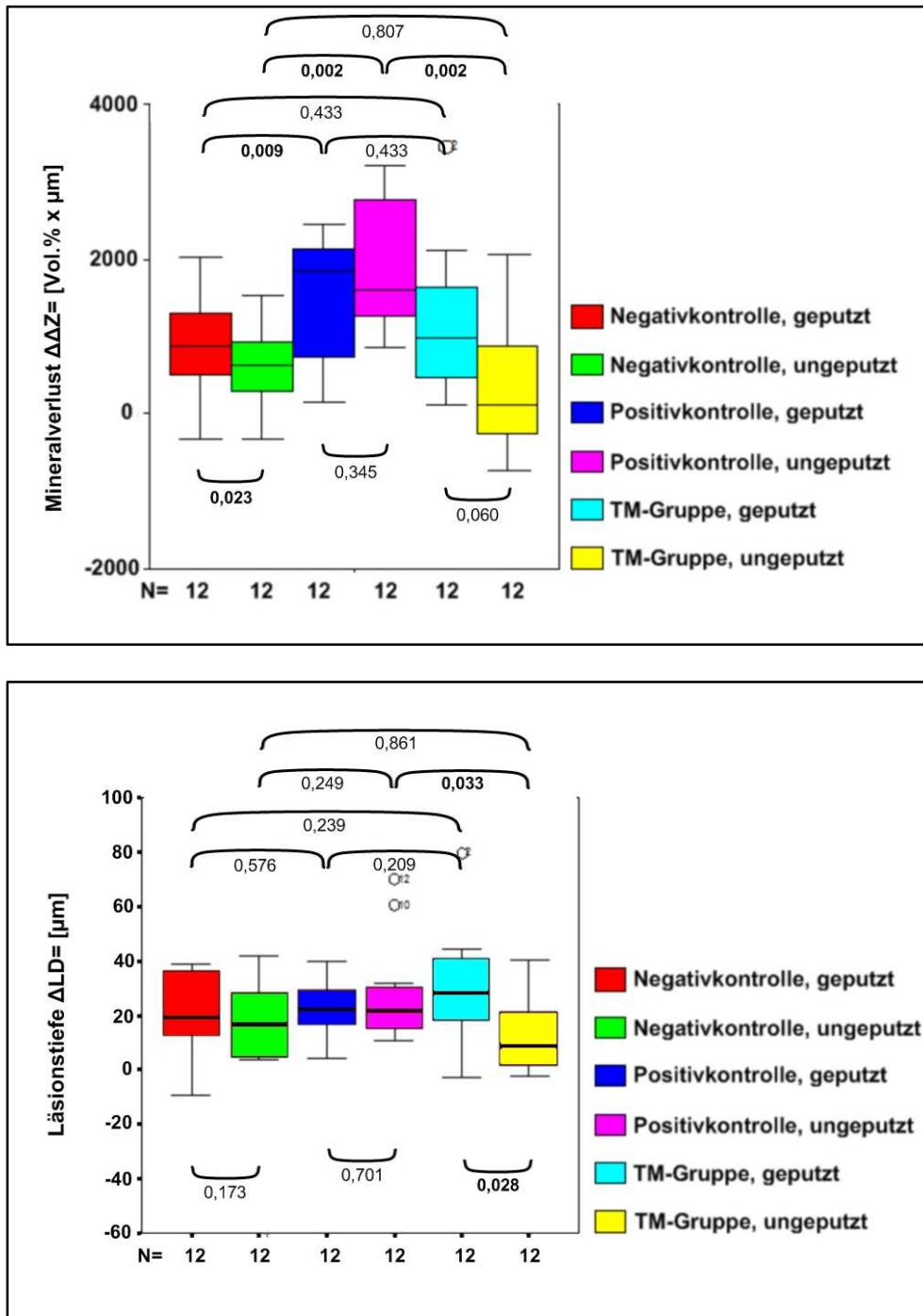
Insgesamt betrachtet liegen die Durchschnittswerte für die Remineralisation auf einem höheren Niveau als im Bukkalmodell. Gleichsam wie dort beschrieben, zeigen die geputzten Läsionen der Negativkontrolle einen höheren Mineralgewinn als die ungeputzten ( $p < 0,05$ ). Desweiteren zeigt auch das Approximalmodell tendenziell höhere Werte für die ungeputzten Proben innerhalb der Positivkontrolle. Dieses Ergebnis ist jedoch wie im Bukkalmodell nicht signifikant ( $p > 0,05$ ). Innerhalb der Testgruppe zeigten die geputzten Proben eine signifikant höhere Reduktion der Läsionstiefen gegenüber den ungeputzten ( $p < 0,05$ ; siehe Abb. 15). Diese ging aber nur mit einem tendenziell höheren Netto-Mineralgewinn für die geputzten Proben einher ( $p > 0,05$ ).

Zur internen Validierung des Modells sollte analog zum Bukkalmodell der Vergleich zwischen Positiv- und Negativkontrolle dienen. Die Ergebnisse zeigen nach vier wöchiger Exposition *in situ* eine signifikant höhere Remineralisation beim Putzen mit fluoridierter als mit fluoridfreier Zahnpasta ( $p < 0,05$ ). Ähnlich wie beim Bukkalmodell vergrößert sich der Unterschied hinsichtlich der Remineralisation, wenn die Proben nicht geputzt werden.

Der Vergleich der Ergebnisse der experimentellen Gruppe mit denen der Negativkontrolle zeigte wie im Bukkalmodell unabhängig vom Putzstatus keinen signifikanten Unterschied ( $p > 0,05$ ). Ebenfalls analog zeigten die ungeputzten Proben der Positivkontrolle signifikant höhere Netto-Mineralgewinne und Reduktionen der Läsionstiefen als die der Testgruppe ( $p < 0,05$ ).

Im Gegensatz zu den benannten Übereinstimmungen zwischen den beiden Modellen unterschieden sich die Ergebnisse der geputzten Proben der Tooth-Mousse-Gruppe im Vergleich approximal zu bukkal deutlich ( $p < 0,05$ ). Während im Bukkalmodell eine signifikant niedrigere Remineralisation gegenüber der Positivkontrolle gezeigt wurde, bestand dieser Unterschied im Approximalmodell nicht ( $p > 0,05$ ).

Mit Ausnahme der Proben der geputzten Tooth-Mousse-Gruppe waren die Proben, die sich in Bezug auf Produkt und Putzmodus nicht unterschieden, zwischen den Modellen nicht signifikant verschieden ( $p > 0,05$ ).



**Abb. 15:** Boxplots der Änderungen der Mineralverluste ( $\Delta\Delta Z$ ) und der Läsionstiefen ( $\Delta LD$ ) der sechs Gruppen (berücksichtigt sind die Faktoren Intervention und Putzstatus) beim Approximalmodell. Die Boxen stellen die Werte innerhalb des 25. - 75. Perzentils, die Kreise Ausreißer dar. Gruppen, die sich nur hinsichtlich eines Faktors unterschieden wurden statistisch verglichen (Wilcoxon-Test). Das ‚N‘ berücksichtigt nur Probanden, bei denen alle Werte vorhanden waren.

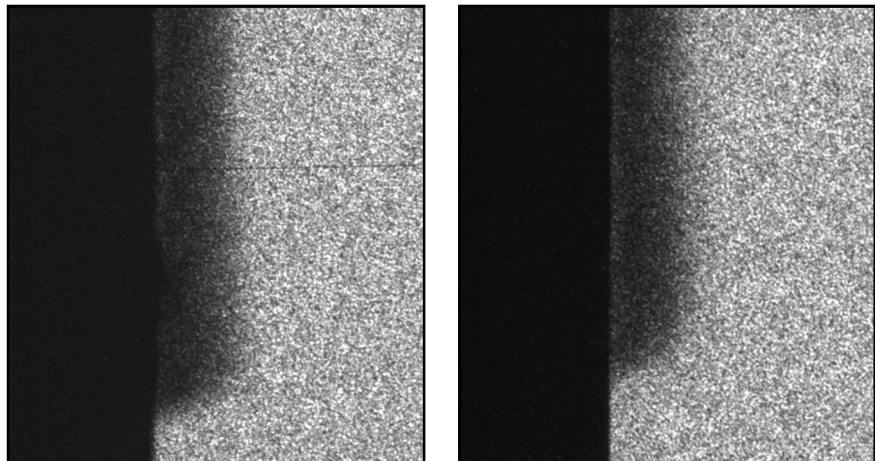
### 5.3. Qualitative Ergebnisse

Die Abbildungen 16 - 28 stellen repräsentative Beispiele für Proben aus den einzelnen Gruppen dar. Jeweils gezeigt wird die Läsion vor (links) und nach (rechts) Exposition *in situ*. Sofern im Text nicht anders beschrieben, liegen die Änderungen des Mineralverlustes und der Läsionstiefen im Bereich des Medians der Gruppe. Unterhalb der Läsion befindet sich auf den meisten Bildern ein Kontrollbereich, der weder *in vitro* noch *in situ* exponiert war. Einige Aufnahmen zeigen kleinere Artefakte. Diese Bereiche gingen nicht in die Auswertung ein.

#### 5.3.1. Bukkalmodell

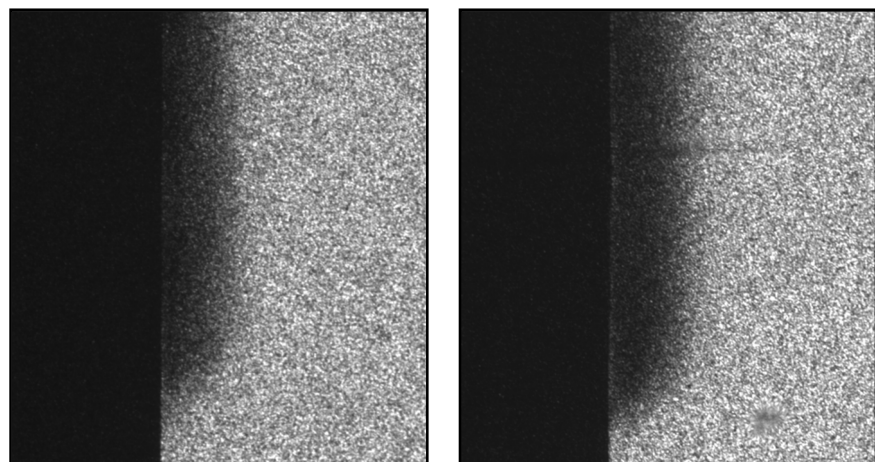
**Abb.16:**  
Negativkontrolle,  
geputzt. Die moderate  
Remineralisation um  
492 Vol.% x  $\mu\text{m}$  ist  
erkennbar. Die Base-  
line zeigt ein deutliches  
'Läsionsknie'.

	ML	LD
Baseline	6053	103
Effekt	5561	110



**Abb. 17:**  
Negativkontrolle,  
ungeputzt. Diese  
Gruppe zeigte als  
einzige eine Zunahme  
der Demineralisation. In  
diesem Beispiel um 870  
Vol.% x  $\mu\text{m}$ .

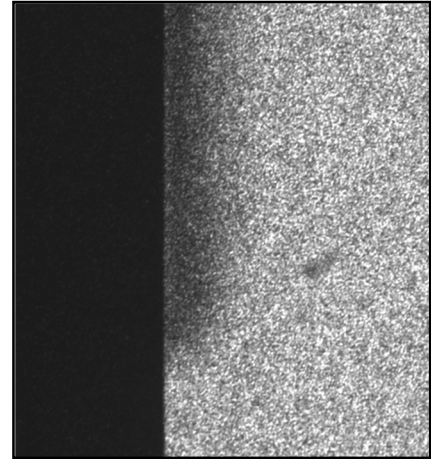
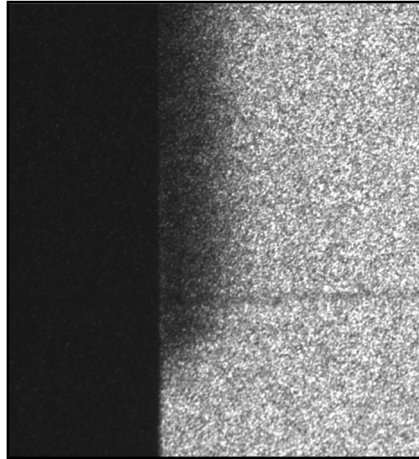
	ML	LD
Baseline	5460	104
Effekt	6330	121



**Abb. 18:**

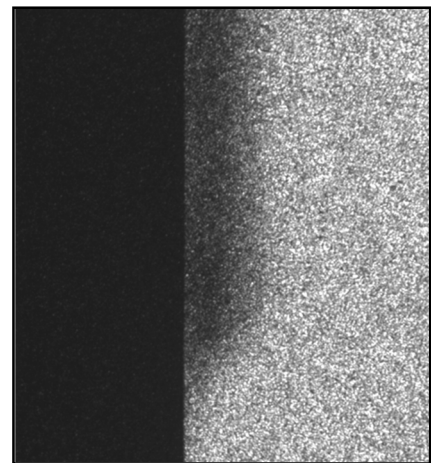
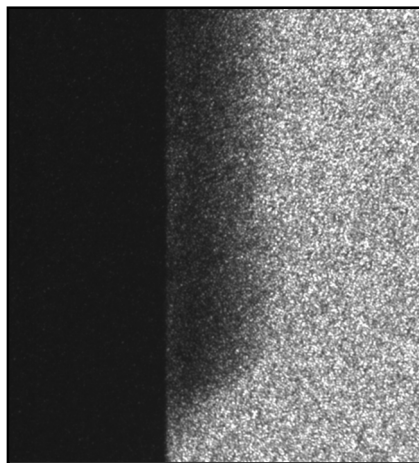
Positivkontrolle,  
geputzt. Die  
Remineralisation der  
Probe, insbesondere  
mit Bildung einer  
intakten Oberflächenschicht,  
ist gut  
sichtbar.

	ML	LD
Baseline	5713	115
Effekt	4582	103

**Abb. 19:**

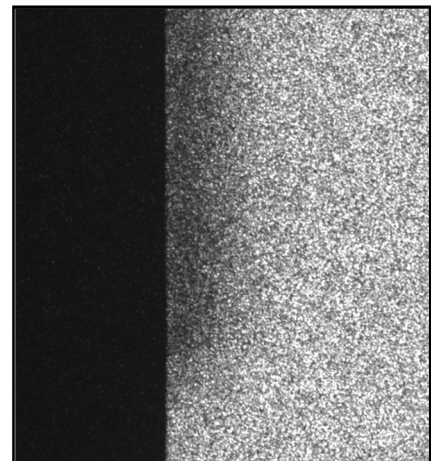
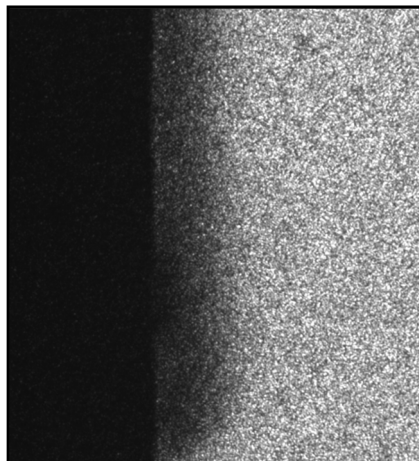
Positivkontrolle,  
ungeputzt. Die deutliche  
Remineralisation um 1279 Vol.% x  $\mu\text{m}$   
ist in allen Bereichen  
der Läsion erkennbar.

	ML	LD
Baseline	6873	120
Effekt	5594	125

**Abb. 20:**

Tooth-Mousse-Gruppe,  
geputzt. Diese Gruppe  
zeigte im Mittel eine  
geringfügige  
Remineralisation. In  
diesem repräsentativen  
Beispiel um 555  
Vol.%x $\mu\text{m}$ .

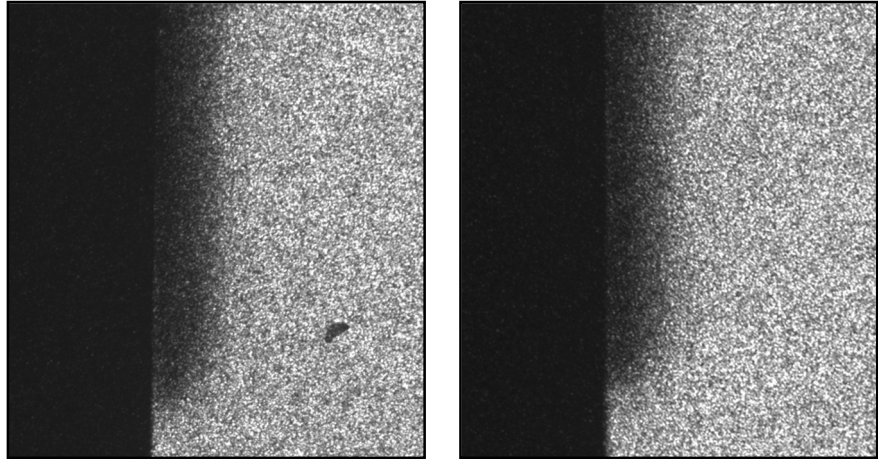
	ML	LD
Baseline	5290	110
Effekt	4735	115



**Abb. 21:**

Tooth-Mousse-Gruppe, ungeputzt. Läsionstiefe und Mineralverlust sind gegenüber der In-vitro-Demineralisation annähernd gleich geblieben.

	ML	LD
Baseline	5324	104
Effekt	5286	111

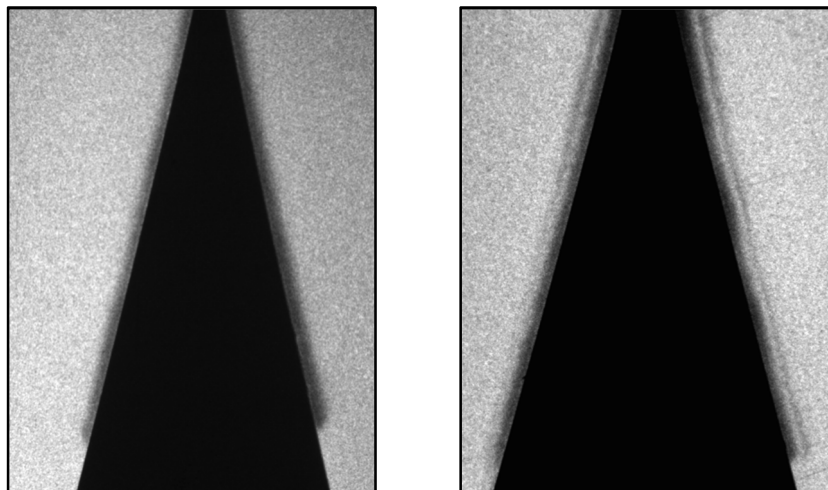


Nicht alle Läsionen wiesen nach Demineralisation eine stark hypermineralisierte Oberflächenschicht auf. Zur Messung korrekter Läsionstiefen, wurde die Sensitivität bei der Auswertung mittels TMR-Software entsprechend hoch eingestellt. Dies wurde über die Einstellung des Programmparameters ‚Zero Point‘ auf den Wert 5,0 erreicht (siehe Abschnitt 4.9). Darüber hinaus ist anhand des gleichzeitig dokumentierten Kontrollbereichs erkennbar, dass es bei den Läsionen, die in die Endauswertung mit einbezogen wurden, zu keiner Erosion der Oberfläche kam. Die Bestimmung von Mineralverlust und Läsionstiefe erfolgte letztendlich anhand von Ausschnitten aus dem oberen Drittel der hier dargestellten Bilder und nicht im durch Artefakte belasteten Bereich des ‚Läsionsknies‘ (vgl. Abb.11 und 12).

### 5.3.2. Approximalmodell

**Abb. 22:**

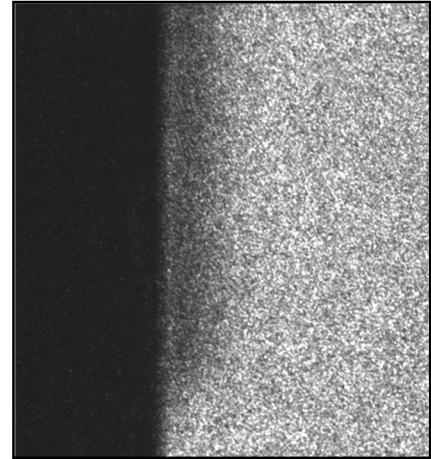
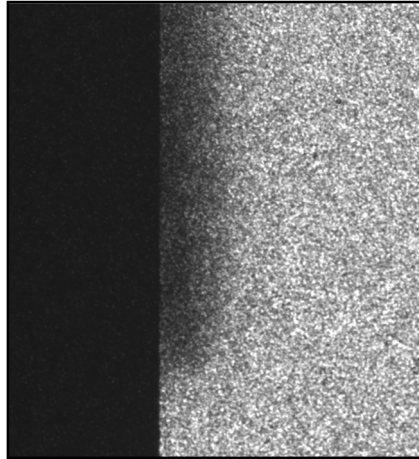
Repräsentative TMR-Aufnahmen des Approximalmodells bei 2,5 facher Vergrößerung. Vereinzelt traten bei der Negativkontrolle und in der Tooth-Mousse-Gruppe Hypermineralisationen in der Läsion auf (rechtes Bild).



**Abb. 23:**

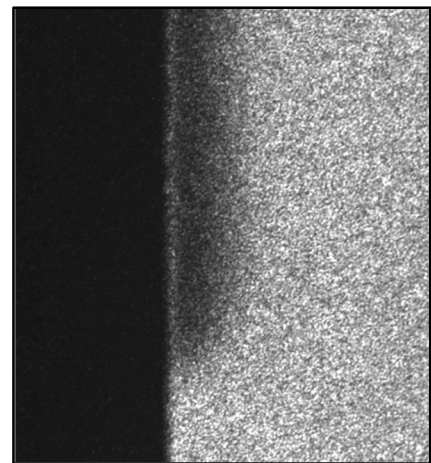
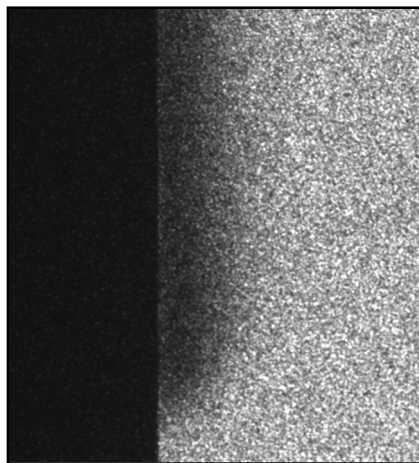
Negativkontrolle, geputzt. Läsionskörper und Oberflächenschicht zeigen einen höheren Mineralgehalt nach In-situ-Exposition.

	ML	LD
Baseline	4875	104
Effekt	4080	89

**Abb. 24:**

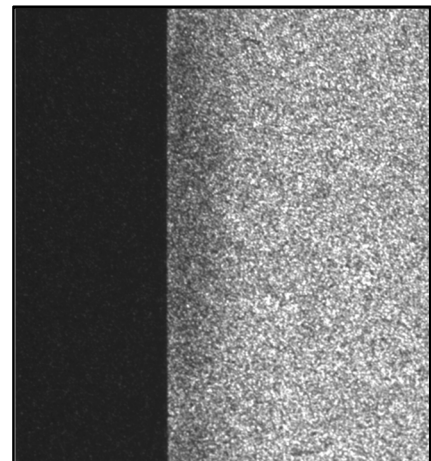
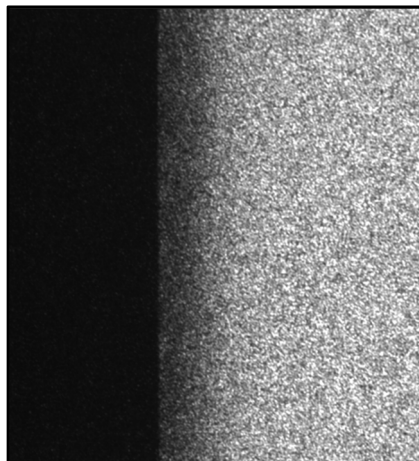
Interessanterweise remineralisierten im verwendeten Approximalmodell auch ungeputzte Proben, die keinerlei Fluorid ausgesetzt waren. In diesem Beispiel um 529 Vol.% $\mu\text{m}$ .

	ML	LD
Baseline	5817	139
Effekt	5288	114

**Abb. 25:**

Positivkontrolle, geputzt. Die Bilder zeigen eine Aufnahme aus der Mitte der Probe. Es imponiert eine deutliche Remineralisation um 1485 Vol.% $\mu\text{m}$ .

	ML	LD
Baseline	4662	111
Effekt	3177	90

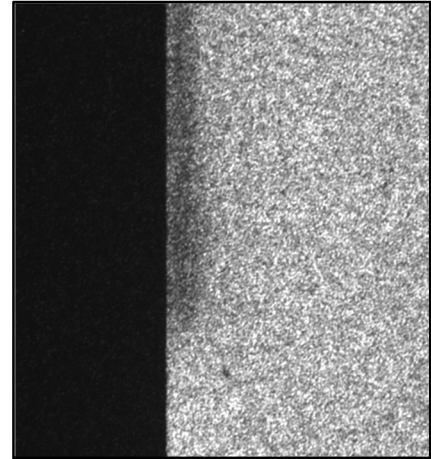
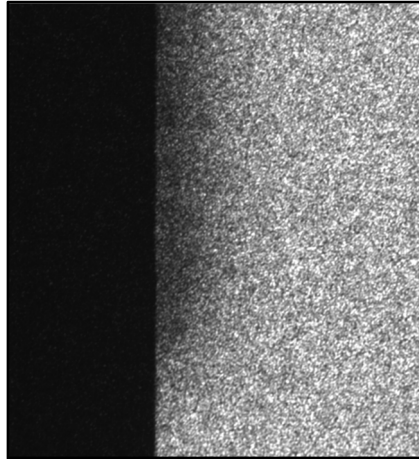




**Abb. 26:**

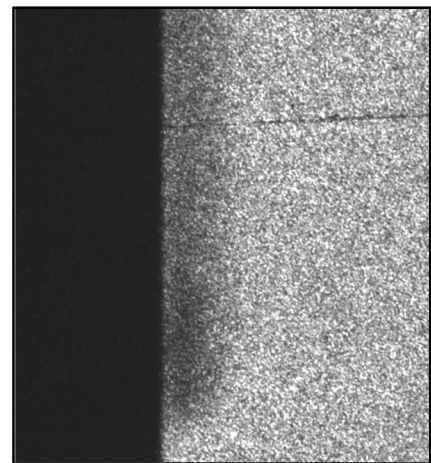
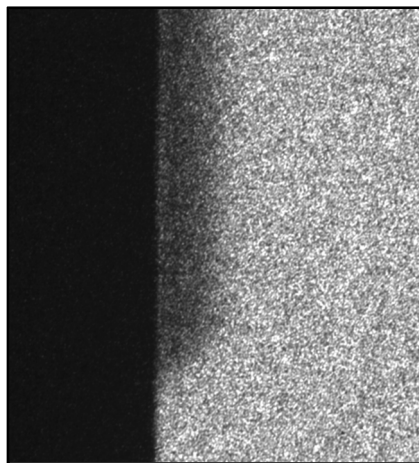
Die durchschnittlich größte Remineralisation zeigten die ungeputzten Proben der Positivkontrolle. Dieses überdurchschnittliche Beispiel zeigt auch eine Reduktion der Läsionstiefe um über 50%.

	ML	LD
Baseline	4816	119
Effekt	1995	49

**Abb. 27:**

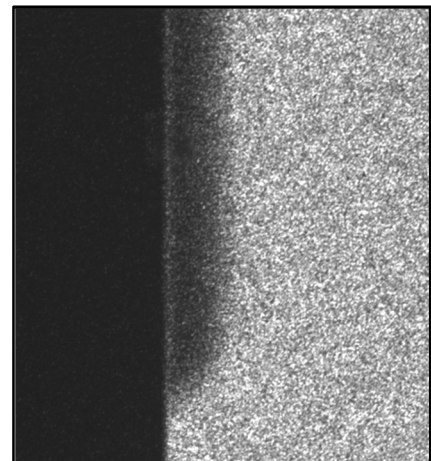
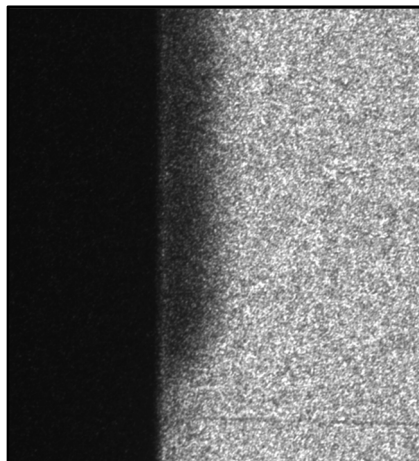
Tooth-Mousse-Gruppe, geputzt. Die gut erkennbare Remineralisation in diesem Beispiel (1500 Vol.% x  $\mu\text{m}$ ) liegt etwas über dem Durchschnitt der Gruppe (1169).

	ML	LD
Baseline	4409	93
Effekt	2909	82

**Abb. 28:**

Tooth-Mousse-Gruppe, ungeputzt. Im Gegensatz zu den geputzten Proben der selben Gruppe blieben die Ungeputzten nach vier Wochen in situ im Mittel auf dem Niveau der Baseline.

	ML	LD
Baseline	4427	89
Effekt	4083	75



## 6. Diskussion

### 6.1. Material und Methode

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss einer zur Remineralisation von Zahnhartsubstanzen empfohlenen Mousse auf bovine Schmelzproben *in situ* untersucht. Im Vergleich mit klinischen Studien können In-situ-Studien innerhalb relativ kurzer Zeit klinisch relevante Informationen liefern. Darüber hinaus können *in situ* exponierte Probekörper mit hoch sensitiven Methoden (z.B. TMR) ausgewertet werden, während bei klinischen Studien auf non-invasive Analyseverfahren zurückgegriffen werden muss (Zero 1995). Desweiteren ist eine (da extraoral erfolgte) hohe kariogene Substratzufuhr bei In-situ-Studien ethisch unbedenklich. Gleichwohl bestehen einige Nachteile gegenüber klinischen Studien. So ist zum einen bei In-situ-Experimenten die Probandenzahl aus technischen und personellen Gründen limitiert und zum anderen bleiben sie bei der Simulation des natürlichen Kariesprozesses immer nur Modelle. ZERO beschreibt in einem Übersichtsartikel mit vielen Empfehlungen zur Durchführung von In-situ-Studien, dass die maßgeblichen Gründe für die Variabilität von Ergebnissen biologischen Ursprungs und nicht durch das Design des Modells bedingt sein sollten (Zero 1995).

Um, diesen Empfehlungen folgend, möglichst viele Faktoren zu kontrollieren, wurden in der vorliegenden Studie viele bereits etablierte Methoden angewendet. Die Vorgehensweise zur Herstellung von Initialläsionen in Schmelzproben wurde vor über 20 Jahren entwickelt (BUSKES et al. 1985) und hat sich in mehreren Studien bewährt (MEYER-LUECKEL et al. 2007, PARIS & MEYER-LUECKEL 2010). Die Abrasion und Politur der Schmelzoberflächen mittels Schleifpapier vor In-vitro-Demineralisation sorgt zum einen für eine planparallele Oberfläche für die TMR-Auswertung und zum anderen für eine Abnahme der Variabilität der Demineralisationstiefe gegenüber unbehandelten Proben (FEATHERSTONE & ZERO 1992).

Die Verwendung von bovinen Schmelzproben gilt als eine legitime Alternative, die sogar Vorteile bietet, da diese aufgrund einer höheren Porosität in kürzerer Zeit demineralisieren können und durch eine uniformere Zusammensetzung die Variabilität der Ergebnisse insgesamt sinkt (Mellberg 1992). Darüber hinaus sind bovine Schmelzproben in sehr großer Stückzahl verfügbar und im Vergleich zu

menschlichen Weisheitszähnen grundsätzlich kariesfrei. Außerdem weisen sie eine größere Homogenität in Bezug auf Morphologie, Alter und ‚Fluoridhistorie‘ auf.

Bei der verwendeten Gassterilisation der Proben handelt es sich um eine für kariologische In-situ-Untersuchungen geeignete Methode, die die Ergebnisse der Studie nicht beeinflusst haben sollte (THOMAS et al. 2007b).

Alle in der Vergangenheit verwendeten In-situ-Modelle lassen sich ungeachtet ihrer Modifikationen von wenigen Ursprungsmodellen ableiten (Wefel 1990). Die meisten Forschungsgruppen bevorzugen herausnehmbare Apparaturen oder vorhandene Teilprothesen zur Befestigung der Probekörper, weil diese Vorteile bei der Reparaturfähigkeit und in Bezug auf die Behandlung der Proben durch die Probanden aufweisen. So ist eine Zuckereexposition, wie in dieser Studie, von insgesamt 60 min täglich nur bei herausnehmbaren Apparaturen vertretbar. In den In-situ-Studien zu CPP-ACP aus der Forschungsgruppe um REYNOLDS wurden generell herausnehmbare, palatinale Apparaturen verwendet (SHEN et al. 2001, REYNOLDS et al. 2003). Aufgrund der bereits gesammelten Erfahrung, der geringeren Manipulation durch die Zunge und der marginalen Beeinflussung der Phonetik wurde in der vorliegenden Studie eine bukkal gelagerte Apparatur verwendet, die in ihrer Form auf KOULOURIDES zurückgeht (KOULOURIDES et al. 1974). Diese Art der Apparatur wurde bereits in der Fluoridforschung (ATTIN et al. 2007, MEYER-LUECKEL et al. 2007) und in einer Studie zu CPP-ACP (SCHIRRMEISTER et al. 2007) verwendet. Neben der generellen Form hat die Lokalisation der Proben in der Apparatur signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse. Bukkal lokalisierte Proben können in eine Ebene mit dem umgebenden Kunststoff gebracht oder vertieft eingelassen werden, wodurch sich die Plaqueanlagerung erhöht und prinzipiell eine höhere Demineralisation zu erwarten ist (MEYER-LUECKEL et al. 2007). In der vorliegenden Studie wurde auf eine Vertiefung oder Bedeckung der Proben mit Gaze verzichtet, so dass dieses Modell am ehesten den Glattflächen der Zähne entspricht, die den Selbstreinigungskräften der Mundhöhle zugänglich sind.

Während derartige Modelle mit oberflächlich angeordneten Proben in der Literatur häufig zu finden sind, wurden dem gegenüber wesentlich seltener Modelle zur Simulation von Zahnzwischenräumen beschrieben. Mehrere Studien nutzten in diesem Sinne vorhandene Teil- (DUNIPACE et al. 1997) oder Totalprothesen (SJOGREN et al. 1995, THOMAS et al. 2007a). Voraussetzung ist hier das Fehlen mehrerer oder aller Zähne. Das vorliegende Apparaturdesign für Probanden mit vollständiger

Dentition ähnelt eher dem von LENNON (LENNON et al. 2007). Die Anordnung der Proben orientiert sich vielmehr an dem Design von THOMAS (THOMAS et al. 2007a). Das zusätzliche Putzen mit einem Interdentalraumbürstchen *in situ* stellt dagegen nach unserem Kenntnisstand ein Novum dar.

Von großer Wichtigkeit ist, dass bei der Planung und Durchführung jeder In-situ-Studie, alle die Compliance beeinflussenden relevanten Aspekte kontrolliert werden. Mangelhafte Compliance einzelner Probanden kann einen bedeutenden Effekt auf die Gesamtergebnisse haben (Zero 1995). In der vorliegenden Studie wurde auf diesen generellen Nachteil von In-situ-Experimenten Rücksicht genommen, indem die Apparaturen so grazil wie möglich angefertigt und die Dauer der einzelnen In-situ-Phasen auf 28 Tage begrenzt wurden. Eine In-situ-Exposition von nur 14 Tagen wie in anderen Studien zu CPP-ACP (SHEN et al. 2001, CAI et al. 2009) halten die Initiatoren dieser Studie dagegen für zu kurz, um den Einfluss aller natürlich ablaufenden Prozesse auf die Ergebnisse zu gewährleisten. Darüber hinaus wurde die Compliance der Probanden mittels wiederholter Instruktion und Motivation sowie durch das Führen eines Ernährungs- und Trageprotokolls erhöht.

Für die Auswahl der Studienteilnehmer gibt es unterschiedliche Herangehensweisen. So wird von manchen Autoren gefordert, dass die Teilnehmer repräsentativ für den Querschnitt der Bevölkerung der Bevölkerung sein sollten. ZERO (1995) gibt allerdings zu bedenken, dass die erhöhte biologische Variabilität in In-situ-Studien zu präventiven Maßnahmen möglicherweise dazu führen kann, dass im Ergebnis zwischen experimentellen und Kontrollgruppen kaum noch unterschieden werden kann (Zero 1995). In der vorliegenden Studie wurden Probanden mit einer hohen Compliance und geringerer Variabilität in Bezug auf Kariesaktivität, fehlende Zähne und Speichelflussrate ausgewählt (vgl. Tab. 3). Die Zusammensetzung des Teilnehmerfeldes ähnelte dem aus anderen CPP-ACP-Studien (CAI et al. 2009, WALKER et al. 2010).

Vor jeder In-situ-Periode absolvierten die Probanden eine einwöchige Auswaschphase, um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch das Interventionsprodukt der vorhergehenden Periode auszuschließen. Der Zeitraum von einer Woche wurde auch in anderen Studien zu CPP-ACP als ausreichend angesehen (WALKER et al. 2010).

Die erfolgte Auswertung der Proben mittels Dünnschlifftechnik, anschließender transversaler Mikroradiographie und Software gestützter mikrodensiometrischer

Analyse ist die etablierteste Methode (Goldstandard) für die Quantifizierung von Änderungen des Mineralgehalts von Initiailläsionen (Zero 1995). Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch eine Änderung des Verhaltens der Probanden oder den betreuenden und auswertenden Untersucher auszuschließen, wurde diese Studie im doppelblinden Design durchgeführt.

Die in dieser Studie gewählte Zusammensetzung der Interventionsgruppen diente zum einen dem Vergleich der remineralisationsfördernden Wirkung von Tooth Mousse zusätzlich zur Verwendung von fluoridierter Zahnpasta gegenüber der alleinigen Verwendung dieser Zahnpasta mit einer verlängerten intraoralen Verweildauer derselben. Zum anderen diente die Negativkontrolle der internen Validierung des Modells und erlaubte eine kontextgerechte Einordnung der Ergebnisse der anderen Gruppen. Die Verwendung von fluoridfreier Zahnpasta als ‚Mousse‘ in der Negativkontrolle, anstatt einer ‚echten‘ Placebomousse (Tooth Mousse ohne CPP-ACP) erfolgte aufgrund der Erkenntnisse einer In-vitro-Studie zum Einfluss von Carboxymethylcellulose (CMC) auf Schmelz, CMC ist ein wesentlicher Inhaltsstoff von Tooth Mousse, der die Mineralisation beeinflussen könnte. Die genannte Studie kommt zu dem Ergebnis, dass Zellulosen den Remineralisationsprozess in Abhängigkeit von der Kalziumkonzentration beeinflussen können (MEYER-LUECKEL et al. 2010a) und somit eine Neutralität einer potentiellen Placebomousse nicht gewährleistet wäre. Ein ähnlicher Einfluss der verwendeten unfluoridierten Zahnpasta, die ähnliche Verdickungsmittel wie CMC enthielt, wird aufgrund der niedrigeren Viskosität im Vergleich zur Mousse geringer eingeschätzt. Ebenfalls denkbar wäre ein vollständiger Verzicht auf eine ‚Mousse‘ in der Negativkontrolle gewesen. Dies hätte jedoch zu einer Aufhebung der Verblindung der Probanden geführt. Aus den genannten Gründen wurde keine der beiden denkbaren Gruppen (fluoridierte Zahnpasta + Placebomousse / fluoridierte Zahnpasta + kein Mousse) ausgewählt.

## 6.2. Ergebnisse

Die Zielparmeter der vorliegenden Studie bei der Auswertung der Proben waren Mineralverlust und Läsionstiefe vor und nach Exposition *in situ*. In den meisten Gruppen gingen signifikante Änderungen des Mineralverlustes mit ebensolchen der Läsionstiefe einher. Dass dies jedoch nicht in allen Gruppen der Fall war, lässt darauf schließen, dass sich ein Netto-Mineralgewinn nicht bis in die Tiefe einer Läsion auswirken muss. Analog kann eine Reduktion der Läsionstiefe auch durch Umverteilungen innerhalb der Läsion und nicht primär durch eine Remineralisation der gesamten Läsion bedingt sein. Eine aktuelle Studie konnte in diesem Zusammenhang zeigen, dass auch die Verteilung des verbliebenen Minerals innerhalb einer Läsion bei der Baseline einen direkten Einfluss auf die Remineralisation *in situ* hat (LIPPERT et al. 2011). Aus zahlreichen Studien unserer und anderer Arbeitsgruppen wird allerdings ersichtlich, dass der Mineralverlust die sensitivere und zuverlässigere Zielvariable darstellt, so dass diese für die Darstellung der Zusammenfassung der Ergebnisse gewählt wurde.

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass der Effekt des Putzens bei Verwendung von fluoridfreier Zahnpasta zu einer signifikant höheren Remineralisation gegenüber den ungeputzten Schmelzproben führte. Da dieses Ergebnis auch bei dem approximalen Modell beobachtet werden konnte, bei dem die Zahnpasta (nach Putzen der Bukkalproben) abgespült und die Proben erst im Anschluss mit einem Zahnzwischenraum-Bürstchen gereinigt wurden, kann hieraus geschlussfolgert werden, dass die Bürste und nicht die Zahnpasta für einen wesentlichen Teil des ‚Putzeffektes‘ verantwortlich ist. Diese Ergebnisse der Negativkontrolle stützen die Hypothese, dass die regelmäßige mechanische Plaqueentfernung zu einer signifikant höheren Remineralisation führt.

Innerhalb der Positivgruppe zeigte sich dagegen in beiden Modellen ein tendenziell, aber nicht statistisch signifikanter höherer Mineralgewinn bei den ungeputzten Proben. Dieses Ergebnis steht der Hypothese entgegen, dass die Plaqueentfernung in allen Gruppen zu einer höheren Remineralisation führt und lässt darauf schließen, dass Fluoride auch bei etablierter Plaque in der Lage sind eine Remineralisation und Reduktion der Läsionstiefe zu induzieren. Eventuell könnte eine niedrig kariogene Plaque die Remineralisation sogar fördern. Es ist seit längerem bekannt, dass Plaque Fluoride in ihrer Matrix speichert und auf diese Weise die Fluorid-Clearance durch den Speichel verringert ist. Diese erhöhte Fluoridkonzentration nach

Anwendung topischer Fluoride kann bis zu 12 Stunden andauern (ZERO et al. 1992, PESSAN et al. 2008), während die Konzentration im Speichel schneller zu ihrem Ausgangswert zurückkehrt.

Die interne Validierung des Modells der Studie fand über den Vergleich zwischen einer fluoridfreien Zahnpasta mit Auftragen von fluoridfreiem ‚Mousse‘ (mit Zahnpasta identisch) und einer fluoridhaltigen Zahnpasta mit prolongierter Verweildauer ‚ebenfalls als ‚Mousse‘ verwendet, (jeweils 1400 ppm) statt. Die Ergebnisse zeigten eine signifikant höhere Remineralisation der Positivkontrolle sowohl im Bukkalmodell als auch im Approximalmodell. Die quantitativen Unterschiede zwischen Positiv- und Negativkontrolle waren bei den ungeputzten Proben am größten. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit In-situ-Experimenten (MELLBERG et al. 1992), klinischen Studien (Reed 1973) und systematischen Reviews (TWETMAN et al. 2003), die ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen fluoridfreier und fluoridhaltiger Zahnpasta feststellen konnten.

Nach vierwöchiger In-situ-Exposition remineralisierten die Proben aller Gruppen des Approximalmodells (auch die Negativkontrolle). Dieses Ergebnis ist insofern interessant, als dass in einer anderen dreimonatigen In-situ-Studie mit einem approximalen Modell, in der die Proben mit fluoridierter Zahnpasta in Kontakt kamen, eine Demineralisation gemessen wurde (SJOGREN et al. 1995). Diese Studie unterscheidet sich allerdings in Bezug auf Studiendauer, Probandenkollektiv, Anzahl und Vorbehandlung der Proben erheblich von der vorliegenden Studie, weshalb die Vergleichbarkeit eingeschränkt ist.

Eine Studie mit einem ähnlichen approximalen Modell wie in der vorliegenden Untersuchung über 28 Tage fand für geputzte Proben in Kombination mit fluoridfreier Zahnpasta und einer Placebo-Mundspülösung zumindest eine geringe Remineralisation von 51 (72) Vol.% x  $\mu\text{m}$ . Wurde stattdessen zwei Mal täglich mit einer fluoridhaltigen Mundspüllösung (250 ppm) gespült, remineralisierten die Läsionen mit  $\Delta Z = 572$  (79) Vol.% x  $\mu\text{m}$  signifikant stärker (ALTENBURGER et al. 2007). Diese Ergebnisse weisen in Bezug auf den Unterschied zwischen Negativ- und Positivkontrolle in dieselbe Richtung wie die der vorliegenden Studie, in der sich die Kontrollgruppen ebenfalls signifikant voneinander unterschieden ( $p < 0,01$ ). Dennoch ist der Mineralgewinn beider Gruppen, insbesondere der Positivkontrolle, im Vergleich mit anderen Studien, aber auch im Vergleich mit dem Bukkalmodell dieser

Studie relativ hoch. Diese Beobachtung könnte dadurch erklärt werden, dass die spezielle Morphologie des ‚Approximalkontaktes‘ in Kombination mit dem topischen Auftragen von fluoridhaltigem Mousse eine relativ lange Retention der Paste und somit eine protrahierte Fluorideinwirkung induzierte. Annäherungsweise wäre dieser Effekt mit dem Verbleiben von fluoridierter Zahnpasta in der Mundhöhle vergleichbar, wenn nach dem Putzen nur ein ‚Ausspucken‘ und kein ‚Ausspülen‘ erfolgt. In einer Studie zu dieser Problematik kam es unter dieser Maßnahme zu einer länger anhaltenden approximalen Plaque- und Speichelfluoridkonzentration (NORDSTROM & BIRKHED 2009). Auch zusätzliches Spülen mit einem Zahnpasta-Wasser-Gemisch verringerte gegenüber reinem Wasser die Demineralisation *in situ* (SJOGREN et al. 1995).

Darüber hinaus können die Ergebnisse gegebenenfalls mit den Ausgangswerten nach In-vitro-Demineralisation vor In-situ-Exposition erklärt werden. (ten Cate 1994). SCHÄFER ET AL. zeigten, dass Läsionen mit niedrigem Mineralverlust bei der Baseline im Vergleich stärker demineralisierten als solche mit höherem Mineralverlust (SCHAFER et al. 1992). Dementsprechend zeigte eine Studie mit in Teilprothesen integriertem approximalem Modell, dass stärker demineralisierte Läsionen dazu tendierten, unabhängig von der Art der Behandlung, stärker zu remineralisieren (DUNIPACE et al. 1997). Die maximalen Baseline-Werte des Mineralverlustes betragen in letztgenannter Studie unter 3000 Vol.% x  $\mu\text{m}$ , während schon der Mittelwert der Baseline in der vorliegenden Studie 4718 Vol.% x  $\mu\text{m}$  betrug.

Auch in CPP-ACP-Studien mit vorteilhaftem Ergebnis für diesen Wirkstoff gegenüber den Kontrollen wurden zumeist Proben mit kleineren Läsionen verwendet, etwa in der Größenordnung von 2000 Vol.% x  $\mu\text{m}$  (CAI et al. 2009) oder 3300 Vol.% x  $\mu\text{m}$  (WALKER et al. 2010). Die abweichenden Ergebnisse könnten also teilweise auf den unterschiedlichen Läsionsgrößen vor In-situ-Exposition beruhen. Unter Berücksichtigung der oben genannten Studien ließe sich folgern, dass die Remineralisation bei weniger stark demineralisierten Ausgangsläsionen auch im vorliegenden Modell geringer ausgefallen wäre.

Die Ausgangshypothese, dass die Proben des Approximalmodells in allen drei Behandlungsgruppen eine signifikant geringere Remineralisation im Vergleich zu denjenigen des Bukkalmodells zeigen, muss zumindest unter den Bedingungen dieser Studie zurückgewiesen werden. Die oben genannten Erläuterungen zur Morphologie des Approximalkontakts und den Läsionstiefen nach Demineralisation,



sowie die Bildung einer anscheinend nur geringfügig kariogenen Plaque liefern Erklärungsansätze für dieses interessante Ergebnis.

Die Haupthypothese der Studie war, dass die Behandlung mit dem Präparat der Negativkontrollen zu einer signifikant geringeren Remineralisation im Vergleich zu Test- und Standardvorgehen führt. Für das Standardvorgehen (Positivkontrollgruppe) kann die Haupthypothese, wie oben beschrieben, nicht widerlegt werden. Im Gegensatz dazu konnte in der experimentellen Gruppe keine signifikant höhere Remineralisation im Vergleich zur Negativkontrolle gezeigt werden. Dies war für die geputzten und ungeputzten Proben beider Modelle der Fall.

Darüber hinaus wurde die Hypothese aufgestellt, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Testprodukt (GC Tooth Mousse) und dem bisherigen Standard (fluoridhaltige Zahnpasta) hinsichtlich der Remineralisation von Zahnschmelz *in situ* bestehen. Die gefundenen Ergebnisse stützen diese Hypothese nur im Hinblick auf die geputzten Proben des Approximalmodells. Die Anwendung des Testprodukts führte in allen anderen Gruppen zu einer signifikant niedrigeren Remineralisation als das Auftragen von fluoridhaltiger Zahnpasta.

Keinen relevanten Einfluss auf diese Ergebnisse hat nach Meinung des Autors der etwas unterschiedliche Verbrauch der Präparate (siehe Tab. 6). Da bei Testvorgehen und Positivkontrolle dieselbe fluoridhaltige Zahnpasta verwendet wurde, erscheinen die Differenzen eher zufällig.

Die Ergebnisse für das Testvorgehen stehen nicht im Einklang mit bisherigen *in situ*-Studien. Hier wurde wiederholt eine höhere Remineralisation von CPP-ACP-haltigen Produkten gegenüber Kontrollgruppen aufgezeigt (SHEN et al. 2001, IJIMA et al. 2004, CAI et al. 2009, WALKER et al. 2010). In diesen Studien wurde der Wirkstoff allerdings in Kaugummis oder Lutschpastillen und nicht in eine ‚Mousse‘ inkorporiert. Desweiteren wurden die Präparate nicht gegen Kontrollgruppen mit Fluorid getestet und die *in situ*-Phase betrug jeweils maximal 14 Tage. Möglicherweise ergibt sich durch diese kurze Verweildauer der Proben in der Mundhöhle ein Zerrbild, da die Zeitspanne optimal auf das Testprodukt ausgerichtet sein könnte, die Möglichkeiten der natürlichen Remineralisation durch den Speichel aber gleichzeitig nicht ausgeschöpft werden (NEUHAUS & LUSSI 2009). Desweiteren konnte eine klinische Studie zur Remineralisation von ‚White Spots‘ (BAILEY et al. 2009) im Gegensatz zur vorliegenden Studie zwar eine höhere Anzahl an ‚Regressionen‘ von Tooth Mousse

ohne Fluorid gegenüber eine Placebomousse zeigen, jedoch bedeutete dies lediglich, dass nach einem Zeitraum von 12 Wochen eine signifikant stärkere Inaktivierung der aktiven, meist unkavitierten kariösen Läsionen stattfand. Die ICDAS-Stadien veränderten sich aber in beiden Gruppen kaum, das heißt die Läsionen waren nach der Behandlung immer noch sichtbar.

Insgesamt zeigt die vorliegende Studie für die Anwendung von CPP-ACP in Pastenform keine Vorteile gegenüber dem längeren Belassen von fluoridhaltiger Zahnpasta in der Mundhöhle. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit einer klinischen Studie, die ebenfalls keine Überlegenheit von Tooth Mousse ohne Fluorid in Kombination mit fluoridierter Zahnpasta im Vergleich zur alleinigen Anwendung dieser Zahnpasta feststellen konnte (BROCHNER et al. 2010).

Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse der experimentellen Gruppe der vorliegenden Studie trotz der Verwendung von fluoridhaltiger Zahnpasta vor dem Auftragen der Mousse keine signifikant höhere Remineralisation als die der Placebo-Gruppe. Eine Erklärung dieses erstaunlichen Ergebnisses könnte der Mechanismus des Bindungsvermögens des CPP-ACP-Komplexes mit Fluoriden bieten (CROSS et al. 2005). Fluoride können potentiell mit dem Komplex interagieren, wobei eine Präzipitationen in Form von Kalziumfluorid chemisch anzunehmen ist (AZARPAZHOOH & LIMBACK 2008). Die zuvor auf die Zahnoberfläche aufgebrachten Fluoride könnten somit in der Mousse gebunden vorliegen. Da die Mousse nach dem Auftragen sukzessive verschluckt wird, könnte sich theoretisch die Fluoridclearance gegenüber dem Zähneputzen ohne Mousseauftrag sogar erhöhen. Hierdurch können die Ergebnisse der vorliegenden Studie teilweise erklärt werden.

Jedoch unterschieden sich die Ergebnisse zwischen den Modellen. Die geputzten Proben der Tooth-Mousse-Gruppe zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen Bukkal- und Approximalmodell. Im Bukkalmodell änderte sich der Median der Mineralverluste für die geputzten Proben nicht signifikant. Dem gegenüber remineralisierten zumindest die geputzten Proben im Approximalmodell deutlich. In Bezug auf die oben beschriebene Hypothese wäre es denkbar, dass die Fluoridclearance bei den bukkal lokalisierten Proben im Vergleich nochmals erhöht war, da die exponierte Lage ein schnelleres ‚Verschlucken‘ förderte, während die Morphologie des approximalen Modells eine verlängerte Retention der Mousse und somit des Fluorids bedingte.

Einige neuere Studien konnten eine verbesserte Remineralisationswirkung von Mundspüllösungen und Pastenpräparaten zeigen, wenn CPP-ACP nicht allein, sondern mit Fluoriden kombiniert vorlag (COCHRANE et al. 2008, SRINIVASAN et al. 2010). Eine Studie zeigte auch die Überlegenheit einer solchen Rezeptur mit 1100 ppm Fluorid gegenüber einer Zahnpasta mit gleicher Fluoridkonzentration (REYNOLDS et al. 2008). Im Gegensatz dazu konnte in einer klinischen Studie zu ‚White Spots‘ nach kieferorthopädischer Behandlung kein Unterschied hinsichtlich der Remineralisation zwischen Tooth Mousse mit Fluorid und einer fluoridfreien Kontrollpaste gezeigt werden (BEERENS et al. 2010).

In der vorliegenden Studie wurde Tooth Mousse ohne Fluorid nach dem Putzen mit fluoridierter Zahnpasta angewendet. Wäre stattdessen Tooth Mousse mit Fluorid verwendet worden, ist anzunehmen, dass kein signifikanter Unterschied gegenüber der prolongierten Verweildauer von fluoridierter Zahnpasta zu beobachten gewesen wäre. Die CPP-ACP-Cluster dürften in solchen Präparaten bereits mit Fluoriden gesättigt sein, so dass keine weitere Aufnahme entsprechend der oben genannten Erläuterungen erfolgt. Dies hätte bedeutet, dass wesentliche Wirkungen des zu untersuchenden Wirkstoffs CPP-ACP nicht zum Tragen gekommen wären.

Insgesamt zeigen die vorliegenden Daten für GC Tooth Mousse ohne Fluorid eine zweifelhafte Kosten-Nutzen-Effizienz, da eine 40 g Tube ca. 20 € kostet. Die Hypothese, dass die Verfügbarkeit von Kalzium- und Phosphationen der limitierende Faktor bei der Remineralisation sein könnte (Reynolds 2009) muss für das Probandenkollektiv unter den Bedingungen dieser Studie abgelehnt werden. In diesem Zusammenhang wären klinische Studien an Patienten mit Xerostomie, bei denen ein tatsächlicher Mangel an remineralisierendem Speichel vorliegt, wünschenswert.

## 7. Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die verwendeten Modelle (approximal und bukkal) in der Lage sind, einen signifikant höheren Mineralgewinn bei der Verwendung von fluoridhaltiger gegenüber einer fluoridfreien Zahnpasta zu generieren. Dieses Ergebnis, das im Einklang mit der beschriebenen Literatur steht, erlaubt es aus diesen Modellen Aussagen zum Remineralisationspotential anderer Wirkstoffe zu treffen.

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass eine regelmäßige mechanische Plaqueentfernung bei der Verwendung von fluoridfreier Zahnpasta zu einer signifikant höheren Remineralisation führte. Dass bei Anwendung fluoridierter Zahnpasta und verlängerter intraoraler Verweildauer derselben kein signifikanter Unterschied zwischen geputzten und ungeputzten Proben gezeigt werden konnte, spricht für die gute Wirksamkeit von Fluoridpräparaten bei der Kariesprävention.

Das verwendete Approximalmodell als Plaqueretentionsmodell zeigte im Vergleich zum Bukkalmodell nicht wie erwartet eine signifikant niedrigere, sondern eine tendenziell höhere Remineralisation. Bei gewünschter Simulation einer Kariesprädelektionsstelle wären demzufolge für zukünftige Studien Modifikationen des beschriebenen Modells notwendig.

Die Anwendung von Tooth Mousse ohne Fluorid in Kombination mit fluoridhaltiger Zahnpasta führte zu keiner signifikant höheren Remineralisation im Vergleich zur Verwendung und verlängerter Retention von fluoridfreier Zahnpasta. Die verlängerte Anwendung von fluoridhaltiger Zahnpasta (sozusagen als ‚Mousse‘) führte im Vergleich zur zusätzlichen Verwendung von Tooth Mousse ohne Fluorid zu fluoridierter Zahnpasta zu einer signifikant höheren Remineralisation.

Demzufolge kann nach den Daten der vorliegenden Arbeit eine zusätzliche Anwendung von fluoridfreiem GC Tooth Mousse zur Remineralisation von initialen kariösen Läsionen nicht empfohlen werden.

Es bleibt abzuwarten, ob Änderungen der Produktzusammensetzung wie die Addition von Fluoriden (z. B. MI Paste Plus) künftig zu besseren Resultaten hinsichtlich der Remineralisation führen. Diesbezüglich existieren bereits erste Studien *in vitro* und *in situ* mit positiven Ergebnissen (COCHRANE et al. 2008, REYNOLDS et al. 2008), aber auch eine klinische Studie, die zu keinem vorteilhaften Ergebnis kommt (BEERENS et al. 2010).

## 8. Zusammenfassung

**Einleitung:** Die Unterstützung der remineralisierenden Speichelwirkung mit geeigneten Produkten, ist eine wichtige Maßnahme zur Kontrolle des Kariesprozesses. Zu dem Wirkstoff Caseinphosphopeptid-amorphes Calciumphosphat (CPP-ACP) liegen vielversprechende, aber teilweise auch widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich der Remineralisation von Zahnschmelz vor. Die vorliegende doppelblinde Kreuzstudie hatte zum Ziel, eine zur Remineralisation empfohlene fluoridfreie Mousse mit CPP-ACP erstmalig in einer entsprechenden In-situ-Studie hinsichtlich ihres remineralisierenden Potentials zu untersuchen.

**Material und Methoden:** Während drei In-situ-Phasen von jeweils vier Wochen trugen 13 Probanden intraorale Apparaturen mit demineralisierten bovinen Schmelzproben im Unterkiefer. Jede der beiden bukkalen Seiten der Apparatur wurde mit zwei oberflächlich angeordneten Proben sowie Proben, die einen künstlichen Approximalkontakt bildeten, bestückt. Die Apparaturen wurden 23 Stunden täglich getragen und nur während der Mahlzeiten in Zuckerlösung gelagert. Eine Seite der Apparatur wurde zweimal täglich von den Probanden geputzt. Anschließend wurde eine Mousse auf beide Seiten aufgetragen. Die Produkte der drei Phasen waren: fluoridfreie Zahnpasta + diese Zahnpasta als Mousse (Negativkontrolle), fluoridhaltige Zahnpasta + diese Zahnpasta als Mousse (Positivkontrolle), fluoridhaltige Zahnpasta + fluoridfreies Tooth Mousse. Mineralgehalts- und Läsionstiefenunterschiede vor und nach In-situ-Exposition wurden mittels Mikroradiographie bestimmt.

**Ergebnisse:** Der Mineralgewinn war bei der Positivkontrolle signifikant höher als in der Negativkontrolle. Das Putzen der Proben führte nur innerhalb der Negativkontrolle zu einem signifikant höheren Mineralgewinn. Die zusätzlich mit Tooth Mousse behandelten Proben zeigten zumeist keine signifikante Remineralisation, während die Proben der Positivkontrolle signifikant remineralisierten. Die Tooth-Mousse-Gruppe und die Negativkontrolle unterschieden sich hingegen nicht signifikant. Die Ergebnisse unterschieden sich zwischen den beiden Modellen nur tendenziell.

**Schlussfolgerung:** Auf Grundlage dieser In-situ-Studie kann fluoridfreies GC Tooth Mousse nicht zur zusätzlichen Remineralisation von initialen kariösen Läsionen empfohlen werden. Eine prolongierte Verweildauer von fluoridhaltiger Zahnpasta scheint der Therapie mit GC Tooth Mousse überlegen.

## 9. Summary

**Introduction:** To enhance the remineralizing effect of saliva with appropriate products, is an important method to control the caries process. Several studies show promising but partly contradictory results for the active ingredient caseinphosphopeptid amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) concerning the remineralization of tooth enamel. This double-blinded, randomized, cross-over study's goal was to examine a fluoride-free CPP-ACP containing cream (GC Tooth Mousse) recommended for remineralization for the first time in a corresponding in situ study in terms of its remineralising potential.

**Material and Methods:** During three in-situ phases of four weeks each, 13 subjects wore intraoral appliances with pre-demineralized bovine enamel samples in the lower jaw. Each of the two buccal flanges was equipped with two specimens flush to the acrylic and two specimens which formed an artificial proximal contact. The appliances were worn 23 hours a day and stored in sugar solution only during meals. One side of the appliance was brushed twice daily by the subjects. Then, a mousse was applied on both sides. The products of the three phases were: fluoride-free toothpaste + this toothpaste as a mousse (negative control), NaF-toothpaste + this toothpaste as a mousse (positive control), NaF-toothpaste + Tooth Mousse (without fluoride). Mineral content and lesion depth before and after in situ exposure were determined using microradiography.

**Results:** The mineral gain was significantly higher in the positive control than in the negative control. Brushing of the samples resulted in a significantly higher mineral gain only for the negative control. Of both fluoride toothpaste groups specimens additionally treated with Tooth Mousse mostly showed no significant remineralization, while specimens treated with prolonged NaF-toothpaste application remineralized significantly. The Tooth Mousse and the negative control group differed not significantly. The results differed only slightly between the two models.

**Conclusion:** On the basis of this in situ study fluoride-free GC Tooth Mousse cannot be recommended for additional remineralization of initial carious lesions. A prolonged NaF-toothpaste application seems to be superior to application of GC Tooth Mousse.

## 10. Literaturverzeichnis

- ALTENBURGER M J, SCHIRRMEISTER J F, WRBAS K T, HELLWIG E: Remineralization of artificial interproximal carious lesions using a fluoride mouthrinse. *Am J Dent* 20: 385-9 (2007)
- ARENDS J, CHRISTOFFERSEN J: The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res* 65: 2-11 (1986)
- ATTIN T, LENNON A M, YAKIN M, BECKER K, BUCHALLA W, ATTIN R, WIEGAND A: Deposition of fluoride on enamel surfaces released from varnishes is limited to vicinity of fluoridation site. *Clin Oral Investig* 11: 83-8 (2007)
- AZARPAZHOOH A, LIMEBACK H: Clinical efficacy of casein derivatives: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc* 139: 915-24; quiz 994-5 (2008)
- BAILEY D L, ADAMS G G, TSAO C E, HYSLOP A, ESCOBAR K, MANTON D J, REYNOLDS E C, MORGAN M V: Regression of post-orthodontic lesions by a remineralizing cream. *J Dent Res* 88: 1148-53 (2009)
- BEERENS M W, VAN DER VEEN M H, VAN BEEK H, TEN CATE J M: Effects of casein phosphopeptide amorphous calcium fluoride phosphate paste on white spot lesions and dental plaque after orthodontic treatment: a 3-month follow-up. *Eur J Oral Sci* 118: 610-7 (2010)
- BROCHNER A, CHRISTENSEN C, KRISTENSEN B, TRANAEUS S, KARLSSON L, SONNESEN L, TWETMAN S: Treatment of post-orthodontic white spot lesions with casein phosphopeptide-stabilised amorphous calcium phosphate. *Clin Oral Investig*: (2010)
- BUSKES J A, CHRISTOFFERSEN J, ARENDS J: Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Res* 19: 490-6 (1985)
- CAI F, SHEN P, WALKER G D, REYNOLDS C, YUAN Y, REYNOLDS E C: Remineralization of enamel subsurface lesions by chewing gum with added calcium. *J Dent* 37: 763-8 (2009)
- COCHRANE N J, SARANATHAN S, CAI F, CROSS K J, REYNOLDS E C: Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res* 42: 88-97 (2008)
- CROSS K J, HUQ N L, PALAMARA J E, PERICH J W, REYNOLDS E C: Physicochemical characterization of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplexes. *J Biol Chem* 280: 15362-9 (2005)
- CURY J A, TENUTA L M: Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res* 23 Suppl 1: 23-30 (2009)
- DUNIPACE A J, HALL A F, KELLY S A, BEISWANGER A J, FISCHER G M, LUKANTSOVA L L, ECKERT G J, STOOKEY G K: An in situ interproximal model for studying the effect of fluoride on enamel. *Caries Res* 31: 60-70 (1997)
- ELLWOOD R, FEJERSKOV O, CURY J A, CLARKSON B: Fluorides in caries control. In: Fejerskov O, Kidd E A M, (Eds): *Dental caries - The disease and its clinical management*. Blackwell Munksgaard, Oxford, pp 287-327 (2008)
- FALLER R V: The application of in situ models for evaluation of new fluoride-containing systems. *Adv Dent Res* 9: 290-9; discussion 300-3 (1995)
- FEATHERSTONE J D, DUNCAN J F, CUTRESS T W: Surface layer phenomena in in-vitro early caries-like lesions of human tooth enamel. *Arch Oral Biol* 23: 397-404 (1978)
- FEATHERSTONE J D, ZERO D T: An in situ model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. *J Dent Res* 71 Spec No: 804-10 (1992)

- FEATHERSTONE J D: The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 131: 887-99 (2000)
- FEATHERSTONE J D: The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 83 Spec No C: C39-42 (2004)
- FEATHERSTONE J D: Remineralization, the natural caries repair process--the need for new approaches. *Adv Dent Res* 21: 4-7 (2009)
- FEJERSKOV O, KIDD E A M: *Dental caries : the disease and its clinical management.* Oxford ; Ames, Iowa: Blackwell Munksgaard, 2008.
- FEJERSKOV O, MANJI, F.: Risk assessment in dental caries. In: Bader, J., (Ed) *Risk assessment in dentistry.* Chapel Hill: University of North Carolina, 1990.
- GRENBY T H, ANDREWS A T, MISTRY M, WILLIAMS R J: Dental caries-protective agents in milk and milk products: investigations in vitro. *J Dent* 29: 83-92 (2001)
- HELLWIG E, LUSSI A: What is the optimum fluoride concentration needed for the remineralization process? *Caries Res* 35 Suppl 1: 57-9 (2001)
- HELLWIG E, LENNON A M: Systemic versus topical fluoride. *Caries Res* 38: 258-62 (2004)
- HELLWIG E, KLIMEK, J., ATTIN T.: *Einführung in die Zahnerhaltung.* Muenchen: Urban&Fischer bei Elsevier, 2006.
- IJIMA Y, CAI F, SHEN P, WALKER G, REYNOLDS C, REYNOLDS E C: Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res* 38: 551-6 (2004)
- ITTHAGARUN A, KING N M, YIU C, DAWES C: The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions in situ. *Caries Res* 39: 251-4 (2005)
- JENSEN J L, LAMKIN M S, OPPENHEIM F G: Adsorption of human salivary proteins to hydroxyapatite: a comparison between whole saliva and glandular salivary secretions. *J Dent Res* 71: 1569-76 (1992)
- KIDD E A, FEJERSKOV O: What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 83 Spec No C: C35-8 (2004)
- KIDD E A M, FEJERSKOV O: The control of disease progression: non-operative treatment. In: Fejerskov O, Kidd E A M, (Eds): *Dental Caries: The disease and its clinical management.* Blackwell Munksgaard, Oxford, pp 251-255 (2008)
- KOENIG K G: *Karies und Kariesprophylaxe.* Stuttgart: Thieme, 1987.
- KOULOURIDES T, PHANTUMVANIT P, MUNKSGAARD E C, HOUSCH T: An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. *J Oral Pathol* 3: 185-96 (1974)
- LARSEN M J, NYVAD B: Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res* 33: 81-7 (1999)
- LEACH S A, LEE G T, EDGAR W M: Remineralization of artificial caries-like lesions in human enamel in situ by chewing sorbitol gum. *J Dent Res* 68: 1064-8 (1989)
- LENNON A M, WIEGAND A, BUCHALLA W, ATTIN T: Approximal caries development in surfaces in contact with fluoride-releasing and non-fluoride-releasing restorative materials: an in situ study. *Eur J Oral Sci* 115: 497-501 (2007)
- LIPPERT F, LYNCH R J, ECKERT G J, KELLY S A, HARA A T, ZERO D T: In situ fluoride response of caries lesions with different mineral distributions at baseline. *Caries Res* 45: 47-55 (2011)
- MELLBERG J R: Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 71 Spec No: 913-9 (1992)



- MELLBERG J R, PETROU I D, GROTE N E: A study of the ability of an in situ remineralization model to differentiate between the effects of two fluoride dentifrices that produced significantly different clinical caries results. *J Dent Res* 71: 1169-72 (1992)
- MEYER-LUECKEL H, BITTER K, KIELBASSA A M: Effect of a fluoridated food item on enamel in situ. *Caries Res* 41: 350-7 (2007)
- MEYER-LUECKEL H, COLFEN H, VERCH A, TSCHOPPE P: Effects of carboxymethyl cellulose-based saliva substitutes with varying degrees of saturation with respect to calcium phosphates on artificial enamel lesions. *Caries Res* 44: 127-34 (2010a)
- MEYER-LUECKEL H, GRUNDMANN E, STANG A: Effects of fluoride tablets on caries and fluorosis occurrence among 6- to 9-year olds using fluoridated salt. *Community Dent Oral Epidemiol* 38: 315-23 (2010b)
- MICHEELIS W, SCHIFFNER U.: Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). Köln: Institut der deutschen Zahnärzte, 2006.
- MILLER W D: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig: Thieme, 1889.
- MORGAN M V, ADAMS G G, BAILEY D L, TSAO C E, FISCHMAN S L, REYNOLDS E C: The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Res* 42: 171-84 (2008)
- NEUHAUS K W, LUSSI A: [Casein phosphopeptide--amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) and its effect on dental hard tissues]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 119: 110-6 (2009)
- NIKIFUROK G: Understanding dental caries. Basel: S. Karger AG, 1985.
- NORDSTROM A, BIRKHED D: Fluoride retention in proximal plaque and saliva using two NaF dentifrices containing 5,000 and 1,450 ppm F with and without water rinsing. *Caries Res* 43: 64-9 (2009)
- OGAARD B: CaF<sub>2</sub> formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res* 35 Suppl 1: 40-4 (2001)
- OSHIRO M, YAMAGUCHI K, TAKAMIZAWA T, INAGE H, WATANABE T, IROKAWA A, ANDO S, MIYAZAKI M: Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. *J Oral Sci* 49: 115-20 (2007)
- PARIS S, MEYER-LUECKEL H: Inhibition of caries progression by resin infiltration in situ. *Caries Res* 44: 47-54 (2010)
- PESSAN J P, SILVA S M, LAURIS J R, SAMPAIO F C, WHITFORD G M, BUZALAF M A: Fluoride uptake by plaque from water and from dentifrice. *J Dent Res* 87: 461-5 (2008)
- POGGIO C, LOMBARDINI M, DAGNA A, CHIESA M, BIANCHI S: Protective effect on enamel demineralization of a CPP-ACP paste: an AFM in vitro study. *J Dent* 37: 949-54 (2009)
- REED M W: Clinical evaluation of three concentrations of sodium fluoride in dentifrices. *J Am Dent Assoc* 87: 1401-3 (1973)
- REHDER NETO F C, MAEDA F A, TURSSI C P, SERRA M C: Potential agents to control enamel caries-like lesions. *J Dent* 37: 786-90 (2009)
- REYNOLDS E C: The prevention of sub-surface demineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *J Dent Res* 66: 1120-7 (1987)
- REYNOLDS E C, CAIN C J, WEBBER F L, BLACK C L, RILEY P F, JOHNSON I H, PERICH J W: Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 74: 1272-9 (1995)

- REYNOLDS E C: Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 76: 1587-95 (1997)
- REYNOLDS E C, CAI F, SHEN P, WALKER G D: 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: 206-11 (2003)
- REYNOLDS E C, CAI F, COCHRANE N J, SHEN P, WALKER G D, MORGAN M V, REYNOLDS C: Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 87: 344-8 (2008)
- REYNOLDS E C: Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Adv Dent Res* 21: 25-9 (2009)
- REYNOLDS E C N B, AU): Anticariogenic phosphopeptides. United States: The University of Melbourne (Victoria, AU), Victorian, Dairy Industry Authority (Victoria, AU), 1991 (vol 5015628).
- ROSE R K: Binding characteristics of *Streptococcus mutans* for calcium and casein phosphopeptide. *Caries Res* 34: 427-31 (2000)
- SCHAFFER F, RAVEN S J, PARR T A: The effect of lesion characteristic on remineralization and model sensitivity. *J Dent Res* 71 Spec No: 811-3 (1992)
- SCHIRRMESTER J F, SEGER R K, ALTENBURGER M J, LUSSI A, HELLWIG E: Effects of various forms of calcium added to chewing gum on initial enamel carious lesions in situ. *Caries Res* 41: 108-14 (2007)
- SCHROEDER H: *Orale Strukturbiologie*. Stuttgart: Thieme, 1992.
- SHEN P, CAI F, NOWICKI A, VINCENT J, REYNOLDS E C: Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 80: 2066-70 (2001)
- SILVA M F, BURGESS R C, SANDHAM H J, JENKINS G N: Effects of water-soluble components of cheese on experimental caries in humans. *J Dent Res* 66: 38-41 (1987)
- SILVERSTONE L M: Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev* 3: 100-60 (1973)
- SJOGREN K, BIRKHED D, RUBEN J, ARENDS J: Effect of post-brushing water rinsing on caries-like lesions at approximal and buccal sites. *Caries Res* 29: 337-42 (1995)
- SRINIVASAN N, KAVITHA M, LOGANATHAN S C: Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: An in situ study. *Arch Oral Biol* 55: 541-4 (2010)
- TEN CATE J M, FEATHERSTONE J D: Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 2: 283-96 (1991)
- TEN CATE J M: In situ models, physico-chemical aspects. *Adv Dent Res* 8: 125-33 (1994)
- TEN CATE J M: Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 57: 325-9 (1999)
- THOMAS R Z, RUBEN J L, TEN BOSCH J J, FIDLER V, HUYSMANS M C: Approximal secondary caries lesion progression, a 20-week in situ study. *Caries Res* 41: 399-405 (2007a)
- THOMAS R Z, RUBEN J L, TEN BOSCH J J, HUYSMANS M C: Effect of ethylene oxide sterilization on enamel and dentin demineralization in vitro. *J Dent* 35: 547-51 (2007b)
- TWETMAN S, AXELSSON S, DAHLGREN H, HOLM A K, KALLESTAL C, LAGERLOF F, LINGSTROM P, MEJARE I, NORDENRAM G, NORLUND A, PETERSSON L G, SODER B:

- Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: a systematic review. *Acta Odontol Scand* 61: 347-55 (2003)
- VACCA-SMITH A M, VAN WUYCKHUYSE B C, TABAK L A, BOWEN W H: The effect of milk and casein proteins on the adherence of *Streptococcus mutans* to saliva-coated hydroxyapatite. *Arch Oral Biol* 39: 1063-9 (1994)
- VAN LOVEREN C: The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. *J Dent Res* 69 Spec No: 676-81; discussion 682-3 (1990)
- WALKER G D, CAI F, SHEN P, ADAMS G G, REYNOLDS C, REYNOLDS E C: Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate incorporated into sugar confections inhibits the progression of enamel subsurface lesions in situ. *Caries Res* 44: 33-40 (2010)
- WEFEL J S: Effects of fluoride on caries development and progression using intra-oral models. *J Dent Res* 69 Spec No: 626-33; discussion 634-6 (1990)
- WEINTRAUB J A, RAMOS-GOMEZ F, JUE B, SHAIN S, HOOVER C I, FEATHERSTONE J D, GANSKY S A: Fluoride varnish efficacy in preventing early childhood caries. *J Dent Res* 85: 172-6 (2006)
- YAMAZAKI H, LITMAN A, MARGOLIS H C: Effect of fluoride on artificial caries lesion progression and repair in human enamel: regulation of mineral deposition and dissolution under in vivo-like conditions. *Arch Oral Biol* 52: 110-20 (2007)
- YENGOPAL V, MICKENAUTSCH S: Caries preventive effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis. *Acta Odontol Scand*: 1-12 (2009)
- ZERO D T, RAUBERTAS R F, FU J, PEDERSEN A M, HAYES A L, FEATHERSTONE J D: Fluoride concentrations in plaque, whole saliva, and ductal saliva after application of home-use topical fluorides [published eerratum appears in *J Dent Res* 1993 Jan;72(1):87]. *J Dent Res* 71: 1768-75 (1992)
- ZERO D T: In situ caries models. *Adv Dent Res* 9: 214-30; discussion 231-4 (1995)
- ZERO D T: Recaldent--evidence for clinical activity. *Adv Dent Res* 21: 30-4 (2009)

## 11. Anhang

### 11.1. Materialliste

- Mat. 1. Aluminium Tuben, weiß beschichtet, 60 ml (Klindwort Apotheke, Bad Schwartau)
- Mat. 2. Analysewaage (A 200 s; Sartorius Analytic, Göttingen)
- Mat. 3. Bandsäge (EXAKT 300; Exakt-Apparatebau, Norderstedt)
- Mat. 4. BisGMA (Aldrich, UK)
- Mat. 5. Bluephase C8 LED (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein)
- Mat. 6. Campherchinon (Aldrich, UK)
- Mat. 7. CCD-Chip (Grayscale Digital Camera; Scion Corp., Frederick, USA)
- Mat. 8. DABE (Ethyl-4-dimethylaminobenzoat) (Aldrich, UK)
- Mat. 9. Doppelfolie (gudy clear 23; Neschen AG, Bückeberg)
- Mat. 10. Eisessig (Merck, Darmstadt)
- Mat. 11. Excel 2007 (Microsoft, Unterschleißheim)
- Mat. 12. Film (Fuji 35; Fujifilm, Düsseldorf)
- Mat. 13. Frontzahnextraktionszange (Fig. 1734; Pluradent AG & Co KG, Offenbach)
- Mat. 14. GC Tooth Mousse (GC Corporation, Tokyo, Japan)
- Mat. 15. Interdentalebürstchen (0,4 mm Durchmesser, TePe, Hamburg)
- Mat. 16. Kaliumhydrogenphosphat (Merck, Darmstadt)
- Mat. 17. Kaliumhydroxid (Merck, Darmstadt)
- Mat. 18. Kalziumchloriddihydrat (Merck, Darmstadt)
- Mat. 19. Knetsilikon (gammasil TEC A 85; Mueller-Omicron, Lindlar)
- Mat. 20. LAVERA basis sensitiv (Laverana, Wenningsen)
- Mat. 21. LAVERA basis sensitiv 1400ppm Natriumfluorid (Laverana, Wenningsen)
- Mat. 22. Luxatemp-Glaze&Bond (DMG, Hamburg)
- Mat. 23. Magnetrührgerät (IKA-Combimag RCT; IKA-Werke, Staufen)
- Mat. 24. Methylendiphosphonsäure (Merck, Darmstadt)
- Mat. 25. Mikrometerschraube (IP65; Mitutoyo Europe, Neuss)
- Mat. 26. Mikroskop (475022; Zeiss, Oberkochen)
- Mat. 27. Nassschleifpapier (Waterproof Silicon Carbide Paper, Körnung: 800, 1200, 2400, 4000; Struers, Willich)

- Mat. 28. Objektträger (25x75x2 mm; Patho-Service GmbH, Hamburg)
- Mat. 29. Orthocryl (Dentaurum, Pforzheim, Deutschland)
- Mat. 30. pH-Meter (GMH 3530; Greisinger electronic, Regenstauf)
- Mat. 31. Pipette (10 ml; Sarstedt, Nürnbergrecht)
- Mat. 32. 24 Well Platte (Sarstedt, Nürnbergrecht)
- Mat. 33. Poliermaschine (EXAKT 400CS; Exakt-Apparatebau, Norderstedt)
- Mat. 34. Poliermaschine (Saphir 360E; ATM, Mammelzen)
- Mat. 35. Probenhalter (Medizintechnische Werkstatt Charité, Universitätsmedizin Berlin)
- Mat. 36. Röntgenstrahlgenerator (PW 3830 X-Ray Generator; PANalytical, Kassel)
- Mat. 37. Scion VisiCapture (Scion Corp., Frederick, USA)
- Mat. 38. Sekundenkleber (Loctite 493; Henkel, Hemel Hempstead, UK)
- Mat. 39. Silikon (Silagum light; DMG, Hamburg)
- Mat. 40. Skalpell (No. 10; Feather Safety Razor, Osaka, Japan)
- Mat. 41. Spangendose (Quick Box; Dr. Hinz Dental, Herne)
- Mat. 42. SPSS v12.0 (SPSS, München)
- Mat. 43. Stahldraht 0,8 mm federhart (Dentaurum, Ispringen)
- Mat. 44. Stereomikroskop (Axioplan 2; Zeiss, Oberkochen)
- Mat. 45. Technovit 4071 (Hareus Kulzer, Hanau, Deutschland)
- Mat. 46. TEGDMA (Aldrich, UK)
- Mat. 47. Tesafilm (tesa SE, Hamburg)
- Mat. 48. Tetric EvoFlow (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein)
- Mat. 49. Thymol (Merck, Darmstadt)
- Mat. 50. TMR/WIM Calculation Program v5.25 (University of Groningen, Niederlande, ©Joop de Vries)
- Mat. 51. Vaseline
- Mat. 52. Wärmeschrank (B6060; Heraeus Instruments, Hanau)
- Mat. 53. Zahnbürste (Oral-B Indicator; Proctor&Gamble, Schwalbach am Taunus)
- Mat. 54. Zuckerguss
- Mat. 55. Zuckerlösung 10%

## 11.2. Ernährungsprotokoll

Name: \_\_\_\_\_ Phase: \_\_\_\_\_ Nr. \_\_\_\_\_

Tag	Zucker (ankreuzen)				Fluorid (ankreuzen)				Tragezeit (Stunden)
1	K	1	2	3	M	T	F	A	
2	K	1	2	3	M	T	F	A	
3	K	1	2	3	M	T	F	A	
4	K	1	2	3	M	T	F	A	
5	K	1	2	3	M	T	F	A	
6	K	1	2	3	M	T	F	A	
7	K	1	2	3	M	T	F	A	
8	K	1	2	3	M	T	F	A	
9	K	1	2	3	M	T	F	A	
10	K	1	2	3	M	T	F	A	
11	K	1	2	3	M	T	F	A	
12	K	1	2	3	M	T	F	A	
13	K	1	2	3	M	T	F	A	
14	K	1	2	3	M	T	F	A	
15	K	1	2	3	M	T	F	A	
16	K	1	2	3	M	T	F	A	
17	K	1	2	3	M	T	F	A	
18	K	1	2	3	M	T	F	A	
19	K	1	2	3	M	T	F	A	
20	K	1	2	3	M	T	F	A	
21	K	1	2	3	M	T	F	A	
22	K	1	2	3	M	T	F	A	
23	K	1	2	3	M	T	F	A	
24	K	1	2	3	M	T	F	A	
25	K	1	2	3	M	T	F	A	
26	K	1	2	3	M	T	F	A	
27	K	1	2	3	M	T	F	A	
28	K	1	2	3	M	T	F	A	
29	K	1	2	3	M	T	F	A	
30	K	1	2	3	M	T	F	A	
31	K	1	2	3	M	T	F	A	
32	K	1	2	3	M	T	F	A	
33	K	1	2	3	M	T	F	A	
34	K	1	2	3	M	T	F	A	
35	K	1	2	3	M	T	F	A	

Erklärungen :

Zucker: Zuckerhaltige Süßigkeiten und Getränke: keine; 1xtäglich; 2xtäglich;  $\geq 3$ xtäglich

Fluorid: Fluoridhaltige Mundhygieneprodukte (M) oder schwarzer, grüner oder Eis-Tee (T) oder Fisch mit viel Fluorid (F), andere stark fluoridhaltige Präparate oder Lebensmittel (A)

Tragedauer: Bitte die tägliche Tragezeit in Stunden innerhalb des Mundes eintragen.

11.3. **Votum der Ethik-Kommission**

**MEDIZINISCHE FAKULTÄT  
DER CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT ZU KIEL**

**ETHIK-KOMMISSION**



Universitäts-Kinderklinik · Schwanenweg 20 · 24105 Kiel

Herrn  
PD Dr. H. Meyer-Lückel  
Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie  
UKSH, Campus Kiel  
Arnold-Heller-Str.3  
24105 Kiel

Schwanenweg 20  
D-24105 Kiel

Telefon 04 31 / 597-18 09  
Telefax 04 31 / 597-18 31

Datum: 01.07.2009

**AZ.: A 125/09** (bitte stets angeben)  
**Studienplan:** **Vergleich der Wirksamkeit hinsichtlich der Remineralisation des Zahnschmelzes eines hierzu empfohlenen kommerziellen Produktes (GC Tooth Mousse) mit dem Standardvorgehen und einer Negativkontrolle in situ**  
Studienplan, Probandenaufklärungsformular und Einwilligungsformular, Literatur

**Antragsteller:** **PD Dr. H. Meyer-Lückel, Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, UKSH, Campus Kiel**

**Datum des Antrages:** 30.4.2009  
**Datum des überarb. Antrages:** 24.06.2009

### V o t u m

Die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel hat die zu dem oben bezeichneten Versuchsplan eingereichten Unterlagen auf mögliche berufsethische und berufsrechtliche Bedenken hin überprüft. Die Kommission stimmt darin überein, daß gegen die Durchführung der Studie nunmehr keine Bedenken bestehen.

Es wird darauf hingewiesen, daß künftig eventuell für zweckmäßig und notwendig erachtete Änderungen und Erweiterungen des Versuchsplanes der Ethik-Kommission anzuzeigen sind und gegebenenfalls eine erneute Beratung erforderlich machen.

Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, muß die Kommission umgehend benachrichtigt werden.

Nach Abschluß der Studie erbittet die Kommission einen kurzen Bericht mit einem Hinweis, ob im Laufe der Studie ethische oder juristische Probleme aufgetreten sind.

*J. Schaub*  
Prof. Dr. med. Jürgen Schaub  
Vorsitzender der Ethik-Kommission  
der Medizinischen Fakultät der CAU zu Kiel

#### 11.4. Publikationen der vorliegenden Arbeit

Wesentliche Teile dieser Dissertationsschrift wurden in Form zweier Abstrakte (thematische Trennung nach den verwendeten Modellen - bukkal und approximal) publiziert:

1. *Paris, S., Schellwien, T., Dörfer, C. E., Meyer-Lückel, H.:*  
Remineralizing effects of a CPP-ACP containing cream and prolonged NaF-toothpaste application in situ.  
**Caries Res** 45: p. 197 (Abstr. No. 56), 2011  
([www.karger.com/doi/10.1159/000328514](http://www.karger.com/doi/10.1159/000328514))
2. *Paris, S., Schellwien, T., Dörfer, C. E., Meyer-Lückel, H.:*  
Remineralisierender Effekt einer CPP-ACP-Creme und verlängerter Retention von NaF-Zahnpasta in situ.  
**Wissenschaftliches Programm der 25. Jahrestagung der DGZ, Autoreferate-Band (ISBN 978-3-86611-454-8)**, Kurzvortrag 24, Seite 64, 2011

Die Originalarbeit wird zurzeit fertig gestellt.



### 11.5. Danksagung

Ein großes Dankeschön an meinen Doktorvater Herrn OA PD Dr. H. Meyer-Lückel und an Herrn PD Dr. S. Paris für die Überlassung des interessanten Themas und die stets schnelle und freundliche Unterstützung bei der Realisierung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. C. Dörfer danke ich für die Ermöglichung des wissenschaftlichen Arbeitens in der Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie.

Mein herzlicher Dank gilt auch Frau Prof. Dr. B. Größner-Schreiber, die mich in der Findungsphase des Themas sehr gut beraten hat, sowie den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau R. Marquardt, Frau M. Paymard-Stolz und Assistenten Herrn M. Stiebritz, die mich bei der praktischen Durchführung der Studie sehr unterstützt haben.

Außerdem bedanke ich mich ganz herzlich bei meinen stets zuverlässigen Probanden, ohne die diese Studie gar nicht möglich gewesen wäre.

Ebenfalls bedanken möchte ich bei meinen Eltern für die Ermöglichung des Studiums und der Dissertation, die ohne ein Freisemester nicht in dieser Form durchführbar gewesen wäre, sowie meiner Freundin, Rike Neisener, für ihre Geduld und die fortwährende Unterstützung in moralischer und praktischer Hinsicht.

### **11.6. Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere hiermit an Eides Statt, dass meine Dissertation, abgesehen von Ratschlägen meines Doktorvaters PD Dr. H. Meyer-Lückel und meiner sonstigen akademischen Lehrer, nach Form und Inhalt meine eigene Arbeit ist, dass ich außer den in der Arbeit aufgeführten keine weiteren Hilfsmittel benutzt habe, und dass meine Arbeit bisher, weder ganz noch in Teilen, keiner anderen akademischen Stelle als Dissertation vorgelegen hat.

Timo Schellwien

## 11.7. Lebenslauf

**Name:** Timo Schellwien  
**E-Mail:** timo.schellwien@gmx.de  
**Geburtsdatum:** 15.04.1983  
**Geburtsort:** Kiel

### Schulbildung

---

**1989 - 1993** Gorch-Fock-Grundschule in Kiel  
**1993 - 2002** Max-Planck-Schule, Gymnasium der Stadt Kiel  
*Erlangung der allgemeinen Hochschulreife/ Abitur*

### Zivildienst

---

**08/2002 - 05/2003** Zehnmonatiger Zivildienst am "Handwerkerhof Fecit"

### Studium

---

**09/2003 - 09/2004** Studium der Betriebswirtschaftslehre an der Fachhochschule Kiel  
**10/2004 - 07/2010** Studium der Zahnmedizin an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
*Urlaubssemester im SS 2009 zur intensiven Arbeit an einer Dissertation mit Durchführung einer In-situ-Studie mit kariologischer Thematik unter Betreuung von OA PD Dr. Meyer-Lückel*

### Beruf

---

**seit 11/2010** Assistenzzahnarzt in der Gemeinschaftspraxis Dres. Wegner in Kiel