

Bildung von KOH-löslichem Fluorid in Abhängigkeit von
Applikationshäufigkeit, Fluoridkonzentration und
Fluoridverbindung von Zahnpasten

Ayla Üsküdar



INAUGURALDISSERTATION zur Erlangung des Grades eines **Doktors der Zahnmedizin**
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2012

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2012

© 2012 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Bildung von KOH-löslichem Fluorid
in Abhängigkeit von
Applikationshäufigkeit,
Fluoridkonzentration und
Fluoridverbindung von Zahnpasten**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Zahnmedizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Ayla Üsküdar

aus Gütersloh

Gießen (2011)

Aus dem Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Präventive Zahnheilkunde
Direktor: Prof. Dr. J. Klimek
des Universitätsklinikums Gießen und Marburg GmbH
Standort Gießen

Gutachter: Prof. Dr. J. Klimek

Gutachter: Prof. Dr. K. Pieper

Tag der Disputation: 14.03.2012

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	4
1 Einleitung	6
2 Literaturübersicht.....	8
2.1 Fluorid als Kariesprophylaktikum.....	8
2.1.1 Lokale Fluoridapplikation.....	9
2.2 Fluoridverbindungen in der Kariesprophylaxe.....	10
2.3 Wirkungsweise von Fluoriden	12
2.3.1 Reaktion von Fluoriden mit Zahnhartsubstanzen und Plaque	12
2.3.2 Kariesprotektive Wirkung von Fluoriden.....	13
2.4 Bildung von CaF ₂	15
3 Material und Methode.....	20
3.1 Herstellung der Schmelzproben	20
3.2 Versuchsablauf	25
3.2.1 Verwendete Zahnpasten.....	25
3.2.2 Künstlicher Speichel	27
3.2.3 Versuchsablauf	27
3.3 Bestimmung des KOH-löslichen Fluoridgehaltes.....	30
3.3.1 Vorbereitung der Proben für die Fluoridanalytik.....	30
3.3.2 Aufbau der Messapparatur	31
3.3.3 Messvorgang	32
3.4 Statistische Auswertung.....	32
3.5 Materialliste	33
4 Ergebnisse.....	36
4.1 Mehrfachvergleiche.....	36
4.2 Vergleich der Applikationshäufigkeiten.....	39
4.3 Vergleiche innerhalb einer Gruppe (Zahnpaste).....	42
4.3.1 Signifikanztabellen.....	45
4.4 Rasterelektronenmikroskopische Darstellung der CaF ₂ Schicht.....	49
5 Diskussion.....	50
5.1 Diskussion der Methodik	50

5.1.1	Studiendesign	50
5.1.2	Rinderschmelz	51
5.1.3	Fluoridierung der Schmelzproben	52
5.1.4	Einfluss des Speichels auf die CaF ₂ -Bildung	52
5.1.5	Methode zur Bestimmung des Gesamtfluorids und des Kalziumfluorids	54
5.2	Diskussion der Ergebnisse	56
5.2.1	Vergleich der unterschiedlichen Fluoridkonzentrationen (500 versus 1400 ppm).....	56
5.2.2	Vergleich der unterschiedlichen Fluoridverbindungen (AmF versus NaF)	57
5.2.3	Vergleich der unterschiedlichen Applikationshäufigkeiten	59
5.2.4	Sättigungseffekt.....	60
5.3	Schlussfolgerung	62
6	Zusammenfassung.....	63
7	Summary	64
8	Abkürzungsverzeichnis	65
9	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	66
9.1	Abbildungsverzeichnis	66
9.2	Tabellenverzeichnis.....	68
10	Literaturverzeichnis	69
11	Publikationsverzeichnis	77
12	Ehrenwörtliche Erklärung.....	78
13	Danksagung	79
14	Lebenslauf	80

1 Einleitung

Die Anwendung von Fluoriden in verschiedenen Formen gilt seit 5 Jahrzehnten als wirksamste und kosteneffektivste Maßnahme zur Kariesprophylaxe (Leitlinie "Fluoridierungsmaßnahmen", 2005).

Die weltweit verbreitetste Form der lokalen Fluoridierung ist die Anwendung von fluoridierten Zahnpasten. Seit den 80er Jahren enthalten nahezu alle Zahnpasten Fluoride. In Metaanalysen konnte mit höchster Evidenz nachgewiesen werden, dass die regelmäßige Anwendung von F⁻-Zahnpasten eine wirksame kariesprotektive Maßnahme ist (Leitlinie "Fluoridierungsmaßnahmen", 2005; Marinho et al., 2003).

Bei Applikation von fluoridhaltigen Präparaten hat die Bildung von Kalziumfluorid (CaF₂) und CaF₂-ähnlichen Präzipitaten (KOH-lösliches Fluorid) auf der Schmelzoberfläche einen entscheidenden Einfluss auf die Erzielung einer hohen Fluoridaufnahme sowie den kariostatischen Effekt (Rolla and Saxegaard, 1990). Handelsübliche Zahnpasten unterscheiden sich in Abhängigkeit von der eingesetzten Fluoridverbindung, dem pH-Wert und anderen Parametern hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Bildung von CaF₂-ähnlichen Präzipitaten auf dem Zahnschmelz.

Für vergleichende in vitro Studien zur Kalziumfluoridbildung nach Applikation von Zahnpasten liegt allerdings kein Standardprotokoll vor. So ist zum Beispiel nicht bekannt, ob vielfach wiederholte Applikationen von Vorteil sind, um Unterschiede zwischen verschiedenen konzentrierten Fluoridpräparaten herauszuarbeiten, oder eher durch einen Sättigungseffekt Unterschiede verschleiert werden. Wenig vergleichende Daten liegen auch zur Beeinflussung der Kalziumfluoridbildung durch unterschiedliche Zahnpastenformulierungen bei gleicher Fluoridverbindung sowie zum Vergleich von Zahnpasten mit verschiedenen Fluoridverbindungen wie z.B. Aminfluorid oder Natriumfluorid vor.

Ziel der vorliegenden in vitro Arbeit ist zu untersuchen, welchen Effekt die Variationen der Applikationshäufigkeit, der Fluoridkonzentration und der Fluoridverbindung von Zahnpasten auf die Bildung von KOH-löslichem Fluorid (Kalziumfluorid und Kalziumfluorid ähnliche Verbindungen) auf bovinem Zahnschmelz haben.

Als These wurde angenommen, dass die Menge vom KOH-löslichen Fluorid entsprechend der Häufigkeit der Applikation zunimmt.

2 Literaturübersicht

2.1 Fluorid als Kariesprophylaktikum

Fluoride sind die Salze der Fluorwasserstoffsäure (HF), die auch als Flusssäure bekannt ist. Fluorid zählt zu den essentiellen Spurenelementen (Marinho et al., 2002). In der Zahnmedizin wird es aufgrund seiner kariesprophylaktischen Wirkung als organische (Aminfluorid) oder anorganische Fluoridverbindung (Natrium-, Zinnfluorid und Natriummonofluorophosphat) eingesetzt (Schmid, 1983).

Die Fluoridierungsmaßnahmen werden unterteilt in systemische und lokale Applikationsformen.

Zu den systemischen Fluoridierungsmaßnahmen zählen die Trinkwasser-, Kochsalz- und Tablettenfluoridierung. Nach älteren Lehrmeinungen sollte das enteral aufgenommene Fluorid während der präeruptiven Schmelzreifung in die Zahnhartsubstanz eingelagert werden und dadurch eine karieshemmende Wirkung haben. Ein Nachweis für eine systemische kariesprophylaktische Wirkung von Fluorid auf Basis eines präeruptiven Fluorideinbaus in das Kristallgitter des Schmelzes konnte allerdings nie erbracht werden. Heute wird allgemein akzeptiert, dass die lokale, posteruptive Wirkung von Fluorid die weitaus größte Rolle spielt. Der Begriff „systemisch“ sollte deshalb nicht auf die Wirkungsweise, sondern nur auf die Applikationsform bezogen werden.

Die Einnahme und lokale Applikation von Fluoriden gilt bei Einhaltung der Empfehlungen zur Kariesprophylaxe mit Fluoriden als sicher. Bei einer Überdosierung besteht während der Phase der präeruptiven Schmelzmineralisation bis zum 6. - 8. Lebensjahr das Risiko, dass sich eine Fluorose entwickelt (Fejerskov et al., 1977). Dieses Risiko ist besonders erhöht bei der gleichzeitigen Anwendung von Fluoridtabletten und lokalen Fluoridierungsmaßnahmen (Levy, 2003).

2.1.1 Lokale Fluoridapplikation

Lokale Fluoridierungsmaßnahmen erfolgen durch Zahnpasten, Lösungen, Gele und Lacke. Diese posteruptiven Fluoridierungsmaßnahmen sind durch ihren direkten Kontakt mit bereits durchgebrochenen Zähnen gekennzeichnet und bewirken hauptsächlich die Förderung der Remineralisation und die Hemmung der Demineralisation (Hellwig et al., 1993; Levy, 2003).

Der Verwendung von fluoridhaltiger Zahnpaste wird höchste Evidenz als wirksame kariesprophylaktische Maßnahme zuerkannt. Eine Hemmung der Karies um 20-30% bei regelmäßigem Gebrauch von Fluoridzahnpasten konnte in zahlreichen klinischen Studien gezeigt werden (Haugejorden, 1996; Hicks and Flaitz, 2000; Kirkegaard, 1977). Der kariespräventive Effekt im bleibenden Gebiss steigt mit zunehmender Fluoridkonzentration in der Zahnpaste, häufiger Verwendung und höherer Kariesaktivität. Für Erwachsene sollte die Fluoridkonzentration über 1000 ppm betragen. Für Kinder unter 6 Jahren wird in Deutschland aus toxikologischen Gründen die Anwendung einer Fluorid-Kinderzahnpaste mit 500 ppm empfohlen (Leitlinie "Fluoridierungsmaßnahmen", 2005).

Grundsätzlich ist zur Erzielung einer optimalen kariesprophylaktischen Wirkung eine kontinuierliche Anwendung von Fluoriden notwendig. Dies kann durch die zweimal tägliche Anwendung fluoridhaltiger Zahnpasten gewährleistet werden. Zusätzlich wird die regelmäßige Verwendung von fluoridiertem Speisesalz empfohlen und in Abhängigkeit vom individuellen Kariesrisiko die zusätzliche Anwendung von fluoridhaltigen Spüllösungen, Lacken oder Gelen (Leitlinie "Fluoridierungsmaßnahmen", 2005).

Die am häufigsten in Zahnpasten zugesetzten Fluoridverbindungen sind Natriumfluorid, Aminfluorid, Natriummonofluorphosphat und Zinnfluorid (Brudevold and Naujoks, 1978; Naujoks, 1983). Für alle genannten Fluoridverbindungen konnten in klinischen Studien ausreichende karieshemmende Wirkungen nachgewiesen werden. Ein unterschiedliches Reaktionsvermögen der verschiedenen Fluoridverbindungen mit der Zahnhartsubstanz lässt sich aber in-vitro gut darstellen. So konnte zum Beispiel Petzold zeigen, dass es nach Applikation einer Aminfluoridlösung schneller zur Bildung von

KOH-löslichem Fluorid auf dem Zahnschmelz kam als nach Applikation einer Natriumfluoridlösung (Petzold, 2001).

2.2 Fluoridverbindungen in der Kariesprophylaxe

Die ersten Mundhygienepräparate, denen Fluorid zugesetzt war, enthielten *Natriumfluorid*. Es zählt zu den am weitesten verbreiteten und am häufigsten eingesetzten Fluoridverbindungen in der Kariesprophylaxe (Gehring, 1983).

In zahlreichen Studien konnte belegt werden, dass die zweimal tägliche Anwendung von Natriumfluorid-Zahnpasten eine Kariesreduzierung von 20% bewirken kann (Naujoks, 1983). Abhängig von der Konzentration wirkt NaF bakteriostatisch oder bakterizid. NaF in geringen Konzentrationen hemmt kariesinduzierende Streptokokken wie *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sangius* und *Streptococcus salivarius* (Gehring, 1983).

Des Weiteren wird in der Kariesprophylaxe das *Natriummonofluorophosphat* (NaMFP) eingesetzt. Nach Applikation von NaMFP (kovalent gebundenes Fluorid) verläuft die Reaktion anders als bei den ionisch gebundenen Fluoriden (Ericcson, 1963): Zunächst diffundiert Monofluorphosphat in den Zahnschmelz und wird gegen Phosphat ausgetauscht. Im nächsten Schritt findet die Hydrolyse des Monofluorphosphats durch Speichel- und Plaqueenzyme bzw. Säuren statt. Die folgende Reaktion der freien Fluoridionen mit dem Zahnschmelz verläuft wie bei anderen ionischen Fluoriden (Cruz et al., 1994; Hellwig and Klimek, 1984). Monofluorphosphat diffundiert sehr viel langsamer in den Schmelz als freies Fluorid, deshalb ist eine Fluoridanreicherung im Oberflächenschmelz nach lokaler Applikation geringer als nach Applikation ionisch gebundener Fluoride.

Zinnfluorid gehört vor allem wegen seiner antimikrobiellen Wirkung zu den Inhaltsstoffen fluoridhaltiger Mundhygieneprodukte. Zinnionen werden an der Bakterienoberfläche adsorbiert und reduzieren durch Hemmung des Metabolismus die

Etablierung der bakteriellen Flora. Ein weiterer Effekt bei Anwendung Zinnfluoridhaltiger Mundhygieneartikel ist die Verminderung von Zahnhalsüberempfindlichkeiten (Addy and Mostafa, 1988).

Aminfluoride sind Hydrofluoride von tertiären Aminen und gehören zu der Kategorie der organischen Fluoridverbindungen. Es handelt sich um kationische Tenside mit starker Oberflächenaktivität (Bramstedt and Bandilla, 1966; Schmid, 1983). Sie verfügen über eine lange, hydrophobe Alkylgruppe und ein polares, hydrophiles protoniertes tertiäres Amin mit einem Fluorid als Anion (Schmid, 1983).

Die Eigenschaften von Aminfluoriden wurden von Lutz folgendermaßen zusammengefasst (Lutz, 1983):

Durch eine polare Bindung der kationischen Komponente des AmF mit anionischen Bindungsstellen der oralen Mukosa wird eine lange Verweilzeit des Fluorids in der Mundhöhle gewährleistet.

Auf der Zahnoberfläche bildet sich eine Doppelschicht aus dem positiv geladenen Aminteil und dem negativ geladenen Fluoridionen aus. Die Fluoridionen lagern sich in unmittelbarer Nähe der Zahnoberfläche an (Schmid, 1983), sodass die vollständige Benetzung der klinischen Zahnkrone die Approximalflächen miteinschließt.

Die Haftung von fluoridreichen Deckschichten auf Oberflächenschmelz führt bei regelmäßiger Applikation zu einer hohen Säureresistenz.

AmF besitzt eine hohe Reaktionsbereitschaft mit dem Zahnschmelz, die bereits nach Sekunden eine chemische Umsetzung erlaubt.

Die Änderung der physikalischen Eigenschaften der Zahnoberfläche führt auch zu einer Änderung der Bedingungen für die Adhäsion der Plaquebakterien (Schmid, 1983). AmF zeichnet sich durch die Bildung eines bakteriophoben, die Plaquebildung hemmenden Schutzfilmes aus.

Diese Plaque abweisende Eigenschaft hat leicht höhere Fluoridkonzentrationen und vor allem eine längere Verweilzeit des Fluorids in der Plaque zur Folge.

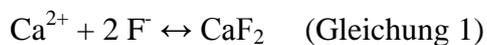
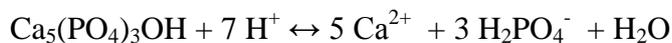
Durch Hemmung der ATP-Bildung in kariesinduzierenden Streptokokken wird Aminfluoriden eine bakteriostatische Wirkung zugeschrieben. Des Weiteren wirkt AmF bereits bei relativ geringen Konzentrationen bakterizid, da aliphatische Amine die bakterielle Zellwand schädigen (Bramstedt and Bandilla, 1966; Gehring, 1983).

Amine inhibieren analog zu Fluoridionen den mikrobiellen Kohlenhydratstoffwechsel, sodass diese Wirkung bei Aminfluorid verstärkt ist. Die antiglykolitischen Eigenschaften halten über Stunden an (Klement and Siebert, 1985).

2.3 Wirkungsweise von Fluoriden

2.3.1 Reaktion von Fluoriden mit Zahnhartsubstanzen und Plaque

Bei der Reaktion von Fluorid mit den Zahnhartsubstanzen handelt es sich fast ausschließlich um eine Reaktion mit dem Hydroxylapatit (HAP) des Zahnschmelzes. Grundsätzlich kann man in vereinfachter Form folgende Reaktionsmechanismen unterscheiden:



Auf der Basis von älteren in-vitro Studien wurde beschrieben, dass die in Gleichung 1 beschriebene Reaktion bevorzugt erfolgt, wenn die Fluoridkonzentration der applizierten Lösung relativ hoch ist oder der pH-Wert der Fluoridlösung niedrig ist. Die in Gleichung 2 beschriebene Reaktion soll bevorzugt bei niedriger Fluoridkonzentration der applizierten Lösung erfolgen (McCann, 1953).

Eine differenziertere Beschreibung der möglichen Reaktionen zwischen Fluorid und Hydroxylapatit erfolgte durch Arends und Christoffersen (1990).

(1) An der Zahnoberfläche werden Schmelzminerale initial aufgelöst, anschließend schlägt sich bereits ab einer Fluoridkonzentration von 10 ppm ein Kalziumfluoridhaltiges Präzipitat (CaF_2) nieder (Arends and Christoffersen, 1990).

(2) Nach der initialen Auflösung des oberflächlichen Zahnschmelzes präzipitiert fluoridiertes Hydroxylapatit (HFAP) bzw. Fluorapatit (FAP).

(3) Diffusion des Fluorids in den Zahnschmelz, das spezifisch an freie Bindungsstellen (z.B. OH^- , CA^{2+} , HPO_3^{2-}) der Kristalloberfläche im Zahnschmelz bindet.

(4) Diffusion des Fluorids in den Zahnschmelz zur Ausbildung einer unspezifischen Bindung, z.B. in der wässrigen Hülle um die Kristalle.

Auch Plaque hat die Fähigkeit, Fluorid zu speichern (Tatevossian, 1990). Das Fluorid kommt dabei als ionisierte, ionisierbare und fest gebundener Form vor (Singer et al., 1970). Die Anlagerung von Fluorid auf die Zahnoberfläche verändert ihre elektrochemischen Eigenschaften (Duschner et al., 1984) und beeinflusst somit die Adhärenz, aber auch das Wachstum und den Metabolismus von Plaquebakterien.

2.3.2 Kariesprotektive Wirkung von Fluoriden

Die Hemmung von Karies durch Fluoride beruht auf folgenden Wirkungen:

1. Hemmung der Demineralisation und Förderung der Remineralisation,
2. Verringerung der Säurelöslichkeit des Schmelzes,
3. Hemmung des bakteriellen Kohlenhydratstoffwechsels,
4. Hemmung der Plaqueneubildung auf der Zahnoberfläche.

Die Wirkung von Fluorid beruht hauptsächlich auf einer Hemmung der Demineralisation und einer Förderung der Remineralisation des Zahnschmelzes (Arends et al., 1983; Clark, 1982; Hellwig and Lussi, 2001; Marinho et al., 2002). Ursprünglich war man davon ausgegangen, dass das Fluorid nach Einbau in das Schmelzmineral einen dauerhaften Schutz vor kariösen Säureangriffen gewährleistet. In den letzten Jahrzehnten hat die Forschung die Aufmerksamkeit auf die F^- -Ionen in der flüssigen Phase gerichtet, die entscheidender für die kariesprotektive Wirkung sind als die im Schmelz fest eingebauten F^- -Ionen (Fischer et al., 1995; Ogaard et al., 1988).

De- und Remineralisation werden durch freie F^- -Ionen in der Flüssigkeit um die Apatitkristalle gehemmt. Bei der Demineralisation wird das freie Fluorid an der Oberfläche der Kristalle adsorbiert und behindert so deren Auflösung durch die

Plaquesäuren. Bei der Remineralisation von teilweise aufgelösten Kristalliten beschleunigt Fluorid den Prozess der Rekristallisation, indem es an der Kristalloberfläche absorbiert und Kalziumionen anlockt (ten Cate, 1990). Dies geht mit einem Kristallwachstum einher (Hellwig et al., 1993; Hellwig et al., 1989; Iijima et al., 1999; Ramos-Gomez and White, 1983).

Besonders wichtig ist es also, dass freie F⁻-Ionen zur Verfügung stehen, wenn ein kariöser Angriff stattfindet. Strukturell fest im Kristallgitter gebundenes Fluorid kann diese Aufgaben nicht so gut erfüllen.

Ögaard et al. (1991) konnten in einem Experiment durch einen Vergleich zwischen Haifischschmelz und menschlichem Schmelz belegen, dass strukturell fest gebundenes Fluorid weniger effektiv vor Karies schützt als frei verfügbares Fluorid. Obwohl Haifischschmelz aus nahezu reinem Fluorapatit besteht, entwickelte sich in-situ unter Plaque bei Proben aus Haifischschmelz eine stärkere initiale Karies als bei Zahnproben aus menschlichem Schmelz, die einmal täglich mit einer Fluoridlösung gespült wurden (Ogaard et al., 1991).

Eine wichtige Fluoridquelle stellt die Kalziumfluoriddeckschicht (CaF₂-Schicht) auf der Zahnoberfläche dar. Während eines kariogenen Säureangriffes werden von Plaquebakterien aus niedermolekularen Kohlenhydraten organische Säuren gebildet, der pH-Wert fällt ab und die F⁻-Ionen aus dem CaF₂-Präzipitat werden wieder freigesetzt. Die CaF₂-Schicht dient demzufolge als pH-abhängiges Fluoridreservoir (Ogaard, 1990; Silva et al., 2001; van Strijp et al., 1999). Bei neutralem pH-Wert ist das CaF₂-Präzipitat relativ stabil (Ganss et al., 2004; Ganss et al., 2001; Rolla et al., 1993). Während eines kariösen Angriffs nimmt die CaF₂-Schicht als wichtigster Lieferant für freie F⁻-Ionen eine zentrale Rolle bei der Hemmung der Demineralisation ein (Fischer et al., 1995; Takagi et al., 2001).

Eine bereits remineralisierte Kariesläsion hat den Vorteil, gegenüber einem erneuten Säureangriff widerstandsfähiger zu sein als gesunde Zahnhartsubstanz (Betke et al., 2003; Hicks and Flaitz, 2000; White, 1987).

Zusätzlich hemmt Fluorid die Adhäsion, das Wachstum und den Metabolismus von Plaquebakterien. Die Inhibition der Glykolyse von Plaquebakterien erfolgt durch Eingriff an mehreren Zwischenschritten des bakteriellen Stoffwechsels.

Bei einem Säureangriff kommt es zum Herabsinken des pH-Wertes und somit zum Herauslösen von Fluorid aus der CaF_2 -Schicht. Durch die Bindung von Fluorid an H^+ -Ionen entsteht Fluorwasserstoff (HF). Das HF diffundiert in die Bakterienzelle und führt im Zellinneren zu basischen Verhältnissen. Sowohl der nötige Protonengradient für den Glucosetransport als auch das pH-Optimum der Enzyme für die Glykolyse werden verhindert. Durch die Bindung von Fluorid an Magnesium wird zusätzlich auch das magnesiumabhängige Enzym Enolase inhibiert, das für die Säurebildung der Bakterien und die Synthese extrazellulärer Polysaccharide notwendig ist (Clark, 1982; Gehring, 1983).

Außerdem verändert die CaF_2 -Deckschicht die elektrochemischen Eigenschaften der Schmelzoberfläche. Die elektronegativen Fluoridionen bewirken eine Absättigung der positiven Oberflächenladung von unbehandeltem HAP, sodass die Adhäsion von Bakterien und Plaque gehemmt wird (Duschner et al., 1984).

2.4 Bildung von CaF_2

Gerould beschrieb bereits vor über 60 Jahren den Zusammenhang zwischen hoher Fluoridexposition und Bildung von Kalziumfluorid auf dem Schmelz als Hauptprodukt (Gerould, 1945).

Nach lokaler Fluoridierung schlägt sich in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren wie der Fluoridkonzentration, dem pH-Wert des Präparates sowie dem Zustand des Zahnschmelzes als Hauptreaktionsprodukt ein relativ stabiles Kalziumfluorid-ähnliches Präzipitat (CaF_2) auf der Zahnoberfläche nieder (Duschner et al., 1984; McCann, 1953). Das Kalzium, das für die Bildung von Kalziumfluorid benötigt wird, stammt aus dem Zahnhartgewebe oder wird vom Speichel zur Verfügung gestellt. Ein saurer pH-Wert begünstigt die Bereitstellung von Kalziumionen aus dem Zahnhartgewebe.

In in-vitro Experimenten zeigte sich eine Bildung von Kalziumfluorid bei Lösungen mit neutralem pH-Wert erst ab einer Fluoridkonzentration von 300 ppm. Bei pH 5 genügt eine Konzentration von 100 ppm Fluorid, um eine spontane Präzipitation von Kalziumfluorid auszulösen (Larsen and Jensen, 1994). Wenn ein kariöser Angriff erfolgt und der pH-Wert sinkt, wird Fluorid aus dem Kalziumfluorid freigesetzt und kann so die Demineralisation hemmen sowie die Remineralisation fördern.

Rosin-Grget et al. führte eine in-vitro-Studie durch, bei der unter anderem die Menge an KOH-löslichem F^- nach Applikation von AmF-Lösung unterschiedlicher Konzentrationen (1,0 % F, 0,5 % F, 0,25 % F) auf sauberem, polierten humanen Schmelz mit einer Einwirkzeit von 3 min an drei aufeinander folgenden Tagen bestimmt wurde. Die Menge an KOH-löslichem F betrug bei Anwendung der 1,0 %igen AmF-Lösung $35,2 \pm 16,1 \mu\text{g F/cm}^2$, bei 0,5 %iger Konzentration $33,2 \pm 16,3 \mu\text{g F/cm}^2$, bei 0,25 %iger Konzentration $18,6 \pm 9,2 \mu\text{g F/cm}^2$ (Rosin-Grget et al., 2002).

Cruz et al. hingegen untersuchten die Menge an KOH-löslichem F^- nach einmaliger Applikation einer NaF-Zahnpaste oder 2%igen NaF-Lösung (pH 7) auf sauberem, polierten humanen Schmelz. Die einstündige Applikation der 2%igen NaF-Lösung führte zu $15,33 \mu\text{g F/cm}^2$, nach 24h zu $156,93 \mu\text{g F/cm}^2$ während die Colgate Junior Zahnpaste (1g gelöst in 3 ml Aqua dest.) $2,16 \mu\text{g F/cm}^2$ bzw. $6,82 \mu\text{g F/cm}^2$ KOH-lösliches F^- erzielte (Cruz et al., 1992).

Das Kalziumfluorid lässt sich elektronenmikroskopisch darstellen und hat die Form von nahezu halbkugelförmiger, unregelmäßiger Globuli. Die Durchmesser der CaF_2 -Globuli liegen dabei im Bereich von wenigen 10 nm bis zu ca. 1 μm . Unter bestimmten Bedingungen bildeten sich die CaF_2 -Globuli in weniger als 20 Sekunden (Petzold, 2001).

Wenn Zahnschmelz durch eine beginnende Karies teilweise demineralisiert ist, wird aufgrund der vergrößerten Oberfläche mehr Kalziumfluorid gebildet als bei gesundem Schmelz.

Wenn der Zahnschmelz im Sinne einer initial kariösen Läsion verändert war, konnten Kalziumfluorid-ähnliche Präzipitate nicht nur auf der Oberfläche, sondern in bis zu 40 Mikrometer Tiefe nachgewiesen werden (Duschner et al., 1997).

Ein saurer pH-Wert von Fluoridierungsmitteln fördert die Bildung von Kalziumfluorid auch bei relativ niedriger Fluoridkonzentration, wie sie z.B. bei Verdünnung von Zahnpaste durch Speichel vorliegen kann. Durch eine in-situ Studie, bei der eine Aminfluorid-haltige Zahnpaste mit einem pH-Wert von 5,5 mit einer Natriumfluorid-haltigen Zahnpaste mit einem pH-Wert von 7,0 verglichen wurde, konnte dies bestätigt werden. Nach 4-wöchiger Anwendung zeigte sich für die Aminfluorid-haltige Zahnpaste eine deutlich höhere Bildung von Kalziumfluorid auf dem Schmelz als für die Natriumfluorid-haltige Zahnpaste (Klimek et al., 1998).

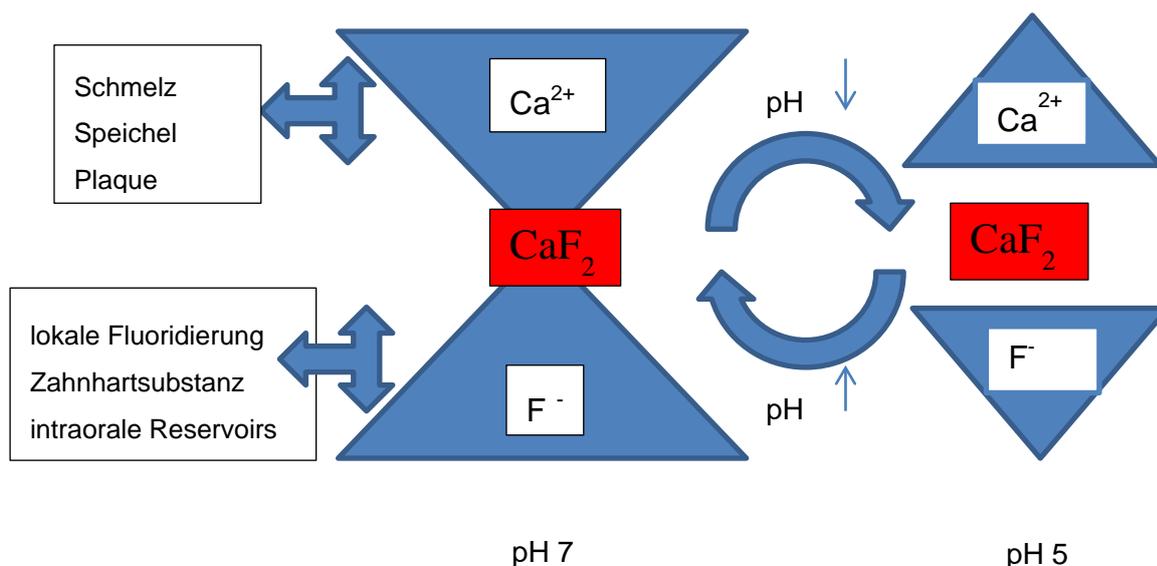


Abbildung 2-1 schematische Darstellung zur Bildung von Kalziumfluorid

Die Kalziumfluoridbildung wird auch durch die Art der Fluoridverbindung beeinflusst. Aus Verbindungen wie Aminfluorid oder Natriumfluorid, die Fluorid in ionischer Bindungsform enthalten, wird das Fluoridion schnell freigesetzt. Besonders schnell bilden sich erste CaF_2 -Globuli bei der Anwendung von Aminfluoriden (Petzold, 2001). Bei Natriummonofluorophosphat (MFP) ist das Fluorid kovalent gebunden und muss in der Mundhöhle erst durch Hydrolyse freigesetzt werden, um mit dem Kalzium reagieren

zu können. So konnten Hellwig et al. in einer 6-tägigen in-situ Studie mit niedrig dosierten Fluoridzahnpasten (250 ppm F) nach Anwendung einer Aminfluorid-haltigen Zahnpaste beträchtliche Mengen von KOH-löslichem Fluorid (Kalziumfluorid) auf dem Schmelz finden, nicht aber nach Anwendung einer MFP-haltigen Zahnpaste (Hellwig et al., 1990).

Saxegaard und Rølla untersuchten die Fluoridaufnahme nach lokaler Fluoridapplikation unter Variierung der Parameter Applikationsdauer, F⁻ Konzentration, pH-Wert sowie den Einfluss einer Vorbehandlung des Schmelzes mit Ca²⁺ und Anätzen. Eine einmalige Applikation einer NaF-Lösung (0,48 mol/l) führte nach einer Dauer von 5 min zu einem KOH-löslichem F-Gehalt von 2,8 µg F/cm² und nach 10 min zu 10,1 µg F/cm². Eine einmalige Applikation für 1 h einer NaF-Lösung mit pH 7 führte bei einer F-Konzentration von 0,06 mol/l zu einem KOH-löslichem F-Gehalt von 2,5 µg F/cm² und bei 0,48 mol/l von 5 min zu 10,1 µg F/cm². Die Variation der pH-Werte führte zu dem Ergebnis, dass die stärkste zu verzeichnende Zunahme bei einem pH-Wert zwischen 7 und 5,5 zu beobachten war. Eine einmalige Applikation (5 min) einer NaF-Lösung (0,48 mol/l, pH 7) führte nach Vorbehandlung mit 37%iger Phosphorsäure zu einem KOH-löslichem F-Gehalt von 7,3 µg F/cm² und mit Kalziumchlorid zu 3,9 µg F/cm² und die Kombination zu 9,4 µg F/cm². Ein 1-min Anätzen der Schmelzoberfläche vor Fluoridapplikation hatte einen höheren Effekt als die Vorbehandlung mit einer Kalziumchloridlösung für 5 min. Die beste Effektivität wurde nach Kombination von Anätzen und Kalziumchlorid erzielt.

Zusammenfassend stieg die Menge an KOH-löslichem Fluorid mit der Zeit, der Konzentration, dem pH-Wert-Abfall und der Ca²⁺-Verfügbarkeit (Saxegaard and Rolla, 1988).

Da Kalziumfluorid in Wasser relativ leicht löslich ist, war man davon ausgegangen, dass es in der Kariesprophylaxe keinen nennenswerten Effekt ausübt. Unbedacht war, dass die Löslichkeit eines Produktes vom Medium abhängt. Kalziumfluorid löst sich in Speichel deutlich langsamer auf als in Wasser (Saxegaard et al., 1988). Die Auflösung von Kalziumfluorid in der Mundhöhle hängt auch vom pH-Wert der Umgebung ab.

Kalziumfluorid kann unter günstigen Bedingungen in kleinen Mengen noch Wochen oder sogar Monate nach einer Fluoridapplikation nachgewiesen werden (Caslavská et

al., 1991). Der Grund liegt in der schützenden Beschichtung durch eine Pellikel. Die Pellikel ist besonders reich an Proteinen und Phosphaten und fungiert demnach wie eine Abwehrschicht.

Der größte Anteil des auf dem Zahnschmelz gebildeten Kalziumfluorids geht in den ersten Stunden nach einer Applikation wieder verloren. Während dieses Zeitraums lässt sich aber eine kariesprophylaktisch bedeutende Erhöhung der Fluoridkonzentration im Speichel nachweisen. Issa und Toumba (2004) konnten bei der Untersuchung verschiedener Zahnpasten zwei Stunden nach Anwendung einer Aminfluorid-haltigen und einer Natriumfluorid-haltigen Zahnpaste noch eine erhöhte Fluoridkonzentration im Speichel nachweisen. Beim Vergleich der verschiedenen Zahnpasten zeigte sich, dass die Fluoridkonzentration im Speichel nach Anwendung der Aminfluorid-Zahnpaste höher als nach Anwendung einer Natriumfluorid- und einer MFP-Zahnpaste war (Issa and Toumba, 2004).

Während man früher der Bildung von Fluorapatit die größte Bedeutung beigemessen und die Bildung von Kalziumfluorid als unerwünschten Nebeneffekt betrachtet hat, ist Kalziumfluorid aus heutiger Sicht das wichtigste Reaktionsprodukt auf dem Zahnhartgewebe nach der Lokalapplikation von Fluoridierungsmitteln (Cruz and Rolla, 1992).

3 Material und Methode

3.1 Herstellung der Schmelzproben

Für die Studie wurden kariesfreie Frontzähne der zweiten Dentition frisch geschlachteter Rinder extrahiert und direkt im Anschluss in einer wässrigen, gesättigten Thymollösung (Mat. 1) gelagert.

Die Zähne wurden mit einem Skalpell (Mat. 2) von Gewebsresten gereinigt. Die Zahnwurzeln wurden unterhalb des Zahnhalses mit einer diamantierten Bandsäge (Mat. 3) abgetrennt. Hierfür wurden die Zähne mit ihrer Inzisalkante mit lichthärtenden Kunststoff (Mat. 4) und einer Polymerisationslampe (Mat. 5; 60 sek) auf Plexiglasobjektträgern (Mat. 6) aufgeklebt.



Abbildung 3-1 Exakt Trennschleifgerät

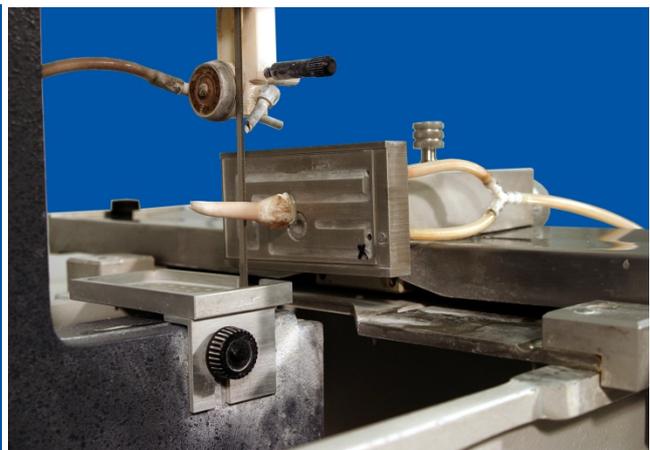


Abbildung 3-2 Exakt Trennschleifgerät mit vollständigem bovinen Frontzahn



Abbildung 3-3 Trennung des Zahnes in Wurzel und Krone und mehrfache Teilung der Krone

Der Plexiglasobjektträger mit dem aufgeklebten Zahn wurde durch Ansaugen mit einer Vakuumpumpe (Mat. 7; 700 mbar) an dem Exakt-Trennschleifgerät angebracht. Bei ausreichender Wasserkühlung, einer mittleren Geschwindigkeit der Bandsäge (Stufe 5, ca. 20 m/min) und einer Belastung des Schlittens von 50 g wurden die Wurzeln von der Krone abgetrennt. Die Dicke des Sägeblattes betrug 0,33 mm. Die in den Kronen verbliebene Pulpa wurde mit Hilfe von Extirpationsnadeln (Mat. 8) in toto entfernt.

Um aus der Krone mehrere Schmelzproben zu erhalten, wurden von den verschiedenen Glattflächen der Zahnkrone je nach Größe ca. 3 Scheiben mit dem Exakt-Trennschleifgerät abgesägt, indem jedes Mal die Krone erneut auf ein Plexiglasobjektträger aufgeklebt wurde.

Um eine plane Oberfläche zu schaffen (Abb. 3-6), wurden die Schmelzscheiben wieder auf Plexiglasobjektträger fixiert und mit Hilfe des Mikroschleifsystems (Mat. 9) (Abb. 3-4, 3-5) zunächst mit einem Schmirgelpapier der Körnung 220 und zusätzlich mit der Körnung 1200 (Mat. 10) bearbeitet. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die geglättete Oberfläche innerhalb des Schmelzes lag. Wurde beim Schleifen Dentin mit angeschnitten, so war die Probe zu verwerfen.



Abbildung 3-4 Exakt Mikroschleifsystem



Abbildung 3-5 Exakt Mikroschleifsystem mit Schmirgelpapier

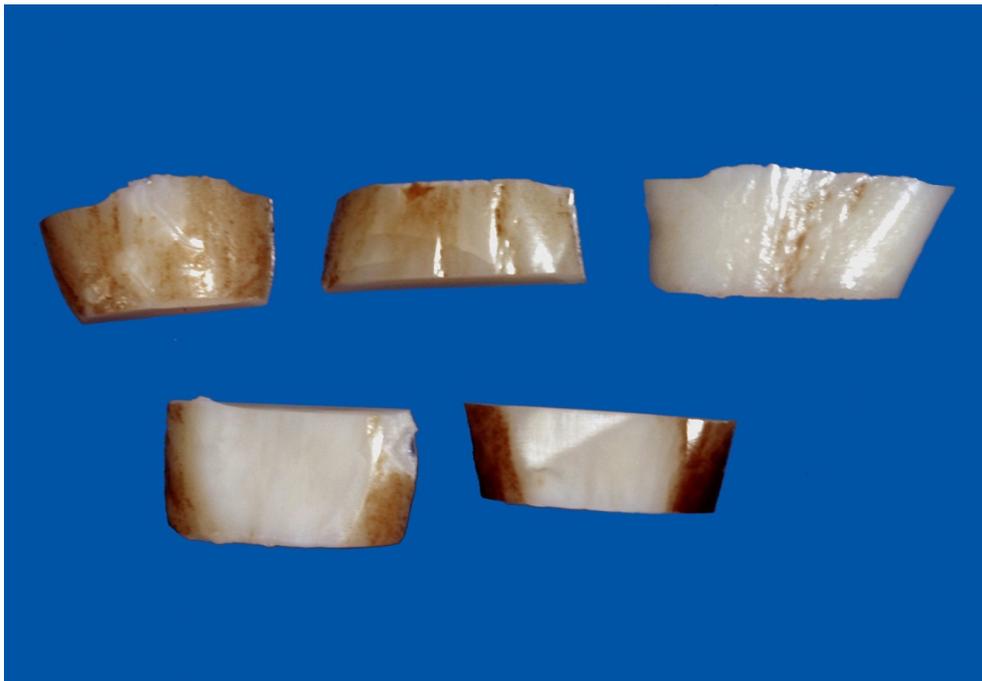


Abbildung 3-6 Schmelzscheiben: oben ungeschliffen; unten geschliffen und poliert

Um genau definiert große Oberflächen zu erhalten, wurden aus den planen Flächen unter Zuhilfenahme eines diamantierten Hohlbohrers (Mat. 12) mit einem Durchmesser von 3 mm runde Zylinder herauspräpariert (Abb. 3-7). Hierzu wurde ein Mikroskopständer (Mat. 13) als Halterung für ein Handstück (Mat. 14) umfunktioniert,

in das der Hohlbohrer eingespannt wurde. Die Probenentnahme erfolgte bei 25.000 U/min unter ständiger Wasserkühlung senkrecht zu den planen Flächen.



Abbildung 3-7 plangeschliffene Schmelzlamelle; Hohlzylinderbohrer; herauspräparierte Proben

Im Anschluss erfolgte eine Kontrolle der Proben unter dem Stereomikroskop (Mat. 15). Waren Absplitterungen am Rand der Probe vorhanden, wurde diese verworfen. Schließlich wurden die Proben unter Aussparung der Schmelzoberfläche mit Gusswachs (Mat. 16) ummantelt, um die Analyse des KOH-löslichen Fluorids ausschließlich auf der Oberseite sicherzustellen (Abb.3.8).



Abbildung 3-8 herauspräparierte Proben; ummantelte Proben

Auch hier erfolgte eine Kontrolle der Proben unter dem Stereomikroskop, diesmal auf eventuelle Wachsverunreinigungen.

Letztlich wurden die Probenoberflächen durch einmaliges Abwischen mit einem in 96%igem Alkohol (Mat. 18) getränkten Wattestäbchen (Mat. 19) gereinigt.

Insgesamt wurden so 450 Schmelzproben hergestellt. Das Ausmessen des Durchmessers wurde mit einem Makromikroskop (Mat. 20) stichprobenartig sowohl horizontal als auch vertikal durchgeführt. Die für die Versuche relevante Fläche betrug nun im Durchschnitt $10,25 \text{ mm}^2$.

Bis zum Versuchsbeginn wurden die Proben in Plexiglasbehältern (Mat. 21) und mit einer mit destilliertem Wasser befeuchteten Watterolle (Mat. 22) bei 100 % Luftfeuchtigkeit aufbewahrt.

3.2 Versuchsablauf

3.2.1 Verwendete Zahnpasten

Für den Versuch wurden die Aminfluorid enthaltende Zahnpasten Elmex® Kariesschutz und Elmex® Kinder-Zahnpasta der GABA GmbH aus Lörrach (D), als Natriumfluorid enthaltende Zahnpasten mit gleicher Fluoridkonzentration die Produkte Odol med 3® Junior und Odol med 3® Milchzahn der GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH & Co. KG aus Bühl (D) und als Kontrollgruppe eine fluoridfreie Zahnpaste (Placebo) verwendet.



Abbildung 3-9 Verwendete Zahnpasten: Elmex® Kariesschutz, Elmex® Kinder-Zahnpasta, Odol med 3® Junior und Odol med 3® Milchzahn (nicht abgebildet ist die fluoridfreie Zahnpaste (Placebo)).

3.2.1.1 Elmex® Kariesschutz

Inhaltsstoffe nach Angaben des Herstellers: Aqua, Hydrated Silica, Sorbitol, Hydroxyethylcellulose, Olafluor (Aminfluorid), Aroma, Limonene, Titanium Dioxide und Saccharin. Der Fluoridgehalt der Elmex® Kariesschutz beträgt 1400 ppm.

3.2.1.2 Elmex® Kinder

Inhaltsstoffe nach Angaben des Herstellers: Aqua, Hydrated Silica, Sorbitol, Hydroxyethylcellulose, Titanium Dioxide, PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Cocamidopropyl Betaine, Olafluor (Aminfluorid), Aroma, Limonene, Methylparaben, Saccharin und Polyaminopropyl Biguanide. Der Fluoridgehalt beträgt 500 ppm.

3.2.1.3 Odol med 3® Junior

Inhaltsstoffe nach Angaben des Herstellers: Aqua, Hydrated Silica, Sorbitol, Glycerin, PEG-6, Sodium Lauryl Sulfate, Aroma, Xanthan Gum, Titanium Dioxide, Carrageenan, Sodium Fluoride, Sodium Saccharin, Limonene, Cl 74260, Cl 74160, Cl 73360. Der Fluoridgehalt beträgt 1400 ppm.

3.2.1.4 Odol med 3® Milchzahn

Inhaltsstoffe nach Angaben des Herstellers: Aqua, Glycerin, Hydrated Silica, Xylitol, PEG-6, Xanthan Gum, Sodium Fluoride, Sodium Methyl Cocyl Taurate, Disodium Phosphate, Aroma, Titanium Dioxide, Sodium Saccharin, Methylparaben, Propylparaben, Cl 73360, Cl 74160. Der Fluoridgehalt beträgt 500 ppm.

3.2.1.5 Fluoridfreie Zahnpaste (Placebo)

Die fluoridfreie Zahnpaste (Placebo) für die Kontrollgruppe wurde eigens für diese Studie von GABA Int. AG hergestellt. Die Zahnpaste weist folgende Laborwerte auf: Der pH-Wert liegt bei 7,20, die Fluoridkonzentration beträgt max. 10 ppm (Methyl parabene 0,209%, Propyl parabene 0,041%; Butyl parabene 0,041%).

3.2.2 Künstlicher Speichel

Zur Herstellung des künstlichen Speichels wurden 0,4 g H_3PO_4 (Mat. 28) in 40 ml Aqua dest., je 1,5 g KCl (Mat. 29), 1,0 g $NaHCO_3$ (Mat. 30) und 0,22 g $CaCl_2$ (Mat. 31) getrennt in jeweils 100ml Aqua dest. mit Hilfe eines Magnetrührgeräts (Mat. 32) aufgelöst. Dann wurden die vier Lösungen miteinander vermischt und destilliertes Wasser zugegeben, bis die Gesamtmenge 1000ml betrug. Der pH Wert (Mat. 34) stellte sich im Bereich zwischen 6,5 bis 6,7 ein (Gerrard and Winter, 1986).

3.2.3 Versuchsablauf

Mit jeder der Testzahnpasten wurden jeweils 20 Schmelzproben behandelt. Für die Placebokontrolle wurden jeweils 10 Schmelzproben verwendet. Die aus einem Zahn gewonnenen Schmelzproben wurden verschiedenen Gruppen zugeteilt (Abb. 3-9). So konnte weitgehend vermieden werden, dass Variationen zwischen den Zähnen den Vergleich der verschiedenen Zahnpasten beeinflussen.

Hierfür wurden die zu einer Gruppe gehörenden Schmelzproben mit lichthärtendem Kunststoff (Mat. 4) auf Objektträgern (Mat. 35) fixiert. Um eine ausreichende Retention zu gewährleisten, wurden die Objektträger zuvor mit dem Sandstrahlgerät

(Mat. 36) aufgeraut und im Ultraschallbad (Mat. 37, 10 Min.) von anhaftenden losen Auflagerungen gereinigt.

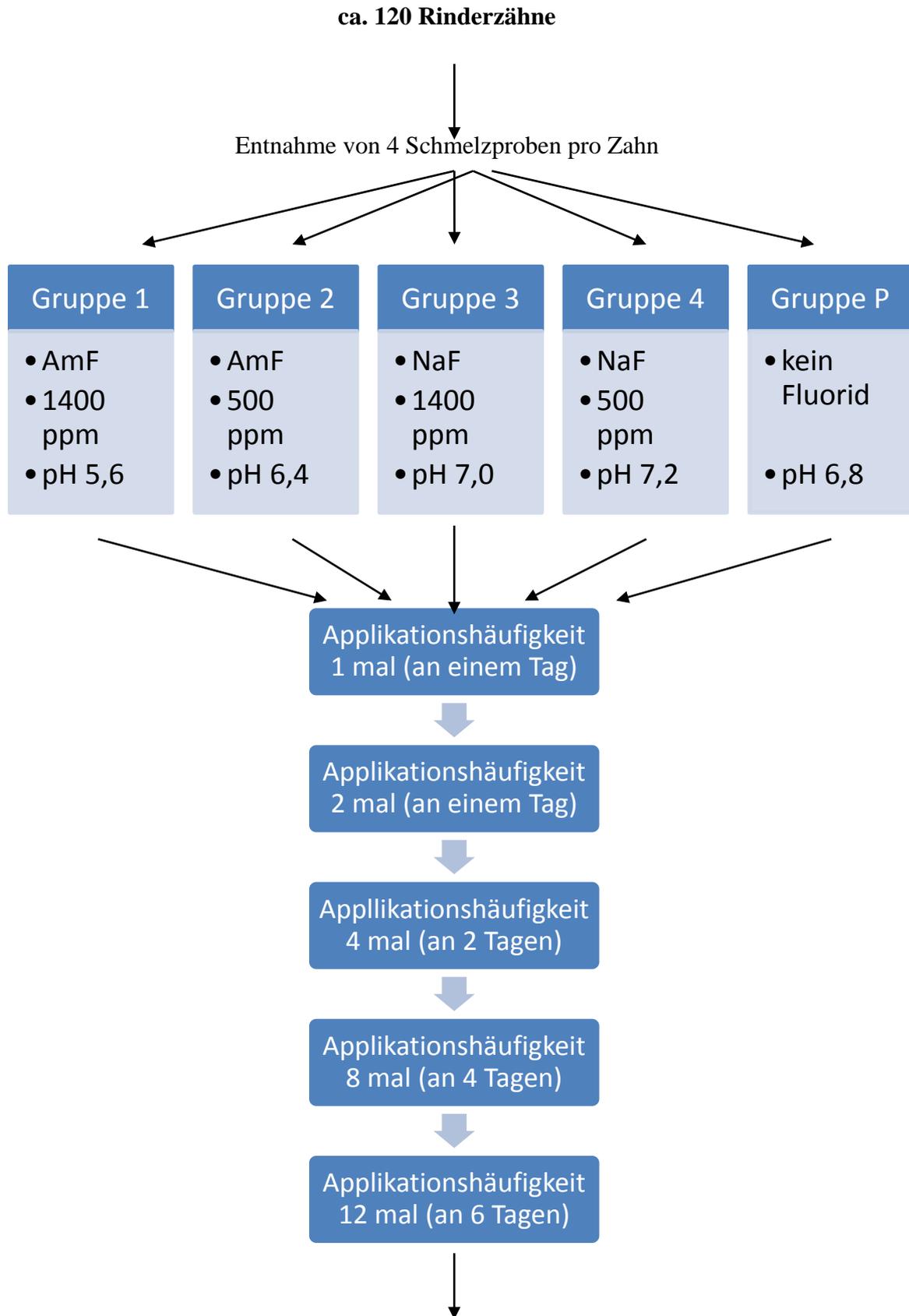
Entsprechend der Anzahl der Zahnpasten wurden in fünf Gestelle (Mat. 38) aus Glas, jeweils entsprechend der Applikationshäufigkeiten, fünf Objektträger mit je 20 Schmelzproben eingebracht.

Die Schmelzproben wurden an sechs aufeinanderfolgenden Tagen zweimal täglich, morgens und nachmittags, für eine Minute in Slurry aus entsprechender Zahnpaste und künstlichem Speichel in Tröge (Mat. 39) aus Glas eingebracht.

Die Slurry aus Zahnpaste und künstlichem Speichel wurde im Verhältnis 1:3 hergestellt. Hierzu wurde jeweils 76,6 g Zahnpaste mit 230 ml künstlichem Speichel mit einem Magnetrührer sorgfältig vermischt.

Bei der Behandlung wurden die Tröge in dem Schwenkbad (Mat. 40) bei 37°C sanft geschüttelt, um eine optimale Umspülung der Proben bei Körpertemperatur zu gewährleisten. Nach jeder Behandlung wurden die Proben für eine Minute mit destilliertem Wasser ab gespült. Anschließend wurden die Proben bis zur nächsten Behandlung in künstlichem Speichel in einem Glasgestell (Mat. 39) im Schwenkbad bei 37 °C gelagert. Der künstliche Speichel wurde an jedem neuen Versuchstag durch frischen Speichel ersetzt.

Nach der letzten Applikation verblieben die Proben für 2 Stunden im künstlichen Speichel. Nach der Entnahme wurden die Proben wiederum 1 Minute mit destilliertem Wasser ab gespült und für die Fluoridanalytik vorbereitet.



Bestimmung des KOH-löslichen Fluoridgehaltes

Abbildung 3.10 Exemplarische Darstellung des Versuchsablaufs

3.3.2 Aufbau der Messapparatur



Abbildung 3.11 Messapparatur bestehend aus: Ionenmeter mit zugehöriger Fluorid-Elektrode Modell Orion 720 A +, Magnetrührgerät

Die Messung des Fluoridgehaltes erfolgte durch eine fluoridionenselektive Elektrode (Mat. 50), die mit einem Epoxy-Schutzmantel ausgestattet ist. Ihr wesentliches Element ist eine Lanthan-Fluorid-Einkristallmembran und eine innere Referenzableitung. In dem kristallinen Ionenleiter sind nur Fluoridionen beweglich. Wenn die Membran mit einer Fluoridlösung in Kontakt kommt, bildet sich an der Membran ein Elektrodenpotential. Dieses Potential, das von der Konzentration der freien, in der Lösung befindlichen Fluoridionen abhängt, wird gegen ein externes konstantes Referenzpotential mit einem spezifischen Ionenmeter (Mat. 52) gemessen. Das gemessene Potential entspricht der in der Lösung befindlichen Konzentration an Fluoridionen. Diese wird in ppm umgerechnet digital am Ionenmeter angezeigt.

Unter der Messzelle befand sich ein Magnetrührgerät (Mat. 32), welches einen Magnetrührer (Mat. 33) in dem Reagenzglas antrieb. Die Geschwindigkeit des Magnetrührers war hierbei auf 250 Umdrehungen pro Minute, die Temperatur auf 25 °C eingestellt.

3.3 Bestimmung des KOH-löslichen Fluoridgehaltes

Der Gehalt des KOH-löslichen Fluorids auf dem Schmelz wurde nach der Methode von Caslavská (Caslavská et al., 1975) bestimmt.

3.3.1 Vorbereitung der Proben für die Fluoridanalytik

Mit Hilfe eines Einmalskalpells (Mat. 2) wurden die Proben vorsichtig vom Kunststoff und damit von den Objektträgern (Mat. 35) entfernt und falls notwendig wurde die Ummantelung mit Gusswachs ergänzt.

Dann wurden die ummantelten Proben jeweils einzeln in Reagenzgläsern mit 0,5 ml einer 1-molaren KOH-Lösung (Mat. 45) bei 37 °C unter permanenter Bewegung im Schwenkbad (Mat. 40) aufbewahrt. Verwendung fanden hierbei Kunststoffreagenzgläser (Mat. 42), um Reaktionen zwischen Fluorid und dem Glas auszuschließen.

Nach 24 Stunden wurden die Proben aus der Lösung entfernt und dann in Eppendorfgläsern (Mat. 48) bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Anschließend wurden 0,5 ml einer 1-molaren Salpetersäure (Mat. 49) und 3 ml TISAB 2 (Mat. 46) zu der KOH-Lösung in den Reagenzgläsern hinzugefügt.

Insgesamt betrug der Inhalt eines jeden Reagenzglases nun 4 ml.

3.3.3 Messvorgang

Vor der Konzentrationsmessung wurde die Elektrodensteilheit bestimmt und die Elektrode geeicht. Hierbei war die Steilheit definiert als Potentialänderung bei zehnfacher Konzentrationsänderung.

Zur Eichung wurde eine 100 ppm Standardlösung (Mat. 53) mit Aqua dest. auf eine Konzentration von 0,1 ppm und 1 ppm bzw. von 1 ppm und 10 ppm verdünnt, da in diesem Bereich die später zu erwartenden Messwerte lagen.

Vor jeder Messung wurde zum einen das entsprechende Reagenzglas mit einem Vortex (Mat. 55) für 3 sec durchgeschüttelt, um einen gleichmäßigen Inhalt zu gewährleisten, und zum anderen die Elektrode mit destilliertem Wasser gründlich abgespült und mit einem Papiertuch (Mat. 56) getrocknet, um Verschleierungseffekte zu vermeiden. Sie wurde dann in die Lösung eingetaucht, wobei darauf zu achten war, dass sich keine Luftblasen an der Elektrodenunterseite bildeten. Sobald sich ein stabiler Wert einstellte, gab das Gerät einen Signalton von sich und auf der Anzeige erschien „Ready“, sodass der angezeigte Konzentrationswert abgelesen wurde.

Die mit der Elektrode gemessenen Konzentrationswerte in ppm wurden dann in die absolute KOH-lösliche Fluoridmengen über die Fläche in μg Fluorid pro cm^2 umgerechnet.

3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Softwarepakets SPSS für Windows Version 19. Die Normalverteilung der Stichproben wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest festgestellt. Anschließend wurden die unterschiedlichen Einflussgrößen auf die Versuchsergebnisse anhand einer Varianzanalyse (ANOVA) quantitativ untersucht. Das Signifikanzniveau wurde dabei auf $p \leq 0,05$ festgesetzt. Der Vergleich zweier unabhängiger Stichproben wurde abschließend mit dem Schnelltest von Tukey durchgeführt.

3.5 Materialliste

- Mat. 1 Thymol Pulver, Fluka Chemie AG Buchs (CH)
- Mat. 2 Einwegskalpell Nr. 11, Feather, pfm (Produkte für die Medizin AG), Köln (D)
- Mat. 3 Exact Trennschleifsystem, Exact Apparatebau, Norderstedt (D)
- Mat. 4 Technovit 7230 VLC, Kulzer-Exact, Wehrheim (D)
- Mat. 5 Polymerisationslichtgerät Elipar Highlight, 3M ESPE AG, Seefeld (D)
- Mat. 6 Plexiglasobjektträger 5 x 10 cm , Exakt- Apparatebau O. Herrmann Norderstedt (D)
- Mat. 7 Vakuumpumpe Typ PM 15450-022, KNF Neuberger, Freiburg, (D)
- Mat. 8 Nervnadel, CC Kord 333/C, Best V040333021470, VDW, München (D)
- Mat. 9 Exakt- Mikroschleifsystem, Exakt- Apparatebau O. Herrmann Norderstedt (D)
- Mat. 10 Abrasive Discs, Grit 220 P 220, Leco Corporation, Michigan (USA)
- Mat. 11 Abrasive Discs, Grit 600 P 1200, Leco Corporation, Michigan (USA)
- Mat. 12 Hohlbohrer Außendurchmesser 5mm, Rio Grande Albuquerque (USA)
- Mat. 13 Mikroskopständer, Leitz, Wetzlar (D)
- Mat. 14 Handstück, KaVo EWL Typ 950, Biberach (D)
- Mat. 15 Nikon SMZ-2T, Japan
- Mat. 16 Gusswachs, Orbis Dental (Pluradent) Offenbach (D)
- Mat. 17 Spirituslampe, Becht GmbH Offenburg (D)
- Mat. 18 96 % Ethylalkohol, Otto Fischar GmbH & Co KG, Saarbrücken (D)
- Mat. 19 Wattestäbchen kleiner Kopf, Beese Verbandstoffe Barsbüttel (D)
- Mat. 20 Leica M 420, Makromikroskop, Leica, Bentzheim (D)
- Mat. 21 Probengefäße 63/34mm
- Mat. 22 Watterolle, Roeko Langenau (D)

- Mat. 23 Elmex® Kariesschutz, GABA GmbH, Lörrach (D)
- Mat. 24 Elmex® Kinder, GABA GmbH, Lörrach (D)
- Mat. 25 Odol med 3® Junior, GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH & Co. KG, Bühl (D)
- Mat. 26 Odol med 3® Milchzahn, GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH & Co. KG, Bühl (D)
- Mat. 27 Analysenwaage, Mettler PJ 3000, E.
Mettler Zürich Feinwaage (Ch)
- Mat. 28 Ortho-Phosphorsäure 99%, Merck ; Darmstadt (D)
- Mat. 29 Kaliumchlorid Sigma-Aldrich Chemie GmbH; Steinheim (D)
- Mat. 30 Natriumhydrogencarbonat Merck; Darmstadt (D)
- Mat. 31 Calciumchlorid Merck; Darmstadt (D)
- Mat. 32 Magnetrührgerät IKAMG RET, Janke und Kunkel GmbH&Co, Staufen (D)
- Mat. 33 Magnetrührstäbchen, VWR International GmbH, Darmstadt (D)
- Mat. 34 pH Meter 761 Calimatic, Knick Elektronische Messgeräte, Berlin (D)
- Mat. 35 Objektträger 76 x 26 mm, R.Langensbrink, Emmendingen (D)
- Mat. 36 Sandstrahlgerät, KaVo EWL Typ 5423, KaVo Elektrotechnisches Werk Leutkirch (D)
- Mat. 37 Ultraschallbad Typ RK 52 H, Bandelin electronic, Berlin (D)
- Mat. 38 Färbegestelle, Schott, Mainz (D)
- Mat. 39 Färbekästen, Schott, Mainz (D)
- Mat. 40 Schwenkbad Typ Nr. 1086 und Typ Nr. 1083, GFL, Burgwedel (D)
- Mat. 41 Eurochron Stoppuhr, Junghaus Uhren GmbH Schramberg (D)
- Mat. 42 Kunststoffreagenzglas, Firma Sarstedt Nümbrecht (D)
- Mat. 43 Reagenzglasstände, Roth Karlsruhe (D)
- Mat. 44 Eppendorfpipetten, Eppendorf, Hamburg (D)
- Mat. 45 Kalilauge 1 mol/l, Merck, Darmstadt (D)
- Mat. 46 TISAB 2 with CDTA, Thermo Fisher Scientific, Beverly (USA)
- Mat. 47 Spatel
- Mat. 48 Eppendorfgefäße, Eppendorf, Hamburg (D)
- Mat. 49 Salpetersäure 1mol/l, Merck, Darmstadt (D)

-
- Mat. 50 Thermo Scientific Orion fluoride ion selective electrode
9609BNWP ionplus Sure-Flow Fluoride, Beverly (USA)
- Mat. 51 Fluoride electrode filling solution, Optimum Results A fillig solution,
Cat. No. 900061, Beverly (USA)
- Mat. 52 Thermo Scientific Orion ISE meter 720A+, Beverly (USA)
- Mat. 53 Orion ionplus Fluoride Standard, 100 ppm F⁻, 940907,
Thermo Electron Corporation, Beverly (USA)
- Mat. 54 Fluoride calibration standards
- Mat. 55 Vortex, Typ VF2, Janke & Kunkel GmbH & Co. KG,
IKA-Labortechnik, Staufen i.Br. (D)
- Mat. 56 Papierserviette, Tork SCA Hygiene Products, Wien (A)

4 Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 5 Zahnpasten untersucht. Davon gehörten 4 in die Gruppe der fluoridierten Zahnpasten, die fluoridfreie Placebo- Zahnpaste diente als Kontrollgruppe.

Die exakten Daten des Gesamtkollektivs enthält folgende Tabelle:

Tabelle 4-1 Fluoridgehalt, Fluoridverbindung und pH-Wert der Slurry der Aminfluorid-, Natriumfluorid- und der Placebo Zahnpaste

Parameter	Fluoridgehalt [ppm]	Fluorid- verbindung	pH-Wert der Slurry
Gruppe			
AmF, 1400	1400	AmF	5,6
AmF, 500	500	AmF	6,4
NaF, 1400	1400	NaF	7,0
NaF, 500	500	NaF	7,2
Placebo	0	---	6,8

4.1 Mehrfachvergleiche

In Tabelle 4-2 sind die Mittelwerte (\pm Standardabweichung) des gebildeten KOH-löslichen Fluorids in den verschiedenen Gruppen (Zahnpasten) zu unterschiedlichen Applikationshäufigkeiten aufgelistet.

Tabelle 4-2 Mittelwerte (\pm Standardabweichung) des KOH-löslichen Fluoridgehalts ($\mu\text{g F}/\text{cm}^2$) und Anzahl der Proben n. Statistisch signifikante Unterschiede innerhalb einer Applikationshäufigkeit sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet.

Gruppe	Applikation				
	1 x	2 x	4 x	8 x	12 x
	($\mu\text{g F}/\text{cm}^2$)				
AmF-1400	0,8 \pm 0,2 20 a	1,8 \pm 0,4 20 a	9,6 \pm 3,4 19 a	9,3 \pm 3,2 17 a, b	30,2 \pm 10,6 19 a
AmF-500	0,5 \pm 0,1 20 b	1,8 \pm 1,0 20 a, b	6,5 \pm 2,3 20 b	7,0 \pm 3,8 19 a	23,6 \pm 14,0 20 a
NaF-1400	0,6 \pm 0,2 17 a, b	1,2 \pm 0,3 20 b	5,9 \pm 2,3 20 b	12,6 \pm 5,5 20 b	35,8 \pm 20,5 18 a
NaF-500	0,6 \pm 0,1 20 b	0,8 \pm 0,1 20 c	2,6 \pm 1,1 20 c	12,2 \pm 5,4 20 b	19,5 \pm 12,3 18 a
Placebo	0,3 \pm 0,1 10 c	0,3 \pm 0,1 10 d	0,3 \pm 0,1 10 d	0,3 \pm 0,1 10 c	0,3 \pm 0,1 10 b

In allen Gruppen kam es gegenüber der Placebo-Zahnpaste zu einer signifikanten Anreicherung mit KOH-löslichem Fluorid (Tab. 4-7 bis 4-11).

Die Menge an KOH-löslichem Fluorid nahm bei den fluoridierten Zahnpasten mit der Applikationshäufigkeit zu (Abb. 4-6 bis 4-9), außer zwischen der 4- und 8-fachen Applikation in der Gruppe AmF, 1400.

Nach vier Applikationen stellten sich die Unterschiede am deutlichsten dar (Tab. 4-2 und Abb. 4-3).

Die Spalte mit 4-facher Anwendung zeigt, dass alle Zahnpasten signifikant unterschiedlich zueinander sind mit Ausnahme der niedrigkonzentrierten AmF (Elmex® Kinder) und der hochkonzentrierten NaF (Odol med 3® Junior) Zahnpaste.

Die Zahnpaste mit höherer Fluoridkonzentration 1400 ppm F⁻ war der mit 500 ppm F⁻ signifikant überlegen.

Die AmF Zahnpaste mit 1400 ppm F⁻ bzw. 500 ppm F⁻ ($9,6 \pm 3,4$ bzw. $6,5 \pm 2,3$ $\mu\text{gF}/\text{cm}^2$) war signifikant höher als die entsprechenden NaF-Zahnpasten ($5,9 \pm 2,3$ bzw. $2,6 \pm 1,1$ $\mu\text{gF}/\text{cm}^2$) (Tab. 4-6). Die AmF Zahnpaste mit geringerer Fluoridkonzentration weist gleichwertige Werte auf wie die NaF Zahnpaste mit höherem Fluoridgehalt.

Mit zunehmender Applikationshäufigkeit verringerten sich die Unterschiede sowohl zwischen den verschiedenen Fluoridverbindungen (AmF und NaF) als auch zwischen den verschiedenen Fluoridkonzentration der Zahnpasten (500 und 1400 ppm) (Abb. 4-1 bis 4-5). Nach zwölf Applikationen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb der verschiedenen Fluoridzahnpasten (Abb. 4-5 und Tab. 4-3), lediglich zur Kontrollgruppe.

Die Resultate zeigen bei der Bildung von Kalziumfluorid auf Rinderschmelzproben nur bei 1 bis 4 maliger Applikation eine Überlegenheit der Aminfluorid-haltigen Zahnpasten gegenüber den hier verwendeten Natriumfluorid-haltigen Zahnpasten und eine Abhängigkeit zur Fluoridkonzentration der Zahnpasten im Kurzzeitexperiment mit wenigen Fluoridapplikationen.

4.2 Vergleich der Applikationshäufigkeiten

Folgende Grafiken verdeutlichen, dass innerhalb einer Applikationshäufigkeit die Bildung des KOH-löslichen Fluorids von der Fluoridkonzentration und -verbindung abhängig ist.

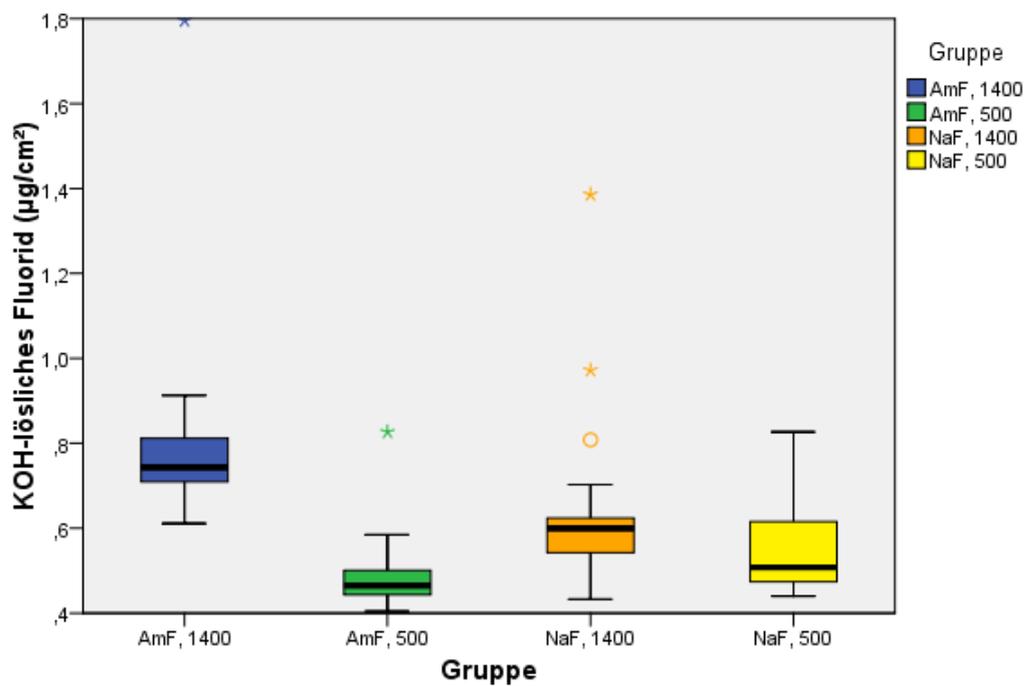


Abbildung 4-1 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nach einfacher Applikation

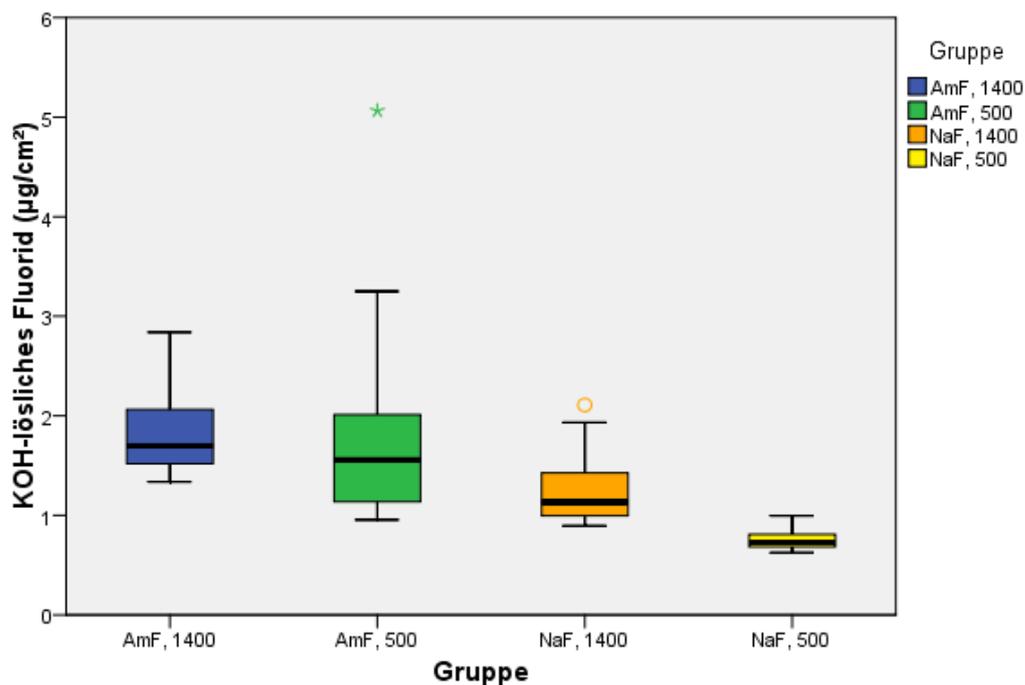


Abbildung 4-2 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen (mg/cm^2) nach zwei Applikationen an einem Tag

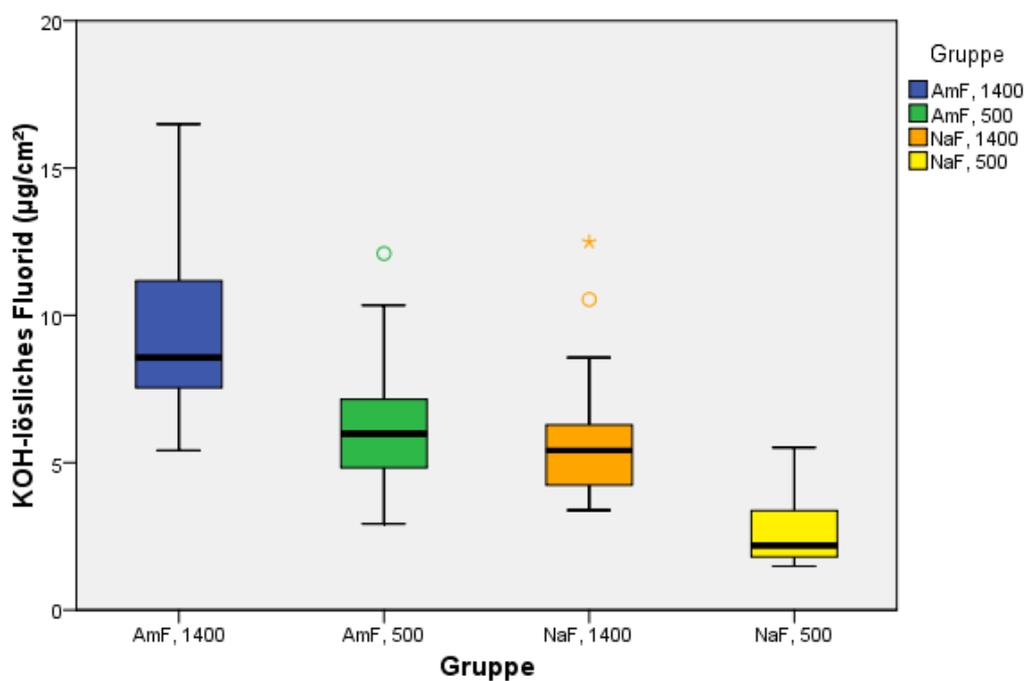


Abbildung 4-3 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nach vier Applikationen an zwei Tagen

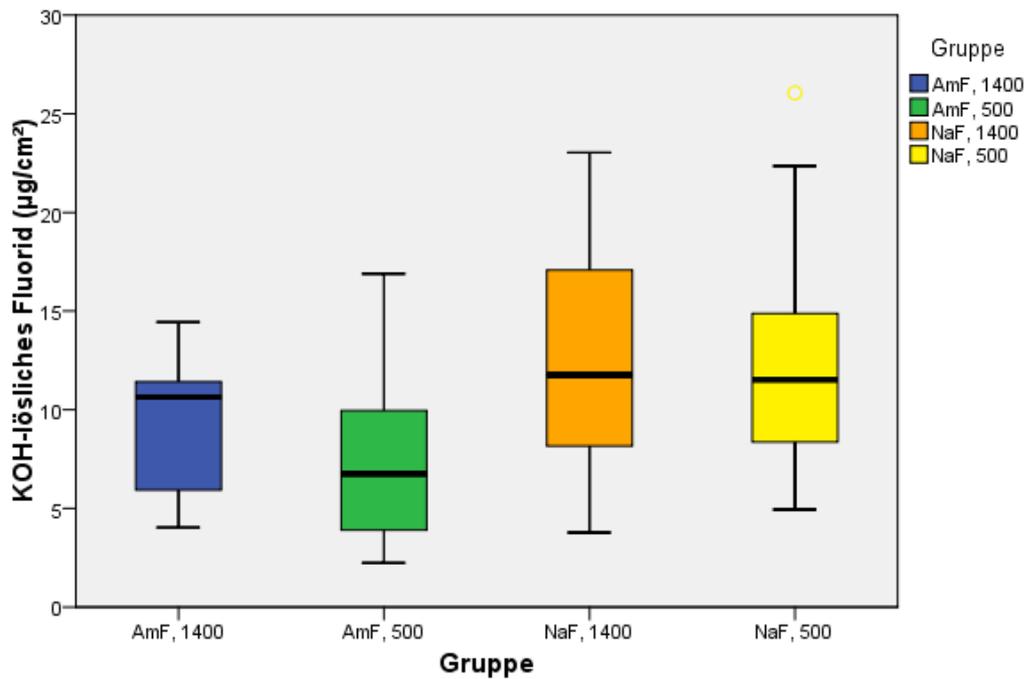


Abbildung 4-4 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nach acht Applikationen an vier Tagen

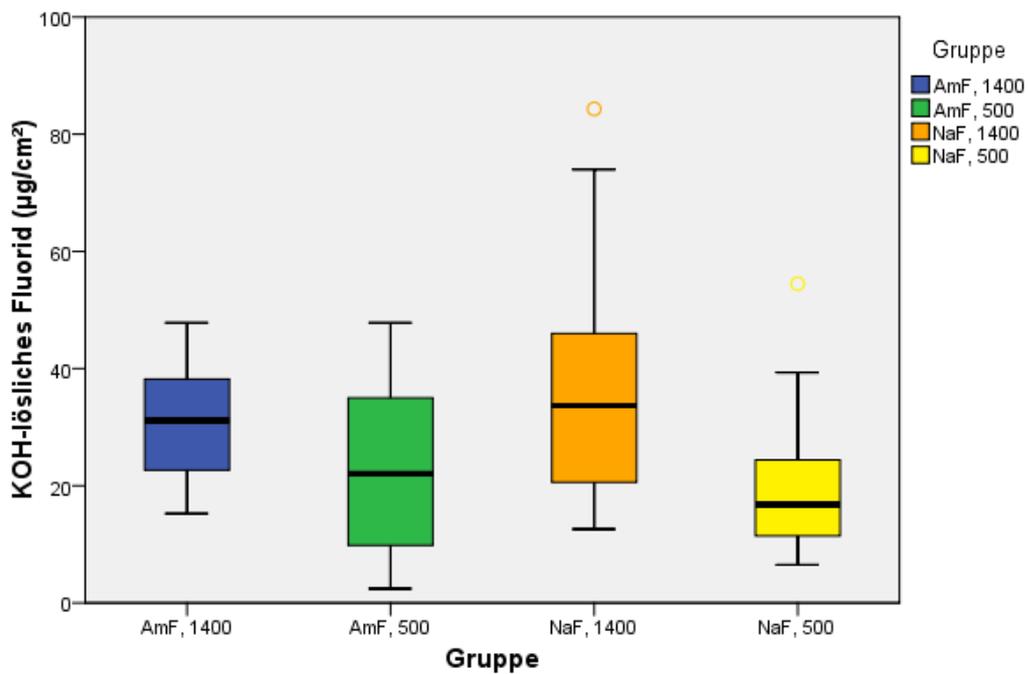


Abbildung 4-5 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nach zwölf Applikationen an sechs Tagen

4.3 Vergleiche innerhalb einer Gruppe (Zahnpaste)

Folgende Grafiken verdeutlichen, dass innerhalb einer Gruppe (Zahnpaste) die Bildung des KOH-löslichen Fluorids mit der Applikationshäufigkeit steigt.

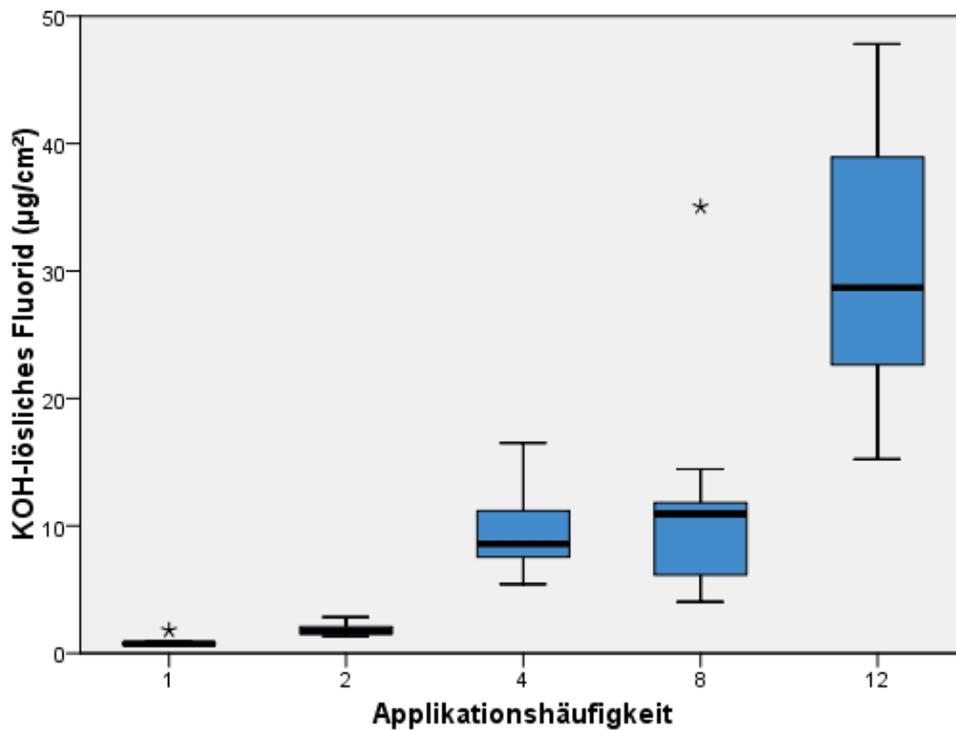


Abbildung 4-6 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) in Abhängigkeit der Applikationshäufigkeit; Gruppe: AmF, 1400

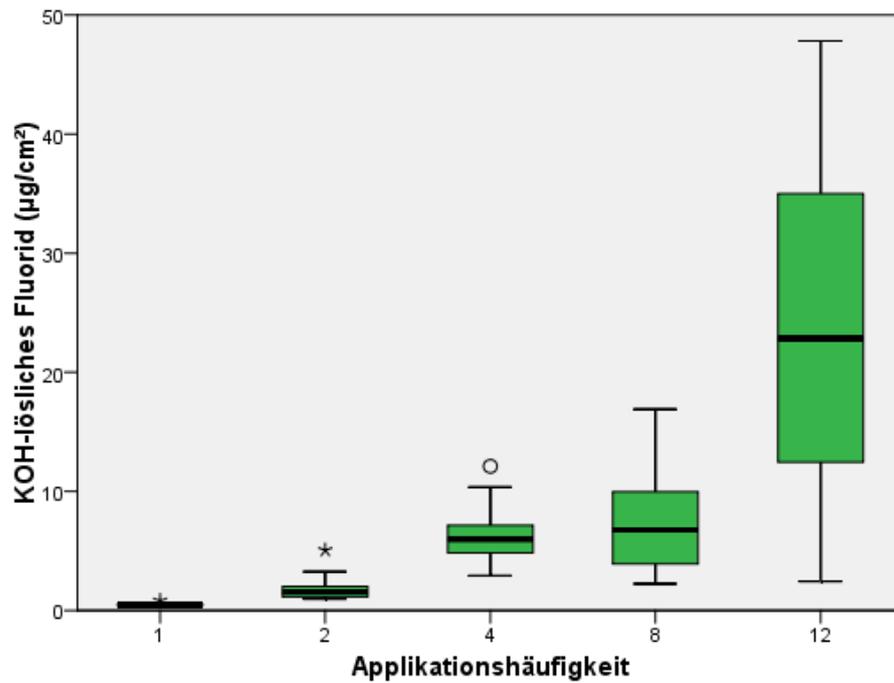


Abbildung 4-7 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen (µg/cm²) in Abhängigkeit der Applikationshäufigkeit; Gruppe 2: AmF, 500

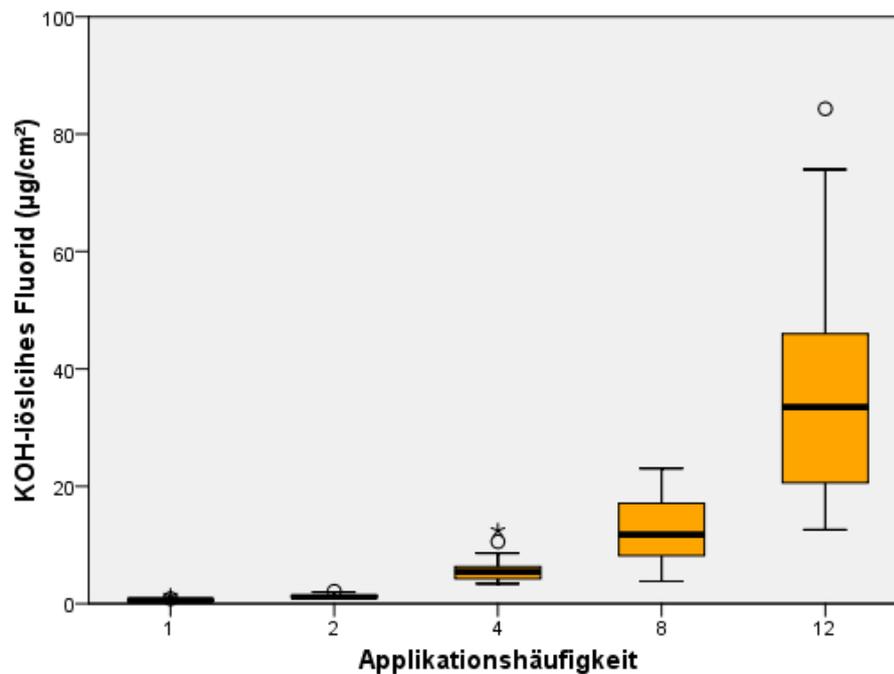


Abbildung 4-8 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen (µg/cm²) in Abhängigkeit der Applikationshäufigkeit; Gruppe 3: NaF, 1500

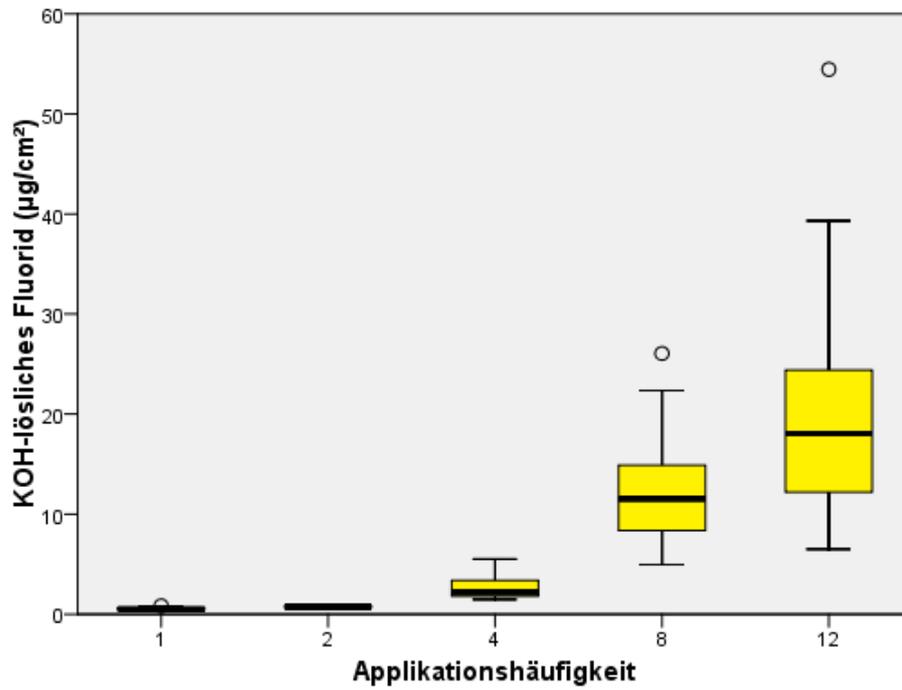


Abbildung 4-9 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) in Abhängigkeit der Applikationshäufigkeit; Gruppe 4: NaF, 500

4.3.1 Signifikanztabellen

Tabelle 4-3 Vergleich der Bildung von KOH-löslichem Fluorid in Abhängigkeit von der Applikationshäufigkeit innerhalb einer Gruppe (Zahnpaste)

Gruppe	Applikation	Signifikanz
AmF-1400	1 - 2	XXX
	2 - 4	XXX
	4 - 8	n.s.
	8 - 12	XXX
AmF-500	1 - 2	XXX
	2 - 4	XXX
	4 - 8	n.s.
	8 - 12	XXX
NaF-1400	1 - 2	XXX
	2 - 4	XXX
	4 - 8	XXX
	8 - 12	XXX
NaF-500	1 - 2	XXX
	2 - 4	XXX
	4 - 8	XXX
	8 - 12	X

Signifikanz

X = signifikant ($p \leq 0,05$)

XX = sehr signifikant ($p \leq 0,01$)

XXX = hoch signifikant ($p \leq 0,001$)

n.s. = nicht signifikant

Tabelle 4-4 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach einmaliger Applikation

AmF-1400	—				
AmF-500	XXX	—			
NaF-1400	n.s.	n.s.	—		
NaF-500	XX	n.s.	n.s.	—	
Placebo	XXX	XXX	XXX	XXX	—
	AmF-1400	AmF-500	NaF-1400	NaF-500	Placebo

Tabelle 4-5 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach zweimaliger Applikation

AmF-1400	—				
AmF-500	n.s.	—			
NaF-1400	XXX	n.s.	—		
NaF-500	XXX	XX	XXX	—	
Placebo	XXX	XXX	XXX	XXX	—
	AmF-1400	AmF-500	NaF-1400	NaF-500	Placebo

Tabelle 4-6 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach viermaliger Applikation an zwei Tagen

AmF-1400	—				
AmF-500	X	—			
NaF-1400	XX	n.s.	—		
NaF-500	XXX	XXX	XXX	—	
Placebo	XXX	XXX	XXX	XXX	—
	AmF-1400	AmF-500	NaF-1400	NaF-500	Placebo

Tabelle 4-7 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach achtmaliger Applikation an vier Tagen

AmF-1400	—				
AmF-500	n.s.	—			
NaF-1400	n.s.	XX	—		
NaF-500	n.s.	X	n.s.	—	
Placebo	XXX	XXX	XXX	XXX	—
	AmF-1400	AmF-500	NaF-1400	NaF-500	Placebo

Tabelle 4-8 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach zwölfmaliger Applikation an sechs Tagen

AmF-1400	—				
AmF-500	n.s.	—			
NaF-1400	n.s.	n.s.	—		
NaF-500	n.s.	n.s.	n.s.	—	
Placebo	XXX	XXX	XXX	XXX	—
	AmF-1400	AmF-500	NaF-1400	NaF-500	Placebo

4.4 Rasterelektronenmikroskopische Darstellung der CaF_2 Schicht

Bei zufällig ausgewählten Proben wurden zur Veranschaulichung REM-Bilder angefertigt. In Abb. 4-10 ist die aufgelagerte Schicht deutlich sichtbar. Auf der Oberfläche stellt sich die globuläre Struktur des Präzipitates dar. Nach 4 Applikationen beträgt die Dicke der Schicht mehr als $10\ \mu\text{m}$.

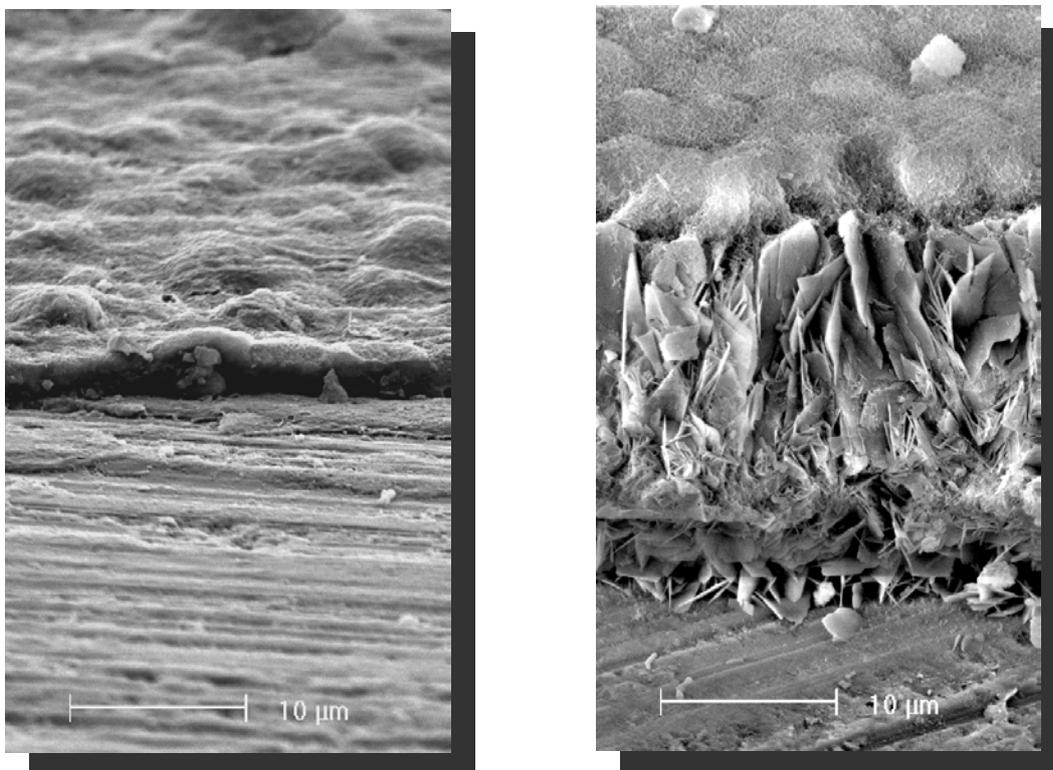


Abbildung 4-10 Rasterelektronenmikroskopische Bilder von zufällig ausgewählten Probenoberflächen (Originalvergrößerung 2000fach) nach zweimaliger (links) und viermaliger (rechts) Applikation der 1400 ppm AmF-Zahnpaste

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methodik

5.1.1 Studiendesign

Zahlreiche in-vivo, in-situ und in-vitro Studien haben innerhalb der letzten Jahrzehnte den grundsätzlichen kariesprotektiven Effekt, der nach der Anwendung verschiedener Fluoridpräparate auf die Zahnhartsubstanzen einwirkt, untersucht und bestätigt. Ein Vergleich der Ergebnisse aus zahlreichen Studien ist schwierig, da keine standardisierten Versuchsbedingungen vorliegen.

In der Literatur finden sich Studien mit Experimenten zur Bildung von KOH-löslichem Fluorid, in denen eine einmalige (Larsen and Richards, 2001) bis zu drei (Rosin-Grget et al., 2002) oder mehr Fluoridapplikationen vorgenommen wurden bei variablen Applikationszeiträumen zwischen 2-3 min (Klimek et al., 1998; Rosin-Grget et al., 2002), über 30 min (Larsen et al., 1981) bis hin zu mehreren Stunden (Saxegaard and Rolla, 1988). In der vorliegenden in-vitro Untersuchung wurde der Applikationszeitraum (1 min) konstant gehalten und die Anzahl der Applikationen variierte von einer bis zu zwölf Applikationen. Der Applikationszeitraum von 1 Minute zweimal am Tag kommt den tatsächlichen Verhältnissen bei der Anwendung von Mundhygieneprodukten sehr nahe. Zahnpasten haben durchschnittlich 1-2 Minuten Kontakt mit den Zähnen, Mundspüllösungen etwa 30 Sekunden.

Die Verwendung von natürlichem oder künstlichem Speichel führt durch eine zusätzliche Bereitstellung von Kalzium zu verbesserten Voraussetzungen für die Bildung von CaF_2 in in-vitro Studien. Für die lokale Fluoridapplikation wurden daher die Zahnpasten mit künstlichem Speichel in einem Verhältnis vermischt (1:3), wie es beim Zähneputzen in der Mundhöhle zustande kommt.

Exemplarisch wurde je eine Zahnpaste aus der Gruppe der organischen und anorganischen Fluoridverbindungen ausgewählt. Die am häufigsten verwendeten anorganischen Fluoridverbindungen sind Natriumfluorid und Natriummonofluorophosphat. Unter in vitro Bedingungen wird die Voraussetzung für die Bildung von CaF_2 bei Applikation von NaMFP nicht erfüllt, da hier für die Freisetzung von Fluorid durch Hydrolyse natürlicher Speichel und / oder bakterielle Plaque vorhanden sein muss. Daher wurde als Vertreter der anorganischen Fluoridverbindungen eine Natriumfluorid-Zahnpaste gewählt, während als Vertreter organischer Fluoridverbindungen eine Aminfluorid-Zahnpaste gewählt wurde.

Basierend auf den Leitlinien „Fluoridierungsmaßnahmen“ wurde je eine „Erwachsenenzahnpaste“ mit über 1000 ppm Fluorid und je eine „Kinderzahnpaste“ mit 500 ppm Fluorid verwendet.

5.1.2 Rinderschmelz

Für in-vitro Experimente zur Bewertung der Effektivität einer Remineralisation oder Prävention der Demineralisation eignen sich besonders bovine Schmelzproben (Mellberg, 1992).

Boviner Schmelz hat im Vergleich zu humanem Schmelz den Vorteil, dass er in großer Quantität verfügbar ist, seine Oberfläche größer und weniger gewölbt ist, in seiner Komposition uniformer ist und seltener kariöse Läsionen aufweist (Gente et al., 1985; Mellberg, 1992), sodass eine große Anzahl an kariesfreien Proben mit ausreichend großer Prüffläche hergestellt werden konnte. Boviner Schmelz unterscheidet sich von humanem Schmelz hauptsächlich dadurch, dass er poröser ist und schneller kariöse Läsionen bildet.

Bei der Vorbereitung der Proben erfolgte ein Abtrag der äußeren Schichten, bis sich eine ebene Fläche ergab. Je nach Krümmung der Zahnkronenoberfläche war die abgetragene Schicht unterschiedlich dick. Je mehr sich die Prüffläche der Schmelz-Dentin-Grenze nähert, desto größer sind die Poren und desto geringer der Fluoridgehalt (Kato et al., 1988). Kato et al. haben bei Messungen des Fluoridgehaltes an Inzisiven

von Ratten festgestellt, dass von der Schmelzoberfläche (Tiefe von 12,5 µm) zur Schmelz-Dentin-Grenze (Tiefe von 61,5 µm) der Fluoridgehalt von ca. 155 ppm auf ca. 30 ppm herabsinkt. Die Ausgangskonzentration auf der Probenoberfläche ist somit relativ niedrig, die Schwankungen sind gering.

5.1.3 Fluoridierung der Schmelzproben

Um in-vivo Verhältnissen nachzuahmen, wurden die Zahnpasten mit künstlichem Speichel verdünnt. Das Verhältnis der Zahnpasten-Slurry lag bei 1:3. Die Applikation erfolgte dabei nicht mechanisch mit einer Zahnbürste, sondern in einem Schwenkbad, sodass Abrasionseffekte, die möglicherweise die Bildung eines CaF_2 -Präzipitates beeinflussen, ausgeschlossen werden konnten.

Nach der Fluoridierung wurden die Proben eine Minute lang mit Aqua dest. abgespült und anschließend in künstlichem Speichel gelagert, da das Abspülen unter Leitungswasser eine zusätzliche externe Fluoridzufuhr zur Folge haben könnte. Eine mechanische Reinigung der Schmelzproben erfolgte nicht, da dieser Vorgang möglicherweise die Kalziumfluorid-Deckschicht negativ beeinflusst hätte.

5.1.4 Einfluss des Speichels auf die CaF_2 -Bildung

Die Verfügbarkeit von Kalziumionen ist ein wichtiger Faktor für die Kalziumfluorid-Bildung (Petzold, 2001). Kalziumionen können vom Schmelz, vom Speichel und von der Plaque bereitgestellt werden.

Die Verfügbarkeit von Kalzium aus dem Schmelz wird vom pH-Wert der Fluoridlösung beeinflusst. Da bei neutralem pH-Wert nahezu kein Kalzium aus dem Schmelz freigesetzt wird, fällt die CaF_2 Bildung vergleichsweise geringer aus.

Larsen und Richards haben in einer in-vitro Studie demonstriert, dass Speichel die CaF_2 Bildung nach lokaler Applikation einer Natriumfluoridlösung deutlich steigern kann

(Larsen and Richards, 2001). Hierbei erfolgte eine Vorbehandlung der Proben durch 5-minütige Lagerung in frischem stimuliertem Speichel. Die Kalziumkonzentration des Speichels lag bei $1,75 \pm 0,20$ mmol/l und die Fluoridkonzentration bei $0,13 \pm 0,04$ ppm. Die NaF-Applikation war auf 2 min begrenzt. Der Speichelfilm führte zu einer signifikanten Steigerung der Menge an CaF_2 unabhängig vom pH-Wert der lokalen Fluoridlösung. Während in der Gruppe der 0,2%igen NaF-Lösung die Menge an Kalziumfluorid von 42 ± 18 pmol/mm² auf 75 ± 26 pmol/mm² mit Speichelfilm gestiegen ist, konnte in der Gruppe der 2%igen NaF-Lösung die Steigerung von 114 ± 38 pmol/mm² auf 390 ± 256 pmol/mm² erreicht werden (Larsen and Richards, 2001).

Unter ähnlichen Bedingungen haben Rosin-Grget et al. den Zusammenhang zwischen Speichel und Aminfluorid bei einem pH-Wert von 5,3 untersucht. Die Fluoridkonzentration des Speichels lag bei $0,05 \pm 0,02$ mg/l und die Kalziumkonzentration lag bei $1,69 \pm 0,24$ mmol/l. Die Proben wurden zunächst 5 min in frischem unstimuliertem Speichel gelagert. Im Anschluss erfolgte für 3 min an drei aufeinanderfolgenden Tagen die Fluoridbehandlung. Eine Speichelvorbehandlung führte zu einer signifikanten Steigerung der Menge an KOH-löslichem Fluorid nach Applikation einer AmF-Lösung (pH 5,3) von etwa 22 auf 34 mg F/cm². Die Ergebnisse zeigen, dass Speichel auch bei einem pH-Wert von 5,3 die Bildung von KOH-löslichem Fluorid steigern kann (Rosin-Grget et al., 2007).

Bei stark saurem pH-Wert der applizierten Fluoridlösung wird ausreichend Kalzium aus dem Schmelz zur Bildung von CaF_2 freigesetzt.

Die Kalziumkonzentration des in der vorliegenden Studie verwendeten künstlichen Speichels entspricht der Konzentration des natürlichen Speichels. Wie der natürliche Speichel stellt der künstliche Speichel in Bezug auf Kalzium eine übersättigte Lösung dar und ist dadurch besonders geeignet, die für die Bildung von CaF_2 notwendige Kalziumionen zur Verfügung zu stellen. So kann auch bei Anwendung der pH-Wert neutralen NaF-Zahnpaste unproblematisch CaF_2 gebildet werden, obwohl die Fluoridkonzentration in der Slurry im Fall der 500 ppm F-Zahnpaste die von Larsen als notwendig angegeben Konzentration von 300 ppm (Larsen and Jensen, 1994) unterschreitet.

Der saure pH-Wert der AmF-Zahnpaste begünstigt schon für sich gesehen die CaF_2 Bildung. Letztlich wird durch den Speichel aber die CaF_2 Bildung auch bei pH 5,6 gesteigert, wie Rosin-Grget zeigen konnte.

5.1.5 Methode zur Bestimmung des Gesamtfluorids und des Kalziumfluorids

Lokal appliziertes Fluorid kann über verschiedene Wege strukturell in den Zahnschmelz eingebunden werden oder ein Präzipitat in Form von Kalziumfluorid auf dem Schmelz bilden (Arends et al., 1984).

Zur Bestimmung des Gesamtfluorids wird üblicherweise der Schmelz mit HCl in kleinen Schichten abgeätzt (Clark et al., 1986; Mellberg et al., 1986; Nicholson et al., 1974). Hierbei kann nicht differenziert werden, ob das Fluorid in Form von CaF_2 dem Schmelz aufgelagert ist oder in anderer Form im Schmelz strukturell gebunden ist.

Da dem KOH-löslichem Präzipitat eine besonders wichtige Rolle in der kariesprophylaktischen Wirksamkeit des Fluorids zugeteilt wird (Rolla et al., 1993), wurde in der vorliegenden Studie eine Analysentechnik ausgewählt, die gezielt die Erfassung lose gebundenen Fluorids ermöglicht.

Caslavska et al. entwickelten bereits 1975 eine Methode zur Bestimmung von CaF_2 , das nach in-vitro Applikation einer Fluoridlösung auf humanen Schmelzproben gebildet wurde (Caslavska et al., 1975). Die Äquilibrierung in 1 M KOH für 24 Stunden bei einem unterschiedlichen Gehalt an Fluorapatit resultierte in einem selektiven Herauslösen des CaF_2 , während der Fluorapatit intakt blieb. Das selektive Herauslösen von CaF_2 erfolgte auch bei Gemischen aus CaF_2 und vorfluoridierten, gemahlene humanen Schmelzproben. Die rasterelektronenmikroskopische Analyse der mit Fluorid behandelten Schmelzproben verifizierte das Herauslösen des CaF_2 durch KOH. Zusammenfassend konnte in der Studie nachgewiesen werden, dass mit KOH strukturell gebundenes Fluorid belassen und CaF_2 abgelöst wird.

Für das Kalziumfluorid oder das Kalziumfluorid-ähnliche Präzipitat, das durch KOH aufgelöst wird (Baud and Bang, 1970; Caslavska et al., 1975), werden in der Literatur zahlreiche Synonyme verwendet (loosely-bound fluoride, soluble fluoride, KOH-soluble fluoride, calciumfluoride-like material etc.).

Die Methode nach Caslavska et al. wurde vielfach auch für Rinderzähne angewendet (Attin et al., 1995; Iijima et al., 1999; Wiegand et al., 2005).

Vergleichende Studien zur KOH-löslichen Fluoridbildung zwischen humanen und bovinen Zähnen liegen nicht vor. Es ist davon auszugehen, dass es wahrscheinlich keinen Unterschied gibt.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Vergleich der unterschiedlichen Fluoridkonzentrationen (500 versus 1400 ppm)

Bleiben die Variablen Fluoridverbindung und Applikationshäufigkeit konstant, lässt sich der Effekt der Veränderung der Fluoridkonzentration von 500 auf 1400 ppm verdeutlichen. Nach vier Anwendungen konnte in der Gruppe der 500 ppm Zahnpaste $6,5 \pm 2,3 \mu\text{g F} / \text{cm}^2$ (AmF) bzw. $2,6 \pm 1,1 \mu\text{g F} / \text{cm}^2$ (NaF), bei der 1400 ppm Zahnpaste $9,6 \pm 3,4 \mu\text{g F} / \text{cm}^2$ (AmF) bzw. $5,9 \pm 2,3 \mu\text{g F} / \text{cm}^2$ bestimmt werden. Je höher die Konzentration der fluoridhaltigen Zahnpaste, desto mehr KOH-lösliches Fluorid wurde auf der Schmelzoberfläche gebildet.

Es liegen keine Studien vor, in denen ein direkter Vergleich zwischen 500 ppm und 1400 ppm fluoridhaltiger Zahnpaste stattgefunden hat.

Die vorliegenden Ergebnisse mit einer größeren Fluoridanlagerung bei höherer Fluoridkonzentration der Zahnpasten unterstützen die Ergebnissen klinischer Studien. Ammari et al (Ammari et al., 2003) verglichen in einer Übersichtsarbeit Zahnpasten mit weniger als 600 ppm F⁻ mit Zahnpasten mit mehr als 1000 ppm F⁻. Zusammenfassend zeigten die klinischen Studien, dass mit höheren Fluoridkonzentrationen eine höhere Kariesreduktion erreicht werden konnte.

Eine Steigerung der Fluoridaufnahme durch vermehrte Fluoridapplikation wurde auch in einer in-situ Untersuchung von van Strijp et al. und Laheij et al. nachgewiesen. Allerdings ist ein direkter Vergleich von in-vitro und in-situ Ergebnissen nicht möglich, da die Bildung eines Präzipitates auf der Probenoberfläche in in-situ Experimenten unter anderem durch Abrasionseffekte beim Zähneputzen, der Nahrungsaufnahme und durch umliegende Weichgewebe wie die Wange oder auch die Zunge negativ beeinflusst wird.

Van Strijp et al. untersuchten den Effekt nach 3-mal täglicher Anwendung einer AmF Zahnpaste mit 1250 ppm F⁻ allein und in Kombination mit einer AmF- / NaF-Mundspüllösung mit 250 ppm F⁻. Die Ergebnisse zeigten eine signifikante Steigerung des KOH-löslichen Fluorids, wenn zusätzlich die fluoridhaltige Mundspüllösung verwendet wurde. Es konnte eine Steigerung von $2,6 \pm 2,2 \mu\text{g F}^-/\text{cm}^2$ auf $5,3 \pm 4,3 \mu\text{g F}^-/\text{cm}^2$ erreicht werden (van Strijp et al., 1999).

Unter ähnlichen Versuchsbedingungen aber nur 2-mal täglicher Anwendung der 1400 ppm AmF-Zahnpaste konnte $3,2 \pm 2,1 \mu\text{g F}^-/\text{cm}^2$ und in Kombination mit einer 250 ppm AmF- / NaF-Mundspüllösung $4,1 \pm 3,0 \mu\text{g F}^-/\text{cm}^2$ nachgewiesen werden (Laheij et al., 2010).

Auch Rosin-Grget et al. kamen zu einem ähnlichen Ergebnis (Rosin-Grget et al., 2002). Humane Schmelzproben wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen für 3 min mit einer AmF Lösung behandelt. Es wurden dabei hohe Fluoridkonzentrationen verwendet: 1%, 0,5% und 0,25% F⁻. Die Menge an KOH-löslichem Fluorid in der Gruppe 0,25% F⁻ betrug $18,6 \pm 9,2 \mu\text{g F}^-/\text{cm}^2$. In unserer Versuchsreihe wurde bei etwa der halben Fluoridkonzentration (1400 ppm) nach vier Applikationen analog etwa die Hälfte der Menge ($9,6 \pm 3,4 \mu\text{g F}^-/\text{cm}^2$) an KOH-löslichem Fluorid nachgewiesen. Bei den höher konzentrierten Lösungen wurde auch eine höhere Menge KOH-lösliches Fluorid bestimmt, wobei der Unterschied zwischen der 0,5%igen und 1%igen Gruppe nicht mehr signifikant war. Diese Beobachtung stimmt auch mit unseren Ergebnissen überein, dass sich ein Sättigungseffekt im Bereich von über $30 \mu\text{g F}^-/\text{cm}^2$ einstellt.

5.2.2 Vergleich der unterschiedlichen Fluoridverbindungen (AmF versus NaF)

Zur Beurteilung des Einflusses der Fluoridverbindung auf die Bildung von KOH-löslichem Fluorid sind die Faktoren Fluoridkonzentration und Applikationshäufigkeit gleich zu wählen. Es ist festzustellen, dass bei 1400 ppm und 1-, 2- und 4-facher Anwendung die Zahnpaste mit organisch gebundenem Fluorid (AmF) gegenüber der NaF-Zahnpaste signifikant überlegen war.

Die Bildung einer Kalziumfluoridschicht auf dem Zahnschmelz hängt stark vom pH-Wert des verwendeten Präparates ab (Duschner and Uchtmann, 1988; Saxegaard and

Rolla, 1988). Dies deutet darauf hin, dass sich der Unterschied primär durch den sauren pH-Wert der AmF-Zahnpasta (pH von 5,5) erklären lässt.

Der Tensideffekt der Ammonium-Kationen spielt hierbei auch eine besondere Rolle (Schmid, 1983), welcher die Ausbildung einer Kalziumfluorid-Deckschicht mit sehr feiner Korngröße der Kalziumfluoridglobuli begünstigt (Duschner and Uchtmann, 1985). Sehr kleine Kalziumfluoridglobuli haften besonders gut und dauerhaft an der Schmelzoberfläche, dort kommt es dann zur Bildung eines stabilen Fluoridreservoirs (Barbakow et al., 1984).

Die vorliegenden Ergebnisse entsprechen einigen älteren in-vitro Untersuchungen, Tierversuchungen und klinischen Studien, bei denen unter Berücksichtigung der Faktoren Löslichkeit, Bildung von CaF_2 als labiles Fluoriddepot, oberflächenaktiven Eigenschaften und antibakterielle Wirkung der bessere Kariesschutz bei Anwendung von Aminfluorid im Vergleich zu Natriumfluorid untermauert wurde (Gehring, 1983; Gülzow, 1983; Gülzow and Lang, 1967; Schmid, 1983; Schmid et al., 1984).

Klimek et al. untersuchten in einer in-situ Studie die Fluoridaufnahme im Zahnschmelz nach Anwendung einer fluoridfreien Placebopaste, einer NaF- Zahnpaste (0,14% F^- , pH 7,0) und AmF-Zahnpasten (0,12% F^- , pH 5,5). Die Schmelzproben wurden in individuell angefertigten Trägerplatten im Unterkiefer aufgenommen. Während drei 4 wöchiger Perioden verwendeten drei Probanden 2-mal täglich eine der Zahnpasten für je 3 Minuten. Zwischenzeitlich wurden die Trägerplatten bei 100% Luftfeuchtigkeit gelagert. Insgesamt konnte eine signifikant höhere Fluoridanreicherung der Schmelzoberfläche nach Anwendung der AmF-Zahnpaste ($1,8 \pm 0,9 \mu\text{g F/cm}^2$) im Vergleich zur NaF-Zahnpaste ($1,1 \pm 0,3 \mu\text{g F/cm}^2$) festgestellt werden (Klimek et al., 1998).

Auch Gülzow et al. konnten eine höhere Fluoridaufnahme im Zahnschmelz durch AmF-Zahnpasten im Vergleich zu NaF Zahnpasten nachweisen. Untersucht wurde die Fluoridaufnahme (Gesamtfluorid in abgeätzten Schmelzproben) nach 10-wöchiger Anwendung verschiedener AmF-Zahnpasten und einer NaF-Zahnpaste in-vitro. Dabei wurde die höchste Fluoridanreicherung nach Anwendung einer AmF-Zahnpaste gefunden, die 1250 ppm Fluorid bei einem pH-Wert von 5,5 enthielt (Gülzow et al., 1993).

5.2.3 Vergleich der unterschiedlichen Applikationshäufigkeiten

Die quantitative Bildung von KOH-löslichem Fluorid auf gesundem Schmelz ist von der Fluoridierungsdauer bzw. Applikationshäufigkeit abhängig. Je länger Schmelzproben einer Fluoridlösung exponiert sind, desto größer ist die Fluoridaufnahme.

Die vorliegende Studie zeigt, dass beispielsweise bei der AmF - 1400 ppm - Zahnpaste eine signifikante Steigerung der KOH-löslichen Fluoridmenge von $0,8 \pm 0,2 \mu\text{g F/cm}^2$ (einmalige Applikation) über $9,6 \pm 3,4 \mu\text{g F/cm}^2$ (viermalige Applikation) auf $30,2 \pm 10,6 \mu\text{g F/cm}^2$ (12 malige Applikation) erzielt wurde.

Es ist jedoch festzustellen, dass die Steigerung nicht linear ist, sondern durch eine Art Sättigungseffekt die Fluoridaufnahme nach $30 \mu\text{g F/cm}^2$ weniger stark ausgeprägt stattfindet.

In einer in-vitro Studie von Saxegaard und Rolla wurde der Zusammenhang zwischen vermehrt gebildetem KOH-löslichem Fluorid und der Zeit sowie dem pH-Abfall beschrieben (Saxegaard and Rolla, 1988). Nach einmaliger Applikation einer $0,48 \text{ mol/l NaF}$ -Lösung (pH 7) für 5 min wurde $2,8 \mu\text{g F/cm}^2$, für 1h $10,1 \mu\text{g F/cm}^2$, für 12 h und auch für 24 h mehr als $35 \mu\text{g F/cm}^2$ gebildet werden, wobei keine signifikante Steigerung mehr zu verzeichnen war. Zum einen zeigt der Versuch die Abhängigkeit der Bildung an KOH-löslichem Fluorid und der Kontaktzeit, aber zum anderen auch, dass sich ab etwa $30 \mu\text{g F/cm}^2$ eine Sättigung einstellt.

Diese Sättigungsgrenze im Bereich von etwa $30 \mu\text{g F/cm}^2$ geht auch aus den Versuchen von Rosin-Grget et al. hervor (Rosin-Grget et al., 2002) und ist in unser Studie nach 12 Applikationen zu verzeichnen.

5.2.4 Sättigungseffekt

Eine mögliche Theorie für das Sättigungsverhalten der Kalziumfluoridbildung nach lokaler Fluoridapplikation lässt sich durch ein Beispiel aus der Enzym- bzw. Pharmakokinetik erklären.

Obwohl die Vermutung nahe liegt, dass die Menge an gebildetem Kalziumfluorid proportional oder linear mit der Fluoridkonzentration steigt, scheint die Kapazität der CaF_2 -Bildung analog zu einer Enzymaktivität begrenzt zu sein.

Die Sättigungskurve (Abb. 5-1) verdeutlicht, dass zu Beginn der Reaktion (1) Fluorid- und Kalziumionen kaum ausgelastet sind und die Sättigungskurve steil ansteigt. Wenn die Substratkonzentration (Ca^{2+} oder F^-) weiter ausgelastet wird (3), steigt die Kurve flacher an. Sobald ein Reaktionspartner nahezu voll verbraucht ist (4), nähert sich die Kurve asymptotisch einer Sättigungsgrenze an. Eine weitere Steigerung ist nicht mehr möglich. Das Sättigungsverhalten ist in der Abb. 5-2 schematisch dargestellt.

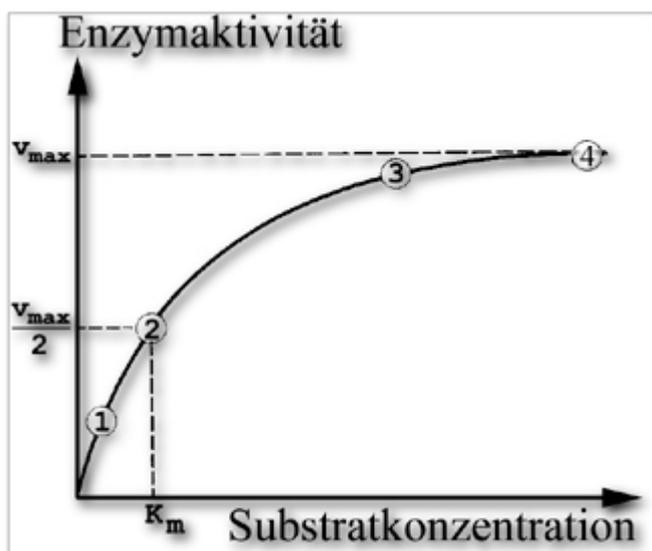


Abbildung 5-1 Sättigungskurve (Helmich, 2003)

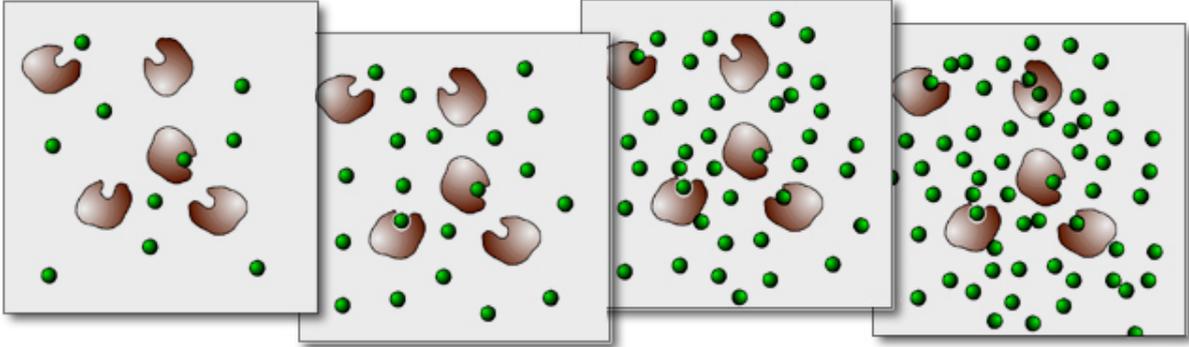


Abbildung 5-2 schematische Darstellung des Sättigungsverhaltens (Helmich, 2003)

5.3 Schlussfolgerung

Die Fragestellung, ob die Veränderung der Applikationshäufigkeit, Fluoridkonzentration und Fluoridverbindung von Zahnpasten Einfluss auf die Bildung von KOH-löslichem Fluorid hat, konnte in der vorliegenden Studie geklärt werden.

Dabei waren zwei Beobachtungen von besonderem Interesse. Zum einen zeigte sich bei allen fluoridierten bovinen Schmelzproben ein gegenüber den Kontrollproben erhöhter Fluoridgehalt. Damit bestätigt sich insgesamt die Annahme, dass die Menge von dem KOH-löslichen Fluorid sowohl entsprechend der Häufigkeit der Applikation als auch entsprechend des Fluoridgehalts der Zahnpaste zunimmt. Da die Zunahme des KOH-löslichen Fluorids nicht proportional ist, ist von einer Sättigungstendenz auszugehen.

Es konnte auch gezeigt werden, dass es nach Anwendung der Aminfluorid-haltigen Zahnpaste im Gegensatz zu der Anwendung der Natriumfluorid-haltigen Zahnpaste zu einer höheren Ausbildung an KOH-löslichem Fluorid kam.

Für zukünftige in-vitro Studien über die Bildung von KOH-löslichem Fluorid nach lokaler Fluoridapplikation ähnlicher Konzentration auf Schmelzproben ist ein Standardprotokoll zu empfehlen, dass Applikationsperioden von 4 mal 1 min vorsieht, um Unterschiede deutlich und möglichst ohne Verschleierungseffekte durch eine Sättigungstendenz zu demonstrieren.

6 Zusammenfassung

Ziel dieser in-vitro Studie war zu untersuchen, welchen Effekt die Variationen der Applikationshäufigkeit, der Fluoridkonzentration und der Fluoridverbindung von Zahnpasten auf die Bildung von KOH-löslichem Fluorid (Kalziumfluorid und Kalziumfluorid-ähnliche Verbindungen) auf dem Rinderzahnschmelz haben.

Zylindrische Rinderschmelzproben mit einem Durchmesser von 3 mm wurden plangeschliffen, poliert und unter Aussparung der zu behandelnden Oberfläche mit Gusswachs ummantelt. Die Proben wurden mit Aminfluorid (AmF) oder Natriumfluorid (NaF) Zahnpasten mit einer Fluoridkonzentration von 500 oder 1400 ppm behandelt. Die Applikationen erfolgten 1-, 2-, 4-, 8- oder 12-fach (2 Applikationen am Tag) für 1 min, zwischenzeitlich wurden die Proben in künstlichem Speichel gelagert. Nach der letzten Applikation wurden die Proben für 2 Stunden in künstlichem Speichel gelagert, anschließend wurde das KOH-lösliche Fluorid ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) bestimmt.

Im Vergleich zu der Kontrollgruppe kam es in allen Gruppen zu einer signifikanten Anreicherung mit KOH-löslichem Fluorid. Die Menge nahm mit der Applikationshäufigkeit und der Fluoridkonzentration zu. Die größte Menge KOH-löslichen Fluorids konnte nach Anwendung der AmF Zahnpaste mit 1400 ppm Fluorid gemessen werden. Dieser Unterschied war im Vergleich zu den anderen Zahnpasten am deutlichsten nach 4-maliger Applikation. Unabhängig von der Fluoridverbindung konnten mit der höchsten Signifikanz nach 4 Applikationen unterschiedliche Mengen an gebildetem KOH-löslichem Fluorid zwischen den Zahnpasten mit 1400 ppm und 500 ppm nachgewiesen werden. Die Zahnpasten mit 1400 ppm F^- waren unabhängig von der Fluoridverbindung denen mit 500 ppm F^- überlegen. Nach 12 Applikationen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen den Zahnpasten.

Die Untersuchungen im Kurzzeitexperiment zeigen, dass die Bildung von KOH-löslichem Fluorid in Abhängigkeit zur Häufigkeit der Applikation, der Fluoridkonzentration und der Fluoridverbindung von Zahnpasten erfolgt. Mit zunehmender Applikationshäufigkeit zeigte sich bei der Bildung des KOH-löslichen Fluorids ein Sättigungseffekt.

Somit ist für zukünftige Studien empfehlenswert im Bereich von 4- Applikationen zu experimentieren, da hier die deutlichsten Unterschiede zwischen Zahnpasten mit unterschiedlicher Fluoridverbindung und -konzentration ermittelt wurden.

7 Summary

Aim of this in vitro study was to investigate whether frequency of application, concentration of fluoride and fluoride content of different toothpastes have an effect on the formation of KOH-soluble fluoride on bovine enamel.

Cylindrical bovine enamel samples with a diameter of 3 mm were prepared, ground flat, polished and covered with wax except the surface being treated. Each specimen was exposed to toothpaste based on amine fluoride (AmF) or sodium fluoride (NaF) containing either 500 or 1400 ppm F⁻. All specimens were fluoridated for 1, 2, 4, 8 or 12 times (twice a day) for 1 min while stored in artificial saliva in the meantime. Following the last application samples were stored in artificial saliva for further 2 hours; afterwards the KOH-soluble fluoride ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) was determined.

Compared to controls, the accumulation of KOH-soluble fluoride was significantly higher in all test samples. The quantity increased with increasing application frequency and fluoride concentration of the toothpaste. AmF 1400 ppm F⁻ toothpaste secured the highest amount of KOH-soluble fluoride. This difference was most evident after 4 applications. Regardless of fluoride compound, after 4 applications different amounts of KOH-soluble fluoride between toothpastes with 1400 ppm and 500 ppm F⁻ were demonstrated with highest significance. Toothpaste with 1400 ppm F⁻ was superior to the 500 ppm F⁻ independent of fluoride compound. There was no significant difference appreciable between the toothpastes in samples treated with 12x application.

The examinations in the short-time experiments demonstrate the dependency to the frequency of application, the fluoride concentration and the fluoride compound. With increasing frequency of application the formation of KOH-soluble fluoride showed an effect of saturation.

In future in-vitro studies about the formation of KOH-soluble fluoride on enamel specimens after topical fluoride application with similar concentrations the following standard protocol is recommendable: periods of application about 4 times for 1 min, because this induced the clearest differences between toothpastes with different fluoride compound and concentration.

8 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AmF	Aminfluorid
Ca ²⁺	Kalzium
CaCl ₂ 2H ₂ O	Kalziumchlorid-Dihydrat
CaF ₂	Kalziumfluorid
Ca ₅ (PO ₄) ₃ OH	Hydroxylapatit
F ⁻	Fluorid
FAP, Ca ₅ (PO ₄) ₃ OH	Fluorapatit
H ⁺	Protonen
HAP	Hydroxylapatit
HCl	Salzsäure
HF	Fluorwasserstoff
HFAP	fluoridiertes Hydroxylapatit
HPO ₄ ²⁻	Hydrogenphosphat
H ₂ O	Wasser
KOH	Kaliumhydroxid
M	Molare Masse
MFP	Monofluorphosphat
MW (SD)	Mittelwert (Standardabweichung)
µm	Mikrometer
NaF	Natriumfluorid
NaMFP	Natriummonofluorphosphat
nm	Nanometer
OH ⁻	Hydroxidion
ppm	parts per million
REM	Rasterelektronenmikroskop
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
Tab.	Tabelle
WHO	World Health Organization

9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

9.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2-1 schematische Darstellung zur Bildung von Kalziumfluorid

Abbildung 3-1 Exakt Trennschleifgerät

Abbildung 3-2 Exakt Trennschleifgerät mit vollständigem bovinen Frontzahn

Abbildung 3-3 Trennung des Zahnes in Wurzel und Krone und mehrfache Teilung der Krone

Abbildung 3-4 Exakt Mikroschleifsystem

Abbildung 3-5 Exakt Mikroschleifsystem mit Schmirgelpapier

Abbildung 3-6 Schmelzscheiben: oben ungeschliffen; unten geschliffen und poliert

Abbildung 3-7 plangeschliffene Schmelzlamelle; Hohlzylinderbohrer; herauspräparierte Proben

Abbildung 3-8 herauspräparierte Proben; ummantelte Proben

Abbildung 3-9 Verwendete Zahnpasten: Elmex® Kariesschutz, Elmex® Kinder-Zahnpasta, Odol med 3® Junior und Odol med 3® Milchzahn (nicht abgebildet ist die fluoridfreie Zahnpaste (Placebo)).

Abbildung 4-2 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen (mg/cm^2) nach zwei Applikationen an einem Tag

Abbildung 4-3 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nach vier Applikationen an zwei Tagen

Abbildung 4-4 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nach acht Applikationen an vier Tagen

Abbildung 4-5 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nach zwölf Applikationen an sechs Tagen

Abbildung 4-6 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) in Abhängigkeit der Applikationshäufigkeit; Gruppe: AmF, 1400

Abbildung 4-7 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) in Abhängigkeit der Applikationshäufigkeit; Gruppe 2: AmF, 500

Abbildung 4-8 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) in Abhängigkeit der Applikationshäufigkeit; Gruppe 3: NaF, 1500

Abbildung 4-9 Vergleich der KOH-löslichen Fluoridkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) in Abhängigkeit der Applikationshäufigkeit; Gruppe 4: NaF, 500

Abbildung 4-10 Rasterelektronenmikroskopische Bilder von zufällig ausgewählten Probenoberflächen (Originalvergrößerung 2000fach) nach zweimaliger (links) und viermaliger (rechts) Applikation der 1400 ppm AmF-Zahnpaste

Abbildung 5-1 Sättigungskurve (Helmich and Abhängigkeit der Enzymaktivität von Umgebungsfaktoren, 2003)

Abbildung 5-2 schematische Darstellung des Sättigungsverhaltens (Helmich and Abhängigkeit der Enzymaktivität von Umgebungsfaktoren, 2003)

9.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 4-1 Fluoridgehalt, Fluoridverbindung und pH-Wert der Slurry der Aminfluorid-, Natriumfluorid- und der Placebo Zahnpaste

Tabelle 4-2 Mittelwerte (\pm Standardabweichung) des KOH-löslichen Fluoridgehalts ($\mu\text{g F-}/\text{cm}^2$) und Anzahl der Proben n. Statistisch signifikante Unterschiede innerhalb einer Applikationshäufigkeit sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet.

Tabelle 4-3 Vergleich der Bildung von KOH-löslichem Fluorid in Abhängigkeit von der Applikationshäufigkeit innerhalb einer Gruppe (Zahnpaste)

Tabelle 4-4 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach einmaliger Applikation

Tabelle 4-5 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach zweimaliger Applikation

Tabelle 4-6 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach viermaliger Applikation an zwei Tagen

Tabelle 4-7 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach achtmaliger Applikation an vier Tagen

Tabelle 4-8 Mehrfachvergleich: Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander nach zwölfmaliger Applikation an sechs Tagen

10 Literaturverzeichnis

Addy M, Mostafa P (1988). Dentine hypersensitivity. I. Effects produced by the uptake in vitro of metal ions, fluoride and formaldehyde onto dentine. *J Oral Rehabil* 15(6):575-585.

Ammari AB, Bloch-Zupan A, Ashley PF (2003). Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1,000 ppm or above. *Caries Res* 37(2):85-92.

Arends J, Christoffersen J (1990). Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. *J Dent Res* 69 Spec No:601-605.

Arends J, Gelhard T, Schuthof J, Jongebloed W (1983). Enamel remineralization using an amine-fluoride containing tooth paste--a pilot study in vivo. *Dtsch Zahnärztl Z* 38 Suppl 1:S27-S30.

Arends J, Nelson DGA, Dijkman AG, Jongebloed WL (1984). Effects of Various Fluorides on Enamel Structure and Chemistry. In: B. Guggenheim (Hrsg): *Cariology Today*. Karger, Basel, pp. 245-258.

Attin T, Hartmann O, Hilgers RD, Hellwig E (1995). Fluoride retention of incipient enamel lesions after treatment with a calcium fluoride varnish in vivo. *Arch Oral Biol* 40(3):169-174.

Barbakow F, Scherle W, Muhlemann HR (1984). SEM observations of the effects of KOH- and water-washing on amine- and sodium fluoride-induced precipitates on ground human enamel. *J Dent Assoc S Afr* 39(9):593-600.

Baud CA, Bang S (1970). Electron probe and x-ray diffraction microanalyses of human enamel treated in vitro by fluoride solution. *Caries Res* 4(1):1-13.

Betke H, Schick U, Buchalla W, Hellwig E, Attin T (2003). Einfluss der Pufferkapazität aminfluoridhaltiger Zahnpasten und Gele bei Schmelzerosionen. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 113(11):1158-1164.

Bramstedt F, Bandilla J (1966). Über den Einfluss organischer Fluoridverbindungen auf Säurebildung und Polysaccharidsynthese auf Plaques-Streptokokken. *Dtsch Zahnarztl Z* 21(12):1390-1396.

Brudevold F, Naujoks R (1978). Caries-preventive fluoride treatment of the individual. *Caries Res* 12 Suppl 1:52-64.

Caslavska V, Gron P, Kent RL, Joshipura K, DePaola PF (1991). CaF₂ in enamel biopsies 6 weeks and 18 months after fluoride treatment. *Caries Res* 25(1):21-26.

Caslavska V, Moreno EC, Brudevold F (1975). Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch Oral Biol* 20(5-6):333-339.

Clark DC (1982). A review on fluoride varnishes: an alternative topical fluoride treatment. *Community Dent Oral Epidemiol* 10(3):117-123.

Clark JW, Quiros A, Corpron RE, More FG, Kowalski CJ (1986). In vivo effects of a SnF₂ gel on acid-softened enamel. *J Dent Res* 65(5):698-702.

Cruz R, Ogaard B, Rolla G (1992). Acquisition of alkali-soluble fluoride by enamel through treatment with NaF-containing toothpastes in vitro. *Scand J Dent Res* 100(2):81-87.

Cruz R, Rolla G (1992). The effect of time of exposure on fluoride uptake by human enamel from acidulated fluoride solutions in vitro. *Acta Odontol Scand* 50(1):51-56.

Cruz R, Rolla G, Ogaard B (1994). Alkali-soluble fluoride deposition on human enamel exposed to monofluorophosphate-containing toothpastes in vitro. *Acta Odontol Scand* 52(2):72-76.

Duschner H, Gotz H, Ogaard B (1997). Fluoride-induced precipitates on enamel surface and subsurface areas visualised by electron microscopy and confocal laser scanning microscopy. *Eur J Oral Sci* 105(5):466-472.

Duschner H, Uchtmann H (1985). Reaktionen von Aminhydrofluoriden mit Oberflächenschmelz. *Dtsch Zahnarztl Z* 40(10):1031-1035.

Duschner H, Uchtmann H (1988). Degradation of surface enamel and formation of precipitates after topical applications of sodium fluoride solutions in vitro. *Acta Odontol Scand* 46(6):365-374.

Duschner H, Uchtmann H, Duschner HA (1984). Wirkungsmechanismen von Fluorid nach Duraphat-Behandlung. *Dtsch Zahnarztl Z* 39(9):705-709.

Ericsson Y (1963). The mechanism of the monofluorophosphate action on hydroxy apatite and dental enamel. *Acta Odontol Scand* 21:341-358.

Fejerskov O, Thylstrup A, Larsen MJ (1977). Clinical and structural features and possible pathogenic mechanisms of dental fluorosis. *Scand J Dent Res* 85(7):510-534.

Fischer C, Lussi A, Hotz P (1995). Kariostatische Wirkungsmechanismen der Fluoride. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 105(3):311-317.

Ganss C, Klimek J, Brune V, Schurmann A (2004). Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res* 38(6):561-566.

Ganss C, Klimek J, Schaffer U, Spall T (2001). Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res* 35(5):325-330.

Gehring F (1983). Wirkung von Aminfluorid und Natriumfluorid auf Keime der Plaqueflora. *Dtsch Zahnarztl Z* 38 Suppl 1:S36-S40.

Gente M, Sondermann U, Lehmann KM (1985). Linearer thermischer Ausdehnungskoeffizient von Rinderschmelz und Rinderdentin. *Dtsch Zahnarztl Z* 40(5):488-490.

Gerould C (1945). Electron microscope study of the mechanism of fluorine deposition in teeth. *J Dent Res* 24:223-233.

Gerrard WA, Winter PJ (1986). Evaluation of toothpastes by their ability to assist rehardening of enamel in vitro. *Caries Res* 20(3):209-216.

- Gülzow HJ (1983). Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit von Aminfluoriden an der Schmelzoberfläche. *Dtsch Zahnarztl Z* 38 Suppl 1:S19-S22.
- Gülzow HJ, Ganschow C, Mannes C (1993). Fluoridaufnahme der Schmelzoberfläche aus Zahnpasten mit unterschiedlichen Fluoridverbindungen., p. 112.
- Gülzow HJ, Lang G (1967). Klinisch experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit zur Kariesprophylaxe angewandter Aminfluoride. *Dtsch Zahnarztl Z* 22(2):414-418.
- Haugejorden O (1996). Using the DMF gender difference to assess the "major" role of fluoride toothpastes in the caries decline in industrialized countries: a meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol* 24(6):369-375.
- Hellwig E, Attin T, Metke W (1993). Beeinflusst eine Fluoridlackapplikation die De- und Remineralisation von kariösen Initialläsionen in vitro? *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 103(2):150-155.
- Hellwig E, Klimek J (1984). Fluoridverlust aus demineralisiertem Schmelz nach Applikation verschieden konzentrierter NaF- und Na-MFP-Lösungen im künstlichem Mund. *Dtsch Zahnarztl Z* 39(11):892-898.
- Hellwig E, Klimek J, Albert G (1989). In-vivo-Retention angelagerten und festgebundenen Fluorids in demineralisiertem Zahnschmelz. *Dtsch Zahnarztl Z* 44(3):173-176.
- Hellwig E, Klimek J, Höhne E (1990). In-situ-Fluoridaufnahme initialer Kariesläsionen nach Applikation zweier Kinderzahnpasten. *Oralprophylaxe* 12(2):65-71.
- Hellwig E, Lussi A (2001). What is the optimum fluoride concentration needed for the remineralization process? *Caries Res* 35 Suppl 1:57-59.
- Helmich U (2003). Abhängigkeit der Enzymaktivität von Umgebungsfaktoren; <http://www.google.de/imgres?imgurl=http://www.u-helmich.de/bio/stw/biokatalyse/bilder/abb03.jpg&imgrefurl=http://www.u-helmich.de/bio/stw/biokatalyse/katalyse03.html&h=285&w=336&sz=27&tbnid=18-THdbXwYRSgM:&tbnh=90&tbnw=106&prev=/search%3Fq%3Ds%25C3%25A4ttigu>

ngskurve%26tbm%3Disch%26tbo%3Du&zoom=1&q=s%C3%A4ttigungskurve&hl=de
&usg=__zBwv6duWkW3J9HtIVZzVtSm1e7U=&sa=X&ei=7HWRTuWqOYzsOcSr_
MwN&sqi=2&ved=0CDoQ9QEwAw.

Hicks MJ, Flaitz CM (2000). Enamel caries formation and lesion progression with a fluoride dentifrice and a calcium-phosphate containing fluoride dentifrice: a polarized light microscopic study. *ASDC J Dent Child* 67(1):21-8, 8.

Iijima Y, Takagi O, Ruben J, Arends J (1999). In vitro remineralization of in vivo and in vitro formed enamel lesions. *Caries Res* 33(3):206-213.

Issa AI, Toumba KJ (2004). Oral fluoride retention in saliva following toothbrushing with child and adult dentifrices with and without water rinsing. *Caries Res* 38(1):15-19.

Kato K, Nakagaki H, Sakakibara Y, Kameyama Y, Weatherell JA, Robinson C (1988). Distribution of fluoride in the enamel of rat incisors examined by an abrasive microsampling technique. *Arch Oral Biol* 33(9):653-656.

Kirkegaard E (1977). In vitro fluoride uptake in human dental enamel from four different dentifrices. *Caries Res* 11(1):24-29.

Klement D, Siebert G (1985). Quantifizierung von Fluoridwirkungen auf *Streptococcus mutans* NCTC 10449. *Dtsch Zahnärztl Z* 40(10):1036-1039.

Klimek J, Ganss C, Schwan P, Schmid R (1998). Fluoridaufnahme im Zahnschmelz nach Anwendung von NaF und AmF-Zahnpasten., pp. 192-196.

Laheij AM, van Strijp AJ, van LC (2010). In situ remineralisation of enamel and dentin after the use of an amine fluoride mouthrinse in addition to twice daily brushings with amine fluoride toothpaste. *Caries Res* 44(3):260-266.

Larsen MJ, Jensen SJ (1994). Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arch Oral Biol* 39(1):23-27.

Larsen MJ, Lambrou D, Fejerskov O, Tachos B (1981). A study on accumulation and release and loosely bound fluoride on enamel. *Caries Res* 15(4):213-217.

- Larsen MJ, Richards A (2001). The influence of saliva on the formation of calcium fluoride-like material on human dental enamel. *Caries Res* 35(1):57-60.
- Leitlinie "Fluoridierungsmaßnahmen" (2005).
- Levy SM (2003). An update on fluorides and fluorosis. *J Can Dent Assoc* 69(5):286-291.
- Lutz F (1983). Mechanismus der protrahierten Aminfluoridwirkung. *Dtsch Zahnarztl Z* 38 Suppl 1:S31-S35.
- Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A (2002). Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*(3):CD002279.
- Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A (2003). Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels or varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*(4):CD002782.
- McCann HG (1953). Reactions of fluoride ion with hydroxyapatite. *J Biol Chem* 201(1):247-259.
- Mellberg JR (1992). Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 71 Spec No:913-919.
- Mellberg JR, Charig A, Deutchman M, O'Brien W, Lass A (1986). Effects of two fluoride gels on fluoride uptake and phosphorus loss during artificial caries formation. *J Dent Res* 65(8):1084-1086.
- Naujoks R (1983). Effizienz und Ökonomie der Anwendungsformen von Fluoriden: Zahnpasten. *Dtsch Zahnarztl Z* 38 Suppl 1:S61-S64.
- Nicholson CR, Taylor GR, Mellberg JR (1974). An automated device for removing enamel layers by dissolution. *Caries Res* 8(3):293-299.
- Ogaard B (1990). Effects of fluoride on caries development and progression in vivo. *J Dent Res* 69 Spec No:813-819.

- Ogaard B, Rolla G, Dijkman T, Ruben J, Arends J (1991). Effect of fluoride mouthrinsing on caries lesion development in shark enamel: an in situ caries model study. *Scand J Dent Res* 99(5):372-377.
- Ogaard B, Rolla G, Ruben J, Dijkman T, Arends J (1988). Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. *Scand J Dent Res* 96(3):209-211.
- Petzold M (2001). The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF₂ precipitation and microstructure. *Caries Res* 35 Suppl 1:45-51.
- Ramos-Gomez F, White GE (1983). The effects of some remineralizing solutions on early occlusal lesions. *J Pedod* 7(3):241-250.
- Rolla G, Ogaard B, Cruz RA (1993). Topical application of fluorides on teeth. New concepts of mechanisms of interaction. *J Clin Periodontol* 20(2):105-108.
- Rolla G, Saxegaard E (1990). Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. *J Dent Res* 69 Spec No:780-785.
- Rosin-Grget K, Lincir I, Andrijanic A (2002). In vitro fluoride uptake by enamel from different amine fluoride concentrations. *Caries Res* 36(4):266-269.
- Rosin-Grget K, Sutej I, Lincir I (2007). The effect of saliva on the formation of KOH-soluble fluoride after topical application of amine fluoride solutions of varying fluoride concentration and pH. *Caries Res* 41(3):235-238.
- Saxegaard E, Lagerlof F, Rolla G (1988). Dissolution of calcium fluoride in human saliva. *Acta Odontol Scand* 46(6):355-359.
- Saxegaard E, Rolla G (1988). Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 96(6):523-535.
- Schmid H (1983). Chemie und Oberflächenwirkung der Aminfluoride. *Dtsch Zahnarztl Z* 38 Suppl 1:S9-13.

- Schmid R, Barbakow F, Muhlemann H, De VP (1984). Amine fluoride and monofluorophosphate: I. Historical review of fluoride dentifrices. *ASDC J Dent Child* 51(2):99-103.
- Silva MF, Melo EV, Stewart B, De VW, Sintes JL, Petrone ME *et al.* (2001). The enhanced anticaries efficacy of a sodium fluoride and dicalcium phosphate dihydrate dentifrice in a dual-chambered tube. A 2-year caries clinical study on children in Brazil. *Am J Dent* 14 Spec No:19A-23A.
- Singer L, Jarvey BA, Venkateswarlu P, Armstrong WD (1970). Fluoride in plaque. *J Dent Res* 49(2):455.
- Takagi S, Liao H, Chow LC (2001). Effect of a low-fluoride-content, two-component rinse on fluoride uptake and on de- and remineralization of enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res* 35(3):223-228.
- Tatevossian A (1990). Fluoride in dental plaque and its effects. *J Dent Res* 69 Spec No:645-652.
- ten Cate JM (1990). In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res* 69 Spec No:614-619.
- van Strijp AA, Buijs MJ, ten Cate JM (1999). In situ fluoride retention in enamel and dentine after the use of an amine fluoride dentifrice and amine fluoride/sodium fluoride mouthrinse. *Caries Res* 33(1):61-65.
- White DJ (1987). Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries. I. Effects on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. *Caries Res* 21(2):126-140.
- Wiegand A, Krieger C, Attin R, Hellwig E, Attin T (2005). Fluoride uptake and resistance to further demineralisation of demineralised enamel after application of differently concentrated acidulated sodium fluoride gels. *Clin Oral Investig* 9(1):52-57.

11 Publikationsverzeichnis

- Kurzvortrag mit Postervorstellung
 - o Üsküdar A., Senge S., Klimek J.: „Bildung von Kalziumfluorid in Abhängigkeit von der Applikationshäufigkeit verschiedener Zahnpasten“ (2009)

 - o Auszeichnung mit dem DGZ-Jahresbestpreis 3. Platz (Poster)

- Publikation
 - o Üsküdar A, Senge S, Klimek J (2012). Bildung von KOH-löslichem Fluorid in Abhängigkeit von der Applikationshäufigkeit, Fluoridkonzentration und Fluoridverbindung von Zahnpasten. *Oralprophylaxe & Kinderzahnheilkunde* 34: 11-15.

12 Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt sind.“

Datum

Unterschrift

13 Danksagung

Zunächst möchte ich Herrn *Prof. Dr. J. Klimek* für die ausgezeichnete Betreuung, Zusammenarbeit, fortwährende Unterstützung und die Begutachtung meiner Dissertationsschrift danken.

Meinen Ansprechpartnern Frau *Prof. Dr. C. Ganß*, Frau *Dr. N. Schlüter* sowie Frau *B. Meier* gilt an dieser Stelle mein großer Dank für die tatkräftige Unterstützung, Hilfe und Beratung.

Auch möchte ich mich bei meiner Freundin, Boxenpartnerin und Kollegin *Stefanie Senge* bedanken, mit der ich zusammen den experimentellen Teil unserer Doktorarbeiten durchgeführt habe.

Danke auch an die Abteilung Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Präventive Zahnheilkunde des Medizinischen Zentrums für Zahn-, Mund und Kieferheilkunde des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen für die Bereitstellung von Geräten und Materialien und die Unterstützung während der praktischen Versuche.

Meinen Eltern und Geschwistern bin ich dankbar für ihre Kraft und Liebe, die mich bis zum heutigen Tag immerwährend und ausnahmslos unterstützt und gefördert haben.

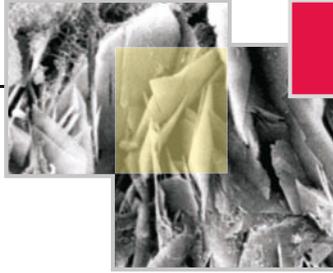
„Tesekkür ederim size“

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Schwester und gleichzeitig meinem Vorbild *Yasemin* bedanken. Sie hat mich stets aufgebaut und für die erforderliche Abwechslung gesorgt.

Ebenso sei allen denen ein Dankeschön ausgesprochen, die nicht namentlich Erwähnung fanden, aber zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

**Der Lebenslauf wurde aus der elektronischen
Version der Arbeit entfernt.**

**The curriculum vitae was removed from the
electronic version of the paper.**



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

ISBN: 978-3-8359-5827-2

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

