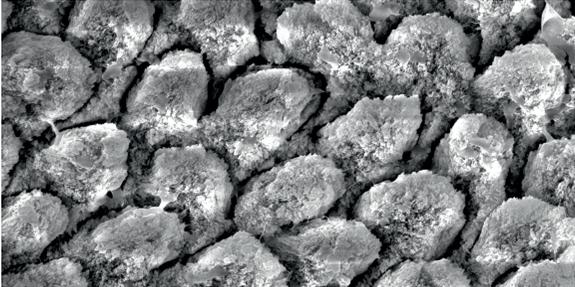


**PETER KERZEL**

---

## **HYDROXYLAPATIT**

Zur symptomatischen Therapie von  
säurebedingten Zahnhartsubstanzerkrankungen



### **INAUGURALDISSERTATION**

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



*edition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autoren dieses Werkes.**

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

1. Auflage 2023

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 Authors or the Publisher.

1<sup>st</sup> Edition 2023

© 2023 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, 35396 GIESSEN, GERMANY  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

# **HYDROXYLAPATIT**

Zur symptomatischen Therapie von säurebedingten  
Zahnhartsubstanzerkrankungen

## **INAUGURALDISSERTATION**

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

vorgelegt von

**Kerzel, Peter**

aus München

Gießen 2022

**Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Medizinisches Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Präventive Zahnheilkunde

Gutachterin: Prof. Dr. Carolina Ganß

Gutachter: Prof. Dr. Dr. Hans-Peter Howaldt

Tag der Disputation: 08.12.2022

**Für meine Familie**

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
2	Untersuchungsziel .....	6
3	Material und Methoden .....	7
3.1	Übersicht der Versuche .....	7
3.2	Versuchsprodukte.....	8
3.3	Kontrollgruppen .....	8
3.4	Verwendete Lösungen.....	9
3.5	Herstellung der Slurries.....	10
3.6	Herstellung der Proben.....	11
3.7	Versuchsdurchführung .....	13
3.7.1	Bestimmung des Substanzverlustes .....	13
3.7.2	Morphologische Strukturanalyse in vitro .....	15
3.7.3	Morphologische Strukturanalyse in situ.....	17
3.8	Analyse- und Messmethoden .....	21
3.8.1	Profilometrie (Bestimmung des Substanzverlustes) .....	21
3.8.2	Rasterelektronenmikroskopie (morphologische Strukturanalyse) .....	23
3.8.3	Bestimmung des Partikelgehaltes.....	26
3.8.4	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX).....	26
3.8.5	Bestimmung der pH-Werte .....	27
3.8.6	Bestimmung des Fluoridgehaltes .....	28
3.8.7	Bestimmung der Konzentration an Kalziumionen.....	29
3.8.8	Bestimmung der RDA- und REA-Werte .....	29
3.9	Statistik.....	31
3.10	Ethikvotum.....	31

## Inhaltsverzeichnis

3.11	Inhaltsstoffe der Produkte (wie deklariert).....	32
3.12	Material- und Chemikalienverzeichnis .....	34
3.12.1	Materialien .....	34
3.12.2	Chemikalien .....	37
4	Ergebnisse.....	38
4.1	Substanzverluste.....	38
4.2	Morphologische Schmelzstrukturen in vitro .....	41
4.3	Morphologische Schmelzstrukturen in situ.....	45
4.4	Energiedispersive Röntgenspektroskopie von Schmelzproben der morphologischen Schmelzstrukturen .....	48
4.5	Partikuläre Phase .....	51
4.5.1	Form, Oberflächenbeschaffenheit und Größe .....	51
4.5.2	Substanzverlust und Partikelgehalt .....	53
4.5.3	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) der partikulären Phase ...	54
4.6	pH-Werte .....	58
4.7	Fluoridkonzentration .....	58
4.8	Konzentration an Kalziumionen.....	59
4.9	Substanzverlust und RDA- und REA-Werte.....	60
4.10	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	62
5	Diskussion .....	64
5.1	Der neue Wirkstoff Hydroxylapatit.....	64
5.1.1	Chemische Eigenschaften .....	64
5.1.2	Hydroxylapatit in humanem Zahnschmelz .....	65
5.1.3	Verwendung von Kalziumphosphaten in Zahnpflegeprodukten.....	67
5.2	Die Wirkstoffe im Anwendungsgebiet Erosionsschutz am Zahnschmelz .....	69
5.3	Produktauswahl .....	76
5.4	Diskussion der Material- und Methodenwahl .....	77
5.4.1	Simulation der Bedingungen in der Mundhöhle .....	77

## Inhaltsverzeichnis

5.4.2	Durchführung der Versuche .....	78
5.4.3	Analyse- und Messmethoden .....	79
5.5	Diskussion der Substanzverluste .....	80
5.5.1	Wirkstoffeffekte .....	80
5.5.2	Wirkstoffeffekte unter Bürstabrasion .....	86
5.6	Diskussion der morphologischen Schmelzstrukturen .....	90
5.6.1	Morphologische Schmelzstrukturen in vitro .....	90
5.6.2	Morphologische Schmelzstrukturen in situ .....	92
5.7	Schlussfolgerung .....	94
6	Zusammenfassung .....	96
7	Summary .....	98
8	Literaturverzeichnis .....	100
9	Publikationen .....	111
10	Anhang .....	112
10.1	Abbildungsverzeichnis .....	112
10.2	Tabellenverzeichnis .....	115
11	Ehrenwörtliche Erklärung .....	117
12	Danksagung .....	118
13	Akademischer Lebenslauf .....	119

# 1 Einleitung

Die aktuelle deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) [Jordan & Micheelis, 2016] zeigt im Vergleich zu den Vorgängerstudien DMS IV [Micheelis & Schiffner, 2006] und DMS III [Micheelis & Reich, 1999] einen Rückgang der Kariesprävalenz in allen Altersgruppen. Dieser ist besonders in der Kohorte der 12-Jährigen zu beobachten. Während in der DMS IV 70,1 % dieser Kohorte kariesfrei waren, sind in der DMS V mittlerweile 82,3 % der Untersuchten ohne Karies. In der Gruppe der jüngeren Erwachsenen (35- bis 44-Jährige) ist dieser Trend auch zu verfolgen. So hat sich die Anzahl der kariesfreien Gebisse in dieser Altersgruppe seit der DMS III verdreifacht und der durchschnittliche DMFT-Wert (decayed-missing-filled-teeth index) von 16,1 auf 11,2 reduziert. Auch in der Gruppe der jüngeren Senioren (65- bis 74-Jährige) sind in der DMS V geringere DMFT-Werte als in den vorherigen Untersuchungen festzustellen. Außerdem können die eigenen Zähne der Patienten länger erhalten werden. Betrachtet man die Anzahl der fehlenden Zähne, so ergab sich bei den jüngeren Erwachsenen in der DMS V ein Rückgang um 50 % gegenüber der DMS III. Bei den jüngeren Senioren konnte die Anzahl von durchschnittlich 17,6 auf 11,2 fehlende Zähne reduziert werden.

Durch den längeren Zahnerhalt und die geringere Karieserfahrung rücken andere Zahnhartsubstanzverluste neben der Karies in den zahnmedizinischen Fokus. Dazu zählen keilförmige Defekte, Abrasionen und Erosionen. Auch hierzu liegen Daten aus den letzten beiden deutschen Mundgesundheitsstudien (DMS IV und V) vor. So lässt sich bei der Kohorte der jungen Erwachsenen eine Prävalenzsteigerung von 16,9 % auf 44,8 % und bei den jüngeren Senioren ein Anstieg von 29,3 % auf 58,5 % feststellen. In der DMS IV wurden allerdings Erosionen in Zusammenhang mit keilförmigen Defekten diagnostiziert, während in der DMS V Erosionen einen eigenen Untersuchungsparameter darstellten. An den Prävalenzdaten der DMS V lässt sich außerdem erkennen, dass Erosionen altersabhängige Verschleißphänomene sind. So gibt es ausgehend von den 12-Jährigen mit einer Prävalenz von 17,9 %, über die jungen Erwachsenen mit 44,8 % und die jüngeren Senioren mit 58,5 % mehr als eine Verdreifachung der Prävalenz bei den älteren Senioren mit 60,0 %. Diese Daten verdeutlichen eine zunehmende Präsenz von erosiven Zahnhartsubstanzverlusten und eine damit verbundene Relevanz der frühzeitigen Prävention und Therapie dieser Zahnhartsubstanzverluste in der heutigen Zahnmedizin.

Erosionen entstehen im Gegensatz zur Karies nicht durch bakterienbedingte Säureeinwirkung, sondern durch direkten Kontakt der natürlichen Zahnhartsubstanz mit sauren Flüssigkeiten [Ganss et al., 2013]. Säureexpositionen können sowohl extrinsisch als auch intrinsisch verursacht werden. Als extrinsische Hauptursache kommt der Konsum von säurehaltigen Fruchtsaftgetränken, Limonaden und anderen säurehaltigen Lebensmitteln (z. B. Ascorbinsäure, Essig, Fruchtbonbons) in Frage. Aber auch Berufe und Hobbies können erosiven Zahnhartsubstanzverlust verursachen. So kann die Exposition durch industrielle Säuredämpfe, in z. B. Batteriefabriken, oder erhöhten Weinkonsum, z. B. als Sommelier, Erosionen hervorrufen [Barbour & Lussi, 2014]. Zu den intrinsischen Faktoren zählen unter anderem Refluxerkrankungen und Essstörungen [Moazzez & Barlett, 2014].

Laut Definition bezeichnet die Erosion die Auflösung des Zahnminerals in Abwesenheit von Plaque. Lussi et al. haben diesen chemischen Vorgang genauer beschrieben [Lussi et al., 2011]. Wird der kritische pH-Wert unterschritten, lösen sich Ionen aus dem Zahnschmelz heraus. Der kritische pH-Wert hängt hierbei einerseits von der Säurelöslichkeit des Zahnschmelzes und andererseits von der Konzentration der relevanten Ionen (Kalzium, Phosphat und Fluorid) in der den Zahn umgebenden Lösung ab. Ist die Lösung gegenüber dem Zahnschmelz untersättigt und der pH-Wert niedrig, findet Demineralisation statt. Das Herauslösen der Ionen wiederum erhöht den lokalen pH-Wert und die Konzentration der Ionen in der Lösung, was die Demineralisation beendet. Der Erosionsprozess wird somit so lange fortgesetzt, wie die den Zahn umspülende Lösung im Gegensatz zur Zahnoberfläche einen niedrigeren pH-Wert aufweist und in Bezug auf die Zahnminerale untersättigt ist. Durch diesen chemischen Vorgang bildet sich an der Schmelzoberfläche ein Ätzmuster, vergleichbar mit der Entstehung eines Ätzmusters nach der Applikation von Phosphorsäure im Rahmen der Füllungstherapie [Eisenburger et al., 2004]. Die entstehende Oberflächenstruktur ist allerdings instabiler als gesunder Zahnschmelz und es folgt ein sukzessiver Substanzabtrag durch Attrition und Abrasion [Ganss et al., 2013].

Bei der Therapie von Erosionen muss folglich versucht werden die Säureeinwirkung zu vermeiden (Kausaltherapie), die verlorengegangenen Zahnhartsubstanzverluste zu ersetzen (restaurative Therapie) und die Zahnoberfläche vor Substanzverlust durch Säureangriffe zu schützen (Symptomtherapie). Hierbei ist zu beachten, dass eine restaurative Therapie nur im Anschluss oder in Kombination mit einer Kausaltherapie durchgeführt werden sollte [Carvalho et al., 2015]. Zur kausalen Therapie von Erosionen wird die Identifikation der Säurequelle durch die Erhebung von Ernährungsprotokollen und die anschließende Vermeidung der Noxen

empfohlen. Die Säureexposition soll durch die Reduktion der sauren Mahlzeiten vermieden werden und beim Konsum von Säuren sollten diese in Kombination mit kalzium- und phosphatreichen Lebensmitteln (z. B. Joghurt und Fruchtsaft mit hohem Kalziumgehalt) verzehrt werden. Restaurativ kann die Therapie durch direkte (z. B. Kompositaufbauten) oder indirekte (z. B. Komposit-, Keramik-, Metall-Kronen/Teilkronen) Maßnahmen unterstützt werden, um die Zähne funktionell und ästhetisch wieder herzustellen und um Schmerzen und Hypersensibilitäten zu verringern [Carvalho et al., 2015]. Symptomatisch kann zusätzlich, wie in der Prophylaxe und Therapie von Karies, die Zahnoberfläche durch Zahnpasten und Mundspüllösungen mit verschiedenen Wirkstoffen (z. B. Fluorid, Zinnionen) modifiziert werden.

In der Kariestherapie ist die Wirksamkeit von Fluoriden hinreichend belegt [Marinho et al., 2003]. Während sie hierbei die Säurelöslichkeit des Zahnschmelzes verringern, die Demineralisation hemmen und die Remineralisation fördern, ist in Bezug auf Erosionen eine Remineralisation des erweichten Schmelzes fraglich [Lussi et al., 2011; Eisenburger et al., 2004]. Daher stehen in der symptomatischen Erosionstherapie die Erhöhung der Säureresistenz des Schmelzes und die Hemmung der Demineralisation durch Bildung von Mineralpräzipitaten an der Zahnoberfläche im Fokus. Hierzu konnte Larsen bereits 1990 zeigen, dass die Anwesenheit von Fluoridionen sowohl im Schmelz als auch in der umgebenden Lösung die Löslichkeit von Hydroxylapatit aus dem Schmelz herabsenkt und die Säureresistenz erhöht [Larsen, 1990]. Außerdem konnte Petzold Präzipitation durch Fluoridverbindungen an Zahnoberflächen nachweisen [Petzold, 2001]. Allerdings ist darauf zu achten, welche Fluoridverbindung (z. B. Natriumfluorid, Aminfluorid oder Zinnfluorid) in dem Zahnpflegeprodukt enthalten ist. So sind Zinnverbindungen in Zahnpasten effektiver als Natrium- oder Aminfluoride, um Zahnhartsubstanzverlust durch Säureexposition zu vermeiden [Ganss et al., 2012; Ganss et al., 2008]. Auch in Mundspüllösungen scheint Zinn eine wichtige Rolle zu spielen. So kann durch zinnhaltige Mundspüllösungen im Gegensatz zu reinen natriumfluoridhaltigen Mundspüllösungen der Substanzverlust verringert werden [Ganss et al., 2010]. Daher empfiehlt auch der Consensus-Report der European Federation of Conservative Dentistry Zahnpflegemittel mit Zinnfluorid oder Zinnchlorid, um das Fortschreiten der Erosionen zu reduzieren [Carvalho et al., 2015].

Aber auch neue Wirkstoffe werden im Bereich Erosionsschutz eingesetzt. So werden seit einigen Jahren fluoridfreie Zahnpasten mit einem neuen Wirkstoff gegen Karies und Erosionen kommerziell vertrieben. Der neue Wirkstoff ist Hydroxylapatit und wird auch als „künstlicher

Zahnschmelz“ propagiert. Er soll durch seine Wirkmechanismen eine Alternative zum Fluorid darstellen [Enax et al., 2020]. Die Hydroxylapatitpartikel sollen als Putzkörper fungieren und durch Adsorption eine physikalische Schutzschicht auf der Zahnoberfläche bilden. Der Wirkstoff soll eine Quelle für Kalzium- und Phosphationen darstellen und durch die Adsorption an der Zahnoberfläche als „Opfermaterial“ bei Säureangriffen wirken. Außerdem soll er die Adhäsion von Mikroorganismen an der Zahnoberfläche reduzieren. Durch diese Wirkmechanismen soll Hydroxylapatit kariesprotektiv sein, Hypersensibilitäten reduzieren und im Rahmen der Gingivitis- und Parodontitistherapie positive Effekte erzielen. Im Bereich der Erosionstherapie zielt der neue Wirkstoff auf die Remineralisation und Präzipitation an der Zahnoberfläche ab. Als zusätzlichen positiven Effekt soll Hydroxylapatit durch seine weiße Farbe einen Whitening-Effekt aufweisen. Mittlerweile erscheinen immer mehr Zahnpflegeprodukte mit Hydroxylapatit als Wirkstoff. Auch einige Discounter verkaufen inzwischen Produkte der Eigenmarken mit dem sogenannten „künstlichen Zahnschmelz“. Aber auch Zahnpasten, die die Wirksamkeit von Fluoriden und Hydroxylapatit kombinieren wollen und beide Wirkstoffe enthalten, sind auf dem Markt erhältlich.

Der neue Wirkstoff Hydroxylapatit ist der Hauptbestandteil in menschlichen Knochen und Zähnen. Der humane Knochen besteht zu ungefähr 65 %, das Dentin zu ca. 70 % und der Zahnschmelz zu ca. 96 % aus Hydroxylapatit [Nikiforuk, 1985a]. Reines Hydroxylapatit setzt sich nach der nichtstöchiometrischen Summenformel  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  zusammen und enthält Kalzium und Phosphat im Verhältnis 1,67:1. Es wird in die Gruppe der schwerlöslichen Kalziumphosphate eingeordnet. Das im Körper vorkommende biologische Apatit ist allerdings durch ein Kalzium-, Phosphat- und Hydroxylionendefizit und die Einlagerungen von anderen Ionen, wie z. B. Carbonat, verändert [Dorozhkin et al., 2002]. Im Zahn liegt es in den verschiedenen Strukturen in unterschiedlichen kristallinen Strukturen vor. Im Zahnschmelz lagern sich die Kristalle zu Prismen zusammen, die von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Zahnoberfläche gehen. So bildet Hydroxylapatit das härteste Material des menschlichen Körpers, den Zahnschmelz.

Hydroxylapatit ist eine der am häufigsten verwendeten Biokeramiken [Supová, 2009]. Es wird schon sehr lange in der Medizin als Knochenersatzmaterial eingesetzt [Siddiqui et al., 2018]. Auch in der Zahnmedizin wird Hydroxylapatit als Knochenersatzmaterial z. B. beim Erhalt des Kieferkammes, der Sinusaugmentation und bei parodontalen Knochendefekten verwendet [Dewi & Ana, 2018]. Es wird auch als Zusatz in Polycarboxylatzemente gemischt, um deren Härte zu erhöhen [Smith, 1988]. Außerdem werden medizinische Implantate wegen der besseren

Biokompatibilität mit Hydroxylapatit beschichtet [Priyadarshini et al., 2019] und auch in der Zahnmedizin werden dentale Implantate seit Jahrzehnten mit Kalziumphosphaten beschichtet [Junker et al., 2009]. Die Beschichtung verbindet hierbei die hervorragende Stabilität der Metallimplantate mit der guten Biointegration des Hydroxylapatits [Badr & El Hadary, 2007]. Mit der Anwendung von Hydroxylapatit als Wirkstoff in Zahnpasten wird dem Mineral nun ein neuer Wirkungsbereich zugeschrieben.

Während die Rolle von Hydroxylapatit in der Parodontologie und Chirurgie hinreichend geklärt ist, ist die Wirkungsweise und Effektivität in der lokalen Applikation in der Mundhöhle noch unklar. Es liegen sowohl Studien mit positiven als auch mit negativen Ergebnissen vor. So ist es generell einfach, Hydroxylapatitpräzipitate aus übersättigten Kalzium-Phosphatlösungen auf dem Zahnschmelz zu bilden [Tomazic et al., 1976]. Roveri et al. konnten zeigen, dass auch die 15-tägige In-vitro-Anwendung von carboniertem Hydroxylapatit in Form von Nanokristallen zu einer Bedeckung von geätzten Schmelzproben führt [Roveri et al., 2008]. Allerdings ist die Bedeckung weniger kristallin als der natürliche Schmelz. Bradna et al. konnten im Gegensatz hierzu nach 30-facher Anwendung keine schützende Bedeckung durch hydroxylapatithaltige Zahnpasten feststellen [Bradna et al., 2016]. Bei beiden Studien fand der Versuchsablauf jedoch nicht unter erosiven Bedingungen (De- und Remineralisation) statt. Eine In-vitro-Studie von Poggio et al. konnte zeigen, dass es durch die Anwendung von zink-hydroxylapatithaltigen Zahnpasten in einem De- und Remineralisationsmodell zu einer Erhärtung der Zahnoberfläche im gleichen Maße wie durch eine natriumfluoridhaltige Zahnpaste kommt [Poggio et al., 2017]. Eine zusätzliche Bürstabrasion wurde in diesem Versuchsaufbau allerdings nicht durchgeführt. Unter zusätzlicher Bürstabrasion konnten Esteves-Oliveira et al., Comar et al. und Ganss et al. keine Minimierung des Substanzverlustes durch Hydroxylapatit feststellen [Esteves-Oliveira et al., 2017; Comar et al., 2013; Ganss et al., 2011]. In der Mundhöhle kann die Remineralisation und die Präzipitation noch zusätzlich durch Speichelproteine wie z. B. PRPs (prolin-reich-proteins), Statherin und Histatin inhibiert werden [Xiao et al., 2015; Tamaki et al., 2002]. Insbesondere in der In-situ- und In-vivo-Anwendung von hydroxylapatithaltigen Zahnpflegetechniken liegen nach jetzigem Wissensstand keine Studien vor, die einen positiven Effekt unter erosiven Bedingungen zeigen konnten. Eine klare Aussage, ob hydroxylapatithaltige Zahnpflegetechniken in der Symptomtherapie von säurebedingten Zahnhartsubstanzerkrankungen eingesetzt werden können, kann daher nicht getroffen werden.

## 2 Untersuchungsziel

Das Ziel der Dissertation war es zu untersuchen, ob der neue Wirkstoff Hydroxylapatit in der symptomatischen Therapie von säurebedingten Zahnhartsubstanzerkrankungen eingesetzt werden kann. Außerdem sollte die Wirkungsweise und der Wirkmechanismus analysiert werden. Hierzu sollten die folgenden Fragen beantwortet werden:

- Kann Hydroxylapatit den erosiv bedingten Zahnhartsubstanzenverlust gegenüber der Negativkontrolle effektiv verringern?
- Kann Hydroxylapatit den erosiv bedingten Zahnhartsubstanzenverlust gegenüber etablierten Wirkstoffen effektiv verringern?
- Sind Präzipitate nach der Anwendung von Hydroxylapatit auf erodierten Schmelzoberflächen nachweisbar?
- In welcher Form liegt Hydroxylapatit in den Zahnpasten und Mundspüllösungen vor?

Um diese Fragen zu beantworten, wurde der Substanzenverlust von humanen Schmelzproben in einem Erosions-/Abrasionsmodell nach Behandlung mit verschiedenen hydroxylapatithaltigen Zahnpflegemitteln gemessen und mit einer Negativkontrolle (wirkstofffrei) und zwei Positivkontrollen (zinn- und fluoridhaltig) verglichen. Außerdem wurden erodierte Schmelzoberflächen nach einerseits In-vitro- und andererseits In-situ-Anwendung der Zahnpflegeprodukte auf morphologische Veränderungen rasterelektronenmikroskopisch untersucht. Zusätzlich wurden weitere Analysen der relevanten Parameter der Zahnpflegeprodukte, wie die pH-Wert-Bestimmung und die Bestimmung der Fluorid- und der Kalziumkonzentration durchgeführt. Es wurde der Partikelgehalt der Zahnpasten ermittelt, die Partikel der Zahnpasten auf ihre Form, Größe und Oberflächenbeschaffenheit hin analysiert und die RDA-/REA-Werte der Zahnpasten bestimmt.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Übersicht der Versuche

Es wurden drei Versuche durchgeführt, die Bestimmung des Substanzverlustes *in vitro*, die morphologische Strukturanalyse *in vitro* und die morphologische Strukturanalyse *in situ*. In allen Experimenten wurden Schmelzproben von humanen Zähnen verwendet, die mit den verschiedenen Versuchsprodukten behandelt wurden.

Bei der Bestimmung des Substanzverlustes wurden die Schmelzproben in einem zyklischen Erosions-/Abrasionsmodell (Demineralisationsmodell) behandelt. Anschließend wurde der Substanzverlust gegenüber einer Referenzfläche mit Hilfe der Profilometrie gemessen und die verschiedenen Versuchsgruppen verglichen.

Bei der morphologischen Strukturanalyse *in vitro* wurden angeätzte Schmelzproben im Sinne eines Remineralisationsmodells mit den Versuchsprodukten *in vitro* behandelt. Die Schmelzproben wurden vor Versuchsbeginn jeweils in eine Referenz- und eine Versuchsprobe geteilt. Die Referenzproben wurden nicht weiter behandelt. Zur Auswertung wurden die Referenz- und Versuchsproben unter dem Rasterelektronenmikroskop auf Präzipitate hin untersucht und verglichen.

Bei der morphologischen Strukturanalyse *in situ* wurden angeätzte Schmelzproben im Sinne eines Remineralisationsmodells mit den Zahnpflegeprodukten *in situ* behandelt. Die Versuchsproben wurden an intraoralen Probenhaltern befestigt, während die Referenzproben unbehandelt blieben. Zur Auswertung wurden die Proben unter dem Rasterelektronenmikroskop auf Präzipitate hin untersucht und verglichen.

Neben den drei Versuchen wurden die Partikel der Zahnpflegeprodukte mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops und der energiedispersiven Röntgenspektroskopie untersucht, der Partikelgehalt bestimmt, der pH-Wert ermittelt, die Fluoridkonzentration und die Konzentration an Kalziumionen sowie die RDA- und REA-Werte gemessen. Außerdem wurde die Oberflächenzusammensetzung von exemplarischen Schmelzproben der morphologischen Strukturanalysen untersucht.

## 3.2 Versuchsprodukte

Die Versuchsprodukte werden im folgenden Text und den folgenden Tabellen, Grafiken und Abbildungen nach ihren entsprechenden Abkürzungen (Tabelle 3.1) benannt.

Es wurden vier Zahnpasten und eine Mundspüllösung verwendet. Bei den Zahnpasten handelte es sich um zwei Hydroxylapatitzahnpasten und zwei Kombinationszahnpasten, die neben Hydroxylapatit auch Fluorid enthielten. Als Hydroxylapatitzahnpasten wurden Biorepair (Mat. 1) und Karex (Mat. 2) und als Kombinationszahnpasten Apacare (Mat. 3) und Prokudent (Mat. 4) verwendet. Als Testspüllösung wurde die rein hydroxylapatithaltige Zahnmilch (Mat. 5) ausgewählt.

**Tabelle 3.1:** Abkürzungen der Versuchsprodukte

<b>Versuchsprodukt (Hersteller)</b>	<b>Abkürzung</b>
Biorepair® Zahncreme (Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG)	Biorepair
KAREX® Zahnpasta (Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG)	Karex
Apacare®-Remineralisierende Zahncreme (Cumdente GmbH)	Apacare
Prokudent® Actischmelz Zahncreme (Dirk Rossmann GmbH)	Prokudent
Biorepair® Zahnmilch (Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG)	Zahnmilch

## 3.3 Kontrollgruppen

Die Kontrollprodukte werden im folgenden Text und den folgenden Tabellen, Grafiken und Abbildungen nach ihren entsprechenden Abkürzungen (Tabelle 3.2) benannt und auch als Produkte bzw. Versuchsprodukte bezeichnet.

Es wurden zwei Zahnpasten und eine Mundspüllösung verwendet. Als Negativkontrolle wurde die fluorid- und hydroxylapatitfreie Zahnpaste Nenedent Kinderzahncreme ohne Fluorid (Mat. 6) ausgewählt. Als Positivkontrollen dienten einerseits die zinnfluoridhaltige Zahnpaste Emofluor (Mat. 7) und andererseits die zinnchlorid- und natriumfluoridhaltige Mundspüllösung Elmex Zahnschmelzschutz Professional (Mat. 8).

**Tabelle 3.2:** Abkürzungen der Kontrollprodukte

Kontrollprodukt (Hersteller)	Abkürzungen
Nenedent® Kinderzahncreme ohne Fluorid (Lenk & Schuppan KG)	Negativkontrollzahnpaste / Neg.-Paste
Emofluor® Zahnpaste (Dr. Wild & Co. AG)	Positivkontrollzahnpaste / Pos.-Paste
Elmex® Zahnschmelzschutz Professional Zahnpflege (Colgate-Palmolive GABA GmbH)	Positivkontrollmundspüllösung / Pos.- Lösung

### 3.4 Verwendete Lösungen

Die Chemikalien wurden mit Hilfe einer Präzisionswaage (Mat. 9) auf zwei Nachkommastellen genau abgemessen. Die pH-Werte wurden täglich bei Zimmertemperatur mit einer pH-Elektrode ermittelt (Mat. 10 + Mat. 11).

#### Verwendete Demineralisationslösung:

Als Demineralisationslösung wurde eine 0,5 %ige Zitronensäurelösung verwendet. Mit Hilfe eines Magnetrührers (Mat. 12) wurden 5 g Zitronensäure Monohydrat (Chem. 1) mit 1000 ml *Aqua dest.* vermischt. Die Zitronensäurelösung hatte einen pH-Wert von durchschnittlich 2,5.

**Tabelle 3.3:** pH-Werte der Demineralisationslösung; SD = Standardabweichung

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Ø	SD
pH	2,6	2,5	2,5	2,5	2,6	2,6	2,6	2,5	2,5	2,5	2,5	0,03

**Verwendete Remineralisationslösung:**

Für die Herstellung der Remineralisationslösung wurden zunächst 0,4 g  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (Chem. 2) in 40 ml *Aqua dest.*, 1,5 g KCl (Chem. 3) in 100 ml *Aqua dest.* und 1,0 g  $\text{NaHCO}_3$  (Chem. 4) in 100 ml *Aqua dest.* gelöst. Anschließend wurden diese Lösungen vermischt und mit *Aqua dest.* auf eine Gesamtmenge von 600 ml aufgefüllt. Weiterhin wurde eine zweite Lösung mit 0,22 g  $\text{CaCl}_2$  (Chem. 5) und 100 ml *Aqua dest.* hergestellt.

Die beiden Lösungen wurden miteinander vermischt und mit *Aqua dest.* auf eine Gesamtmenge von 1000 ml aufgefüllt. Der pH-Wert betrug durchschnittlich 6,5.

**Tabelle 3.4:** pH-Werte der Remineralisationslösung; SD = Standardabweichung

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Ø	SD
pH	6,6	6,5	6,6	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	0,03

### 3.5 Herstellung der Slurries

Für die Bestimmung des Substanzverlustes, die morphologische Strukturanalyse *in vitro*, die Bestimmung der pH-Wert, sowie zur Bestimmung der Fluoridgehalte und der Konzentration an Kalziumionen wurden die Zahnpasten je nach Fragestellung mit Remineralisationslösung oder *Aqua dest.* im Verhältnis 1:3 nach Gewicht vermischt. Die Mundspüllösungen wurden unverdünnt angewendet.

An jedem Versuchstag oder vor jeder Messanalyse wurden die Slurries vor Beginn in dem jeweils zugehörigen Becherglas (Mat. 13) neu hergestellt. Hierfür wurden die benötigten Mengen Zahnpaste und Verdünnung mit der Präzisionswaage abgemessen und für mindestens 45 Minuten bei 200 Umdrehungen pro Minute mit dem Magnetrührer vermengt. Zwischen den Anwendungen und Einwirkzeiten wurden die Slurries und die Mundspüllösung mit Hilfe des Magnetrührers durchgängig gerührt, um eine Sedimentation zu vermeiden.

## 3.6 Herstellung der Proben

Für die Probenherstellung wurden humane, ehemals retinierte, dritte Molaren verwendet (siehe 3.10 Ethikvotum). Diese wurden bis zur Verarbeitung in wässriger, gesättigter Thymollösung gelagert (Chem. 6). Organische Reste wurden mechanisch entfernt. Die Wurzeln wurden entlang der Schmelz-Zement-Grenze mit Hilfe einer diamantierten Bandsäge abgetrennt (Mat. 14) und verworfen. Die Zahnkronen wurden für die Versuche verwendet.

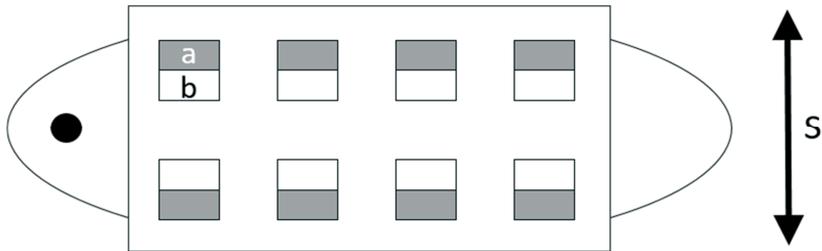
### Bestimmung des Substanzverlustes

Für die Bestimmung des Substanzverlustes wurden von den Glattflächen bis zu vier (mesial, distal, vestibulär und oral) ca. 2 mm dicke Schmelzscheiben mit der diamantierten Bandsäge abgetrennt.

Mit einer Schleifmaschine (Mat. 15) und Schleifpapier mit der Körnung P800, P1200 und P4000 (Mat. 16) wurde die Dicke an den peripheren Flächen der Schmelzscheiben auf ca. 1,2 - 1,6 mm reduziert und die Proben plan geschliffen. Anschließend wurden die Proben mit einer diamantierten Schleifplatte der Körnung P4000 (Mat. 17) poliert. Hierdurch entstanden die Versuchsflächen von ca. 3 mm x 3 mm. Alle Schneid- und Schleifvorgänge fanden unter ausreichender Wasserkühlung statt. Anschließend wurden die Proben dreimal für zwei Minuten mit *Aqua dest.* in einem Ultraschallbad (Mat. 18) gereinigt.

Insgesamt wurden 256 Proben hergestellt (n = 16 pro Gruppe, 16 Gruppen).

Die Proben wurden den 16 Versuchsgruppen zufällig zugeteilt. Insgesamt wurden 16 Proben pro Versuchsgruppe verwendet. Jeweils acht annähernd gleich dicke Proben einer Gruppe wurden mit Hilfe eines lichthärtenden Einkomponentenklebers auf Methacrylatbasis (Mat. 19) auf einem für den Putzsimulator passenden Probenhalter aus Kunststoff fixiert (Abbildung 3.1). Mit demselben Kleber wurden die jeweils außen gelegenen Probenhälften abgedeckt, um einen Referenzbereich zu erzeugen. Der Versuchsbereich wurde unter einem Auflichtmikroskop (Mat. 20 + Mat. 21) auf Rückstände des Klebers, Verunreinigungen und Schmelzdefekte hin untersucht. Kleberreste wurden mit einem Scaler (Mat. 22) entfernt, verunreinigte Proben wurden mit Alkohol (Chem. 7) gesäubert, Proben mit Schmelzdefekten wurden aussortiert und durch unversehrte Proben ersetzt. Die Versuchsproben wurden anschließend bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank (Mat. 23) bei 5 °C gelagert.



**Abbildung 3.1:** Kunststoffprobenhalter mit Anordnung der Schmelzproben; a: abgedeckter Referenzbereich; b: Versuchsbereich; die Punktmarkierung dient als Orientierung zum Einbringen in den Putzsimulator; S: Schwenkbewegung des Schwenktisches bzw. Wasserbades bei der Bestimmung des Substanzverlustes

### Morphologische Strukturanalyse in vitro

Für die morphologische Strukturanalyse in vitro wurden die Proben analog zur Bestimmung des Substanzverlustes vorbereitet. Es wurde jedoch eine Versuchsfläche von ca. 6 mm x 3 mm erzeugt.

Insgesamt wurden 80 Proben hergestellt (n = 5 pro Gruppe, 16 Gruppen).

Die Schmelzproben wurden den 16 Versuchsgruppen zufällig zugeteilt. Insgesamt wurden fünf Proben pro Versuchsgruppe verwendet. Die Proben wurden mit der diamantierten Bandsäge in der Mitte getrennt, um eine Versuchsprobe und eine Referenzprobe zu erzeugen. Auf der pulpalen Seite wurden die Proben markiert, damit nach dem Versuchsablauf eine korrekte Zuordnung von Versuchs- und Referenzprobe erfolgen konnte. Anschließend wurde die pulpaferne Seite der Proben mit 35 %iger Phosphorsäure (Chem. 8) für zwei Minuten angeätzt. Die Proben wurden mit Leitungswasser für eine Minute abgespült und dreimal für zwei Minuten mit *Aqua dest.* im Ultraschallbad gereinigt. Die Versuchsproben einer Versuchsgruppe wurden mit dem Fixationskleber auf einem für den Putzsimulator passenden Probenhalter aus Kunststoff befestigt. Die Referenzproben wurden nicht weiter behandelt. Die Proben wurden anschließend bis zum Versuchstag bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.

### Morphologische Strukturanalyse in situ

Für die morphologische Strukturanalyse in situ wurden die Proben analog zur Strukturanalyse in vitro hergestellt.

Insgesamt wurden 80 Proben hergestellt ( $n = 10$  pro Gruppe, 8 Gruppen).

Die Schmelzproben wurden den acht Versuchsgruppen zufällig zugeteilt. Insgesamt wurden zehn Proben pro Versuchsprodukt verwendet. Die Proben wurden mit der diamantierten Bandsäge in der Mitte getrennt, um eine Versuchsprobe und eine Referenzprobe zu erzeugen. Auf der pulpalen Seite wurden die Proben markiert, damit nach dem Versuchsablauf eine korrekte Zuordnung von Versuchs- und Referenzprobe erfolgen konnte. Anschließend wurde die pulpaferne Seite der Proben mit 35 %iger Phosphorsäure (Chem. 8) für zwei Minuten angeätzt. Die Proben wurden mit Leitungswasser für eine Minute abgespült und dreimal für zwei Minuten mit *Aqua dest.* im Ultraschallbad gereinigt. Die Versuchs- und Referenzproben wurden anschließend bis zum jeweiligen Versuchstag bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.

## 3.7 Versuchsdurchführung

### 3.7.1 Bestimmung des Substanzverlustes

Zur Bestimmung des Substanzverlustes wurden humane Schmelzproben in einem zyklischen Erosions-/Abrasionsmodell (Demineralisationsmodell) behandelt. Anschließend wurde der Substanzverlust gegenüber einer Referenzfläche profilometrisch bestimmt. Die Versuchszeit betrug zehn Werktage. Im Laufe eines Versuchstages wurden die Proben insgesamt sechsmal demineralisiert und zweimal täglich, morgens und abends, mit den Versuchsprodukten behandelt (Abbildung 3.2). Der Versuch fand bei Zimmertemperatur statt.

Bei der morgendlichen und abendlichen Behandlung wurden die Proben zunächst mit Leitungswasser für eine Minute abgespült. Anschließend wurde eine zweiminütige Demineralisation durchgeführt. Hierfür wurden die Proben in Färbetrögen (Mat. 24) mit 200 ml Demineralisationslösung mit einer Frequenz von 35 pro Minute auf einem Schwenktisch (Mat. 25) geschwenkt. Die langen Seiten des Probenhalters befanden sich im 90°-Winkel zur Schwenkbewegung (Abbildung 3.1). Nach der Einwirkzeit wurden die Proben erneut mit Leitungswasser für eine Minute abgespült. Die Probenhalter mit den darauf befindlichen Proben wurden für die Einwirkzeit in getrennte Behälter des Putzsimulators (Mat. 26) mit den verschiedenen Slurries eingebracht. Es wurden Slurries mit Remineralisationslösung verwendet (siehe 3.5 Herstellung der Slurries). Die Einwirkzeit betrug zwei Minuten. Die eine Hälfte der

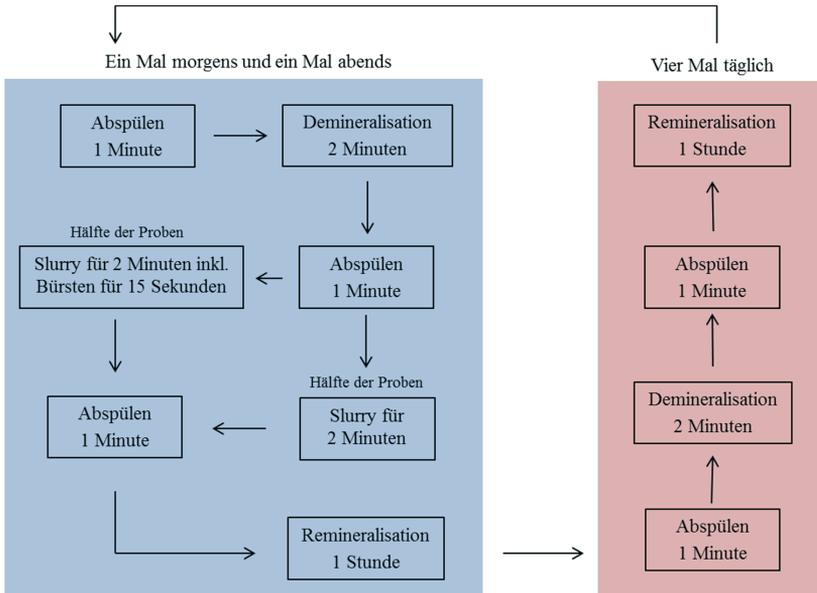
Proben eines Versuchsproduktes wurde innerhalb dieser Zeit zusätzlich für 15 Sekunden gebürstet; die andere Hälfte wurde nicht gebürstet.

Der Putzsimulator ermöglicht das gleichmäßige Putzen von Proben, indem er verschiedene Bürstmuster mit Referenzbürsten (Mat. 27) simuliert. Es wurde ein Zick-Zack-Modus mit 6 mm Fahrweg und einer Geschwindigkeit von 60 mm/s gewählt. Das Auflagegewicht auf jeder Bürste betrug 200 g. Durch eine gemeinsame Steuerelektronik wurden alle Proben simultan gebürstet. Um einen gleichmäßigen Abtrag zu ermöglichen, wurden die Proben beim zweiten Durchgang eines Tages um 180° gedreht. Anschließend wurden sie mit Leitungswasser für eine Minute gespült.

Die Proben der Versuchsgruppen der Mundspüllösungen wurden, nachdem ein Slurry-/Bürst-Prozedere mit der Negativkontrolle durchgeführt wurde, für eine Minute unter Leitungswasser abgespült. Anschließend wurden die Proben für zwei Minuten in Färbetrögen mit 200 ml der Mundspüllösung mit der Frequenz von 35 pro Minute auf dem Schwenktisch geschwenkt. Dem schloss sich ein weiteres einminütiges Abspülen mit Leitungswasser an.

Zwischen dem ersten und zweiten Slurry-/Bürst-Prozedere wurden die Proben viermal für zwei Minuten erodiert. Die Demineralisation erfolgte nach demselben Schema wie morgens und abends, aber ohne Behandlung der Proben mit Slurries bzw. Mundspülösung im Putzsimulator.

In der einstündigen Pause zwischen den Demineralisationszeiten und über Nacht wurden die Proben in Färbetrögen mit 200 ml Remineralisationslösung gelagert. Die Färbetröge wurden in ein Schüttelwasserbad (Mat. 28) mit einer Frequenz von 35 pro Minute und einer Temperatur von 25 °C gestellt. Hierbei befanden sich, wie bei der Demineralisation, die langen Seiten des Probenhalters im 90°-Winkel zur Schwenkbewegung (Abbildung 3.1).



**Abbildung 3.2:** Schematische Darstellung des Versuchsablaufs zu Bestimmung des Substanzverlustes

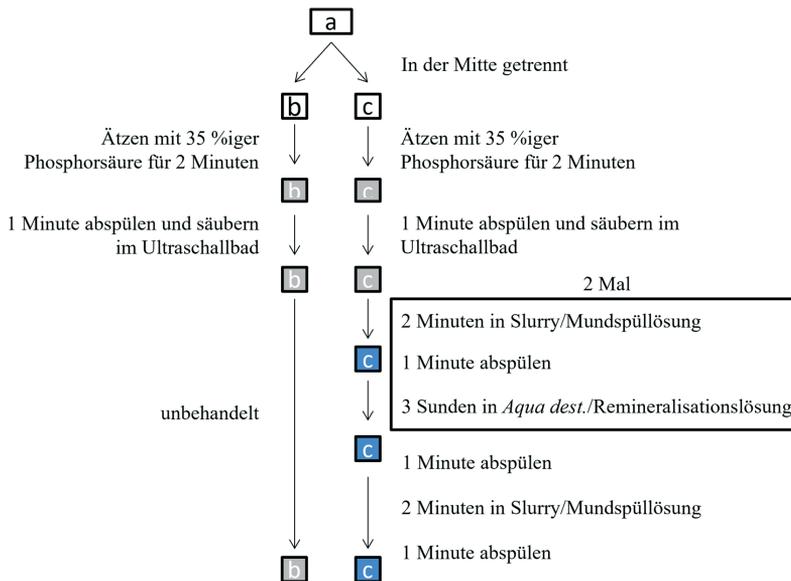
Am Wochenende wurden die Proben bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit in einer luftdichten Multifunktionsbox (Mat. 29) im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.

Nach den 10 Versuchstagen wurde der lichthärtende Einkomponentenkleber von den Versuchsflächen entfernt und die Proben bis zur Auswertung bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.

### 3.7.2 Morphologische Strukturanalyse in vitro

Bei der morphologischen Strukturanalyse in vitro wurden angeätzte humane Schmelzproben im Sinne eines Remineralisationsmodells mit den Versuchsprodukten in vitro behandelt (Abbildung 3.3). Anschließend wurden die Proben unter dem Rasterelektronenmikroskop mit ihren Referenzproben verglichen und auf Präzipitate hin untersucht. Zur weiteren Untersuchung wurden exemplarische Schmelzproben mit Hilfe der energiedispersiven Röntgenspektroskopie analysiert.

Von jeder Zahnpaste wurde ein Slurry mit *Aqua dest.* und ein Slurry mit Remineralisationslösung hergestellt (siehe 3.5 Herstellung der Slurries). Die Mundspüllösungen wurden unverdünnt verwendet. Die Slurries und Mundspüllösungen wurden in die Behälter des Putzsimulators gefüllt. Die Versuchsproben wurden insgesamt dreimal für zwei Minuten in das jeweilige Slurry der Versuchszahnpasten oder in die Mundspüllösungen gegeben. Es wurde keine Putzsimulation durchgeführt. Nach der Einwirkzeit wurden die Proben für eine Minute unter Leitungswasser abgespült. Zwischen den Einwirkzeiten wurden die Proben der verschiedenen Versuchsprodukte, welche mit aus *Aqua dest.* hergestellten Slurries behandelt wurden, in Färbetrögen mit *Aqua dest.* und die Proben, welche mit aus Remineralisationslösung hergestellten Slurries behandelt wurden, in Färbetrögen mit Remineralisationslösung für drei Stunden gelagert. Auch die Proben der Mundspüllösungen wurden zur Hälfte in *Aqua dest.* und zur Hälfte in Remineralisationslösung gelagert. Die Referenzproben blieben unbehandelt und wurden bis zur Auswertung mit dem Rasterelektronenmikroskop bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.



**Abbildung 3.3:** Schematische Darstellung des Versuchsablaufs zur morphologischen Strukturanalyse in vitro; a: Schmelzprobe, b: Referenzprobe, c: Versuchsprobe

Nach dem Versuchsablauf wurden die Versuchs- und Referenzproben bis zur weiteren Untersuchung mit dem Rasterelektronenmikroskop bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.

### **3.7.3 Morphologische Strukturanalyse in situ**

Bei der morphologischen Strukturanalyse in situ wurden angeätzte humane Schmelzproben an intraoralen Probenhaltern im Sinne eines Remineralisationsmodells mit den Versuchsprodukten in situ behandelt. Anschließend wurden die Proben unter dem Rasterelektronenmikroskop mit ihren Referenzproben verglichen und auf Präzipitate hin untersucht. Zur weiteren Untersuchung wurden exemplarische Schmelzproben mit Hilfe der energiedispersiven Röntgenspektroskopie analysiert.

Um den Versuchsablauf zu testen wurde ein Vorversuch durchgeführt. Hierzu wurden zwei Versuchsproben an dem intraoralen Probenhalter mit dem Fixationskleber befestigt. Anschließend wurde der Probenhalter für zweimal 3 Stunden von einem Probanden getragen und jeweils am Ende der Tragedauer für eine Minute unter Leitungswasser abgespült. Während der Tragedauer wurde nur Wasser konsumiert. Die Versuchsproben wurden von dem Probenhalter entfernt und bis zur Auswertung mit dem Rasterelektronenmikroskop bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.

Der Versuch wurde mit fünf Probanden in der Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und präventive Zahnheilkunde an 8 Versuchstagen durchgeführt (Abbildung 3.6).

Vor Beginn des Versuches wurde jede/r Proband/in hinsichtlich folgender Ein- und Ausschlusskriterien untersucht:

Einschlusskriterien:

- 18 - 70 Jahre alt
- Schriftliche Aufklärung und Einverständniserklärung (informed consent) gelesen, verstanden und unterschrieben
- gesundes oder ausreichend wieder hergestelltes Gebiss

Ausschlusskriterien:

- Schwere Allgemeinerkrankungen (Tumore, infektiöse Erkrankungen) und Krankheiten, die eine regelmäßige systemische Einnahme von Medikamenten erfordern, die den Speichelfluss beeinflussen können
- Herausnehmbarer Zahnersatz oder kieferorthopädische Apparaturen
- Deutlich sichtbare Plaque
- Sichtbare kariöse Läsionen
- Anzeichen für eine nichtphysiologische Speicheldrüsenfunktion
- Bekannte Allergien gegen zuvor verwendete Mundhygieneprodukte und/oder orale therapeutische Mittel und/oder Dentalmaterialien, die in der Mundhöhle oder im Rachenraum verwendet werden
- Person mit schwerer oro-pharyngealer Infektion
- Laufende zahnärztliche Behandlung oder jede andere medizinische Behandlung der Mundhöhle
- Person, die nicht bereit ist, nur die vorgesehene Zahnpaste und Zahnbürste (während der Auswaschphasen) zu verwenden

An diesem Untersuchungstermin wurden außerdem Abformungen mit Alginat (Mat. 30) des Ober- und Unterkiefers vorgenommen. Nach Modellherstellung wurde ein intraoraler Probenhalter hergestellt (Abbildung 3.4).

Ein Zahnpflegeprodukt und zwei Versuchsproben kamen pro Versuchstag und pro Proband zur Anwendung. Beide Versuchsproben wurden mit Hilfe des Fixationsklebers vor Beginn eines jeden Versuchstages an den Bukkalflächen des Probenhalters befestigt (Abbildung 3.4). Die Referenzproben blieben unbehandelt und wurden bis zur Auswertung mit dem Rasterelektronenmikroskop bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.



**Abbildung 3.4:** Intraoraler Probenhalter mit integrierten Schmelzproben; links: Ansicht von okklusal, rechts: Ansicht von lateral

Die Versuchsprodukte wurden vor jeder Anwendung vordosiert und den Probanden für jeden Versuchstag verblindet ausgegeben. Dazu wurden 0,5 Gramm der jeweiligen Zahnpaste in unmarkierte Einmalspritzen (Mat. 31) und 10 ml der jeweiligen Mundspüllösung in ebenfalls unmarkierte Szintillationsfläschchen (Mat. 32) gefüllt (Abbildung 3.5).

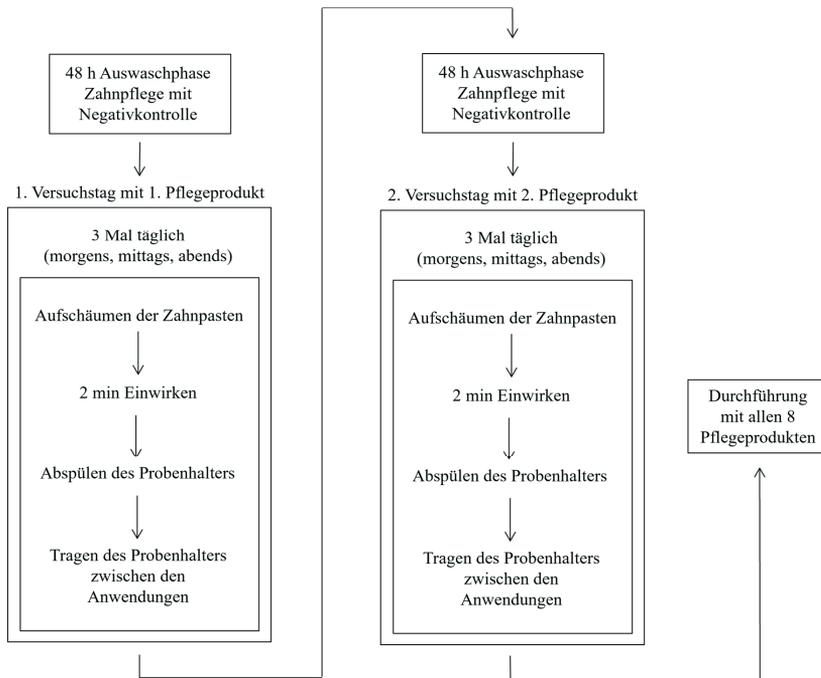


**Abbildung 3.5:** links: 0,5 Gramm Zahnpaste in Einmalspritze; mittig: 10 ml Mundspüllösung in Szintillationsfläschchen; rechts: 0,5 Gramm Zahnpaste auf Bürstenkopf

Vor jedem Versuchstag fand eine 48-stündige Auswaschphase statt. Während dieser Zeit benutzten die Probanden ausschließlich die wirkstofffreie Negativkontrollzahnpaste mit einer unbenutzten Handzahnbürste bzw. mit einem unbenutzten elektrischen Zahnbürstenkopf. Am Morgen eines jeden Versuchstages erhielt jeder Proband die benötigten Materialien: den mit zwei Schmelzproben bestückten intraoralen Probenhalter, die drei vordosierten Portionen eines Versuchsproduktes, eine Stoppuhr (Mat. 33), eine elektrische Zahnbürste (Mat. 34) und einen neuen Zahnbürstenkopf (Mat. 35). Anschließend fand die erste Anwendung mit eingesetztem Probenhalter statt. Die Probanden schäumten die vordosierte Menge der Zahnpaste auf den Okklusalfächen im Unterkiefer für fünf Sekunden pro Quadrant mit der elektrischen Zahnbürste auf und führten während der Wirkdauer von zwei Minuten Umspülbewegungen durch. Danach wurde der Mund für fünf Sekunden mit Leitungswasser ausgespült, der Probenhalter eine Minute unter Leitungswasser abgespült und anschließend wiedereingesetzt. Vor der zweiten Anwendung wurde der Probenhalter für drei Stunden getragen. Während dieser Zeit konsumierten die Probanden nur Wasser. Dem schloss sich die zweite Anwendung analog zur ersten Anwendung an, bevor nach dem erneuten dreistündigen Tragen die dritte Anwendung durchgeführt wurde (Abbildung 3.6). Bei Anwendungen der Mundspüllösungen entfiel das Aufschäumen.

Am Ende eines jeden Versuchstages wurde das ausgegebene Material eingesammelt und auf Vollständigkeit kontrolliert. Die Versuchsproben wurden von den Probenhaltern entfernt und bis zur Auswertung mit dem Rasterelektronenmikroskop bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.

Es erfolgte eine erneute Auswaschphase bevor der nächste Versuchstag mit einem anderen Versuchsprodukt durchgeführt wurde.



**Abbildung 3.6:** Schematische Darstellung des Versuchsablaufs zur morphologischen Strukturanalyse in vitro; bei Mundspüllösungen entfällt das Aufschäumen der Zahnpasten

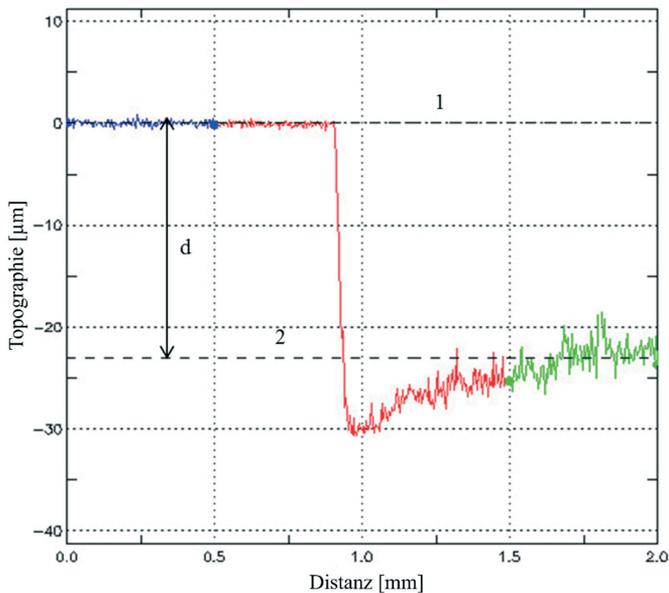
## 3.8 Analyse- und Messmethoden

### 3.8.1 Profilometrie (Bestimmung des Substanzverlustes)

Vor der Bestimmung des Substanzverlustes wurde bei den Proben unter dem Auflichtmikroskop kontrolliert, ob die Kunststoffabdeckungen der Referenzbereiche rückstandslos beseitigt wurden.

Der Substanzverlust wurde mit einem optischen Profilometer (Mat. 36) mit einem hochauflösenden Punktsensor (Mat. 37) quantifiziert. Das Gerät wurde mit einer speziellen, im Gerät integrierten Software (Mat. 38) gesteuert. Im Abstand von 0,2 mm wurden drei parallele Profilschriebe mit einer Länge von 2 mm erstellt (Weißlicht, 200 Bildpunkte, 32 Hz). Die Profilschriebe wurden so vorgenommen, dass sie senkrecht zur Grenze zwischen Versuchs- und

Referenzbereich lagen und sich ungefähr jeweils 1 mm der Strecke auf je einem der beiden Bereiche befand. Die Schriebe wurden mit einer speziellen Software (Mat. 39) ausgewertet und in ein Koordinatensystem übertragen. Für die Bestimmung des Substanzverlustes wurde durch die sich in den endständigen 0,5 mm befindlichen Messpunkte auf dem Referenzbereich eine Ausgleichsgerade gezogen, diese horizontal im Koordinatensystem ausgerichtet und als Nulllinie definiert. Im Versuchsbereich wurde eine entsprechende Ausgleichsgerade durch die sich in den endständigen 0,5 mm befindlichen Messpunkten festgelegt (Abbildung 3.7). Der Substanzverlust entsprach der vertikalen Differenz beider Ausgleichsgeraden.



**Abbildung 3.7:** Profilschrieb einer Probe; 1: Ausgleichsgerade durch die sich in den endständigen 0,5 mm befindlichen Messpunkte im Referenzbereich (blau); 2: Ausgleichsgerade durch die sich in den endständigen 0,5 mm befindlichen Messpunkte im Versuchsbereich (grün); d: Substanzverlust

### **3.8.2 Rasterelektronenmikroskopie (morphologische Strukturanalyse)**

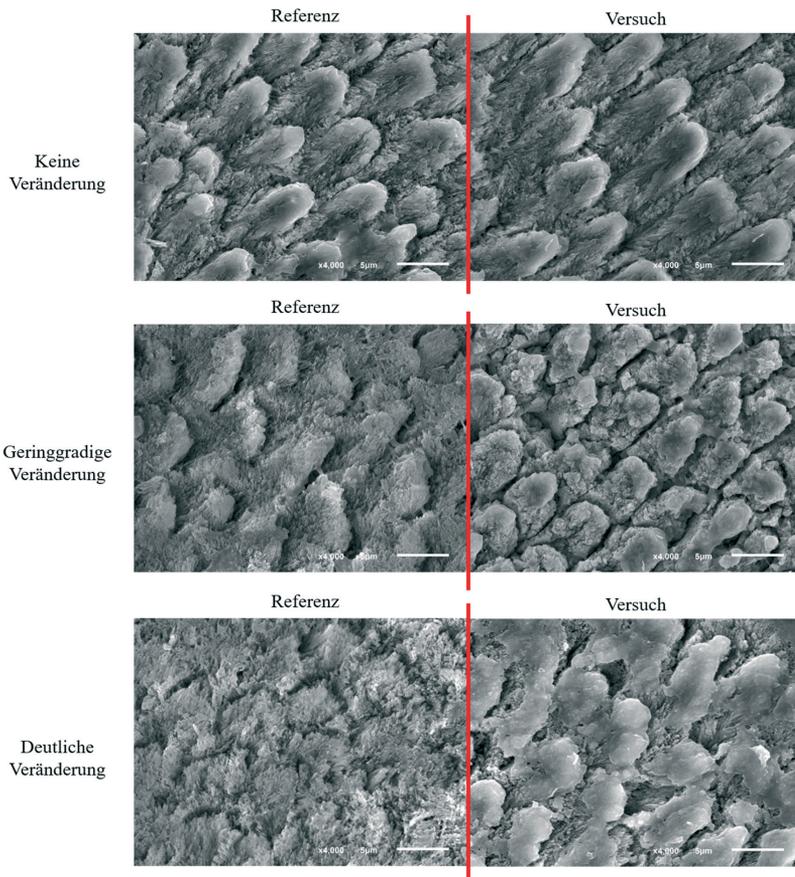
Die Untersuchungen fanden mit einem Rasterelektronenmikroskop (Mat. 40) mit einer einkristallinen Lanthanhexaborid-Kathode (LAB6) (Mat. 41) statt. Das Rasterelektronenmikroskop wurde zur Auswertung der morphologischen Strukturanalyse *in vitro* und *in situ* und zur Analyse der partikulären Phase verwendet.

#### **Morphologische Strukturanalyse der Schmelzproben (*in vitro* und *in situ*)**

Vor der Inspektion der Schmelzproben unter dem Rasterelektronenmikroskop wurden die Proben bei Zimmertemperatur und Umgebungsluft getrocknet. Die jeweils durch die Markierungen auf der Unterseite zueinander gehörenden Proben wurden auf einen Objektträger (Mat. 42) mit Leit Tabs (Mat. 43) befestigt und in ihrer ursprünglichen Lagebeziehung zueinander angeordnet. Die Proben wurden mit Druckluft (Mat. 44) gesäubert und für 90 Sekunden mit Gold gesputtert (Mat. 45). Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden bei 15 kV, einem Arbeitsabstand von 15 mm und einer Spotsize von 50 bei Vergrößerungen von x500, x1500 und x4000 angefertigt.

Zur Auswertung wurden Areale gewählt, die ein möglichst gleichmäßiges Ätzmuster zeigten. Die Versuchsprobe wurde mit der Referenzprobe verglichen und in eine der folgenden drei Kategorien eingeteilt: keine Oberflächenveränderung, geringgradige Oberflächenveränderung und deutliche Oberflächenveränderung (Abbildung 3.8).

Die Auswertung fand einfach verblindet statt. Die Proben wurden von einer Person auf den Objektträgern befestigt und codiert. Eine andere Person führte die Inspektion der Proben und die Einteilung in eine der drei Kategorien durch.



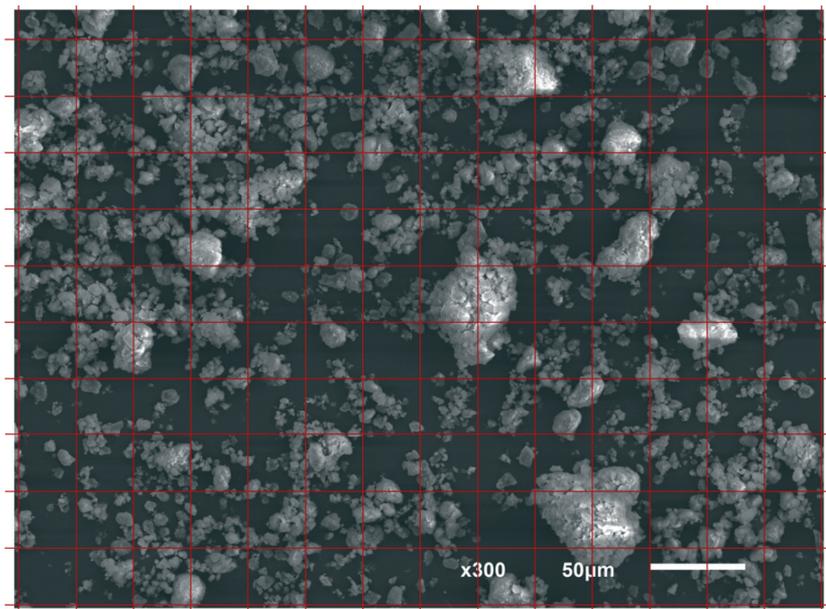
**Abbildung 3.8:** Beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der drei Kategorien und die zugehörigen Referenzproben; oberes Bild: keine Oberflächenveränderung, auf Referenz- und Versuchsprobe sind Prismen- und Kristallstruktur zu erkennen; mittleres Bild: geringgradige Oberflächenveränderung, auf Versuchsprobe sind Prismenköpfe bedeckt, Kristallstruktur ist zu erkennen; unteres Bild: deutliche Oberflächenveränderung, Prismen- und Kristallstruktur sind deutlich bedeckt aber erkennbar

### Analyse der partikulären Phase

Für die Inspektion der Partikel wurden Slurries aus Zahnpaste mit *Aqua dest.* verwendet (siehe 3.5 Herstellung der Slurries). 45 ml wurden in einem Zentrifugenröhrchen (Mat. 46) bei 15 °C mit 10.000 Umdrehungen pro Minute für zehn Minuten in einer Laborzentrifuge (Mat. 47) zentrifugiert. Der wässrige Überstand wurde verworfen und das Sediment für vier Tage bei 40 °C in einem Wärmeschrank (Mat. 48) getrocknet. Anschließend wurde das getrocknete

Sediment mit einer Zahnbürste (Mat. 49) in einem Mörser (Mat. 50) zerkleinert, um die einzelnen Partikel voneinander zu lösen. Die Leit Tabs wurden auf die Objektträger geklebt und die Partikel durch druckloses Eintauchen der Objektträger in den Mörser aufgenommen. Pro Produkt wurden zwei Objektträger mit Partikeln beschichtet. Anschließend wurden die Proben mit einem Sputtergerät für 90 Sekunden mit Gold beschichtet. Die rasterelektronischen Aufnahmen wurden bei 15 kV, einem Arbeitsabstand von 15 mm und einer Spotsize von 50 bei einer Vergrößerung von x300 angefertigt.

Zur Auswertung wurde von jedem Objektträger eine Aufnahme angefertigt. Diese sollte eine homogene, einschichtige Bedeckung mit verschiedenen Partikelgrößen zeigen. Über diese Aufnahmen wurden nacheinander Raster mit den Abständen 10, 20, 30, 40, und 50  $\mu\text{m}$  gelegt (Abbildung 3.9), um anhand einer Ja/Nein-Aussage das Vorliegen von Partikeln verschiedener Größen zu bestimmen. Neben der Größe wurden auch die Form und Oberflächenbeschaffenheit der Partikel untersucht.



**Abbildung 3.9:** Beispiel für Auswertung einer rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme, die zur Ja/Nein-Aussage mit einem 30  $\mu\text{m}$  Raster (rot) überlagert ist

### 3.8.3 Bestimmung des Partikelgehaltes

Zur Bestimmung des Partikelgehaltes wurden Slurries aus Zahnpaste mit *Aqua dest.* verwendet (siehe 3.5 Herstellung der Slurries). 45 g wurden in einem Zentrifugenröhrchen bei 15 °C mit 10.000 Umdrehungen pro Minute für zehn Minuten zentrifugiert. Der wässrige Überstand wurde verworfen und das Sediment für 4 Tage bei 40 °C in einem Wärmeschrank getrocknet. Nach dem Trocknen wurde erneut das Gewicht bestimmt. Der prozentuale Partikelgehalt der Zahnpasten wurde unter Berücksichtigung der vierfachen Verdünnung bei der Herstellung der Slurries mit der folgenden Formel berechnet:

$$\text{Partikelgehalt} = \frac{\text{Gewicht (Sediment+Zentrifugenröhrchen)} - \text{Gewicht (Zentrifugenröhrchen)}}{\frac{\text{Gewicht (Slurryeinwaage)}}{4}} * 100 \%$$

### 3.8.4 Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)

EDX wurde zur Analyse der Oberflächenzusammensetzung der Partikel und zur Analyse der Oberflächenveränderungen von exemplarischen Schmelzproben der morphologischen Strukturanalysen eingesetzt.

Zur EDX-Analyse wurde das Rasterelektronenmikroskop verwendet, das zusätzlich mit einem Silicon-Drift-Droplet-Detector (Mat. 51) ausgestattet war. Die Analyse erfolgte bei 15 kV, einem Arbeitsabstand von 15 mm und einer Spotsize von 50 bei einer Vergrößerung von x2000. Die Messdauer betrug 120 Sekunden mit einer Totzeit von 1 % und einer Zählrate von 0,8 bis 1,5 kcps. Die folgenden Elemente wurden quantifiziert: Kohlenstoff, Sauerstoff, Natrium, Aluminium, Silizium, Phosphor, Chlor, Kalium, Kalzium, Titan und Zinn. Da die Proben vor der Untersuchung mit Gold gesputtert wurden, wurde Gold nicht quantifiziert. Die Ergebnisse wurden durch eine Analyse-Software (Mat. 52) in normierten Gewichtsprozent (Gew.%) angegeben.

#### Partikel

Es wurden dieselben Objektträger untersucht, die bei der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung der Partikel (siehe 0

Rasterelektronenmikroskopie (morphologische Strukturanalyse)) verwendet wurden. Es wurden pro Produkt zehn Partikel verschiedener Größe und Oberflächenbeschaffenheit untersucht. Die zehn Werte wurden anschließend gemittelt.

Da bei der Analyse von drei der vier hydroxylapatithaltigen Zahnpasten hohe Kalzium- und Phosphatwerte auf den Partikeln vorhanden waren, wurden die Partikel aller Zahnpasten mit Salzsäure gewaschen. Hierfür wurden 2 g der Partikel in einem Zentrifugenröhrchen mit 20 ml 0,5 M Salzsäure (HCl) versetzt, die durch das Mischen von 250 ml 1 M HCl (Chem. 9) und 250 ml *Aqua dest.* hergestellt wurde. Anschließend wurde das Slurry-Säure-Gemisch zentrifugiert. Der wässrige Überstand wurde verworfen und das übrige Sediment durch eine alternierende Waschung mit 20 ml *Aqua dest.* erneut gewaschen und zentrifugiert. Auch hiernach wurde der wässrige Überstand verworfen. Dieser Ablauf wurde noch zweimal wiederholt und nach dem dritten Durchlauf wurden die Röhrchen mit dem Sediment für vier Tage bei 40 °C in dem Wärmeschrank getrocknet. Anschließend wurden die gewaschenen Partikel wie oben beschrieben mit Hilfe der EDX untersucht.

### **Morphologische Strukturanalysen**

Um die Veränderungen der morphologischen Strukturanalysen genauer zu charakterisieren, wurden exemplarische Proben auf ihre Elementzusammensetzung untersucht. Es wurde eine Schmelzprobe mit abgerundeten Prismen, eine mit spongiöser Oberflächenstruktur, eine mit muköser Bedeckung und eine Schmelzprobe, die mit einem zinnhaltigen Produkt behandelt wurde, untersucht. Zusätzlich wurden eine Referenzprobe und eine Probe des Vorversuches (siehe 3.7.3 Morphologische Strukturanalyse in situ), die ebenfalls eine muköse Bedeckung zeigte, analysiert. Es wurden drei Messungen pro Versuchsprobe durchgeführt. Anschließend wurden die drei Messwerte gemittelt.

### **3.8.5 Bestimmung der pH-Werte**

Die pH-Werte wurden parallel zur Bestimmung des Substanzverlustes erfasst.

An jedem Versuchstag wurde direkt nach der Herstellung der Slurries deren pH-Wert und auch der pH-Wert der Mundspüllösungen mit Hilfe der pH-Elektrode gemessen. Hierzu wurde die pH-Elektrode mit pH-Standards (Mat. 53) kalibriert, mit *Aqua dest.* abgespült und mit einem Papierhandtuch (Mat. 54) abgetrocknet. Anschließend wurde die Elektrode in

den jeweiligen Behälter mit dem Slurry bzw. der Mundspüllösung eingetaucht und so lange mit dem Magnetrührer gerührt, bis das pH-Meter einen konstanten Wert anzeigte. Nach jedem Messvorgang wurde die Elektrode erneut mit *Aqua dest.* und Papierhandtüchern gereinigt und abgetrocknet.

So ergaben sich 10 Messwerte pro Produkt, aus denen der Mittelwert gebildet wurde.

Die pH-Werte der täglich neu angesetzten Zitronensäure und Remineralisationslösung wurden nach demselben Verfahren ermittelt.

### **3.8.6 Bestimmung des Fluoridgehaltes**

Der Fluoridgehalt wurde mit Hilfe einer Fluoridelektrode (Mat. 55 + Mat. 56) bestimmt. Die Elektrode wurde mit 3 Referenzfluoridkonzentrationen kalibriert. Es wurden entsprechend des zu erwartenden Konzentrationsbereichs Kalibrierlösungen von 10 ppm, 199 ppm und 1990 ppm gewählt. Als erste Kalibrierung wurde eine Standardlösung mit der Konzentration 10 ppm (Mat. 57) verwendet. Die zweite Lösung von 199 ppm wurde durch die Verdünnung einer Standardlösung der Konzentration 1990 ppm (Mat. 58) mit *Aqua dest.* hergestellt. Als dritte Kalibrierung wurde die Standardlösung mit 1990 ppm unverdünnt verwendet.

Für die Konzentrationsbestimmung wurden Slurries mit Remineralisationslösung verwendet (siehe 3.5 Herstellung der Slurries). Die Mundspüllösungen wurden nicht verdünnt. Es wurde jeweils 1 ml der Versuchslösung und 1 ml TISAB II (Mat. 59) mit einer Transferpette (Mat. 60 + Mat. 61) in ein Polystyrolröhrchen (Mat. 62) gegeben und anschließend die Messung durchgeführt. Für jedes Versuchsprodukt wurden 3 Messungen vorgenommen und anschließend der Mittelwert gebildet. Um die Fluoridkonzentration der Slurries und Mundspüllösungen zu ermitteln, wurde der Wert von der vorherigen Verdünnung mit TISAB II zurückgerechnet.

### 3.8.7 Bestimmung der Konzentration an Kalziumionen

Die Bestimmung der Konzentration an Kalziumionen wurde in Kooperation mit der Fakultät Bio- und Chemieingenieurwesen an der Technischen Universität Dortmund (Andreas Stadler; Lehrstuhl für Technische Chemie, Emil-Figge-Straße 66, 44227 Dortmund, Deutschland) durchgeführt.

Die Messungen fanden mit Hilfe der optischen Emissionsspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICPOES) statt. Hierbei werden die Proben durch Argon-Plasma zur optischen Emission angeregt. Die optische Emission ist für jedes Element spezifisch, wodurch die jeweilige Konzentration quantifiziert werden kann.

Das Analysegerät (Mat. 63) wurde mit Standardlösungen (Mat. 64) auf folgende Konzentrationen kalibriert: 0 ppm; 0,1 ppm; 0,5 ppm; 1,0 ppm; 2,0 ppm; 5,0 ppm. Zur Analyse wurden Slurries mit *Aqua dest.* verwendet (siehe 3.5 Herstellung der Slurries). Die Mundspüllösungen wurden nicht verdünnt. Die Proben wurden bei 15 °C mit 10.000 Umdrehungen pro Minute für zehn Minuten in der Laborzentrifuge zentrifugiert und das Sediment verworfen. Da einige der Lösungen nach dem Zentrifugieren noch eine Trübung aufwiesen, wurden alle Proben noch zusätzlich bereinigt. Hierfür wurden 0,2 g der Lösungen mit 8 ml 65 %iger Salpetersäure vermengt und bei 210 °C für 30 Minuten in eine Druckmikrowelle gegeben. Nach dem Bereinigen wurden die Proben erneut mit 3 ml *Aqua dest.* verdünnt. Da Prokudent und Zahnmilch weit außerhalb des Messbereiches lagen, wurden diese Proben erneut verdünnt. Von jeder Probe wurden zwei Messungen bei verschiedenen Wellenlängen (315,887 nm und 317,933 nm) durchgeführt. Aus den vier Werten wurde der Mittelwert gebildet und die jeweiligen Verdünnungen aus den Messwerten herausgerechnet.

### 3.8.8 Bestimmung der RDA- und REA-Werte

Der Versuchsablauf zur Messung der RDA- und REA-Werte (radioactive dentin abrasion, radioactive enamel abrasion) wurde durch das Oral Health Research Institute der Indiana University School of Dentistry (Prof. Dr. Anderson Hara; 415 Lasing Street, Indianapolis, IN 46202-2876, USA) durchgeführt, lediglich die Versuchsprodukte wurden zur Verfügung gestellt.

Für die Bestimmung wurde ein Verfahren nach der ISO-Norm 11609:2017: Dentistry – Dentifrices – Requirements, test methods and marking angewendet, welches auf der Methode von Hefferen beruht.

Humane Schmelz- und Dentinproben wurden mit Neutronen bestrahlt, wodurch sich das radioaktive Phosphorisotop  $^{32}\text{P}$  in den Proben bildete. Anschließend wurden die Proben so in Methacrylat eingebettet, dass sie in den Bürstsimulator eingebracht werden konnten. Die Untersuchung der Proben wurde innerhalb der zweiten Halbwertszeit der Phosphorisotope durchgeführt. Vor und nach dem Bürsten mit der Versuchszahnpaste wurden die Dentin- (RDA) und Schmelzproben (REA) mit einer Referenzsuspension gebürstet, welche aus einer Mischung aus 10 g Standardabrasionsmaterial aus Kalziumphosphat und 50 ml wässriger Lösung mit 0,5 % Corboxymethylcellulose und 10 % Glycerin bestand. Für die Versuchssuspension wurden 25 g der jeweiligen Versuchszahnpaste mit 40 ml *Aqua dest.* gemischt. Die Schmelzproben wurden 5.000-mal und die Dentinproben 1.500-mal mit einer Standardzahnbürste mit einem Anpressdruck von 150 g in einem standardisierten Putzvorgang gebürstet. Hierbei wurde jede Probe nacheinander mit jeder Zahnpaste gebürstet. Nach jedem Putzvorgang wurde 1 ml der Suspension entnommen, gewogen und mit 5 ml Szintillationscocktail vermischt. Diese Lösungen wurden auf einen Flüssigkeits-Szintillationszähler gestellt und für fünf Minuten gemessen. Ermittelt wurden die Zählereignisse pro Minute (cpm), aus welchen die Netto-CPM für ein Gramm Suspension errechnet wurden. Die Referenzwerte vor und nach dem Versuchsdurchlauf wurden gemittelt und ergaben den Netto-CPM je Gramm der Referenzsuspension. Für das Referenzschleifmittel wurde für Dentin ein Abrasionswert von 100 und für Schmelz einer von 10 festgelegt. Die RDA- und REA-Werte wurden nach den folgenden Formeln berechnet:

$$\text{RDA} = 100 * \frac{\text{Netto} - \text{CPM}_{\text{Versuchszahnpaste}}}{\text{Netto} - \text{CPM}_{\text{Referenzsuspension}}}$$

$$\text{REA} = 10 * \frac{\text{Netto} - \text{CPM}_{\text{Versuchszahnpaste}}}{\text{Netto} - \text{CPM}_{\text{Referenzsuspension}}}$$

### **3.9 Statistik**

Die statistische Auswertung erfolgte mit der SPSS Statistics Software für Windows (Mat. 65). Die Signifikanzgrenze wurde auf  $p \leq 0,05$  festgelegt.

Für die Substanzverluste wurde zunächst hinreichende Normalverteilung festgestellt (Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest). Die Werte werden als arithmetische Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben und sind grafisch als Box-Whisker-Plots dargestellt, sodass zusätzlich die Mediane sowie die oberen und unteren Quartile und die Maximal- und Minimalwerte abgelesen werden können.

Die Substanzverluste in den verschiedenen Versuchsgruppen wurden mit der einfaktoriellen Varianzanalyse verglichen. Die Homogenität der Varianzen wurde mit dem Levene-Test untersucht; da keine Varianzhomogenität gegeben war, wurde der Tamhane Post-Hoc-Test angewendet. Der Vergleich der zwei Behandlungsarten (alleinige Anwendung der Slurries gegenüber zusätzlicher Bürstabrasion) wurde mit dem t-Test für unabhängige Stichproben vorgenommen.

Zur statistischen Betrachtung der Ergebnisse der morphologischen Untersuchung wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet.

Alle anderen untersuchten Parameter sind deskriptiv dargestellt.

### **3.10 Ethikvotum**

Die Verwendung von humanen Zahnpräparaten wurde von der Ethik-Kommission des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen genehmigt (AZ 143/09).

Das Studienprotokoll der morphologischen Strukturanalyse in situ wurde von der Ethik-Kommission des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen genehmigt (AZ 169/19).

### 3.11 Inhaltsstoffe der Produkte (wie deklariert)

**Tabelle 3.5:** Inhaltsstoffe der Versuchsprodukte wie von den Herstellern deklariert

<b>Produktname</b>	<b>Inhaltsstoffe</b>
Biorepair® Zahncreme (Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG)	Wasser, Zinkhydroxylapatit, hydrierte Silica, Glycerin, Sorbit, Silica, Aroma, Carboxymethylcellulose, Natriummyristoylsarcosinat, Natriummethylcocoyltaurat, Tetrakaliumpyrophosphat, Zink PCA, Natriumsaccharin, Phenoxyethanol, Benzylalkohol, Propylparaben, Methylparaben, Citronensäure, Natriumbenzoat
KAREX® Zahnpasta (Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG)	Wasser, Glycerin, hydriertes Stärkehydrolysat, Hydroxylapatit, Xylit, hydrierte Silica, Tetrakaliumpyrophosphat, Silica, Aroma, Carboxymethylcellulose, Natriummethylcocoyltaurat, Phosphorsäure, Natriumcocoylglycinat, Zinkchlorid, Cetylpyridiniumchlorid
Apacare®- Remineralisierende Zahncreme (Cumdente GmbH)	Wasser, Sorbit, hydrierte Silica, Propylenglycol, Glycerin, Natrium-C14-16-Olefinsulfonat, Hydroxylapatit, Aroma, Carboxymethyl-cellulose, Natriumfluorid (1450 ppm F <sup>-</sup> ), Allantoin, Natriumsaccharin, Tetrakaliumpyrophosphat, Limonen, CI 77891 (Titanoxid)
Prokudent® Actischmelz Zahncreme (Dirk Rossmann GmbH)	Wasser, Hydroxylapatit, Sorbit, hydrierte Silica, Propylenglycol, Tetrakaliumpyrophosphat, Natrium-C14-16-Olefinsulfonat, Aroma, Carboxymethylcellulose, Dinatriumpyrophosphat, Natriumfluoride (1490 ppm F <sup>-</sup> ), Natriumcocoylisethionat, Natriumsaccharin, CI 77891 (Titanoxid)
Biorepair® Zahnmilch (Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG)	Wasser, Sorbitol, Xylitol, Zinkhydroxylapatit, Carboxymethylcellulose, Zink-PCA, Aroma, PEG-40-hydriertes Rizinusöl, Natriumlaurylsulfat, Natriummyristoylsarcosinat, Natriummethylcocoyltaurat, Lactoferrin, Natriumhyaluronat, Natriumsaccharin, Natriumbenzoat, Phenoxyethanol, Limonen, Benzylalkohol

**Tabelle 3.5:** Fortsetzung

Biorepair® Zahnmilch (Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG)	Wasser, Sorbitol, Xylitol, Zinkhydroxylapatit, Carboxymethylcellulose, Zink-PCA, Aroma, PEG-40-hydriertes Rizinusöl, Natriumlaurylsulfat, Natriummyristoylsarcosinat Natriummethylcocoyltaurat, Lactoferrin, Natriumhyaluronat, Natriumsaccharin, Natriumbenzoat, Phenoxyethanol, Limonen, Benzylalkohol
Nenedent® Kinderzahncreme ohne Fluorid (Lenk & Schuppan KG)	Wasser, hydrierte Silica, Glycerin, Xylit, Propylenglycol, Xanthan-Gummi, Aroma, Natriumlauroylsarcosinat, Dinatrium-EDTA, Natriumchloride, CI 77891 (Titanoxid)
Emofluor® Zahnpaste (Dr. Wild & Co. AG)	Glyzerin, Silica, Wasser, Propylenglykol, PEG-40-hydriertes Rizinusöl, Cocamidopropylbetain, PEG-8, Hydroxyethylcellulose, Aroma, Natriumchlorid, Phosphocolamin, CI 77891 (Titandioxid), Natriumsaccharin, Zinnfluorid (1000 ppm F <sup>-</sup> ), Limonen
Elmex® Zahnschmelzschutz Professional Zahnpflege (Colgate-Palmolive GABA GmbH)	Wasser, Glycerin, Natriumgluconate, PEG-40-hydriertes Rizinusöl, Olafur, Aroma, Zinnchloride, Natriumfluorid (500 ppm F <sup>-</sup> ), Cocamidopropylbetain, Natriumsaccharin, Salzsäure

## 3.12 Material- und Chemikalienverzeichnis

### 3.12.1 Materialien

Mat. 1	Biorepair Zahncreme, Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG, Bielefeld, (D)
Mat. 2	KAREX Zahnpasta, Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG, Bielefeld, (D)
Mat. 3	Apacare-Remineralisierende Zahncreme, Cumdente GmbH, Tübingen, (D)
Mat. 4	Prokudent Actischmelz Zahncreme, Dirk Rossmann GmbH, Burgwedel, (D)
Mat. 5	Biorepair Zahnmilch, Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. KG, Bielefeld, (D)
Mat. 6	Nenedent Kinderzahncreme ohne Fluorid, Lenk & Schuppan KG, Berlin, (D)
Mat. 7	Emofluor Zahnpaste, Dr. Wild & Co. AG, Muttenz, (CH)
Mat. 8	Elmex Zahnschmelzschutz Professional Zahnpflege, Colgate-Palmolive GABA GmbH, Hamburg, (D)
Mat. 9	Präzisionswaage Mettler Typ PJ3000, Mettler-Toledo GmbH, Gießen, (D)
Mat. 10	pH-Meter 761 Calimatic, Knick Elektronische Messgeräte GmbH + Co. KG, Berlin, (D)
Mat. 11	Mikroelektrode BlueLine 16 pH, Xylem Analytics Germany GmbH, Weilheim, (D)
Mat. 12	Magnetrührgerät IKA RCT Classic, IKA-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, (D)
Mat. 13	Griffinbecher 150 ml, VITLAB GmbH, Großostheim, (D)
Mat. 14	Exact Trennschleifsystem, Exact Apparatebau, Norderstedt, (D)
Mat. 15	Exact Mikroschleifsystem, Exact Apparatebau, Norderstedt, (D)
Mat. 16	Silizium-Karbid-Schleifpapier, Leco Corporation, St. Joseph, MI, (USA)
Mat. 17	Apex Diamond Grinding Disc 3 micron, Buehler, Lake Bluff, IL, (USA)
Mat. 18	Ultraschallbad Sonorex RK 52 H, Bandelin electronic GmbH + Co. KG, Berlin, (D)
Mat. 19	Fixationskleber Technovit 7230 VLC, Kulzer-Exact, Wehrheim, (D)
Mat. 20	Auflichtmikroskop Nikon SMZ-2T, Vergrößerung x10, Nikon, Tokyo, (J)
Mat. 21	Intralux5000, Volpi AG, Schlieren, (CH)
Mat. 22	Scaler Aesculap DB432, Aesculap AG, Tuttlingen, (D)
Mat. 23	Kühlschrank, No. S60170TK38, Electrolux Hausgeräte GmbH, Markenvertrieb AEG, Nürnberg, (D)
Mat. 24	Färbekasten, Schott AG, Mainz, (D)

Mat. 25	Schüttelapparat 3006, Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, (D)
Mat. 26	Zahnbürstsimulator ZM-3, SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen-Westerham, (D)
Mat. 27	ADA Referenz-Handzahnbürste, American Dental Association, Chicago, IL, (USA)
Mat. 28	Schüttelwasserbad 1086, Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, (D)
Mat. 29	Multifunktionsbox HPL805, LOCK & LOCK GmbH, Frankfurt am Main, (D)
Mat. 30	3M Palgat Plus Alginate Abformmaterial, 3M Deutschland GmbH, Neuss, (D)
Mat. 31	Einmalspritze Omnifix Luer Lock Solo 3 ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, (D)
Mat. 32	Szintillationsfläschchen 20ml, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, (D)
Mat. 33	Timer, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, (D)
Mat. 34	Oral-B Professional Care 3000, Procter & Gamble Germany GmbH & Co Operations oHG, Schwalbach am Taunus, (D)
Mat. 35	Oral-B Precision Clean, Procter & Gamble Germany GmbH & Co Operations oHG, Schwalbach am Taunus, (D)
Mat. 36	Optisches Profilometer MicroProf 100, Fries Research & Technology GmbH, Bergisch-Gladbach, (D)
Mat. 37	Hochauflösender optischer Sensor CWL, Fries Research & Technology GmbH, Bergisch-Gladbach, (D)
Mat. 38	Acquire, Fries Research & Technology GmbH, Bergisch-Gladbach, (D)
Mat. 39	Mark III, Fries Research & Technology GmbH Bergisch-Gladbach, (D)
Mat. 40	JSM-6510 Series Scanning Electron Microscope, Jeol GmbH, Freising, (D)
Mat. 41	Lanthanhexaborid-Kathode – LAB6, Jeol Germany GmbH, Eching, (D)
Mat. 42	Stiftprobenteller 12,5 mm G301, Plano GmbH, Wetzlar, (D)
Mat. 43	Leit-Tabs 12 mm G3347, Plano GmbH, Wetzlar, (D)
Mat. 44	Dust Off Plus 360° Vector Valve, Falcon Safety Products UK Limited, Stafford, (GB)
Mat. 45	JFC 1200 Fine Coater, Jeol Germany GmbH, Flieden, (D)
Mat. 46	Falcon, 50 ml Konisches Röhrchen, Polypropylen, Becton Dickinson Labware Europe, Le Pont De Claix, (F)

Mat. 47	Zentrifuge Sigma 3K30, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, (D)
Mat. 48	Heraeus Trockenschrank Modell FTB 420, Heraeus Holding GmbH, Hanau, (D)
Mat. 49	Einmalzahnbürste Happy Morning, Hager & Werken GmbH & Co. KG, Duisburg, (D)
Mat. 50	Porzellanmörser 55, Morgan Technical Ceramics GmbH & Co, Ahrweiler, (D)
Mat. 51	XFlash Detector 410-M mit Silicon-Drift-Droplet-Detector, Bruker AXS Microanalysis GmbH, Berlin, (D)
Mat. 52	Quantax-Mikroanalyse-System, Version 1,9, Bruker AXS GmbH, Berlin, (D)
Mat. 53	pH-Standards Bottle Rainbow Kit 1, Mettler-Toledo GmbH, Gießen, (D)
Mat. 54	Hand towel zigzag fold / 24.8 cm / natural, Essity AB, Stockholm, (S)
Mat. 55	Thermo Scientific Orion Fluoridelektrode 9609BNWP, Thermo Fischer Scientific, Chelmsford, MA, (USA)
Mat. 56	Elektrodenfülllösung 900061, Thermo Fischer Scientific, Chelmsford, MA, (USA)
Mat. 57	Fluoridkalibrierungsstandard 040908, Thermo Fischer Scientific, Chelmsford, MA, (USA)
Mat. 58	Fluoridkalibrierungsstandard 940906, Thermo Fischer Scientific, Chelmsford, MA, (USA)
Mat. 59	TISAB II 940909, Thermo Fischer Scientific, Chelmsford, MA, (USA)
Mat. 60	Transferpette S 100-1000 µl, BRAND GmbH + Co. KG, Wertheim, (D)
Mat. 61	Pipettenspitze 1000 µl, 70.762, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, (D)
Mat. 62	Polystyrolröhrchen, 55.468, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, (D)
Mat. 63	Plasmaquant PQ 9000 Elite, Analytik Jena AG, Jena, (D)
Mat. 64	ICP multi-element standard solution IV, MerckKGaA, Darmstadt, (D)
Mat. 65	SPSS-Statistik-Software, Version 21, IBM Deutschland GmbH, Ehningen, (D)

### 3.12.2 Chemikalien

Chem. 1	Zitronensäure-Monohydrat, Art.-Nr. 3958, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, (D)
Chem. 2	Ortho-Phosphorsäure, Merck KGaA, Darmstadt, (D)
Chem. 3	Kaliumchlorid, Merck KGaA, Darmstadt, (D)
Chem. 4	Natriumhydrogencarbonat, Merck KGaA, Darmstadt, (D)
Chem. 5	Kalziumchlorid wasserfrei, Art.-Nr. 2388, Merck KGaA, Darmstadt, (D)
Chem. 6	Thymol, Siegma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, (D)
Chem. 7	Ethanol 96 %, Otto Fischer GmbH + Co. KG, Saarbrücken, (D)
Chem. 8	iBond Etch 35 Gel, Kulzer GmbH, Hanau, (D)
Chem. 9	Salzsäure, Art.-Nr. 1789, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, (D)

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Substanzverluste

Die profilometrische Auswertung der Substanzverluste ist in Tabelle 4.1 und in Abbildung 4.1 zusammengefasst, die entsprechenden Signifikanzen sind in Tabelle 4.2 und Tabelle 4.3 aufgeführt.

Es konnten alle Proben ausgewertet und für die beiden unterschiedlichen Behandlungsweisen folgende Werte ermittelt werden.

**Tabelle 4.1:** Substanzverluste der verschiedenen Produkte unter den beiden unterschiedlichen Behandlungsweisen in  $\mu\text{m}$

	Behandlungsweise	
	Slurry	Slurry + Bürsten
<b>Biorepair</b>	7,0 $\pm$ 1,9	15,3 $\pm$ 3,4
<b>Karex</b>	11,7 $\pm$ 3,1	20,6 $\pm$ 3,2
<b>Apacare</b>	6,6 $\pm$ 1,4	10,4 $\pm$ 2,9
<b>Prokudent</b>	13,0 $\pm$ 2,2	16,8 $\pm$ 2,6
<b>Neg.-Paste + Zahnmilch</b>	6,0 $\pm$ 1,2	10,6 $\pm$ 3,9
<b>Neg.-Paste</b>	7,8 $\pm$ 2,1	11,4 $\pm$ 2,9
<b>Pos.-Paste</b>	4,1 $\pm$ 1,2	9,5 $\pm$ 3,0
<b>Neg.-Paste + Pos.-Lösung</b>	1,3 $\pm$ 0,5	1,3 $\pm$ 0,5

#### Vergleich der Behandlungen mit Slurry

Bei der Behandlung mit der Negativkontrollzahnpaste ergab sich ein Substanzverlust von 7,8  $\mu\text{m}$ . Die Positivkontrollzahnpaste und die Negativkontrollzahnpaste + Positivkontrollmundspüllösung reduzierten den Substanzverlust signifikant um 47 % und 83 %. Bei der alleinigen Slurrybehandlung mit Karex und Prokudent ergab sich im Vergleich zur Negativkontrollzahnpaste ein um 50 % und 67 % signifikant höherer Substanzverlust. Bei der Behandlung mit Biorepair, Apacare und Negativkontrollzahnpaste + Zahnmilch zeigten sich mit Reduktionen von 11 % bis 23 % keine signifikanten Unterschiede zur Negativkontrollzahnpaste.

**Tabelle 4.2:** Signifikanzen der Substanzverluste der Versuchsgruppen mit Slurry-Behandlung; n.s.: nicht signifikant

	Karex	Apacare	Prokudent	Neg.-Paste + Zahnmilch	Neg.-Paste	Pos.-Paste	Neg.-Paste + Pos.-Lösung
Biorepair	≤ 0,001	n.s.	≤ 0,001	n.s.	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
Karex		≤ 0,001	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001
Apacare			≤ 0,001	n.s.	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
Prokudent				≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001
Neg.-Paste + Zahnmilch					n.s.	≤ 0,01	≤ 0,001
Neg.-Paste						≤ 0,001	≤ 0,001
Pos.-Paste							≤ 0,001

### Vergleich der Behandlungen mit Slurry + Bürsten

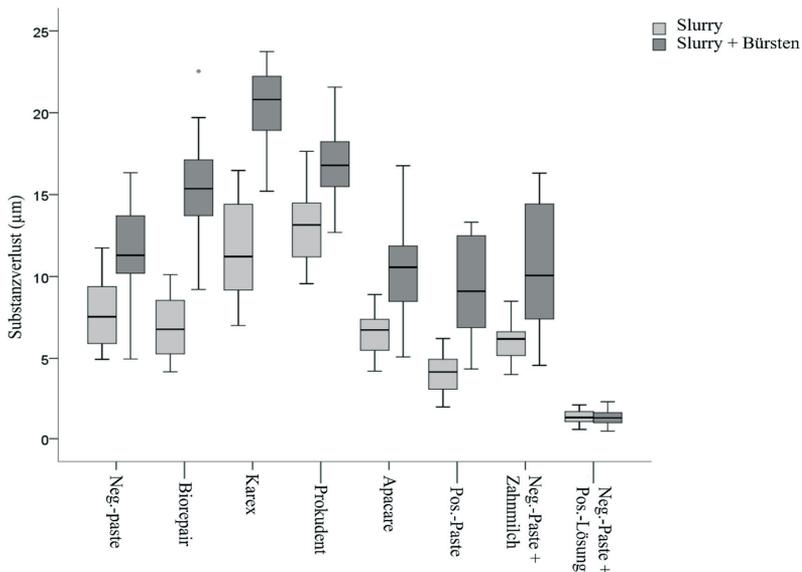
Die Behandlung mit der Negativkontrollzahnpaste ergab einen Substanzverlust von 11,4 µm. Die Positivkontrollzahnpaste reduzierte den Substanzverlust nicht signifikant um 17 %, während Negativkontrollzahnpaste + Positivkontrollmundspüllösung den Substanzverlust signifikant um 88 % reduzierte. Im Vergleich zur Negativkontrollzahnpaste nahm der Substanzverlust bei der Anwendung der Slurries mit zusätzlicher Bürstabrasion von Biorepair, Prokudent und Karex signifikant um 34 % bis 81 % zu. Nach Behandlung mit Negativkontrollzahnpaste + Zahnmilch und Apacare zeigten sich mit Reduktionen von 7 % und 9 % keine signifikanten Unterschiede zur Negativkontrollzahnpaste.

**Tabelle 4.3:** Signifikanzen der Substanzverluste der Versuchsgruppen mit Slurry + Bürst-Behandlung; n.s.: nicht signifikant

	Karex	Apacare	Prokudent	Neg.-Paste + Zahnmilch	Neg.-Paste	Pos.-Paste	Neg.-Paste + Pos.-Lösung
Biorepair	≤ 0,01	≤ 0,01	n.s.	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,001
Karex		≤ 0,001	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001
Apacare			≤ 0,001	≤ 0,001	n.s.	n.s.	≤ 0,001
Prokudent				≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001
Neg.-Paste + Zahnmilch					n.s.	n.s.	≤ 0,001
Neg.-Paste						n.s.	≤ 0,001
Pos.-Paste							≤ 0,001

### Vergleich der Behandlungsweisen

Im Vergleich zur alleinigen Slurrybehandlung erzielten alle Produkte mit Ausnahme von Negativkontrollzahnpaste + Positivkontrollmundspüllösung nach zusätzlicher Bürstabrasion eine signifikante ( $p \leq 0,001$ ) Zunahme des Substanzverlustes um 39 % bis 130 %. Das zusätzliche Bürsten erhöhte bei Negativkontrollzahnpaste + Positivkontrollmundspüllösung den Substanzverlust nicht.



**Abbildung 4.1:** Zahnhartsubstanzverluste im Erosions-/ Abrasionsmodell unter Anwendung der verschiedenen Zahnpflegeprodukte

## 4.2 Morphologische Schmelzstrukturen in vitro

Die Auswertung der morphologischen Schmelzstrukturen in vitro ist in Tabelle 4.4, Tabelle 4.5 und Abbildung 4.3 zusammengefasst.

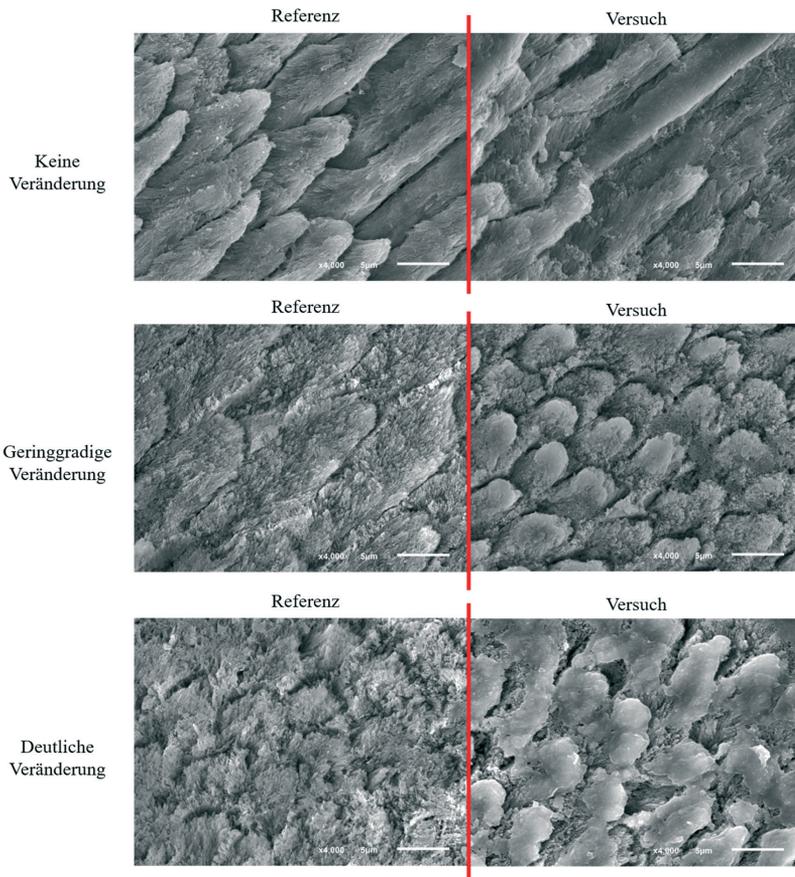
Teilweise konnte keine, teilweise eine geringgradige und teilweise eine deutliche Veränderung festgestellt werden (Abbildung 3.8). Allerdings zeigte keine Versuchsprobe eine flächenhafte Bedeckung. Die Prismenstruktur der Schmelzproben war durchgehend erkennbar. Lediglich die Kristallite und Prismen wiesen teilweise eine abgerundete Form auf.

### Slurries mit *Aqua dest.*

Die morphologischen Veränderungen der Schmelzstrukturen entsprachen den drei Bedeckungsgraden, wie unter 0 beschrieben (Abbildung 4.2). Es ergab sich eine zufällige Verteilung der Bedeckungsgrade in Abhängigkeit von den Produkten.

**Tabelle 4.4:** Zuordnung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in vitro, die durch mit *Aqua dest.* angesetzten Slurries behandelt wurden, in die drei Grade; grün: Grad 1: keine Oberflächenveränderung, blau: Grad 2: mäßige Oberflächenveränderung, rot: Grad 3: starke Oberflächenveränderung

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Mittelwert
<b>Biorepair</b>	2	1	1	1	3	1,6
<b>Karex</b>	3	2	3	2	1	2,2
<b>Apacare</b>	1	1	2	1	1	1,2
<b>Prokudent</b>	1	1	1	1	1	1,0
<b>Zahnmilch</b>	2	1	3	2	1	1,8
<b>Neg.-Paste</b>	2	2	3	3	2	2,4
<b>Pos.-Paste</b>	3	3	3	2	1	2,4
<b>Pos.-Lösung</b>	1	1	3	1	1	1,4



**Abbildung 4.2:** Beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Referenz- und Versuchsproben von Karez (Probe 5, 4 und 1); oberes Bild: keine Oberflächenveränderung, auf Referenz- und Versuchsprobe sind Prismen- und Kristallstruktur zu erkennen; mittleres Bild: geringgradige Oberflächenveränderung, Prismenköpfe der Versuchsprobe sind bedeckt, Kristallstruktur ist zu erkennen; unteres Bild: deutliche Oberflächenveränderung, Prismen- und Kristallstruktur sind deutlich bedeckt aber noch zu erkennen

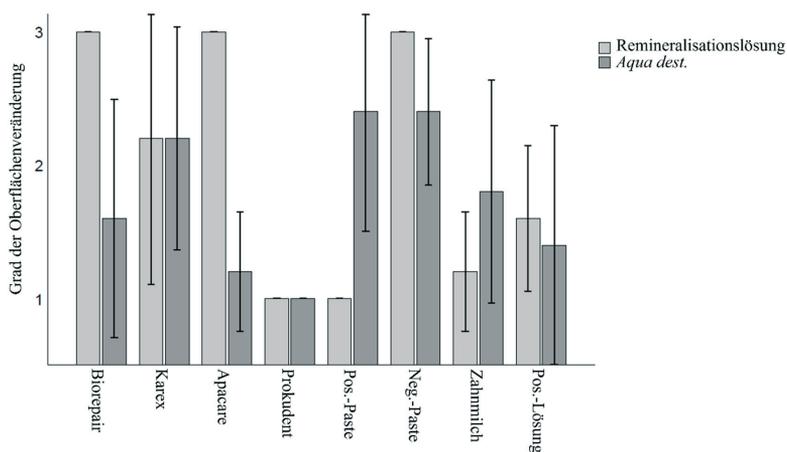
### Slurries mit Remineralisationslösung

Die morphologischen Veränderungen der Schmelzstrukturen entsprachen weitestgehend den drei Bedeckungsgraden wie bei der Behandlung mit Slurries mit *Aqua dest.* Zusätzlich wiesen die Proben der Versuchsgruppen Biorepair, Apacare und Negativkontrollzahnpaste eine auffällig andere Oberflächenstruktur auf. Hier zeigte sich ein spongiöses Geflecht auf der

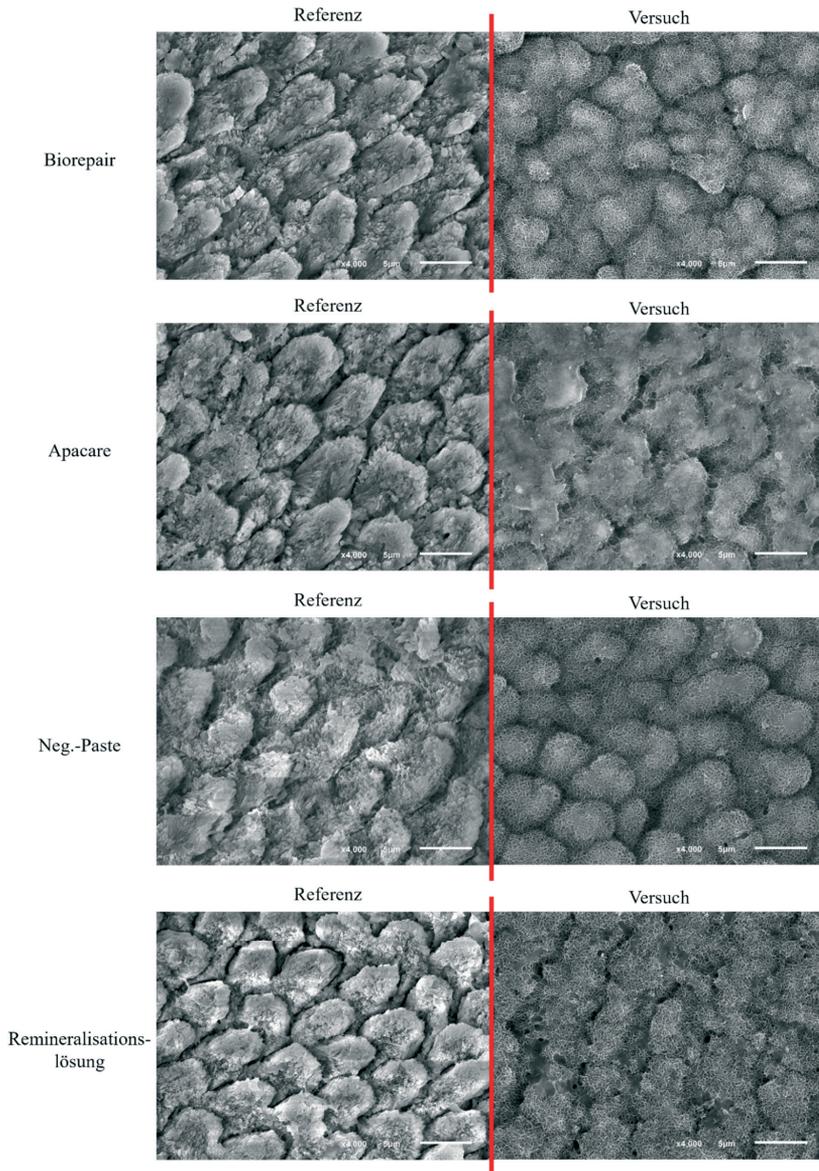
Probenoberfläche (Abbildung 4.4). Die Verteilung der Bedeckungsgrade war bei der Anwendung der Slurries mit Remineralisationslösung nicht zufällig verteilt.

**Tabelle 4.5:** Zuordnung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in vitro, die mit Remineralisationslösung angesetzten Slurries behandelt wurden, in die drei Grade; grün: Grad 1: keine Oberflächenveränderung, blau: Grad 2: mäßige Oberflächenveränderung, rot: Grad 3: starke Oberflächenveränderung

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Mittelwert
<b>Biorepair</b>	3	3	3	3	3	3,0
<b>Karex</b>	1	3	3	3	1	2,2
<b>Apacare</b>	3	3	3	3	3	3,0
<b>Prokudent</b>	1	1	1	1	1	1,0
<b>Zahnmilch</b>	1	1	1	2	1	1,2
<b>Neg.-Paste</b>	3	3	3	3	3	3,0
<b>Pos.-Paste</b>	1	1	1	1	1	1,0
<b>Pos.-Lösung</b>	1	2	2	1	2	1,6



**Abbildung 4.3:** Grad der Oberflächenveränderungen der Versuchsproben in Abhängigkeit von den Slurries mit Remineralisationslösung und *Aqua dest.*



**Abbildung 4.4:** Beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Referenz- und Versuchsproben der Produkte Biorepair, Apacare und Negativkontrollzahnpaste; zusätzlich ist eine Referenz- und Versuchsprobe mit der alleinigen Behandlung durch Remineralisationslösung abgebildet; Referenzproben: klare Prismen- und Kristallstruktur; Versuchsproben: spongiöses Geflecht, Prismenstruktur noch zu erkennen, Kristallstruktur nicht mehr vorhanden

### 4.3 Morphologische Schmelzstrukturen in situ

Die Ergebnisse der morphologischen Schmelzstrukturen sind in Tabelle 4.6, Abbildung 4.5 und Abbildung 4.6 zusammengefasst.

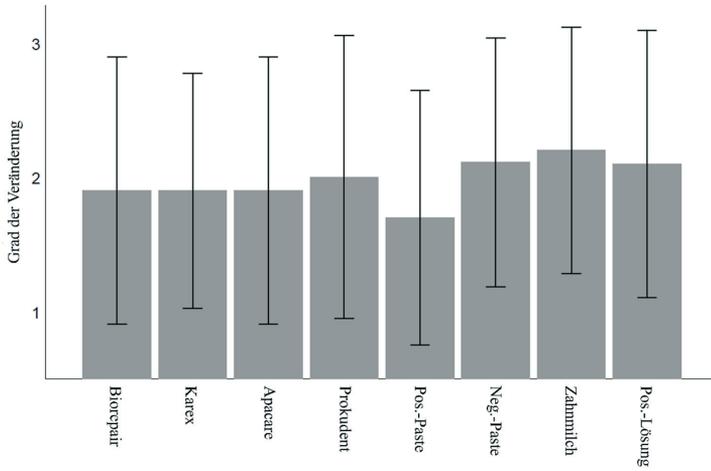
Teilweise konnte keine, teilweise eine geringgradige und teilweise eine deutliche Veränderung festgestellt werden (Abbildung 3.8). Allerdings zeigte keine Versuchsprobe eine flächenhafte Bedeckung. Die Prismenstruktur der Schmelzproben war durchgehend erkennbar. Lediglich die Kristallite und Prismen wiesen teilweise eine abgerundete Form auf.

Die morphologischen Veränderungen der Schmelzstrukturen entsprachen weitestgehend den drei Bedeckungsgraden, wie unter 0 beschrieben. Bei einigen Proben, vornehmlich von Proband D konnte eine muköse Veränderung teilweise interprismatisch und teilweise auf den Schmelzprismen festgestellt werden (Abbildung 4.7).

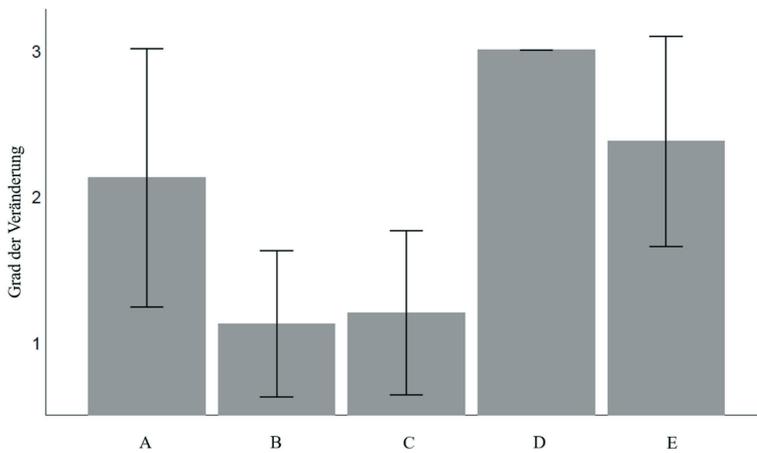
Bei der statistischen Auswertung der Mittelwerte ergab sich in Abhängigkeit von den Produkten eine zufällige Verteilung (Abbildung 4.5), während die Verteilung in Abhängigkeit von den Probanden nicht zufällig war (Abbildung 4.6).

**Tabelle 4.6:** Zuordnung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in situ in die drei Grade; grün: Grad 1: keine Oberflächenveränderung, blau: Grad 2: mäßige Oberflächenveränderung, rot: Grad 3: starke Oberflächenveränderung; A-E: Probanden; weißes Feld: Versuchsprobe beschädigt

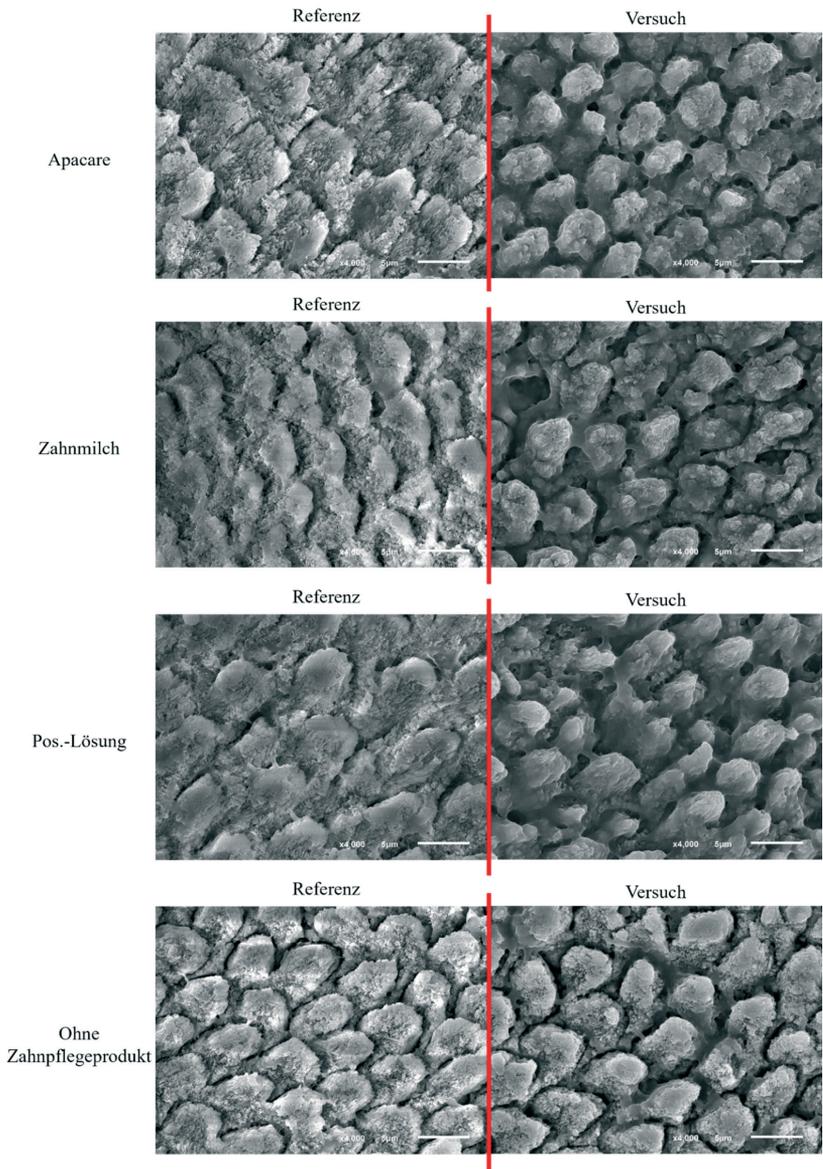
	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	Mittelwert
<b>Biorepair</b>	3	1	1	1	1	1	3	3	3	2	1,9
<b>Karex</b>	3	2	1	1	1	1	3	3	2	2	1,9
<b>Apacare</b>	3	1	1	1	1	1	3	3	3	2	1,9
<b>Prokudent</b>	1	1	3	1	1	1	3	3	3	3	2,0
<b>Zahnmilch</b>	3	3	1	1	2	1	3	3	3	2	2,2
<b>Neg.-Paste</b>	2	2	1	1		3	3	3	1	3	2,1
<b>Pos.-Paste</b>	3	1	1	1	1	1	3	3	1	2	1,7
<b>Pos.-Lösung</b>	3	2	1	1	1	1	3	3	3	3	2,1
<b>Mittelwert</b>	2,1		1,1		1,2		3,0		2,4		



**Abbildung 4.5:** Grad der Oberflächenveränderung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in situ in Abhängigkeit von den Produkten



**Abbildung 4.6:** Grad der Oberflächenveränderung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in situ in Abhängigkeit von den Probanden



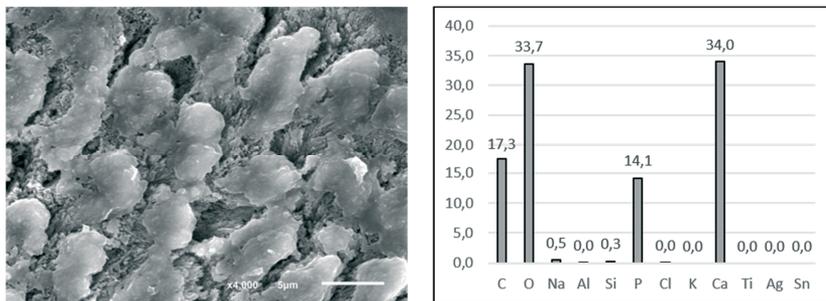
**Abbildung 4.7:** Beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Referenz- und Versuchsproben der Produkte Apacare, Zahnmilch und der Positivkontrollmundspüllösung des Probanden D; zusätzlich ist eine Referenz- und Versuchsprobe des Vorversuchs abgebildet (siehe 3.7.3 Morphologische Strukturanalyse in situ); Referenzproben: klare Prismen- und Kristallstruktur; Versuchsproben: muköse Substanz zwischen und auf den Prismen

## 4.4 Energiedispersive Röntgenspektroskopie von Schmelzproben der morphologischen Schmelzstrukturen

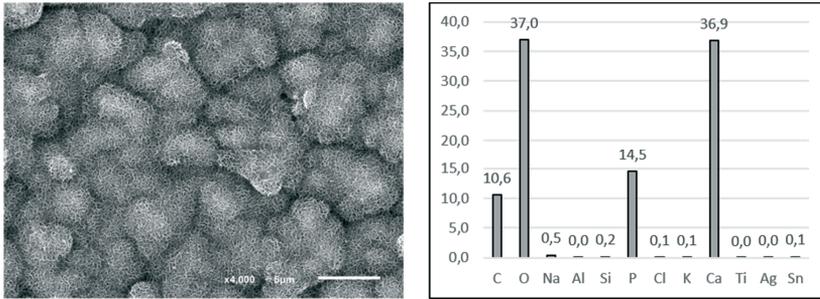
Die Ergebnisse der energiedispersiven Röntgenspektroskopie sind in Abbildung 4.8 bis Abbildung 4.14 dargestellt.

Fast alle Oberflächen bestanden zu ungefähr einem Drittel aus Sauerstoff (32,2 – 38,0 Gew.%) und zu einem weiteren Drittel aus Kalzium (34,7 – 38,8 Gew.%). Das letzte Drittel wurde hauptsächlich aus Kohlenstoff (5,8 – 17,3 Gew.%) und Phosphor (12,0 – 18,4 Gew.%) gebildet. Außerdem ist auf allen Proben in geringen Mengen Natrium (0,3 – 0,6 Gew.%) zu finden. Vereinzelt konnten auch geringe Ablagerungen (0,1 – 0,3 Gew.%) an Silizium, Chlor, Kalium und Zinn gemessen werden.

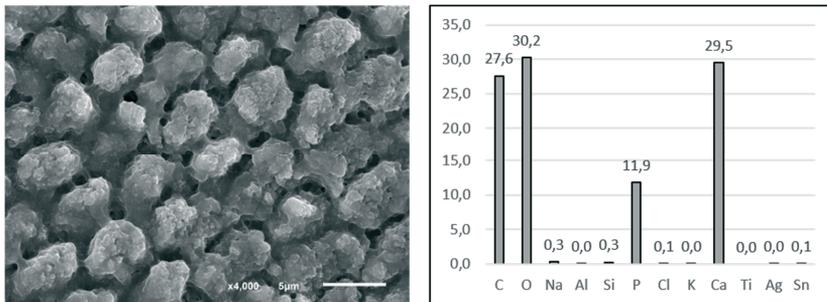
Auffällig ist, dass auf den mukösen Veränderungen der Kohlenstoffgehalt deutlich erhöht und die anderen Werte dementsprechend um einige Prozentpunkte reduziert waren. Bei den zinnhaltigen Anwendungen war der Zinngehalt auf 0,9 Gew.% (in situ) und 1,8 Gew.% (in vitro) erhöht.



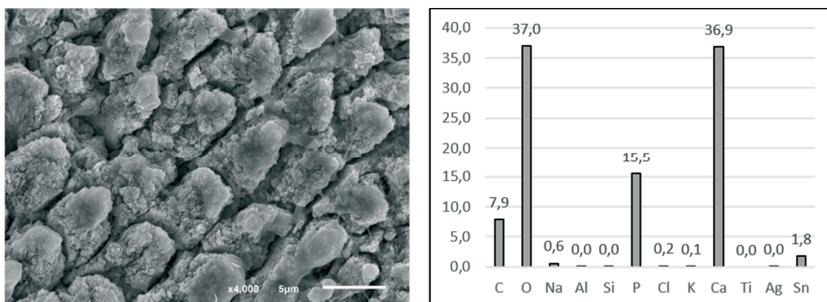
**Abbildung 4.8:** links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe mit abgerundeten Prismen; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der abgerundeten Prismen



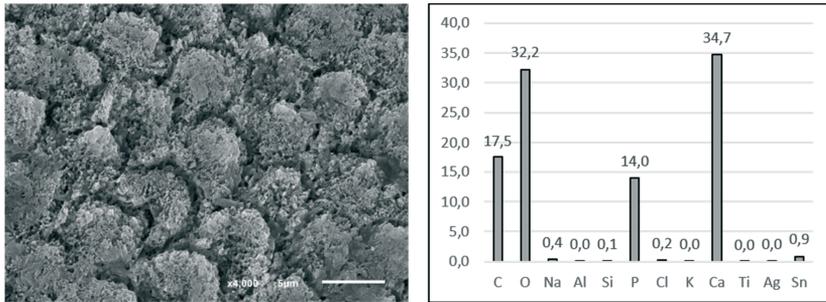
**Abbildung 4.9:** links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe mit spongiöser Oberflächenstruktur; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der spongiösen Oberflächenstruktur



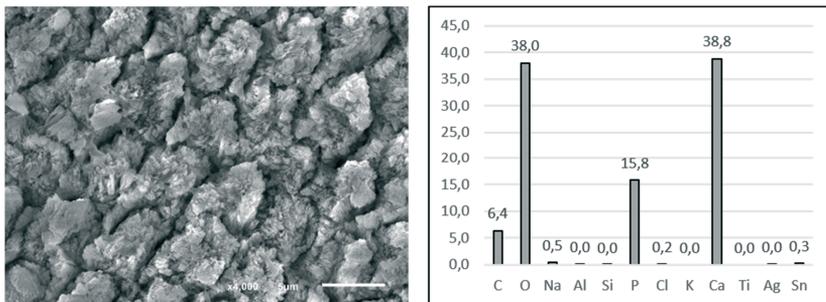
**Abbildung 4.10:** links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe mit muköser Veränderung; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der mukösen Veränderung



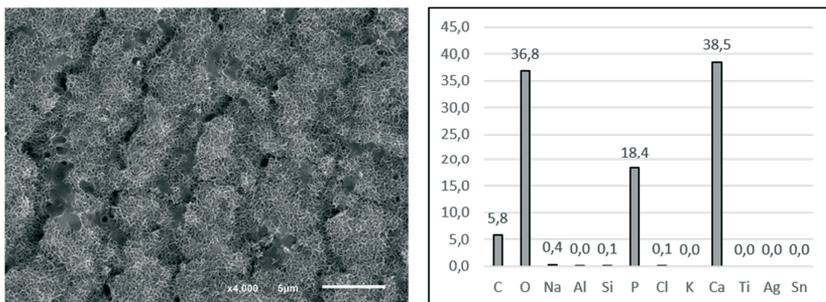
**Abbildung 4.11:** links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe nach zinnhaltiger Behandlung in vitro; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der Probe mit zinnhaltiger Behandlung in vitro



**Abbildung 4.12:** links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe nach zinnhaltiger Behandlung in situ; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der Probe mit zinnhaltiger Behandlung in situ



**Abbildung 4.13:** links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Referenzprobe; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der Referenzprobe



**Abbildung 4.14:** links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe nach Behandlung mit Remineralisationslösung in vitro; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der Probe Behandlung mit Remineralisationslösung in vitro

## 4.5 Partikuläre Phase

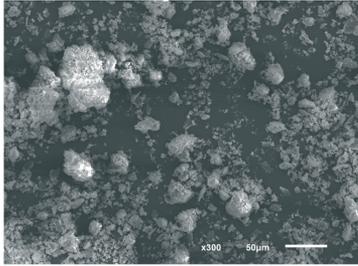
### 4.5.1 Form, Oberflächenbeschaffenheit und Größe

Die Partikelgrößen sind in Tabelle 4.7 aufgeführt. In Abbildung 4.15 sind Partikel der Zahnpasten bei 300-facher Vergrößerung dargestellt.

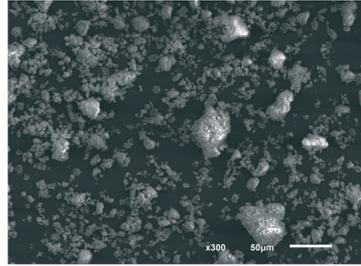
Die partikulären Phasen der verschiedenen Produkte stellte sich morphologisch sehr ähnlich dar. Sowohl Form als auch Oberflächenstruktur waren innerhalb aller Produkte sehr unregelmäßig. Teils waren die Partikel abgerundet, teils kantig, teils eher wolkig geformt. Einige Partikel waren mit Präzipitaten bedeckt, andere wiesen eine eher glatte Oberfläche auf. Auch in Bezug auf die Größe war die partikuläre Phase der einzelnen Pasten sehr ähnlich und alle Partikelgrößen waren in jeder Zahnpaste vorhanden. Es waren vereinzelt Partikel zu finden, die kleiner als 10  $\mu\text{m}$  waren. Ebenso konnte eine Vielzahl an Partikeln mit einer Abmessung zwischen 10 und 40  $\mu\text{m}$  identifiziert werden. Seltener waren Partikel in einer Größenordnung zwischen 40 und 50  $\mu\text{m}$  und vereinzelt auch in einer Dimension  $> 50 \mu\text{m}$  zu finden.

**Tabelle 4.7:** Größe der Partikel in der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung, RT = Rastertellernummer, ja = Partikelgröße vorhanden, nein = Partikelgröße nicht vorhanden

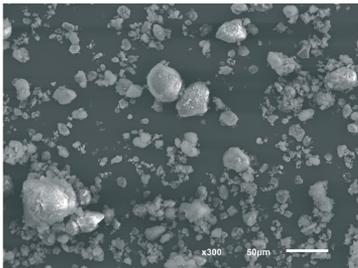
	RT	<10 $\mu\text{m}$	10-20 $\mu\text{m}$	20-30 $\mu\text{m}$	30-40 $\mu\text{m}$	40-50 $\mu\text{m}$	>50 $\mu\text{m}$
<b>Biorepair</b>	1	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
	2	Ja	Ja	Ja	Ja	Nein	Ja
<b>Karex</b>	1	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
	2	Ja	Ja	Ja	Ja	Nein	Ja
<b>Apacare</b>	1	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
	2	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
<b>Prokudent</b>	1	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
	2	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Nein
<b>Neg.-Paste</b>	1	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
	2	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Nein
<b>Pos.-Paste</b>	1	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Nein
	2	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja



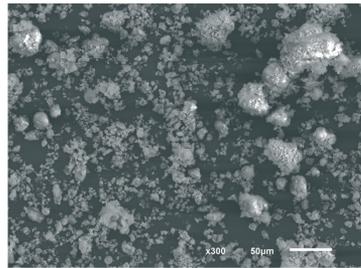
Biorepair



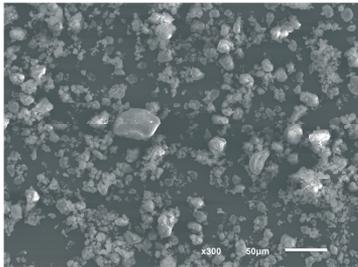
Karex



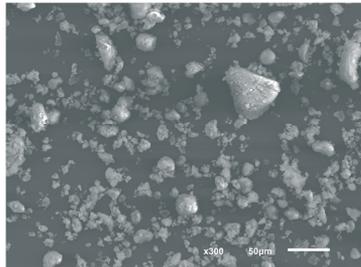
Apacare



Prokudent



Pos.-Paste



Neg.-Paste

**Abbildung 4.15:** Beispielhafte Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der extrahierten Partikel der Zahnpasten bei einer 300-fachen Vergrößerung. Es sind Partikel verschiedener Formen, Oberflächenstrukturen und Größen erkennbar

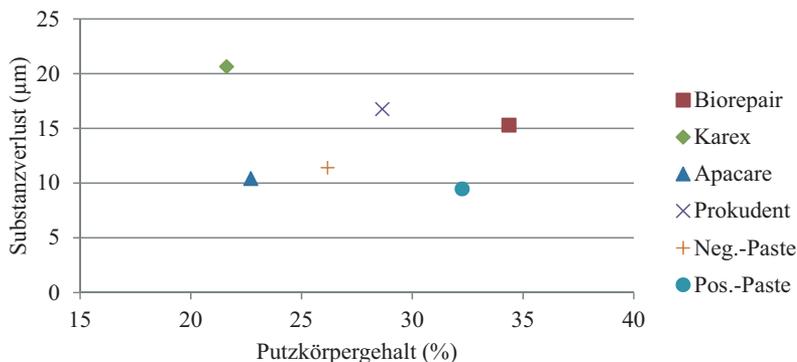
### 4.5.2 Substanzverlust und Partikelgehalt

Der Partikelgehalt in Gewichtsprozent ist in Tabelle 4.8 abzulesen. In Abbildung 4.16 ist der Substanzverlust unter Bürstabrasion in Abhängigkeit zum Partikelgehalt der Zahnpasten dargestellt.

Die Negativkontrollzahnpaste wies einen Partikelanteil von 26,2 Gew.% auf. Biorepair und Prokudent enthielten 31 % und 9 % mehr Partikel, während Karex und Apacare 18 % und 13 % weniger Partikel aufwiesen. Die Positivkontrollzahnpaste erzielte einen 23 % höheren Anteil als die Negativkontrollzahnpaste.

**Tabelle 4.8:** Partikelgehalt in Gewichtsprozent der Zahnpasten in absteigender Reihenfolge

	Partikelgehalt (Gew.%)
<b>Biorepair</b>	34,4
<b>Pos.-Paste</b>	32,3
<b>Prokudent</b>	28,6
<b>Neg.-Paste</b>	26,2
<b>Apacare</b>	22,7
<b>Karex</b>	21,6



**Abbildung 4.16:** Substanzverluste unter Bürstabrasion in Abhängigkeit des Partikelgehaltes der Zahnpasten

### 4.5.3 Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) der partikulären Phase

In Tabelle 4.9 und Tabelle 4.10 sind die gerundeten Mittelwerte der normierten Gewichtsprozente der in relevanten Größen auf den ungewaschenen und gewaschenen Partikeln nachweisbaren Elementen mit ihren Standardabweichungen abzulesen. Tabelle 4.11 zeigt die Silizium-Sauerstoff- und Kalzium-Phosphor-Verhältnisse der Partikel. Graphisch sind die Elementanalysen in Abbildung 4.17 und Abbildung 4.18 dargestellt.

Alle Partikel enthielten einen großen Anteil an Kohlenstoff (29,0 - 39,4 Gew.%), Sauerstoff (38,7 – 44,2 Gew.%) und Silizium (11,6 – 25,0 Gew.%). Auch Natrium war auf allen Partikeln in geringen Mengen (0,7 – 1,0 Gew.%) zu finden. Phosphor (1,7 – 3,5 Gew.%) und Kalzium (5,7 – 11,9 Gew.%) befanden sich in höheren Mengen nur auf den Partikeln der Versuchsprodukte Biorepair, Karex und Prokudent. Kalzium war außerdem mit 0,4 Gew.% auf Partikeln der Zahnpaste Apacare zu finden. Mit 0,3 Gew.% konnte Titan auf Partikeln von Apacare nachgewiesen werden und Zinn mit 0,6 Gew.% auf Partikeln der Positivkontrollzahnpaste. Die anderen Elemente Aluminium, Chlor, Kalium und Silber waren nur sehr gering (0,1 Gew.%) oder nicht nachweisbar.

Kohlenstoff erreichte auf Partikeln der Negativkontrollzahnpaste mit 39,4 Gew.% den höchsten Prozentsatz. Auf Partikeln der Positivkontrollzahnpaste und Prokudent war der Anteil um 4 % und 7 % reduziert. Bei Partikeln von Karex und Biorepair war der Anteil um 15 % und 20 % geringer als bei der Negativkontrollzahnpaste. Der geringste Anteil (Reduktion um 26 %) befand sich auf Partikeln der Zahnpaste Apacare.

Der Sauerstoffgehalt war zu 39,3 Gew.% auf den Partikeln der Negativkontrollzahnpaste nachzuweisen. Der höchste Anteil (Erhöhung um 12 %) war auf Partikeln von Apacare zu finden, gefolgt von Karex mit einer Erhöhung um 4 % und Biorepair um 2 %. Am wenigsten Sauerstoff konnte mit einer Reduktion des Anteils um 1 % und 2 % bei Partikeln von Prokudent und der Positivkontrollzahnpaste nachgewiesen werden.

Die ermittelten Gewichtsprozente an Natrium waren bei allen Zahnpasten nur in geringem Maße nachweisbar und in einem engen Spektrum. Die Negativkontrollzahnpaste und Biorepair wiesen einen Anteil von 0,9 Gew.% auf. Die Positivkontrollzahnpaste zeigte einen 11 % höheren Anteil, während Partikel von Prokudent einen um 11 % niedrigeren Anteil zeigten. Die Analysen von Karex und Apacare ergaben mit einer Reduktion um 22 % den niedrigsten Gewichtsanteil.

Silizium war in unterschiedlich großen Mengen nachweisbar. Die Partikel der Negativkontrollzahnpaste zeigten einen Anteil von 20,1 Gew.%. Den größten Prozentsatz (Erhöhung um 24 %) zeigten Partikel von Apacare, gefolgt von der Positivkontrollzahnpaste mit einer Erhöhung um 7 %. Die zwei Hydroxylapatitzahnpasten Karex (Reduktion um 14 %) und Biorepair (Reduktion um 43 %) und die Kombinationszahnpaste Prokudent (Reduktion um 20 %) wiesen die geringsten Werte auf.

Sowohl Phosphor als auch Kalzium waren auf einigen Partikeln erhöht nachweisbar. Phosphor wurde auf den Partikeln der Hydroxylapatitzahnpasten Biorepair und Karex mit 3,5 Gew.% und 1,8 Gew.% analysiert. Die Kombinationszahnpaste Prokudent wies einen Wert von 1,7 Gew.% auf. Kalzium war neben den drei oben genannten Produkten, Biorepair (11,9 Gew.%), Karex (5,7 Gew.%) und Prokudent (5,7 Gew.%) auch auf Partikeln von Apacare (0,4 Gew.%) erhöht zu finden.

Nach der Waschung der partikulären Phase mit Salzsäure wurden die Analyseergebnisse der Produkte homogener. Der Kohlenstoffgehalt verringerte sich bei allen Produkten auf Werte zwischen 23,7 und 32,2 Gew.%. Die Sauerstoffwerte stiegen bei allen Produkten außer bei Apacare auf 42,7 – 46,6 Gew.% an und auch der Siliziumgehalt stieg bei allen Produkten außer bei Apacare an (24,3 – 30,3 Gew.%). Die ermittelten Werte von Natrium lagen alle im Bereich von 0,2 und 0,3 Gew.%. Phosphor und Kalzium waren nicht mehr erhöht nachweisbar. Titan war nach der Waschung neben Apacare (0,3 Gew.%) auch auf Partikeln von Prokudent (1,0 Gew.%) und der Positivkontrollzahnpaste (0,9 Gew.%) zu finden. Die Positivkontrollzahnpaste war weiterhin die einzige Zahnpaste mit Zinn auf den Partikeln (0,2 Gew.%).

Neben den Gewichtsprozenten wurden die Verhältnisse von Silizium und Sauerstoff und von Kalzium und Phosphor ermittelt. Die ungewaschenen Partikel der Negativkontrollzahnpaste zeigten ein Silizium-Sauerstoff-Verhältnis von 1,95. Auf Partikeln der Hydroxylapatitzahnpaste Biorepair war das Verhältnis um 77 % erhöht und auch die andere Hydroxylapatitzahnpaste Karex und die Kombinationszahnpaste Prokudent wiesen Erhöhungen um 22 % und 24 % auf. Bei Partikeln der Positivkontrollzahnpaste und von Apacare waren die Verhältnisse um 8 % und 10 % reduziert. Nach der Waschung mit Salzsäure glichen sich die Verhältnisse an und die Werte lagen alle im Bereich zwischen 1,50 und 1,76.

Die Kalzium-Phosphor-Verhältnisse wurden ausschließlich auf den ungewaschenen Partikeln bestimmt. Für die Partikel der Negativkontrollzahnpaste konnte kein Verhältnis bestimmt werden, da kein Kalzium auf den Partikeln nachweisbar war. Die Positivkontrollzahnpaste wies

ein Verhältnis von 0,27 auf. Partikel von Apacare erreichten mit 4,15 das größte Verhältnis. Auf den Oberflächen der Partikel von Biorepair und Prokudent konnte ein Kalzium-Phosphor-Verhältnis von 3,45 und 3,33 festgestellt werden, gefolgt von Karex mit 3,09.

**Tabelle 4.9:** Elementanalyse der ungewaschenen Partikel in normierten Gewichtsprozent, Mittelwert + Standardabweichung

	C	O	Na	Si	P	Ca	Sn
<b>Biorepair</b>	31,8 ± 7,5	40,0 ± 1,7	0,9 ± 0,3	11,6 ± 8,1	3,5 ± 3,1	11,9 ± 10,1	0,0 ± 0,0
<b>Karex</b>	33,4 ± 6,5	40,8 ± 3,6	0,7 ± 0,1	17,2 ± 8,2	1,8 ± 1,8	5,7 ± 6,6	0,0 ± 0,0
<b>Apacare</b>	29,0 ± 10,3	44,2 ± 5,8	0,7 ± 0,3	25,0 ± 7,0	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,0 ± 0,1
<b>Prokudent</b>	36,7 ± 8,9	38,8 ± 4,1	0,8 ± 0,2	16,1 ± 7,0	1,7 ± 1,9	5,7 ± 8,5	0,0 ± 0,0
<b>Neg.-Paste</b>	39,4 ± 11,8	39,3 ± 6,7	0,9 ± 0,3	20,1 ± 6,1	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
<b>Pos.-Paste</b>	37,7 ± 6,6	38,7 ± 4,1	1,0 ± 0,3	21,5 ± 3,8	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,6 ± 0,4

**Tabelle 4.10:** Elementanalyse der gewaschenen Partikel in normierten Gewichtsprozent, Mittelwert + Standardabweichung

	C	O	Na	Si	P	Ca	Sn
<b>Biorepair Gewaschen</b>	26,5 ± 8,6	45,8 ± 5,1	0,2 ± 0,1	27,1 ± 5,8	0,2 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
<b>Karex gewaschen</b>	23,7 ± 11,6	45,5 ± 5,2	0,2 ± 0,1	30,3 ± 8,3	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
<b>Apacare gewaschen</b>	32,2 ± 12,7	42,7 ± 7,6	0,3 ± 0,2	24,3 ± 9,5	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
<b>Prokudent gewaschen</b>	29,0 ± 12,2	44,7 ± 6,6	0,2 ± 0,1	25,0 ± 6,7	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
<b>Neg.-Paste gewaschen</b>	26,1 ± 10,8	43,9 ± 6,6	0,2 ± 0,2	28,6 ± 7,1	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
<b>Pos.-Paste gewaschen</b>	24,3 ± 6,5	46,6 ± 4,5	0,2 ± 0,1	27,5 ± 3,7	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,3

**Tabelle 4.11:** Silizium-Sauerstoff-Verhältnisse der ungewaschenen und gewaschenen Partikel und Kalzium-Phosphor-Verhältnisse der ungewaschenen Partikel

	Verhältnis Si:O (ungewaschen)	Verhältnis Si:O (gewaschen)	Verhältnis Ca:P (ungewaschen)
<b>Biorepair</b>	3,46	1,69	3,45
<b>Karex</b>	2,37	1,50	3,09
<b>Apacare</b>	1,76	1,76	4,15
<b>Prokudent</b>	2,42	1,79	3,33
<b>Neg.-Paste</b>	1,95	1,54	0,00
<b>Pos.-Paste</b>	1,80	1,69	0,27

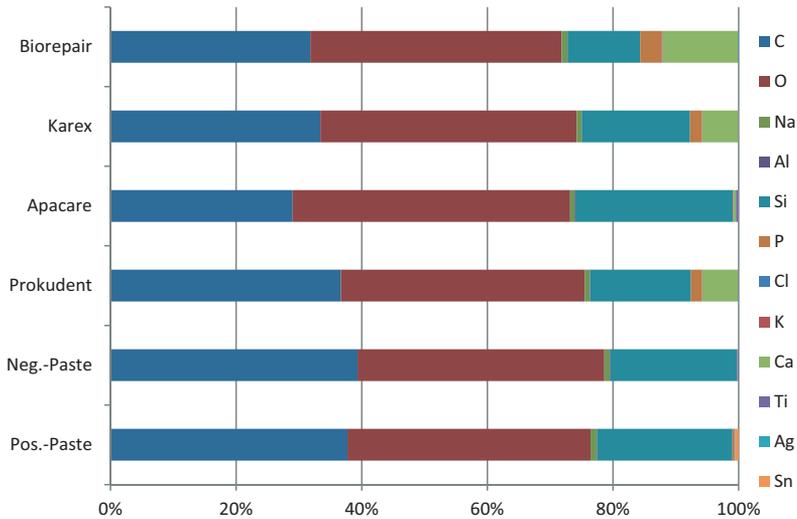


Abbildung 4.17: Massenprozent der Elementanalyse der ungewaschenen Partikel

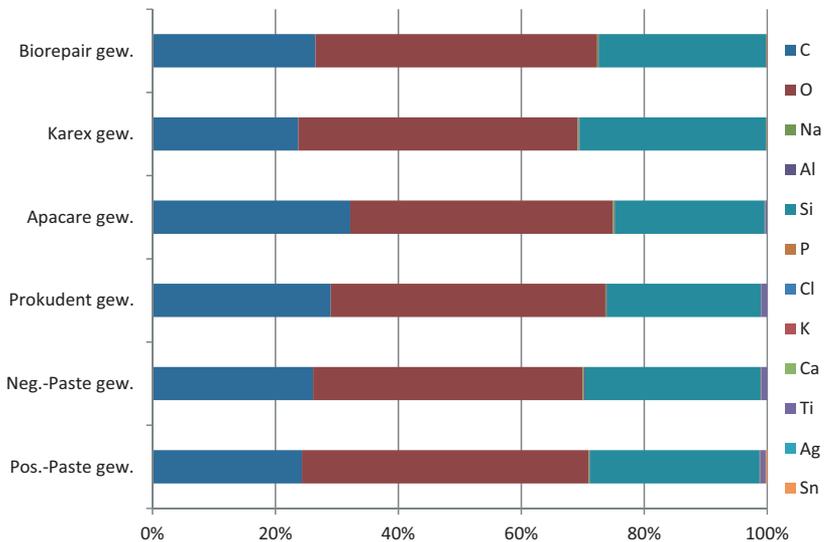


Abbildung 4.18: Massenprozent der Elementanalyse der gewaschenen Partikel

## 4.6 pH-Werte

Die pH-Werte der Slurries und Lösungen sind in Tabelle 4.12 dargestellt.

Die Negativkontrollzahnpaste wies einen durchschnittlichen pH-Wert von 7,0 im neutralen Bereich auf. Für die hydroxylapatithaltigen Produkte wurden ebenfalls neutrale pH-Werte zwischen 6,6 (Zahnmilch) und 8,0 (Prokudent) ermittelt. Für beide zinn- und fluoridhaltigen Positivkontrollgruppen ergaben sich hingegen saure pH-Werte (Positivkontrollzahnpaste 4,8 und Positivkontrollmundspüllösung 4,6).

**Tabelle 4.12:** pH-Werte der Slurries und Mundspüllösung an den 10 Versuchstagen mit Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichung (SD)

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	$\bar{x}$	SD
<b>Biorepair</b>	7,5	7,5	7,6	7,5	7,5	7,8	7,7	7,8	7,8	7,8	7,6	0,1
<b>Karex</b>	6,9	6,8	6,8	6,8	6,8	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	0,0
<b>Apacare</b>	7,1	7,0	7,1	7,2	7,1	7,2	7,2	7,1	7,4	7,2	7,2	0,1
<b>Prokudent</b>	8,0	7,9	7,9	7,9	7,9	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	0,0
<b>Zahnmilch</b>	6,6	6,6	6,5	6,5	6,6	6,7	6,6	6,6	6,5	6,5	6,6	0,1
<b>Neg.-Paste</b>	7,0	7,0	7,0	7,0	6,9	6,9	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	0,0
<b>Pos.-Paste</b>	4,7	4,8	4,9	4,7	4,8	4,8	4,7	4,7	4,8	4,8	4,8	0,1
<b>Pos.-Lösung</b>	4,7	4,7	4,6	4,6	4,7	4,6	4,6	4,7	4,6	4,6	4,7	0,0

## 4.7 Fluoridkonzentration

Die Fluoridkonzentrationen der Produkte sind in Tabelle 4.13 dargestellt.

Für die Zahnpflegeprodukte Biorepair, Karex, Zahnmilch und die Negativkontrollzahnpaste war kein Fluoridgehalt nachweisbar.

Die Slurries der Kombinationszahnpasten wiesen trotz fast gleicher Deklaration der Zahnpasten sehr unterschiedliche Werte auf. Das Slurry von Apacare wies entsprechend der vorherigen Verdünnung bei der Herstellung mit 501 ppm ein Drittel der in der Zahnpaste deklarierten 1450 ppm auf, während in dem Slurry von Prokudent mit 183 ppm nur ein Achtel der in der Zahnpaste deklarierten 1490 ppm nachweisbar war.

Das Slurry der zinn- und fluoridhaltigen Positivkontrollzahnpaste lag mit 285 ppm zwischen den Kombinationsprodukten und enthielt mehr als ein Viertel der in der Zahnpaste deklarierten 1000 ppm. Dieses entspricht in etwa der Verdünnung bei der Herstellung. Die unverdünnte zinn- und fluoridhaltige Positivkontrollmundspüllösung erzielte mit 626 ppm die höchste Fluoridkonzentration.

**Tabelle 4.13:** Fluoridkonzentration der Versuchsprodukte; Konzentrationen in ppm angegeben; n.n.: nicht nachweisbar, SD: Standardabweichung

	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	SD
<b>Biorepair</b>	n.n.	n.n.	n.n.	---	---
<b>Karex</b>	n.n.	n.n.	n.n.	---	---
<b>Apacare</b>	498	482	522	501	20,1
<b>Prokudent</b>	184	174	192	183	9,0
<b>Zahnmilch</b>	n.n.	n.n.	n.n.	---	---
<b>Neg.-Paste</b>	n.n.	n.n.	n.n.	---	---
<b>Pos.-Paste</b>	278	266	310	285	22,7
<b>Pos.-Lösung</b>	632	604	641	626	19,3

## 4.8 Konzentration an Kalziumionen

Die Werte der Konzentrationen an Kalziumionen sind in Tabelle 4.14 dargestellt.

Die Messung der Konzentration an Kalziumionen ergab für die Negativkontrollzahnpaste einen Wert von 40 ppm. Alle anderen Produkte außer der Positivkontrollmundspüllösung (2 ppm) enthielten mehr Kalzium. Prokudent erzielte mit 8548 ppm mehr als das 200-fache der Negativkontrollzahnpaste. Apacare, Zahnmilch und Biorepair enthielten mit 680 ppm, 497 ppm und 436 ppm das 17- bis 11-fache an Kalzium und die Positivkontrollzahnpaste wies mit 120 ppm die dreifache Konzentration auf. Die Zahnpaste Karex enthielt das Doppelte (80 ppm) an Kalziumionen.

**Tabelle 4.14:** Kalziumkonzentration der Versuchsprodukte in ppm, Mittelwert und Standardabweichung (SD); \*: keine vorherige Verdünnung, Im Produkt: zurückgerechnete Kalziumkonzentration im jeweiligen Produkt

	Probe	Wellenlänge		Mittelwert + SD	Im Produkt
		315,887	317,933		
<b>Biorepair</b>	1	109	108	109 ± 0,8	436
	2	109	108		
<b>Karex</b>	1	19	19	20 ± 1,0	80
	2	21	20		
<b>Apacare</b>	1	170	168	170 ± 1,4	680
	2	171	171		
<b>Prokudent</b>	1	2162	2155	2137 ± 27,2	8548
	2	2102	2130		
<b>Pos.-Paste</b>	1	31	30	30, ± 0,4	120
	2	30	30		
<b>Neg.-Paste</b>	1	10	10	10 ± 0,6	40
	2	9	9		
<b>Zahnmilch</b>	1	494	500	497 ± 5,6	497*
	2	491	504		
<b>Pos.-Lösung</b>	1	2	2	2 ± 0,2	2*
	2	2	2		

## 4.9 Substanzverlust und RDA- und REA-Werte

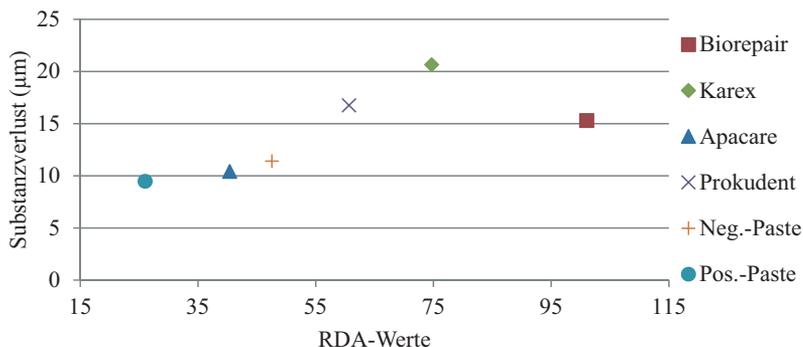
Tabelle 4.15 zeigt die RDA- und REA-Werte der Produkte. In Abbildung 4.19 und in Abbildung 4.20 ist der Substanzverlust unter Bürstabrasion in Abhängigkeit von den RDA- und REA-Werten dargestellt.

Die Negativkontrollzahnpaste Nenedent erreichte einen RDA-Wert von 47,6. Biorepair wies einen mehr als doppelt so hohen Wert auf, während für Karex und Prokudent 56 % und 28 % höhere Werte ermittelt wurden. Apacare und die Positivkontrollzahnpaste erzielten um 15 % und 45 % niedrigere Werte.

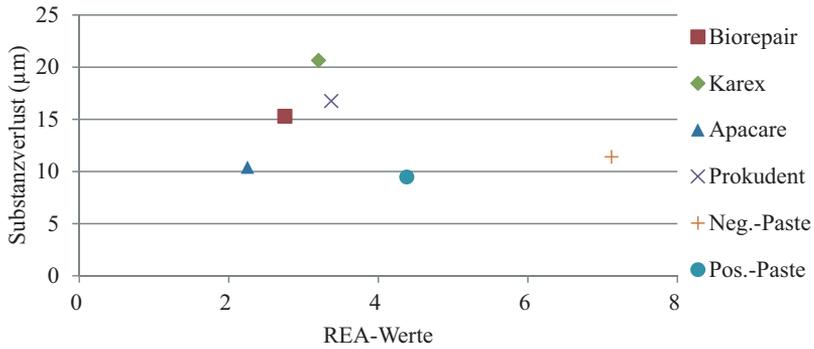
Bei den REA-Werten lag der Wert der Negativkontrollzahnpaste bei 7,1. Alle anderen Produkte wiesen einen geringeren REA-Wert auf. Bei der Positivkontrollgruppe war er um 38 % reduziert, während er bei Prokudent und Karex um 52 % und 55 % geringer war. Biorepair und Apacare erzielten die niedrigsten Werte mit Reduktionen um 61 % und 68 %.

**Tabelle 4.15:** Gemittelte RDA- und REA-Werte; SD: Standardabweichung

	<b>RDA + SD</b>	<b>REA +SD</b>
<b>Biorepair</b>	101,1 ± 5,6	2,8 ± 0,3
<b>Karex</b>	74,7 ± 3,2	3,2 ± 0,1
<b>Apacare</b>	40,4 ± 1,5	2,3 ± 0,1
<b>Prokudent</b>	60,7 ± 1,7	3,4 ± 0,2
<b>Neg.-Paste</b>	47,6 ± 3,1	7,1 ± 0,1
<b>Pos.-Paste</b>	26,0 ± 1,3	4,4 ± 0,3



**Abbildung 4.19:** Substanzverluste unter Bürstabrasion in Abhängigkeit der RDA-Werte der Zahnpasten



**Abbildung 4.20:** Substanzverluste unter Bürstabrasion in Abhängigkeit der REA-Werte der Zahnpasten

### 4.10 Zusammenfassung der Ergebnisse

In Tabelle 4.16 sind die wichtigsten Ergebnisse der Versuche und der Messverfahren zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 4.16: Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse der Versuche und Messverfahren in absteigender Reihenfolge des Substanzverlustes

	Substanz- verlust ( $\mu\text{m}$ )	+ durch Abrasion ( $\mu\text{m}$ )	Wirkstoff	Partikel- gehalt	pH-Wert	F (ppm)	Ca <sup>2+</sup> auf Partikeln	Ca <sup>2+</sup> in flüssiger Phase	RDA	REA	Morph. mit
<b>Prokudent</b>	13,0 $\pm$ 2,2	3,8	HAP + F <sup>-</sup>	28,6	8,0	183	5,7 $\pm$ 8,5	8548	60,7 $\pm$ 1,7	3,4 $\pm$ 0,2	---
<b>Karex</b>	11,7 $\pm$ 3,1	8,9	HAP	21,6	6,9	n.n.	5,7 $\pm$ 6,6	80	74,7 $\pm$ 3,2	3,2 $\pm$ 0,1	---
<b>Neg.-Paste</b>	7,8 $\pm$ 2,1	3,6	---	26,2	7,0	n.n.	0,0 $\pm$ 0,0	40	47,6 $\pm$ 3,1	7,1 $\pm$ 0,1	spongiös
<b>Biorepair</b>	7,0 $\pm$ 1,9	8,3	HAP	34,4	7,6	n.n.	11,9 $\pm$ 10,0	436	101,1 $\pm$ 5,6	2,8 $\pm$ 0,3	Spongiös
<b>Apacare</b>	6,6 $\pm$ 1,4	3,8	HAP + F <sup>-</sup>	22,7	7,2	501	0,4 $\pm$ 0,2	680	40,4 $\pm$ 1,5	2,3 $\pm$ 0,1	spongiös
<b>Zahnmilch</b>	6,0 $\pm$ 1,2	4,6	HAP	---	6,6	n.n.	---	497	---	---	---
<b>Pos.-Paste</b>	4,1 $\pm$ 1,2	5,4	F <sup>-</sup> + Zinn	32,2	4,8	285	0,1 $\pm$ 0,1	120	26,0 $\pm$ 1,3	4,4 $\pm$ 0,3	---
<b>Pos.-Lösung</b>	1,3 $\pm$ 0,5	0,0	F <sup>-</sup> + Zinn	---	4,7	626	---	2	---	---	---

## 5 Diskussion

Im Rahmen dieser Studie wurden Zahnpasten und Mundspüllösungen mit den Wirkstoffen Hydroxylapatit und Fluorid in Kombination mit Zinn untersucht. Ziel war die Beantwortung der Frage, ob hydroxylapatithaltige Zahnpflegemittel effektiv in der symptomatischen Therapie von säurebedingten Zahnhartsubstanzverlusten am Zahnschmelz eingesetzt werden können. Die anti-erosive Wirkung wurde einerseits in einem Erosions-/Abrasionsmodell (De-/Remineralisationsmodell) quantifiziert. Andererseits wurde die Fähigkeit der Produkte zur Präzipitation auf erodierten Zahnoberflächen *in vitro* und *in situ* untersucht. Um eine Erklärung der Ergebnisse zu ermöglichen, wurden die Partikel der Zahnpasten untersucht und die pH-Werte, die Fluoridkonzentrationen, die Konzentration an Kalziumionen und die RDA- und REA-Werte bestimmt.

### 5.1 Der neue Wirkstoff Hydroxylapatit

#### 5.1.1 Chemische Eigenschaften

Hydroxylapatit gehört zu der Gruppe der Kalziumphosphat-Mineraie. Kalziumphosphate können sowohl geologisch als auch biologisch vorkommen [Dorozhkin et al., 2002]. Als geologisch wichtig sind Fluorapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ) und Phosphorite in vielen Gesteinen zu finden. Biologisch kommen Kalziumphosphate als anorganische Komponenten in vielen physiologischen Hartgeweben wie Knochen, Zähnen, Fischgräten und Muschelschalen, aber auch in pathologischen Verkalkungen wie Zahnstein, Blasensteinen und arteriosklerotischen Ablagerungen vor. Kalziumphosphate können in verschiedenen Formen vorliegen. Hierbei wichtig sind vor allem amorphes Kalziumphosphat (ACP), Hydroxylapatit (HA) und kalziumdefizitäres Hydroxylapatit (CDHA).

ACP ( $\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) ist ein häufiges Zwischenprodukt bei der Fällung von Kalziumphosphaten aus wässrigen Lösungen, wobei die Struktur noch nicht eindeutig bestimmt ist. Es weist ein Kalzium-Phosphor-Verhältnis von 1,2 bis 2,5 auf und ist je nach pH-Wert relativ gut löslich [Onuma & Ito, 1998]. Elektronenmikroskopisch stellt es sich als annähernd runde Partikel mit einem Durchmesser von 20 bis 200 nm dar.

HA ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) enthält Kalzium und Phosphat im Verhältnis 1,67 und ist das am schwersten lösliche Kalziumphosphat. Bei der Synthese müssen exakt stöchiometrische Mengen an Kalzium- und Phosphatlösungen mit einem pH-Wert von mehr als 9 vorliegen und das Produkt mehrtägig in einer  $\text{CO}_2$ -freien Atmosphäre erhitzt werden oder es wird als Festkörperreaktion bei Temperaturen über  $1200\text{ }^\circ\text{C}$  hergestellt [Dorozhkin et al., 2002].

Da CDHA ( $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$  ( $0 < x < 1$ )) ein Defizit an Kalzium aufweist, ist das Verhältnis von Kalzium zu Phosphor auf bis zu 1,5 reduziert und die Löslichkeit ist geringer als bei reinem Hydroxylapatit [Fernandez et al., 1999]. CDHA kann einfach durch Aufkochen einer Kalziumphosphat-Lösung, meist über die Bildung von ACP als Zwischenprodukt, hergestellt werden. Bei der biologischen Synthese wird Kalzium durch Natrium-, Kalium-, Magnesium- oder Strontium-Ionen substituiert. Darüber hinaus kann Carbonat das Phosphat oder Fluorid, Chlorid und Carbonat das Hydroxylion ersetzen und Kristallwasser eingelagert werden. Bei der biologischen Synthese kommt es in jedem Fall zum Einbau dieser Fremdionen [Dorozhkin et al., 2002]. Vergleicht man reines HA mit biologischem HA ist festzustellen, dass biologisches HA ein höheres Elastizitätsmodul und eine größere Härte aufweist als reines HA [Moradian-Oldak, 2012]. Außerdem bildet Hydroxylapatit im Gegensatz zu ACP hexagonale Kristalle [Daculsi & Kerebel, 1978].

### 5.1.2 Hydroxylapatit in humanem Zahnschmelz

Da die Zusammensetzung von Zahnschmelz, das Vorliegen von Hydroxylapatit im Zahnschmelz und die Bildung des Zahnschmelzes sehr komplex sind, sollen hier die grundlegenden Fakten beschrieben werden.

Der Aufbau und die kristalline Phase von humanem Zahnschmelz wurden von Gordon Nikiforuk sehr genau beschrieben [Nikiforuk, 1985a].

Der menschliche Zahnschmelz besteht zu 95 % bis 96 % aus anorganischen Komponenten, zu 0,2 % bis 2,0 % aus organischen Substanzen und zum Rest aus Wasser. Die organischen Substanzen liegen zu 58 % als Proteine, zu 40 % als Lipide und als Spuren von Zucker, Zitrat und Laktat vor. Das Wasser ist an die anorganische Phase gebunden und bildet eine Hydratationsschale um jeden einzelnen Hydroxylapatitkristall. Die anorganische Phase besteht hauptsächlich aus Kalzium-Phosphat-Carbonat mit Einschluss von Natrium, Magnesium, Chlorid, Kalium und einer Vielzahl von Spurenelementen wie Fluorid. Kalzium und Phosphat

liegen im humanen Zahnschmelz in einem molaren Verhältnis von 1,62 vor.

Die kristalline Phase liegt in einer räumlichen Anordnung vor, die der von mineralischem Hydroxylapatit ähnelt. Biologisches Hydroxylapatit bildet sehr kleine Kristalle, wobei die Kristalle im Zahnschmelz die größten gegenüber anderen Hartgeweben wie Dentin oder Knochen sind. Die Schmelzkristalle haben eine längliche, hexagonale Form mit einer Länge von ca. 160 nm, einer Breite von ca. 68 nm und einer Dicke von 26 nm. Die einzelnen Kristalle bestehen aus den sogenannten Elementarzellen, die zehn Kalzium-, sechs Phosphat- und zwei Hydroxylionen enthalten (Summenformel:  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ). Diese Elementarzellen können allerdings nicht isoliert vorliegen, sondern nur als sich wiederholende Einheiten in einem Kristall. In biologischem Hydroxylapatit liegen die Elementarzellen außerdem nicht stöchiometrisch vor, sondern weisen ein Defizit an unterschiedlichen Ionen auf. Die in stöchiometrischem Hydroxylapatit enthaltenen Ionen werden durch Carbonat, Hydrogenphosphat, Spurenelemente und Wasser ersetzt. So liegt der Kalziumgehalt in reinem Hydroxylapatit bei 39,9 % und in Zahnschmelz nur bei 36,5 % und der Hydroxylionenanteil ist um 20 % bis 40 % reduziert.

Die einzelnen Kristalle ordnen sich räumlich in der Schmelzstruktur als Prismen an, die von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Zahnoberfläche reichen. In einem Queranschnitt bilden die Prismen eine sogenannte Schlüssellochstruktur, durch die sie miteinander verhakt sind. Innerhalb dieser Prismen liegen die Kristalle im Zentrum parallel zur Prismenachse vor, während sie sich nach peripher senkrechter zur Achse auffächern.

Im menschlichen Körper wird der Schmelz in einem komplexen Biomineralisationsprozess von hochspezialisierten Zellen unter genetischer Kontrolle synthetisiert [Meyer et al., 2018]. Die Entwicklung des Zahnschmelzes beginnt bereits im dritten Trimester der Schwangerschaft und die vollständige Mineralisation ist bei manchen Zähnen erst nach vier bis fünf Jahren abgeschlossen [Moradian-Oldak, 2012; Smith, 1998]. Für die Schmelzsynthese sind spezialisierte epitheliale Zellen verantwortlich, die Ameloblasten, die während der Synthese mehrere Stadien durchlaufen: Pre-Ameloblasten, sekretierende Ameloblasten, Übergangsameloblasten und Reifungsameloblasten [Moradian-Oldak, 2012; Smith, 1998; Warshawsky & Smith, 1974]. In der ersten Phase differenzieren sich die Zellen vom inneren Schmelzepithel zu großen, elongierten und polarisierten Zellen, in denen erhöhte Proteinsynthese möglich ist. Die sekretierenden Ameloblasten geben am sogenannten Tomes-Fortsatz die extrazelluläre Schmelzmatrix mit einer Vielzahl an Proteinen ab, wie zum Beispiel Amelogenin, Enamelin, Ameloblastin, Amelotin und Proteasen, wie Matrix-Metalloproteinase-20 oder Kallirein-4 [Moradian-Oldak, 2012]. Im weiteren

Schmelzbildungsprozess wird diese Matrix mineralisiert. Beniash et al. konnten an Mäusezähnen zeigen, dass diese Mineralisation im ersten Schritt über die Bildung von ACP stattfindet [Beniash et al., 2009]. Da diese amorphen Mineralpartikel den späteren Kristallen in Größe, Form und räumlicher Anordnung gleichen, ist davon auszugehen, dass die Morphologie und Anordnung bereits vor der Mineralisation durch die Matrixproteine festgelegt sind. Wenn der Schmelz die gewünschte Dicke erreicht hat, gehen die Ameloblasten in die Übergangsphase über und verlieren ihre Tomes-Fortsätze. Sie werden kürzer und ihre sekretorische Aktivität ist reduziert. In der Reifungsphase modifizieren die Zellen durch die Kontrolle von Ionentransporten (Kalzium, Phosphat, Bicarbonat), Endozytose und pH-Wert-Regulierung die extrazelluläre Matrix bis der Schmelz vollständig mineralisiert und die organische Matrix degradiert ist. Anschließend nehmen sie eine kubische Form an und bilden die *Cuticula dentis* [Meyer et al., 2018; Moradian-Oldak, 2012]. Diese dünne Membran, auch primäres Schmelzoberhäutchen genannt, wird nach dem Durchbruch des Zahnes in die Mundhöhle sehr schnell abradert [Moradian-Oldak, 2012]. Somit ist eine Regeneration der Schmelzoberfläche von menschlichen Zähnen durch körpereigene Prozesse nicht möglich. Es kann nur versucht werden, die Schmelzoberfläche durch Remineralisation, Substitution oder Präzipitation zu modifizieren, um so eine Resistenz gegenüber zahnhartsubstanzdegradierenden Prozessen zu schaffen.

### 5.1.3 Verwendung von Kalziumphosphaten in Zahnpflegeprodukten

Seit einigen Jahren werden Kalziumphosphate als biomimetische Inhaltsstoffe in Zahnpflegeprodukten eingesetzt. Hierbei wird vor allem amorphes Kalziumphosphat, Hydroxylapatit und  $\beta$ -Trikalziumphosphat verwendet, aber auch Kalziumphosphosilikate und Kalziumglycerophosphate werden auf ihre Effektivität untersucht [Meyer et al., 2018]. Da die in dieser Arbeit verwendeten Versuchsprodukte alle Hydroxylapatit bzw. Zink-Hydroxylapatit enthalten, soll hier nur auf Hydroxylapatit in Zahnpflegeprodukten eingegangen werden.

Hydroxylapatit kann sowohl geologisch in Gesteinen oder biologisch in lebenden Organismen vorkommen [Dorozhkin et al., 2002] als auch synthetisch hergestellt werden. Da es allerdings bei der biologischen Synthese von natürlichem Hydroxylapatit, wie oben beschrieben (siehe 5.1.1 Chemische Eigenschaften), immer zu einer Einlagerung von Fremdionen kommt, wird hauptsächlich synthetisches Hydroxylapatit eingesetzt [Enax & Eppler, 2018b]. In welcher

Größe, Form und Zusammensetzung das eingesetzte Hydroxylapatit in den Zahnpflegeprodukten vorkommt, ist allerdings nicht bekannt. Von den Herstellern wird sowohl Nano-Hydroxylapatit, Mikro-Hydroxylapatit als auch nur Hydroxylapatit auf den Produkten angegeben. So soll laut Herstellerangaben in Biorepair Zink-Carbonat-Hydroxylapatit in mikrokristalliner Struktur enthalten sein. Bei Karex allerdings sind keine Angaben zur Größe zu finden, als Wirkstoff wird lediglich Hydroxylapatit oder BioHAP angegeben. Auch bei Apacare und Prokudent machen die Hersteller keine Angaben über Größe, Form und Zusammensetzung. Hier wird der Wirkstoff auch als künstlicher oder flüssiger Zahnschmelz oder als medizinisches Hydroxylapatit bezeichnet. Allerdings scheint es von wichtiger Bedeutung zu sein, in welcher Form Hydroxylapatit vorliegt. So zeigte Nano-Hydroxylapatit signifikante Unterschiede gegenüber der Negativkontrolle (Wasser) in Bezug auf die Remineralisation von künstlichen Kariesläsionen, während Mikro-Hydroxylapatit keinen Unterschied aufwies [Huang et al., 2011]. In der nach jetzigem Kenntnisstand einzigen Studie bezüglich der Zusammensetzung von hydroxylapatithaltigen Zahnpflegeprodukten wurden unter anderem die Inhaltsstoffe von Biorepair Zahnpaste und Biorepair Mundspüllösung untersucht [Peetsch & Epple, 2011]. Hierbei konnten Zink-substituierte Kalzium-Phosphat-Partikel in kugelig bis amorpher Form festgestellt werden. Die einzelnen Partikel waren geringgradig kristallin und wiesen eine Größe von 30 nm bis 60 nm auf, wobei sich die einzelnen Partikel in wässriger Dispersion zu größeren Konglomeraten aggregierten. In der Studie wurden außerdem die Gewichtsprozent-Verhältnisse von Kalzium zu Phosphor bestimmt, die bei 1,89 (Biorepair Zahnpaste) und 1,27 (Biorepair Mundspüllösung) lagen. Diese Ergebnisse lassen allerdings eher auf ein einfaches Kalzium-Phosphat-Mineral als auf hochstrukturiertes, kristallines Hydroxylapatit schließen (vergleiche 5.1.1 Chemische Eigenschaften).

## 5.2 Die Wirkstoffe im Anwendungsgebiet Erosionsschutz am Zahnschmelz

Bei Kontakt der Zahnschmelzoberfläche mit Säuren kommt es bei Untersättigung an Zahnmineralien zu einer Demineralisation der obersten Schmelzschicht. Durch anhaltende Säureeinwirkung [Schlueter et al., 2009a] oder Abrasion und Attrition [Ganss et al., 2013] kommt es im nächsten Schritt zu einem Substanzverlust an der Schmelzoberfläche. Shellis et al. gehen zusätzlich davon aus, dass vor allem nicht dissoziierte Säuren auf Grund ihrer Apolarität in den Schmelz eindringen können [Shellis et al., 2014]. Diese Säuren geben dort ihre  $H^+$ -Ionen ab und es erfolgt auch hier eine Demineralisation, die sogenannte „near surface demineralization“. Die Reichweite der Diffusion dieser Säuren und damit die Dicke der demineralisierten Schicht ist nicht genau bekannt. Die Werte variieren zwischen einigen Mikrometern [Schlueter et al., 2009a] und  $100\ \mu m$  [Zentner & Duschner, 1996]. An der Schmelzoberfläche entsteht ein Ätzmuster, das dem Ätzmuster in der Füllungstherapie durch Phosphorsäure ähnelt [Eisenburger et al., 2004]. Mit der Demineralisation an und in der Schmelzoberfläche geht außerdem eine Reduzierung der Mikrohärtة einher, wodurch physikalische Kräfte den erodierten Zahnschmelz abtragen können [Attin et al., 1997]. Die äußerste Schmelzschicht ist hierbei zu fragil um den Reibungskräften durch Abrasion und Attrition standzuhalten [Eisenburger et al., 2004]. Allerdings scheint das Ätzmuster an sich gegenüber Bürstabrasion doch relativ stabil zu sein, da Rios et al. zeigen konnte, dass dieses nach dem Zähneputzen noch sichtbar ist [Rios et al., 2008].

Aus diesen chemischen Vorgängen ergeben sich neben der oben beschriebenen Kausaltherapie und restaurativen Therapie drei mögliche symptomatische Therapieansätze: die Reduzierung der Löslichkeit der Zahnhartsubstanz, die Remineralisation des erodierten Schmelzes und die Bildung einer Schutzschicht durch Präzipitate. Daher soll hier die aktuelle Studienlage der verwendeten Wirkstoffe Fluorid, Zinnionen und Hydroxylapatit, in Bezug auf diese drei Ansätze dargestellt werden.

### Fluorid

Fluoride können durch Modifikation der Zahnhartsubstanz die Löslichkeit des Zahnschmelzes herabsetzen, um eine Demineralisation zu vermeiden oder zu reduzieren. Das Fluorid kann einerseits bereits präeruptiv in den Zahnschmelz oder andererseits posteruptiv durch lokale

Anwendung in die Zahnoberfläche eingebaut werden [Nikiforuk, 1985b]. Durch den Austausch von Hydroxylgruppen durch Fluoridionen an der Schmelzoberfläche wird das im Zahn enthaltene Hydroxylapatit in das säurestabilere Fluorapatit umgewandelt. Die erhöhte Säurestabilität wird hierbei einerseits durch den verbesserten Widerstand des Fluoridions gegenüber dem Herauslösen aus der Kristallgitterstruktur bedingt und andererseits stabilisiert das Fluorid die Kalziumionen an der Schmelzoberfläche [Leeuw, 2004].

Eine weitere denkbare Möglichkeit, den Substanzverlust durch Erosionen zu verringern, ist die Remineralisation der entmineralisierten Zahnschmelzoberfläche, die, wie oben beschrieben, bei der „near surface demineralization“ entsteht. Hierbei kommt es zum Einbau von Mineralien in die vorhandenen Strukturen, durch den eine annähernd gleiche Kristallinität wie im Schmelz entsteht. Davon abzugrenzen ist die Präzipitation von Mineralien an der Oberfläche, die von manchen Autoren allerdings auch als Remineralisation bezeichnet wird. Da es bei der Remineralisation zu einer Erhärtung des Zahnschmelzes kommt, werden hier Studien betrachtet, die eine Zunahme der Oberflächenhärte untersuchten. Poggio et al. konnten feststellen, dass in vitro natriumfluoridhaltige Zahnpasten die Oberflächenhärte (Vickers Härte) im Vergleich zur alleinigen Erosion erhöhen [Poggio et al., 2017]. Hierbei wurden die Zahnpflegeprodukte direkt nach der Simulation des Säureangriffs für drei Minuten angewendet. Auch Comar et al. konnten durch die Anwendung einer natriumfluoridhaltigen Zahnpaste eine Erhöhung der Mikrohärtigkeit in vitro erzielen [Comar et al., 2013]. In vitro scheint eine Remineralisation von experimentellen Erosionserscheinungen durch Fluoride also möglich zu sein. In situ findet allerdings eine sofortige Anwendung der Zahnpflegeprodukte nach jeder erosiven Säureexposition, wie in den meisten Studien, unter der normalen häuslichen Zahnpflege nicht statt und zusätzlich verhindern Speichelproteine, die sich an der erodierten Schmelzoberfläche anlagern, womöglich den Einbau und die Präzipitation von Ionen [Shellis et al., 2014]. In Bezug auf Fluoridanwendung in situ gibt es unterschiedliche Ergebnisse. So konnten Wegehaupt et al. keine signifikante Erhärtung von Schmelzproben feststellen [Wegehaupt et al., 2012], während Maggio et al. zeigten, dass es auch in situ bei der exzessiven Anwendung von Fluorid (1450 ppm Natriumfluorid in einer Zahnpaste in Kombination mit 450 ppm Natriumfluorid in einer Mundspüllösung) auf palatinal getragenen Schmelzproben zu einer geringen Zunahme der Oberflächenhärte von Schmelzproben kommt [Maggio et al., 2010]. Najibfard et al. konnten in einer In situ-Studie remineralisierende Effekte von einer natriumfluoridhaltigen Zahnpaste durch mikroradiographische Analysen zeigen. Eine Erhärtung der Schmelzoberfläche wurde hierbei nicht untersucht [Najibfard et al., 2011]. Alle Studien simulieren allerdings nur die alleinige Erosion. In der Mundhöhle kommen noch, wie

oben beschreiben, Abrasion und Attrition hinzu, die den durch den Säureangriff geschwächten Schmelz weiter schädigen und im Extremfall keine demineralisierte Zahnoberfläche zur Remineralisation zurücklassen.

Der dritte mögliche Schutzmechanismus ist die Ausbildung einer bedeckenden Schicht auf dem Zahnschmelz, die im Falle eines Säureangriffs die Zahnoberfläche schützt oder als „Opfermaterial“ anstelle des Zahnschmelzes verloren geht. Für Fluorid konnte bereits 1988 eine kalziumfluoridähnliche Beschichtung der Schmelzoberfläche durch hoch konzentrierte Natriumfluoridlösung erzielt werden [Saxegaard et al., 1988]. Dass es in vitro durch die Anwendung von fluoridhaltigen Lösungen zu einer Präzipitation von kalziumfluoridähnlichen Mineralien kommt, konnte in weiteren Studien bestätigt werden [Petzold, 2001; Larsen & Jensen, 1994]. Aber auch durch die Anwendung von fluoridhaltigen Zahnpasten können entsprechende Präzipitate gebildet werden [Üsküdar A., 2012]. In vitro scheinen diese Präzipitate allerdings leicht säurelöslich zu sein [Ganss et al., 2007]. So konnten in einer weiteren Studie, die ein De- und Remineralisationsmodell beinhaltete, keine bedeckenden Effekte durch Natrium- und Aminfluorid festgestellt werden [Ganss et al., 2008]. In situ kann eine Präzipitation zusätzlich durch Speichelproteine wie z. B. PRPs (prolin-rich-proteins), Statherin und Histatin inhibiert werden [Xiao et al., 2015; Tamaki et al., 2002]. So konnten Lelli et al. keine Präzipitate nach achtwöchiger Natriumfluoridanwendung auf extrahierten Prämolaren feststellen [Lelli et al., 2014].

In Bezug auf Fluorid lässt sich also festhalten, dass es die Schmelzoberfläche modifiziert und so den Schmelz resistenter gegenüber säurebedingten Zahnhartsubstanzverlusten macht. Eine Remineralisation ist zumindest unter bestimmten Voraussetzungen in situ möglich, während die Bildung von säureresistenten Präzipitaten auf der Zahnoberfläche zumindest in situ eher fraglich ist.

### **Zinnionen**

Die Verwendung von Zinnionen in der Erosionstherapie ist noch nicht so gut untersucht wie die von Fluoriden. Es sind aber auch hier einige Erkenntnisse bekannt. Durch die Anwendung von zinnhaltigen Produkten kann die Löslichkeit der Schmelzoberfläche noch weiter reduziert werden. So entstehen bei der Reaktion von Zinnfluorid mit Hydroxylapatit die säurestabileren Verbindungen  $\text{Sn}_2\text{OHPO}_4$ ,  $\text{Sn}_3\text{F}_3\text{PO}_4$  und  $\text{Ca}(\text{SnF}_3)_2$  [Babcock et al., 1978]. Dass sich die Zinnionen in Kombination mit Fluorid in vitro an und in der Zahnoberfläche anreichern, konnte von Ganss et al. bestätigt werden [Ganss et al., 2016] und Schlüter et al. konnten Zinnionen unter erosiven Bedingungen bis in einer Tiefe von 20  $\mu\text{m}$  innerhalb der Schmelzoberfläche

nachweisen [Schlueter et al., 2009a]. Young et al. konnten den positiven Effekt von Zinnionen mit Fluorid in situ bestätigen [Young et al., 2006]. Sie zeigten, dass die Anwendung von zinnfluoridhaltiger Zahnpaste die Löslichkeit des Zahnschmelzes gegenüber der Anwendung einer natriumfluoridhaltigen Zahnpaste reduziert.

Ob es durch die Anwendung von zinnhaltigen Produkten zu einer Erhöhung der Remineralisation kommt, ist nicht bekannt.

Schlüter et al. konnten allerdings durch die REM- und EDX-Analyse von behandelten Schmelzoberflächen zeigen, dass es in vitro zu einer Präzipitation durch zinn- und fluoridhaltige Zahnpasten kommt [Schlueter et al., 2009a]. Ganss et al. konnten dieses sogar in einem De- und Remineralisationsmodell feststellen [Ganss et al., 2008]. Auch die EDX-Analyse in der hier vorliegenden Studie zeigt Zinn auf den behandelten Schmelzproben. Bei der morphologischen Strukturanalyse der hier vorliegenden Studie konnten allerdings sowohl in vitro als auch in situ keine Präzipitate durch zinnhaltige Produkte auf erodierten Schmelzoberflächen festgestellt werden.

In Bezug auf Zinnionen lässt sich also festhalten, dass sie die Schmelzoberfläche zusätzlich zum Fluorid säureresistenter machen können. Eine Remineralisation ist allerdings nicht nachgewiesen. Eine Präzipitation von Zinnionen scheint hingegen zumindest in vitro möglich.

### **Hydroxylapatit**

Auch für die Anwendung von Hydroxylapatit als Wirkstoff liegen einige Studien vor, wobei auch hier die Studienlage nicht so ausführlich ist, wie in Bezug auf Fluoride. Durch Hydroxylapatit als Wirkstoff in Zahnpflegeprodukten entfällt allerdings der erste mögliche Therapieansatz, die Reduzierung der Löslichkeit. Die Hydroxylapatitpartikel können nicht in die Zahnhartsubstanz eindringen und auch eine Modifikation des zum größten Teil aus Hydroxylapatitkristallen bestehenden Zahnschmelzes ist nicht möglich.

Zum zweiten Therapieansatz, der Remineralisation, liegen nur sehr wenige Ergebnisse vor. Poggio et al. konnten zeigen, dass die dreiminütige Anwendung von zinkhydroxylapatithaltigen Zahnpasten die Oberflächenhärte (Vickers Härte) im Vergleich zur alleinigen Erosion erhöhten [Poggio et al., 2017]. Es liegen noch weitere Studien zur Remineralisation vor, allerdings wurden hier Versuchsmodelle gewählt, die der Kariestherapie und nicht der Erosionstherapie zuzuordnen sind. So konnten Comar et al. in einem De- und Remineralisationsmodell keine Remineralisation der entmineralisierten Schmelzoberfläche durch verschiedene hydroxylapatithaltige Pasten feststellen [Comar et al., 2013], während Najibfard et al. in einer In situ-Studie remineralisierende Effekte von hydroxylapatithaltigen Zahnpasten durch

mikroradiographische Analysen zeigten [Najibfard et al., 2011]. Ob es hierbei allerdings auch zu einer Zunahme der Oberflächenhärte kam, ist nicht untersucht.

Gerade auf den dritten Therapieansatz, die Präzipitation, zielt der Einsatz von Hydroxylapatit als Wirkstoff ab. Tomazic et al. konnten bereits 1976 zeigen, dass sich Hydroxylapatit aus übersättigten Kalzium-Phosphatlösungen an Schmelzoberflächen ablagert [Tomazic et al., 1976]. Auch aus hydroxylapatithaltigen Lösungen lassen sich *in vitro* Ablagerungen auf erodierten Zahnschmelzproben feststellen [Fabritius-Vilpoux et al., 2019; Roveri et al., 2009] und bei der Anwendung von hydroxylapatithaltigen Zahnpasten unter Bürstabrasion war laut den Autoren sogar eine komplette Bedeckung der Schmelzoberfläche zu erkennen [Roveri et al., 2009]. Allerdings wird diese Aussage nur durch eine einzelne rasterelektronenmikroskopische Aufnahme bestätigt, die einen weiten Interpretationsspielraum zulässt und keine Angabe zu den Auswahlkriterien des Areals beinhaltet. In einer weiteren Studie wurde die Präzipitation von Hydroxylapatit auf Schmelzoberflächen *in situ* untersucht [Lelli et al., 2014]. Hierbei wurden von insgesamt zwölf Probanden jeweils ein gesunder Zahn aus kieferorthopädischer oder prothetischer Sicht entfernt. Die Probanden führten vorher für acht Wochen ihre Mundpflege mit der hydroxylapatithaltigen Zahnpaste Biorepair durch. Die rasterelektronenmikroskopischen und energiedispersiv-röntgenspektroskopischen Auswertungen zeigen, dass sich bei der Anwendung von Hydroxylapatit Präzipitate auf der Oberfläche bildeten. Allerdings fehlen in dieser Studie Angaben zum Ausgangszustand der Zähne, zu der achtwöchigen Mundhygiene der einzelnen Probanden und zur Auswahl der präsentierten Zahnareale. Im Gegensatz zu den beiden eben aufgeführten Studien konnten Kensche et al. auf pellicelbedeckten Schmelzproben keine bedeckende Schicht, sondern nur vereinzelte Konglomerate durch Hydroxylapatit feststellen [Kensche et al., 2017]. Bei der Strukturanalyse der hier vorliegenden Studie konnten sowohl *in vitro* als auch *in situ* keine Präzipitate auf erodierten Zahnoberflächen festgestellt werden.

Außerdem stellt sich die Frage in welcher Form mögliche Präzipitate vorliegen. Handelt es sich um hochstrukturierte Hydroxylapatitkristalle oder um einfache Kalziumphosphate? Um Hydroxylapatitkristalle synthetisch herzustellen, müssen sehr präzise Umgebungsbedingungen über einen Zeitraum von mehreren Tagen gegeben sein (siehe 5.1.1 Chemische Eigenschaften) und auch die biologische Synthese läuft unter genetischer Kontrolle ab (siehe 5.1.2 Hydroxylapatit in humanem Zahnschmelz). Auch das Wachstum von Hydroxylapatitkristallen findet nur sehr langsam über Kalzium-Phosphat-Mikrocluster der Größe 0,7 nm bis 1,0 nm statt [Onuma und Ito, 1998]. Daher ist durch Hydroxylapatit in Zahnpflegeprodukten höchstens eine Anlagerung der enthaltenen Hydroxylapatitpartikel denkbar. Kensche et al. konnten hierzu

zeigen, dass es durch hydroxylapatithaltige Mundspüllösung zu einer kurzzeitigen Anlagerung von sphärischen Partikeln kommt [Kensche et al., 2017]. Ob es sich hierbei allerdings um Hydroxylapatitkristalle handelt, konnte nicht gezeigt werden. In der oben erwähnten Studie von Roveri et al. konnten lediglich Ablagerungen erzielt werden, die in Bezug auf Hydroxylapatit sehr viel weniger kristallin waren [Roveri et al., 2009]. In einer weiteren Studie konnte kristallines Hydroxylapatit auf Schmelzproben festgestellt werden [Ryu et al., 2009]. Die Kontaktzeit zwischen der hydroxylapatithaltigen Lösung und der Schmelzoberfläche betrug hierbei allerdings zwei bis drei Monate.

In Bezug auf den Wirkstoff Hydroxylapatit lässt sich also festhalten, dass der Therapieansatz der Modifikation der Schmelzoberfläche entfällt, während zu dem zweiten Therapieansatz, der Mineralisation, unterschiedliche Versuchsergebnisse vorliegen. Die Präzipitation auf der Zahnoberfläche durch Hydroxylapatit scheint zumindest unter bestimmten Voraussetzungen möglich zu sein, wobei die Analysen der Niederschläge allerdings eher auf niederkristallines, leicht säurelösliches Kalzium-Phosphat schließen lassen als auf hochstrukturiertes Hydroxylapatit.

### **Substanzverluste**

Da die einzelnen Wirkmechanismen, wie oben beschrieben, keine eindeutige Voraussage ermöglichen, ob einzelne Produkte mit verschiedenen Wirkstoffen in der symptomatischen Erosionstherapie effektiv gegen säurebedingte Zahnhartsubstanzverluste eingesetzt werden können, sollten Erosions- und Erosions-/Abrasions-Studien, die den Substanzverlust quantifizieren, betrachtet werden.

Für zinn- und fluoridhaltige Formulierungen ist die Studienlage in vitro eindeutig. Neun In-vitro-Studien zeigen unter alleiniger Erosion eine Reduktion der Zahnhartsubstanzverluste durch die Kombination von Zinn und Fluorid von 45 % bis 100 % [Ganss et al., 2016; Algarni et al., 2015; Ganss et al., 2011; Schlueter et al., 2010; Schlueter et al., 2009a; Wiegand et al., 2009; Ganss et al., 2008; Hooper et al., 2007; Hove et al., 2007]. Auch unter zusätzlicher Abrasion konnte in vier Studien eine Reduktion von 60 % bis 77 % durch zinn- und fluoridhaltige Produkte erzielt werden [Ganss et al., 2016; Comar et al., 2012; Ganss et al., 2012; Ganss et al., 2011]. Im Vergleich hierzu konnte in einer In-vitro-Studie der Einsatz von Hydroxylapatit unter allein erosiven Bedingungen keine signifikante Substanzverlustminimierung erzielen und in einer weiteren Studie von Ganss et. al. konnte lediglich eine Reduktion um 33 % festgestellt werden [Ganss et al., 2016; Ganss et al., 2011]. Unter zusätzlicher Abrasion war in den beiden eben genannten Studien kein positiver Effekt zu

erkennen. Die Kombination von Hydroxylapatit mit Fluorid in vitro erbrachte allerdings eine Steigerung der Reduktion auf 36 % bis 48 % unter Erosion [Ganss et al., 2016; Ganss et al., 2011]. Mit zusätzlicher Abrasion war in einer der Studien keine signifikante Reduktion zu sehen, während in der anderen eine Minimierung von bis zu 46 % zu erkennen war. Die Ergebnisse der hier vorliegenden In-vitro-Studie bestätigen diese Ergebnisse. So erzielten die zinn- und fluoridhaltigen Zahnpflegeprodukte unter Erosion eine Reduktion des Substanzverlustes gegenüber der Negativkontrolle von bis zu 83 % und unter zusätzlicher Abrasion von bis zu 88 %. Die Hydroxylapatitformulierungen und Kombinationszahnpasten erzielten hingegen unter erosiven Bedingungen eine maximale Reduktion von 23 % und zwei Produkte erhöhten sogar den Substanzverlust gegenüber der Negativkontrolle um 50 % bis 67 %. Unter zusätzlich abrasiven Bedingungen wurden ähnliche Werte erzielt. Die maximale Reduktion betrug hier 34 % und hier erhöhten die beiden selben Produkte den Substanzverlust sogar um 47 % bis 81 %.

In situ sind auch Werte für zinn- und fluoridhaltige Formulierungen bekannt. Unter alleiniger Erosion konnte hier eine Minimierung von 67 % bis 91 % beobachtet werden [Schlueter et al., 2011; Ganss et al., 2010; Schlueter et al., 2009b; Hove et al., 2008; Hooper et al., 2007]. Die zusätzliche Bürstabrasion erweiterte das Spektrum auf 26 % bis 100 % [Hove et al., 2014; Stenhagen et al., 2013; Huysmans et al., 2011]. Sowohl für hydroxylapatithaltige Produkte und Kombinationen aus Hydroxylapatit und Fluorid fehlen In situ-Studien. Weitere Forschung ist daher erforderlich, auch wenn anhand der In-vitro-Ergebnisse davon ausgegangen werden kann, dass hydroxylapatithaltige Zahnpflegeprodukte, sowohl als alleiniger Wirkstoff als auch in Kombination mit Fluorid, die Wirkeffekte von zinn- und fluoridhaltigen Produkten nicht übertreffen werden.

Abschließend kann festgehalten werden, dass auf Grund der Studienergebnisse zu den drei einzelnen Wirkmechanismen durch die Wirkstoffe Fluorid, Zinnionen oder Hydroxylapatit teilweise ein Wirkeffekt in der symptomatischen Erosionstherapie denkbar ist. Betrachtet man allerdings die Erosions- und Erosions-/Abrasionsstudien, die den Substanzverlust von Schmelzproben analysieren, ist klar festzustellen, dass Zinn in Kombination mit Fluorid dem Hydroxylapatit überlegen ist und weiterhin, wie auch schon 2015 durch den Consensus-Report der European Federation of Conservative Dentistry [Carvalho et al., 2015], als Goldstandard empfohlen werden kann.

### 5.3 Produktauswahl

Die Auswahl der Produkte umfasste zwei Hydroxylapatitformulierungen und zwei Kombinationszahnpasten (hydroxylapatit- und fluoridhaltig). Zusätzlich wurde eine rein hydroxylapatithaltige Mundspüllösung verwendet. Als Kontrollprodukte dienten eine wirkstofffreie Zahnpaste (Negativkontrolle), eine zinnfluoridhaltige Zahnpaste (Positivkontrolle) und eine zinnchlorid- und natriumfluoridhaltige Mundspüllösung (Positivkontrolle).

Die ausgewählten Produkte umfassten im Wesentlichen die in Deutschland erhältlichen hydroxylapatithaltigen Zahnpflegeprodukte. Als Hydroxylapatitformulierungen wurden Biorepair Zahncreme und Karex Zahnpasta verwendet, da es die beiden zur Versuchszeit auf dem Markt am stärksten vertretenen Produkte waren. Weiterhin wurden auch Kombinationszahnpasten mit Hydroxylapatit und Fluorid als Wirkstoffe einbezogen. Als Kombinationszahnpasten wurden Apacare-Remineralisierende Zahncreme und Prokudent Actischmelz Zahncreme untersucht. Da neben hydroxylapatithaltigen Zahnpasten auch Mundspüllösungen mit Hydroxylapatit als Wirkstoff erhältlich waren, wurde auch die rein hydroxylapatithaltige Mundspüllösung Biorepair Zahnmilch in die Versuche mit einbezogen.

Als Negativkontrollzahnpaste wurde die Zahnpaste Nenedent Kinderzahncreme ohne Fluorid verwendet, da sie sowohl hydroxylapatit- als auch fluoridfrei ist. Außerdem ist die einfache Zusammensetzung dieser Zahnpaste den anderen verwendeten Produkten ähnlich und umfasst keine Zusätze, wie ätherische Öle oder Chitosan, die einen protektiven Effekt gegenüber erosiven Zahnhartsubstanzverlusten aufweisen könnten. Emofluor Zahnpaste und Elmex Zahnschmelzschutz Professional Zahnspülung wurden als Positivkontrollen verwendet, da zinnhaltige Zahnpflegeprodukte in anderen Studien sehr gute anti-erosive Eigenschaften zeigten [Ganss et al., 2016; Ganss et al., 2011; Ganss et al., 2008; Hove et al., 2008; Hove et al., 2007] und Zinnfluoride als Goldstandard in der symptomatischen Erosionstherapie empfohlen werden [Carvalho et al., 2015].

## 5.4 Diskussion der Material- und Methodenwahl

### 5.4.1 Simulation der Bedingungen in der Mundhöhle

Bei Erosions-/Abrasionsstudien sollen die intraoralen Verhältnisse (Zahnoberfläche, Erosion, Speichelkontakt, Zahnpflege) möglichst genau simuliert werden [Wiegand & Attin, 2011]. So entsprechen die Versuchsbedingungen in dieser Arbeit den Empfehlungen von Shellis et al. [Shellis et al., 2011] sowie den etablierten Verfahren der Arbeitsgruppe [Ganss et al., 2016; Ganss et al., 2011].

Als Zahnoberfläche wurden geschliffene und polierte Schmelzproben humaner, ehemals retinierter Weisheitszähne verwendet, um eine kariöse Vorerkrankung und den vorherigen Kontakt zur Mundhöhle und mit potenziellen Wirkstoffen aus Zahnpflegeprodukten auszuschließen. Um die Bedingungen auf allen Proben anzugleichen, wurden die Schmelzproben vor den Experimenten geschliffen und poliert. Durch die Begradigung der Schmelzoberflächen wurde außerdem die profilometrische Messung vereinfacht.

Zur Simulation der erosiven Säureeinwirkung wurde 0,5 %-ige Zitronensäure für zwei Minuten angewendet, da sie mit einem durchschnittlichen pH-Wert von 2,5 in etwa den pH-Werten von säurehaltigen Erfrischungsgetränken entspricht, z. B.: Coca Cola: 2,4; Fanta Orange: 2,7 [Lussi et al., 2019]. Die zweiminütige Anwendung zur Simulation eines Säureangriffs wird von Wiegand und Attin empfohlen [Wiegand und Attin, 2011].

Die Zusammensetzung der Remineralisationslösung wurde so gewählt, dass sie dem natürlichen Speichel des Menschen möglichst ähnlich war. Die Konzentration an verschiedenen Kationen (z. B. Natrium, Kalium, Kalzium) und Anionen (z. B.: Chlorid, Phosphat) entsprach etwa den im Durchschnitt beim Menschen gemessenen Konzentrationen [Ferguson, 1989].

Die Zahnpasten zur Simulation der täglichen Mundhygiene, wurden im Verhältnis 1:3 nach Gewicht mit Remineralisationslösung bzw. *Aqua dest.* verdünnt, da dieses in etwa der Verdünnung der Zahnpaste beim Zähneputzen entspricht [Manly & Schickner, 1944]. Da die Mundspüllösungen laut den Herstellerangaben in größeren Mengen von 10 bis 20 ml und nur für eine Zeit von 20 bis 30 Sekunden angewendet werden sollen, ist bei der Anwendung die Verdünnung durch den Speichel zu vernachlässigen. Dementsprechend wurden die Mundspüllösungen ohne vorherige Verdünnung angewendet.

## 5.4.2 Durchführung der Versuche

### Bestimmung des Substanzverlustes

Bei der Bestimmung des Substanzverlustes wurden Schmelzproben in einem De-/Remineralisationsmodell behandelt.

Die sechsmalige Säureeinwirkung durch die Zitronensäure simulierte die Säureexpositionen durch Haupt- und Zwischenmahlzeiten. Da sowohl während der De- als auch der Remineralisation die Ausrichtung der Proben in Bezug auf die Schwenkrichtung eine wichtige Rolle spielt, wurden die Probenhalter so ausgerichtet, dass die Schwenkrichtung senkrecht zur Längsachse der Probenhalter und senkrecht zur Grenze zwischen Proben- und Referenzbereich war [Ganss et al., 2012]. Um einerseits die chemischen Einflüsse der Slurries und andererseits die physikochemischen Einflüsse des Zähneputzens zu simulieren und miteinander vergleichen zu können, wurde die eine Hälfte der Proben für zwei Minuten mit den Slurries behandelt und die andere Hälfte innerhalb der zweiminütigen Einwirkzeit zusätzlich für 15 Sekunden gebürstet. Die zweiminütige Slurryeinwirkzeit und die 15-sekündige Bürstzeit entsprachen den Versuchszeiten von Vorgängerstudien der Arbeitsgruppe. Das Auflagegewicht von 200 g entsprach in etwa der durchschnittlichen Kraft von 2,3 N, die beim Zähneputzen durch nicht instruierte Erwachsene angewendet wird [Ganss et al., 2009]. Die meisten In-vitro-Studien verwenden eine Kraft zwischen 1,5 N und 2,5 N [Wiegand und Attin, 2011]. Die Mundspüllösungen wurden, wie es die Hersteller empfehlen, nach dem Zähneputzen (Slurry-/Bürst-Prozedere) angewendet. Die Zahnpastenanwendung erfolgte hierbei mit der wirkstofffreien Negativkontrollzahnpaste, um auch bei diesen Proben Abrasionszyklen zu simulieren. Um die Zahnpflegeprodukte besser miteinander vergleichen zu können, wurde außerdem die empfohlene Einwirkdauer der Mundspüllösungen von 20 bis 30 Sekunden auf zwei Minuten verlängert.

### Morphologische Strukturanalyse

Um zu untersuchen, ob es durch die Testprodukte zu morphologischen Veränderungen zuvor erodierter Schmelzoberflächen kommt, wurden angeätzte Proben verwendet. Die Erzeugung des Ätzmusters fand durch zweiminütiges Ätzen der Schmelzproben mit 35 %iger Phosphorsäure statt. In einem Vorversuch wurden Schmelzproben für unterschiedliche Zeitintervalle angeätzt und die zweiminütige Ätzung zeigte das gleichmäßigste Ätzmuster. Die Einwirkdauer der Versuchsprodukte wurde analog zu den Versuchen der Substanzverluste auf

2 Minuten festgelegt. Die Anzahl der Anwendungen wurde auf drei erhöht, um mögliche Wirkeffekte sicher detektieren zu können. Um einerseits die alleinigen Wirkeffekte und andererseits die Wirkeffekte in Kombination mit Speichel in der Mundhöhle zu simulieren, wurde die eine Hälfte der Proben des In-vitro-Versuchsteils mit *Aqua dest.*-Slurries behandelt und in *Aqua dest.* gelagert und die andere Hälfte mit Remineralisationslösungs-Slurries behandelt und in Remineralisationslösung gelagert. Für die genauere Analyse der Wirkeffekte unter physiologischen Mundbedingungen fand außerdem ein In situ-Versuchsteil mit intraoralen Probenhaltern statt. Das Tragen von intraoralen Probenhaltern ermöglicht es, den Versuchsablauf unter den physiologischen Bedingungen in der Mundhöhle durchzuführen und wird bei In situ-Studien standardmäßig eingesetzt [Wiegand und Attin, 2011]. Um eine gleiche Dosierung bei allen Probanden und Versuchsprodukten und eine unvoreingenommene Anwendung zu gewährleisten, wurden die Produkte auf 0,5 g bzw. 10 ml vordosiert (Abbildung 3.5) und verblindet ausgegeben. Auch alle Auswertungen wurden verblindet durchgeführt.

### 5.4.3 Analyse- und Messmethoden

Um die Wirkeffekte der Versuchsprodukte möglichst umfassend zu analysieren, wurden in den Versuchen die Profilometrie, die Rasterelektronenmikroskopie (REM) und die energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) verwendet. Außerdem wurden die relevanten Parameter der Zahnpflegeprodukte bestimmt und untersucht. Die partikuläre Phase wurde mit der REM und der EDX untersucht und die pH-Werte, die Fluoridkonzentrationen und die Konzentrationen der Kalziumionen gemessen. Die RDA- und REA-Werte wurden von Prof. Dr. Anderson Hara am Oral Health Research Institute der Indiana University School of Dentistry bestimmt.

Da Profilometrie, REM, EDX, pH-Wertbestimmung mit pH-Elektrode und Fluoridkonzentrationsanalysen mit Fluoridelektrode zu etablierten Verfahren der Arbeitsgruppe gehören, soll hier nur auf die Bestimmung der Konzentration an Kalziumionen eingegangen werden.

#### **Bestimmung der Konzentration an Kalziumionen**

Da es zur Untersuchung des Kalziumgehalts in Zahnpflegeprodukten nach jetzigem Stand nur eine weitere Studie gibt [Brito et al., 2015], in der die Konzentration mit der Atomabsorptionsspektroskopie ermittelt wurde, gibt es noch kein einheitliches Vorgehen bei

der Bestimmung von Kalziumkonzentrationen in Zahnpasten.

Zur Bestimmung der Konzentration an Kalziumionen in den Zahnpflegeprodukten wurden die Zahnpasten mit *Aqua dest.* verdünnt, um keine Veränderung der Konzentration durch das in der Remineralisationslösung enthaltene Kalzium zu verursachen. Da in der Spektroskopie nur klare Lösungen untersucht werden können und nur das Kalzium in der wässrigen Phase bestimmt werden sollte, wurden die Lösungen zentrifugiert. Das partikuläre Sediment wurde verworfen und der wässrige Überstand wurde mit Salzsäure versetzt, um alle Kalziumionen aus ihren möglichen Verbindungen zu lösen. Anschließend wurde die Konzentration mit der optischen Emissionsspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICPOES) bestimmt.

## 5.5 Diskussion der Substanzverluste

### 5.5.1 Wirkstoffeffekte

Um die alleinigen Effekte der Wirkstoffe in den Testprodukten zu untersuchen, wurde bei der einen Hälfte der Schmelzproben in dem Versuch zu den Substanzverlusten die Slurries ohne Bürsten angewendet.

#### Hydroxylapatitformulierungen

Die Zahnpasten Biorepair und Karex, die Hydroxylapatit als alleinigen Wirkstoff angegeben haben, erzielten unterschiedliche Ergebnisse. Während die Anwendung von Karex den Substanzverlust gegenüber der Negativkontrollzahnpaste signifikant um 50 % erhöhte, ergab die Anwendung von Biorepair keinen signifikanten Unterschied. Auch die Mundspüllösung Zahnmilch erzielt keinen signifikanten Unterschied. In anderen Studien konnten, ähnlich wie hier, keine oder nur sehr geringe substanzverlustminimierende Effekte von Hydroxylapatitformulierungen festgestellt werden [Ganss et al., 2016; Ganss et al., 2011; Tschoppe et al., 2011].

Da der menschliche Zahnschmelz zu einem sehr großen Anteil aus Hydroxylapatit besteht, liegt es nahe, Hydroxylapatit in der Zahnpflege einzusetzen. Hydroxylapatit könnte den erosiven Zahnhartsubstanzverlust minimieren, indem es Präzipitate auf der Zahnoberfläche etabliert (siehe 0

Die Wirkstoffe im Anwendungsgebiet Erosionsschutz am Zahnschmelz).

Auf Grund der Packungsdichte von Kristallen sind sie im Gegensatz zu amorphen Substanzen schwerer löslich. Damit Hydroxylapatit den Zahnschmelz adäquat gegenüber säurebedingten Zahnhartsubstanzverlusten schützen kann, sollte es folglich in möglichst hochkristalliner Form vorliegen und kristalline Präzipitate auf der Zahnoberfläche bilden. Allerdings ist nicht geklärt in welcher Form der Wirkstoff Hydroxylapatit in den Zahnpflegeprodukten vorliegt. Laut den Herstellerangaben liegt das Hydroxylapatit in Reinform oder zinks substituiert als Feststoff vor. Bei der rasterelektronischen Untersuchung der partikulären Phasen der hydroxylapatithaltigen Zahnpasten konnten keine Hydroxylapatitkristalle nachgewiesen werden. Allerdings war der Kalzium- und Phosphorgehalt auf den Partikeln erhöht und auch in der wässrigen Phase von Biorepair war eine höhere Konzentration an Kalzium nachweisbar. Diese Erkenntnisse lassen darauf schließen, dass Hydroxylapatit in den Zahnpflegeprodukten nicht als hochkristallines Mineral vorliegt, sondern eher als amorphes Kalzium-Phosphat, das teilweise in Lösung vorliegt und teilweise auf der partikulären Phase präzipitiert. Auch in der nach jetzigem Kenntnisstand einzigen anderen Studie bezüglich der Zusammensetzung von hydroxylapatithaltigen Zahnpflegeprodukten wurden unter anderem die Inhaltsstoffe von Biorepair Zahnpaste und Biorepair Mundspüllösung untersucht [Peetsch und Epple, 2011]. Hierbei konnten Zink-substituierte Kalzium-Phosphat-Partikel in kugelig bis amorpher Form festgestellt werden. Die einzelnen Partikel waren allerdings geringgradig kristallin und wiesen eine Größe von 30 nm bis 60 nm auf, wobei sich die einzelnen Partikel in wässriger Dispersion zu größeren Konglomeraten aggregierten. In der Studie wurden außerdem die Gewichtsprozent-Verhältnisse der Kalzium-Phosphat-Partikel bestimmt, die bei 1,89 (Biorepair Zahnpaste) und 1,27 (Biorepair Mundspüllösung) lagen. Diese Ergebnisse lassen allerdings auch eher auf einfaches Kalzium-Phosphat-Mineral als auf hochstrukturiertes, kristallines Hydroxylapatit schließen (vergleiche 5.1.1 Chemische Eigenschaften).

Auch in Bezug auf die Kristallinität von Präzipitaten liegen Ergebnisse vor. So stellten bei der oben erwähnten Studie von Roveri et al. die Autoren fest, dass die Ablagerungen im Vergleich zum Zahnschmelz geringer kristallin waren und sehr leicht säurelöslich [Roveri et al., 2009]. Ein adäquater Schutz durch mögliche Präzipitationen kann folglich nicht erwartet werden.

Bei der Betrachtung der Inhaltsstoffe der Hydroxylapatitformulierungen ist auffällig, dass die rein hydroxylapatithaltigen Produkte alle, mit Ausnahme der Zahnmilch, Tetrakaliumpyrophosphat enthalten. Tetrakaliumpyrophosphat wird zur Pufferung und als Chelator eingesetzt. Es verhindert die Ausfällung von Mineralien und wird den Zahnpasten wahrscheinlich zugegeben, um zu verhindern, dass es zu Ausfällungen von Kalzium-

Phosphaten in der Zahnpaste kommt. Gleichzeitig verhindern Pyrophosphate die Bildung von Zahnstein [Mandel, 1995]. Durch die Zugabe von 3,3 % Pyrophosphat zu einer Zahnpaste konnte an 217 Probanden über einen Zeitraum von zwei Monaten die Zahnsteinbildung um 26 % reduziert werden [Mallatt et al., 1985]. Zahnstein entsteht durch Kalzifikation von dentaler Plaque, also durch die Einlagerung und Präzipitation von Mineralien in den Biofilm. Fleisch und Bisaz identifizierten Pyrophosphat als Inhibitor für die Präzipitation von Hydroxylapatit [Fleisch & Bisaz, 1962]. Fleisch et al. stellten außerdem fest, dass Pyrophosphate die Umwandlung von amorphem Kalzium-Phosphat in Hydroxylapatit verhindern [Fleisch et al., 1968]. Es ist daher anzunehmen, dass das in den Zahnpasten enthaltene Tetrakaliumpyrophosphat die Ausfällung von Kalzium-Phosphaten in der Zahnpaste verhindern soll. Gleichzeitig inhibiert es allerdings auch eine Präzipitation von Kalziumphosphaten an der Zahnoberfläche. Dieser Inhaltsstoff könnte somit den Wirkmechanismus von Hydroxylapatit verhindern und daher ein Grund für die höheren Substanzverluste bei den hydroxylapatithaltigen Zahnpasten sein.

Nun stellt sich die Frage, wodurch bei der Anwendung von Karex eine Erhöhung des Substanzverlustes stattgefunden hat. Bei Betrachtung der Inhaltsstoffe von Karex, Biorepair und Zahnmilch, sind in der Zusammensetzung der Produkte keine besonderen Stoffe auffällig. Alle Produkte enthalten neben den identischen Inhaltsstoffen Wasser, Glycerin, hydrierte Silica, Silica, Aroma, Carboxymethylcellulose, Natriummethylcocoylaurat und Tetrakaliumpyrophosphat noch verschiedene Geschmacks- und Duftstoffe, Feuchthaltemittel, Puffersysteme und Konservierungsmittel. Auch die Analyse der pH-Werte gibt wenig Aufschluss über eine mögliche Ursache, da die Werte im neutralen Bereich zwischen 6,6 (Zahnmilch) und 7,6 (Biorepair) liegen. Auffälliger ist hier die Betrachtung der Konzentration an Kalziumionen in den Zahnpflegeprodukten. So wies Karex mit nur 80 ppm einen deutlich geringeren Kalziumgehalt als Biorepair und Zahnmilch mit 436 ppm und 497 ppm auf. In Kuhmilchserum lassen sich ähnliche Kalziumkonzentrationen zwischen 500 ppm und 550 ppm feststellen [Akkerman et al., 2019]. Im Vergleich hierzu liegt der Kalziumgehalt im angeregten Speichel bei 31 ppm und im nicht stimulierten bei 60 ppm [Ferguson, 1989]. Dass Kalzium den erosiven Zahnhartsubstanzverlust gegenüber der Kontrollgruppe bzw. dem Placebo reduzieren kann (30 - 35 %), konnte in zwei Studien gezeigt werden [Piekarz et al., 2008; Rees et al., 2007]. Allerdings wurde Kalzium hier hochkonzentriert in Form von CPP-ACP (Casein Phosphopeptid – Amorphes Kalziumphosphat) angewendet. Der zusätzliche Gehalt an Kalzium in Biorepair könnte die Substanzverlustminimierung gegenüber Karex zumindest teilweise erklären.

Unter Berücksichtigung der oben angeführten Studien und der hier vorliegenden Ergebnisse, kann festgestellt werden, dass Hydroxylapatitformulierungen nicht in der Lage sind den Substanzverlust in einem Erosionsmodell zu reduzieren. Falls es möglich ist, durch Anwendung dieser Produkte eine Mineralschicht auf der Zahnoberfläche zu präzipitieren, schützt diese Schicht nicht vor erosiven Zahnhartsubstanzenverlusten und ist auch nicht in der Lage die Schmelzoberfläche in ausreichendem Maße zu remineralisieren oder zu reparieren. Es stellt sich sogar die Frage, ob einzelne Inhaltsstoffe einen möglichen Wirkmechanismus verhindern oder ob sogar Kuhmilch mit 500 ppm bis 550 ppm Kalzium einen ähnlichen Wirkeffekt aufweisen würde.

### **Fluorid- und hydroxylapatithaltige Produkte**

Die Kombinationszahnpasten Apacare und Prokudent, die sowohl Hydroxylapatit als auch Fluorid enthalten, erzielten auch unterschiedliche Ergebnisse. Während die Anwendung von Prokudent den Substanzverlust gegenüber der Negativkontrollzahnpaste signifikant um 67 % erhöhte, ergab die Anwendung von Apacare eine nicht signifikante Substanzverlustreduktion von 16 %. Im Gegensatz hierzu konnte in anderen älteren Studien die Zahnpaste Apacare den Substanzverlust gegenüber der Negativkontrolle signifikant um 42 % bis 48 % minimieren [Ganss et al., 2016; Ganss et al., 2011].

Bei der Kombination von Fluorid mit Kalziumverbindungen ergibt sich die Problematik, dass Fluorid- und Kalziumionen bereits in dem Produkt zu Kalziumfluorid reagieren und somit nicht mehr bioverfügbar sind [Eggert & Neubert, 1999]. Bei Prokudent scheint dies der Fall zu sein. In dem Slurry von Prokudent war die Verfügbarkeit der Fluoridionen gegenüber der Deklaration der Zahnpaste um das 8-fache reduziert, während die Konzentration der Fluoridionen im Slurry von Apacare entsprechend der Verdünnung bei der Herstellung der Slurries nur um das 3-fache verringert wurde. In Apacare stehen somit die Fluoridionen voll zur Verfügung. Die bessere Verfügbarkeit der Fluoridionen scheint durch eine neue Zusammensetzung der Zahnpaste Apacare bedingt zu sein, da in einer älteren Studie, in der für Apacare die Inhaltsstoffe angegeben sind, lediglich 15 % der deklarierten 1450 ppm in der Zahnpaste nachgewiesen werden konnten [Grunau, 2016]. Ein neuer Inhaltsstoff ist das oben erwähnte Tetrakaliumpyrophosphat. Da es als Chelator fungiert, kann es die Reaktion der Kalzium- und Fluoridionen verhindern. Gleichzeitig kann es allerdings auch das schlechtere Ergebnis von Apacare in dieser Studie gegenüber der oben erwähnten älteren Studien von Ganss et al. erklären. Das Pyrophosphat verhindert möglicherweise zwar die Reaktion von Fluorid und Kalzium, aber gleichzeitig auch die Präzipitation und Mineralisation an der

Zahnoberfläche.

Der höhere Substanzverlust durch Prokudent gegenüber Apacare könnte einerseits durch die geringere Verfügbarkeit von Fluorid und andererseits durch eine höhere Konzentration an Pyrophosphaten erklärt werden. So steht Tetrakaliumpyrophosphat bei den Inhaltsstoffen in Prokudent an sechster Stelle und in Apacare erst an 14. Stelle. Auf kosmetischen Produkten, zu denen auch Zahnpasten gezählt werden, müssen keine definitiven Mengenangaben der Inhaltsstoffe deklariert werden, allerdings wird die angegebene Reihenfolge durch die prozentualen Anteile der Inhaltsstoffe bestimmt. Daher kann man durch die Reihenfolge zumindest in etwa die enthaltene Menge abschätzen. Zusätzlich enthält Prokudent noch Dinatriumpyrophosphat, das wahrscheinlich in ähnlicher Weise wie Tetrakaliumpyrophosphat wirkt. Der nun auftretende widersprüchliche Zusammenhang, dass Prokudent trotz des höheren Pyrophosphatgehalts eine geringe Fluoridverfügbarkeit aufweist, zeigt die Komplexität der Zahnpastenformulierungen und kann eventuell durch eine größere Menge Hydroxylapatit in Prokudent erklärt werden. Bei den Inhaltsangaben von Prokudent steht Hydroxylapatit bereits an zweiter Stelle und bei Apacare erst auf Platz sieben. Das zusätzliche Hydroxylapatit würde außerdem den erhöhten Kalziumgehalt in der flüssigen Phase von Prokudent erklären.

Die Kombination von Fluorid mit Hydroxylapatit scheint nach jetzigem Stand keine Vorteile zu bringen. Um eine vorzeitige Reaktion von Fluorid mit dem Hydroxylapatit zu vermeiden, müssen Substanzen hinzugefügt werden, die ihrerseits wiederum den möglichen Wirkmechanismus von Hydroxylapatit inhibieren.

### **Zinnhaltige Produkte**

Die zinnhaltige Positivkontrollzahnpaste und Positivkontrollmundspüllösung konnten den Substanzverlust gegenüber der Negativkontrollzahnpaste um 47 % und 83 % signifikant reduzieren. Ähnliche Ergebnisse (45 % bis 100 %) konnten auch in anderen Studien durch die Anwendung von zinnhaltigen Produkten erzielt werden [Ganss et al., 2016; Algarni et al., 2015; Ganss et al., 2011; Schlueter et al., 2010; Schlueter et al., 2009a; Wiegand et al., 2009; Ganss et al., 2008; Hooper et al., 2007; Hove et al., 2007].

Babcock et al. konnten bereits 1978 zeigen, dass bei der Reaktion von Zinnfluorid mit Hydroxylapatit säurestabileres  $\text{Sn}_2\text{OHPO}_4$ ,  $\text{Sn}_3\text{F}_3\text{PO}_4$  und  $\text{Ca}(\text{SnF}_3)_2$  entsteht [Babcock et al., 1978]. Zinnfluoride können einerseits bei hohen Konzentrationen Niederschläge auf der Zahnoberfläche bilden und andererseits kann sich bereits bei niedrigen Konzentrationen Zinn in die Schmelzoberfläche einlagern. So konnten Ganss et al. Niederschläge auf der

Schmelzoberfläche von 1 - 3 Gew.% messen [Ganss et al., 2012]. Auch Schlüter et al. konnten Niederschläge auf der Zahnoberfläche detektieren und außerdem zeigen, dass unter erosiven Bedingungen eine Einlagerung von Zinn in die Schmelzoberfläche bis zu einer Tiefe von 20 µm stattfinden kann [Schlueter et al., 2009a]. Dass erosive Bedingungen, d.h. ein niedriger pH-Wert, die Effektivität von zinnhaltigen Produkten beeinflusst, vermuteten auch Hove et al. [Hove et al., 2014]. Daher weisen auch die hier verwendeten zinnhaltigen Produkte einen niedrigen pH-Wert von 4,8 (Positivkontrollzahnpaste) und 4,6 (Positivkontrollmundspüllösung) auf.

Im Gegensatz zu anderen Ionen wie Kalzium, Natrium oder Magnesium weist Zinn eine höhere Elektronegativität auf und reagiert somit schneller und einfacher mit anderen Stoffen. Dieses zeigt auch die EDX-Analyse der partikulären Phase der Positivkontrollzahnpaste. So konnte hier ein erhöhter Zinngehalt auf den Partikeln festgestellt werden. Um zu verhindern, dass ein Großteil der Zinnionen bereits in der Verpackung reagiert und als schwerlösliches Salz ausfällt, werden den zinnhaltigen Zahnpflegeprodukten besondere Substanzen beigefügt. In der Positivkontrollzahnpaste stellt wahrscheinlich Phosphocolamin diese Substanz dar. In der Positivkontrollmundspüllösung wird Aminfluorid als Stabilisator eingesetzt [Mühlemann & Schmid, 25.09.1980]. Da in der Mundspüllösung keine Partikel und auch weniger andere aktive Inhaltsstoffe zu finden sind, können die Zinnionen nicht so leicht Verbindungen mit anderen Substanzen eingehen und stehen an der Zahnoberfläche in höheren Konzentrationen zur Verfügung. Der geringere Partikelgehalt mit der höheren Verfügbarkeit und die damit verbundene höhere Aufnahme an Zinn in die Schmelzoberfläche können den überlegenen Effekt der Positivkontrollmundspüllösung gegenüber der Positivkontrollzahnpaste erklären [Jung, 2014].

Insgesamt lässt sich festhalten, wie auch im Consensus-Report der European Federation of Conservative Dentistry beschrieben, dass zinnhaltige Zahnpflegeprodukte den Goldstandard in der Erosionstherapie darstellen [Carvalho et al., 2015]. Allerdings scheinen Mundspüllösungen, wie auch in dieser Studie, den Zahnpasten überlegen zu sein [Ganss et al., 2016; Ganss et al., 2011].

### 5.5.2 Wirkstoffeffekte unter Bürstabrasion

Um die Effekte der Wirkstoffe unter physiologischen und physikalischen Einflüssen zu untersuchen, wurde die andere Hälfte der Versuchsproben bei der Bestimmung des Substanzverlustes zusätzlich gebürstet.

#### Hydroxylapatitformulierungen

Bei den Hydroxylapatitformulierungen Biorepair, Karex und Zahnmilch konnte unter zusätzlicher Bürstabrasion eine Zunahme der Substanzverluste gegenüber der alleinigen Immersion festgestellt werden.

Die Zahnpasten Biorepair und Karex erhöhten gegenüber der Negativkontrollzahnpaste den Substanzverlust um 34 % und 81% signifikant. Die Mundspüllösung Zahnmilch erzielt keinen signifikanten Unterschied gegenüber der Negativkontrollzahnpaste. In drei anderen Studien zeigte Biorepair unter Bürstabrasion eine Substanzverlustzunahme gegenüber der Negativkontrolle von 0 bis 16 % [Ganss et al., 2016; Ganss et al., 2011; Tschoppe et al., 2011]. Für die anderen beiden Produkte sind bisher keine Ergebnisse bekannt.

#### Fluorid- und hydroxylapatithaltige Produkte

Auch bei den Kombinationsprodukten Apacare und Prokudent konnte unter zusätzlicher Bürstabrasion eine Zunahme der Substanzverluste gegenüber der alleinigen Immersion gemessen werden.

Die Kombinationsprodukte Apacare und Prokudent zeigten auch unter zusätzlichem Bürsten gegenüber der Negativkontrollzahnpaste unterschiedliche Ergebnisse. Während bei der Anwendung von Prokudent der Substanzverlust um 47 % signifikant anstieg, ergab sich für die Anwendung von Apacare eine nicht signifikante Substanzverlustreduktion um 9 %. Für Apacare konnten ähnliche Ergebnisse (11 % bis 42 % Substanzverlustreduktion) in anderen Studien festgestellt werden [Ganss et al., 2016; Ganss et al., 2011]. Von Prokudent sind bisher keine weiteren Ergebnisse bekannt.

### **Zinnhaltige Produkte**

Die zinnhaltige Positivkontrollzahnpaste erzielte unter zusätzlicher Bürstabrasion einen erhöhten Substanzverlust, während bei der Positivkontrollmundspüllösung kein signifikanter Unterschied gegenüber der alleinigen Immersion festgestellt werden konnte.

Auch gegenüber der Negativkontrolle Nenendent wurden unterschiedliche Ergebnisse erzielt. Während die Positivkontrollzahnpaste den Substanzverlust um 17 % nicht signifikant verringerte, zeigte die Positivkontrollmundspüllösung als alleiniges Produkt einen signifikant erhöhten Wirkeffekt von 88 %. Zinnhaltige Produkte erreichten auch in anderen Studien die besten Ergebnisse mit einer Reduktion von 60 % bis 77 % [Ganss et al., 2016; Comar et al., 2012; Ganss et al., 2012; Ganss et al., 2011].

### **Wirkstoffeffekte versus Bürstabrasion**

Wie oben zu erkennen, erhöhte das zusätzliche Bürsten bei fast allen Produkten den Substanzverlust gegenüber der alleinigen Immersion. Lediglich bei der Anwendung der Positivkontrollmundspüllösung war kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Positivkontrollmundspüllösung erzielte auch in einer anderen Studie unter denselben Bedingungen nur sehr geringe Unterschiede zwischen den Behandlungsarten [Ganss et al., 2011].

Die physikalischen Faktoren bei der Bürstabrasion bestehen einerseits in der Bewegung der Zahnbürstenborsten über die Probenoberfläche und andererseits in den Abrasionseffekten der in den Zahnpasten enthaltenen Partikel. Der erhöhte Substanzverlust wird somit durch die Kombination aus Zahnbürste und Zahnpaste verursacht [Wiegand & Schlueter, 2014]. Da bei allen Versuchsprodukten eine identische Zahnbürste zum Einsatz kam, rücken die Abrasiva der Zahnpasten in den Fokus.

Dabei können die Größe, Form, Oberflächenbeschaffenheit und Menge der Abrasiva den Substanzverlust beeinflussen [Zantner & Kielbassa, 2002]. Daher wurden die Partikel der Zahnpasten mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops untersucht und der Partikelanteil der Produkte ermittelt. Zusätzlich wurde die Zusammensetzung der Partikeloberflächen mit der energiedispersiven Röntgenspektroskopie bestimmt.

Die Untersuchung der partikulären Phase ergab allerdings, dass sich die Partikel in Größe, Form und Oberflächenbeschaffenheit nicht unterschieden. In allen Pasten war eine Vielzahl an Partikeln zwischen 10 µm und 50 µm zu finden. Aber auch vereinzelte Abrasiva kleiner 10 µm

und größer 50 µm waren in allen Produkten vorhanden. In dieser Größenordnung konnten auch Scherge et al. Putzkörper in Zahnpasten nachweisen [Scherge et al., 2013]. Studien zur Abrasivität zeigten bei Partikeln bestimmter Größen einen lineareren Zusammenhang zwischen Partikelgröße und Substanzverlust [Coronado, 2012; Cong et al., 2009]. Da jedoch alle Zahnpasten gleiche Größen an verschiedenen Partikeln aufwiesen, ist hier kein Zusammenhang zwischen Zahnhartsubstanzverlust und Abrasivagröße festzustellen.

Auch die Form und Oberflächenbeschaffenheit der Partikel variierte zwischen den Produkten nicht. Laut König können Abrasiva entweder kristallin und scharf oder amorph und abgerundet sein [König, 2002]. Auch in dieser Studie konnten Partikel mit verschiedenen Formen, abgerundet, kantig und wolkig, und auch mit verschiedener Oberflächenbeschaffenheit, glatt und mit Präzipitaten bedeckt, festgestellt werden. Diese Variationen waren jedoch in allen untersuchten Zahnpasten zu sehen. Eine mögliche Korrelation zum Substanzverlust ist daher nicht erkennbar.

Auch der Partikelgehalt wies keine lineare Korrelation zum Substanzabtrag auf. Dies ist nachvollziehbar, wenn bedacht wird, dass auch die Verdünnung der Zahnpasten und damit eine geringere Konzentration an Partikeln keinen Einfluss auf den Schmelzabtrag hervorruft [Franzò et al., 2010]. Auch Ganss et al. konnten in der Größenordnung der hier vorliegenden Werte keinen Zusammenhang zwischen Partikelgehalt und Substanzverlust feststellen [Ganss et al., 2017]. Lediglich bis zu einem Putzkörpergehalt von 10 % war der Zusammenhang zwischen dem Substanzverlust und dem Putzkörpergehalt linear.

Neben der Größe, Form, Oberflächenbeschaffenheit und Menge hat die Art der Partikel einen Einfluss auf die Abrasivität. Hierbei werden ganz unterschiedliche Abrasiva eingesetzt, wie zum Beispiel: Aluminiumoxidtrihydrat, Aluminiumoxid, Kalziumcarbonat (Kreide), Kalziumpyrophosphat, Kalziumhydrogenphosphatdihydrat, Kieselsäure, Methaphosphate [Zantner und Kielbassa, 2002], Silica und Polyethylenkörper [Scherge et al., 2013], wobei der Schwerpunkt auf Silica und Kalziumcarbonat-Präparaten liegt, welche in Konzentrationen zwischen 8 Gew.% und 20 Gew.% enthalten sein können. Stärker abrasive Stoffe wie Alumina werden nur in 1 - 2 Gew.% eingesetzt [Lippert, 2013]. Silica ( $\text{SiO}_2 \cdot n \text{H}_2\text{O}$ ) oder auch „hydrierte Silica“ sind Silizium-Sauerstoff-Verbindungen, welche im Gegensatz zum reinen Siliziumdioxid ( $\text{SiO}_2$ ) keine kristalline Struktur aufweisen und stets Wasser eingelagert haben oder chemisch gebundene OH-Gruppen aufweisen [Enax & Epple, 2018a]. Alle hier untersuchten Zahnpasten enthielten laut Herstellerangaben Silica oder hydrierte Silica als Abrasiva. Die EDX-Analyse der partikulären Phase konnte dieses bestätigen und zeigte auf den Partikeln der Negativkontrollzahnpaste, der Positivkontrollzahnpaste und der

Kombinationszahnpaste Apacare Silizium-Sauerstoff-Verhältnisse zwischen 1,76 und 1,95. Die erhöhten Werte gegenüber dem errechneten Verhältnis bei Siliziumdioxid von 1,14 sprechen für die Einlagerung von Wasser und die Einbindung der chemisch gebundenen OH-Gruppen in die Quarzstruktur. Die Hydroxylapatitformulierungen Biorepair und Karex und die Kombinationszahnpaste Prokudent zeigten allerdings stark erhöhte Werte, die zwischen 2,37 und 3,46 lagen. Außerdem waren die Silizium-Werte um 14,5 % bis 42,3 % geringer als bei der Negativkontrollzahnpaste. Die Reduzierung der Silizium-Werte und die stärkere Erhöhung der Silizium-Sauerstoffverhältnisse bei Biorepair, Karex und Prokudent lassen vermuten, dass sich neben der Einlagerung von Wasser Ablagerungen auf den Abrasiva befanden. Auf Grund des negativen Zeta-Potenzials der Abrasiva bei pH-Werten von 2 bis 10 lagern sich vor allem positiv geladene Partikel wie zum Beispiel Kalzium an [Kim & Lawler, 2005]. Dieses wird auch durch den erhöhten Kalziumgehalt an der Oberfläche der Partikel von diesen drei Zahnpasten bestätigt. Hinzu kommt, dass sich nach Waschen dieser partikulären Phase mit Salzsäure Verhältnisse von Silizium zu Sauerstoff zwischen 1,5 und 1,69 einstellten, was denen normaler Silica entspricht. Da Salzsäure eine starke Säure ist, löst sie mineralische Präzipitate auf der Oberfläche auf und die darunter befindlichen Silica werden sichtbar. Es kann somit schlussgefolgert werden, dass Biorepair, Karex und Prokudent entweder beschichtete Partikel enthalten oder sich Hydroxylapatit (Kalzium-Phosphat-Verbindung), welches in diesen Zahnpasten enthalten ist, auf der Oberfläche der Partikel abgelagert. In der Zahnpaste Apacare scheinen keine beschichteten Partikel Verwendung zu finden oder Mechanismen vorzuliegen, die eine Präzipitation verhindern.

Auch Zinn, das in der Positivkontrollzahnpaste enthalten ist, lagert sich an die Silica an [Ganss et al., 2012]. Die Anlagerung wird auch hier durch das negative Zeta-Potenzial der Abrasiva bei einem pH-Wert von 2 bis 10 bedingt [Kim und Lawler, 2005]. So wurde auch auf den Partikeln der Positivkontrollzahnpaste in dieser Studie eine erhöhte Konzentration an Zinn festgestellt, welche sich nach dem Waschen der partikulären Phase mit Salzsäure reduzierte.

In diesem Zusammenhang werden auch die RDA- und REA-Werte interessant. Die Werte sollen Aufschluss über die Abrasivität einer Zahnpaste geben. Allerdings werden zur Bestimmung gesunde Schmelz-/Dentinproben verwendet, nicht jedoch erodierte Proben. Bei erodierten Schmelzproben korreliert die Abrasionsstabilität mit der Mikrohärtigkeit der Oberfläche [Attin et al., 1997] und die Mikrohärtigkeit wiederum ist abhängig von der Demineralisation der Proben. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Abrasion über die gesamte Putzdauer nicht konstant ist, sondern am Anfang des Putzvorganges recht hoch und mit steigender Putzzeit abnimmt. Daher stellt sich die Frage, inwieweit die RDA- oder die REA-Werte zur Beurteilung

der Abrasivität bei Erosionen geeignet sind. Ganss et al. hatten hierzu den erosiven Substanzverlust in Relation zu den RDA- und REA-Werten gesetzt [Ganss et al., 2016]. Es konnte festgestellt werden, dass sowohl RDA- als auch REA-Werte im mittleren Bereich (RDA: 30 bis 100; REA: 2 bis 7) keinen wesentlichen Einfluss auf den Substanzverlust haben. Extremwerte oberhalb und unterhalb des mittleren Bereichs wiesen allerdings einen erhöhten bzw. erniedrigten Abtrag auf. Betrachtet man die RDA- und REA-Werte der hier vorliegenden Studie, liegen fast alle in diesem mittleren Bereich und zeigen keine Korrelation zum Substanzverlust.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass sich die Wirkeffekte unter zusätzlicher Bürstabrasion verändern und nicht zwangsläufig von den alleinigen Wirkstoffeffekten auf den Substanzverlust unter physikalischen Einflüssen beim Zähneputzen geschlossen werden kann. Allerdings zeigt sich auch unter zusätzlicher Bürstabrasion, dass die zinnhaltigen Produkte die beste Wirkung aufweisen. Die hydroxylapatithaltigen Versuchsprodukte zeigten gegenüber der Negativkontrollgruppe keinen Effekt bzw. erhöhten sogar den Substanzverlust und sind den zinnhaltigen Produkten unterlegen.

## 5.6 Diskussion der morphologischen Schmelzstrukturen

### 5.6.1 Morphologische Schmelzstrukturen in vitro

Bei der morphologischen Strukturanalyse in vitro wurden Schmelzproben nach der Simulation eines Säureangriffes mit den Versuchsprodukten in vitro behandelt. Die Ergebnisse lassen Rückschlüsse auf den grundlegenden Mechanismus von Hydroxylapatit als Wirkstoff zu, Präzipitate auf erodierten Schmelzoberflächen zu bilden. Die Ergebnisse der morphologischen Strukturanalyse können außerdem teilweise die Ergebnisse der Substanzverlustbestimmung erklären. Zahnpasten werden bei der Anwendung in der Mundhöhle verdünnt, daher wurden die Produkte auch im Experiment mit einer Verdünnung von 1:3 angewendet. Um die Effekte der Präparate an sich zu untersuchen, wurde die eine Hälfte der Slurries mit *Aqua dest.* angesetzt. Da Kalzium und Phosphat, die Bausteine des Hydroxylapatits, bereits im Speichel enthalten sind, wurde die andere Hälfte der Slurries mit Remineralisationslösung verdünnt.

Die Anwendungen der Versuchsprodukte mit *Auqa dest.* ergaben keine eindeutigen Ergebnisse. Bei der statistischen Auswertung konnte eine zufällige Verteilung der sichtbaren

Oberflächenveränderungen festgestellt werden. Daher sind hier keine Zusammenhänge zwischen den Wirkstoffen und Strukturveränderungen erkennbar. Die exemplarische EDX-Analyse von den teilweise vorhandenen abgerundeten Prismen und Kristallen bestätigte diese Annahme und zeigte eine äquivalente Zusammensetzung wie die der unbehandelten Referenzprobe.

Auch Güçlü et al. konnten unter neutralen Bedingungen keine Remineralisation von Schmelzproben durch Hydroxylapatit feststellen [Güçlü et al., 2017]. Im Gegensatz hierzu zeigten Roveri et al., dass die Anwendung von carboniertem Hydroxylapatit zu einer flächigen Bedeckung der Schmelzoberfläche führt [Roveri et al., 2009]. Die Bedeckung ist allerdings nicht so hoch kristallin, wie der Zahnschmelz an sich [Roveri et al., 2009; Roveri et al., 2008]. Ryu et al. konnten eine Remineralisation von Schmelzoberflächen in vitro durch Hydroxylapatit feststellen [Ryu et al., 2009]. Die Schmelzproben wurden hierbei allerdings für drei Monate in einer hydroxylapatithaltigen Lösung gelagert. Dieses entspricht aber nicht den normalen Kontaktzeiten in der Mundhöhle und eine Präzipitation unter physiologischen Bedingungen erscheint daher unwahrscheinlich. Eine weitere Studie konnte zeigen, dass sich bei einer einminütigen Kontaktzeit von polierten Rinderschmelzproben mit zehnprozentiger hydroxylapatithaltiger Lösung eine Verbindung zwischen den Schmelzkristallen und den Hydroxylapatitkristallen ausbildet [Fabritius-Vilpoux et al., 2019]. Ob es sich hierbei allerdings um eine stabile Verbindung handelt, ist nicht klar, da die Proben zur Säuberung nach der Anwendung lediglich für fünf Sekunden in *Aqua dest.* getaucht wurden. Auch zwei Studien zum Whitening-Effekt von Kalzium-Phosphaten konnten eine Ablagerung von Partikeln auf der Schmelzoberfläche feststellen [Jin et al., 2013; Dabanoglu et al., 2009]. In diesen Studien fand allerdings eine dreimalige Kontaktzeit von acht Minuten statt. Außerdem wurden in den vier zuletzt genannten Studien keine erodierten Schmelzproben verwendet.

Für die Kombination von Fluorid und Hydroxylapatit sind nach jetzigem Wissenstand keine Studien bekannt, die die morphologischen Schmelzstrukturen nach Anwendung von Kombinationszahnpasten auf erodierten Schmelzoberflächen in vitro untersuchten.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Anwendung mit *Aqua dest.* waren die Ergebnisse der Anwendungen mit Remineralisationslösung statistisch nicht zufällig verteilt. Biorepair, Apacare und die Negativkontrollzahnpaste wiesen eine eindeutige Veränderung der Schmelzoberfläche auf. Es war ein spongiöses Geflecht zu sehen (siehe Abbildung 4.4). Betrachtet man allerdings die Referenzprobe, die nur mit Remineralisationslösung behandelt wurde, lässt sich auch hier eine ähnliche Oberflächenstruktur erkennen. Auch die

exemplarische EDX-Analyse dieser Proben zeigte starke Ähnlichkeiten der Oberflächenzusammensetzung (siehe 4.4 Energiedispersive Röntgenspektroskopie von Schmelzproben). Daher scheinen die Oberflächenveränderungen bei diesen Produkten eher durch die Anwesenheit der Remineralisationslösung als durch die enthaltenen Wirkstoffe hervorgerufen zu werden. Vergleichsstudien, die dieselbe Remineralisationslösung verwendeten und Schmelzproben rasterelektronenmikroskopisch untersuchten, sind zum jetzigen Zeitpunkt nicht bekannt. Weitere Forschungen, die zeigen, welchen Einfluss die Remineralisationslösung auf die Schmelzstruktur hat und warum diese Veränderung nur bei einigen Produkten zu sehen war, sind erforderlich.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass kein Versuchsprodukt unter den hier gewählten Versuchsbedingungen in der Lage war, Präzipitate auf erodierten Schmelzoberflächen zu bilden. Da allerdings der grundlegende Wirkmechanismus von Hydroxylapatit auf diese Präzipitation auf der Schmelzoberfläche abzielt, lässt sich so auch erklären, warum durch Hydroxylapatitformulierungen keine Reduktion des Substanzverlustes erzielt werden konnte (siehe 4.1 Substanzverluste).

### **5.6.2 Morphologische Schmelzstrukturen in situ**

Bei der morphologischen Strukturanalyse in situ wurden Schmelzproben nach der Simulation eines Säureangriffes mit den Versuchsprodukten in situ behandelt. Da in der Mundhöhle andere Voraussetzungen als in vitro gegeben sind und die Remineralisationslösung, wie oben beschrieben, die Schmelzstruktur veränderte, zeigen die Ergebnisse, ob unter physiologischen Bedingungen in der Mundhöhle der grundlegende Wirkmechanismus von Hydroxylapatit, Präzipitate auf erodierten Schmelzoberfläche zu bilden, abläuft.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse ergab keinen Zusammenhang zwischen Wirkstoffen und Oberflächenveränderung. Die Veränderungen waren statistisch zufällig unter den Versuchsprodukten verteilt. Von einer Präzipitation von Hydroxylapatit unter physiologischen Bedingungen kann daher nicht ausgegangen werden. Auch Kenschke et al. konnten im Jahr 2016 bei einem ähnlichen Versuchsaufbau keine Bildung einer Schutzschicht durch die Anwendung von Biorepair Mundspüllösung feststellen [Kenschke et al., 2016]. Im Gegensatz hierzu konnten Kenschke et al. im Jahr 2017 zeigen, dass sich zumindest vereinzelt Hydroxylapatit-Mikrocluster an Schmelzoberflächen in situ anlagern [Kenschke et al., 2017].

Allerdings konnte auch festgestellt werden, dass diese Anlagerungen nicht stabil waren und es bereits nach zwei Stunden in der Mundhöhle zu einer Desorption der Partikel kam. Eine andere Studie zeigte nach der achtwöchigen Anwendung einer Zink-carbonierten Hydroxylapatitzahnpaste an extrahierten Prämolaren eine annähernd flächige Bedeckung der Zahnoberfläche [Lelli et al., 2014]. Die EDX-Analyse dieser Ablagerung ergab Kalzium und Phosphat im Verhältnis 1,67, welches dem errechneten Verhältnis von nichtstöchiometrischem, synthetischem Hydroxylapatit entspricht. Allerdings fehlen in dieser Studie Angaben zum Ausgangszustand der Zähne, zu der achtwöchigen Mundhygiene der einzelnen Probanden und zur Auswahl der präsentierten Zahnareale.

Ob die Kombination von Fluorid und Hydroxylapatit oder zinnhaltige Produkte auf erodierten Schmelzproben Präzipitate in situ bilden können, ist nach jetzigem Kenntnisstand in keiner anderen Studie untersucht.

Betrachtet man die Oberflächenveränderungen in Bezug auf die einzelnen Probanden, lässt sich hier allerdings ein Zusammenhang feststellen. Die vorhandenen Oberflächenveränderungen scheinen daher mehr durch die Probanden als durch die verschiedenen Wirkstoffe in den Versuchsprodukten bedingt zu sein. Dass mögliche Wirkeffekte von individuellen Faktoren der Probanden abhängig sind, wurde auch bei anderen Studien vermutet [Hove et al., 2014; Huysmans et al., 2011; Hove et al., 2008].

Auffällig bei den aktuellen Ergebnissen sind die mukösen Veränderungen, die vornehmlich bei Schmelzproben des Probanden D auftraten (Abbildung 4.7). Vergleicht man diese Veränderungen mit einer Schmelzprobe, die in situ getragen wurde, ohne mit einem Versuchsprodukt behandelt zu werden, sind hier ähnliche, muköse Veränderungen zu erkennen. Daher scheint diese Oberflächenvariation nicht durch die Versuchsprodukte zu entstehen. Es könnte sich vielmehr um eine mögliche Pellikelakkumulation handeln. Diese Vermutung wird auch durch die exemplarische EDX-Analyse gestärkt. Hierbei konnte gegenüber der Referenzprobe ein erhöhter Kohlenstoffgehalt auf den mukösen Arealen gemessen werden, was die Vermutung stützt, dass es sich hierbei um organische Verbindungen (Pellikel) handelt.

Insgesamt lässt sich also festhalten, dass alle Versuchsprodukte auch in situ unter den hier gewählten Versuchsbedingungen nicht in der Lage sind Präzipitate auf erodierten Schmelzoberflächen zu bilden. Der grundlegende Wirkmechanismus von Hydroxylapatit kann folglich auch in situ nicht bestätigt werden.

## 5.7 Schlussfolgerung

Das Ziel der hier vorliegenden Studie war es, die Effektivität des neuen Wirkstoffs Hydroxylapatit hinsichtlich seiner Wirksamkeit in der symptomatischen Erosionstherapie zu untersuchen. Um den Wirkmechanismus weiter zu erforschen, wurde zusätzlich untersucht, ob die Zahnpflegeprodukte in der Lage sind, Präzipitate auf erodierten Schmelzoberflächen zu bilden.

Die Studie konnte zeigen, dass hydroxylapatithaltige Zahnpflegeprodukte unter alleiniger Erosion keine verbesserte Effektivität gegenüber der Negativkontrolle aufwiesen. Zwei der Produkte, Karex und Prokudent, erhöhten den Substanzverlust sogar. Die beiden Positivkontrollen waren unter alleiniger Erosion allen anderen Produkten überlegen. Auch unter zusätzlicher Abrasion zeigte kein hydroxylapatithaltiges Produkt einen positiven Effekt gegenüber der Negativkontrolle, hier wiesen sogar drei der Produkte, Biorepair, Karex und Prokudent, einen erhöhten Substanzverlust auf. Die Positivkontrollzahnpaste war diesen drei Produkten überlegen, erwies sich allerdings gegenüber der Negativkontrollzahnpaste als nicht signifikante Verbesserung. Die Positivkontrollmundspüllösung war erneut allen anderen Produkten überlegen.

Da die Abrasivstoffe unter zusätzlichem Bürsten den Substanzverlust modulieren, wurde die partikuläre Phase genauer analysiert. Es wurden Form, Oberfläche, Größe und Partikelgehalt bestimmt, eine Elementanalyse der Oberfläche durchgeführt und die RDA- und REA-Werte bestimmt. Die verschiedenen Versuchsprodukte wiesen Partikel verschiedener Form, Oberfläche und Größe auf. Zwischen den einzelnen Produkten konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Ein kausaler Zusammenhang zwischen Substanzverlust und der partikulären Phase ist daher nicht ersichtlich. Auch die unterschiedlichen Partikelanteile und RDA- und REA-Werte konnten die Substanzverluste in dieser Studie nicht erklären.

Die Elementanalyse der Partikeloberflächen zeigte, dass es sich bei der partikulären Phase hauptsächlich um Silica handelt. Die Hydroxylapatitformulierungen Biorepair und Karex und die Kombinationszahnpaste Prokudent wiesen kalzium- und phosphorhaltige Ablagerungen auf den Partikeln auf, die sich nach Waschen als Silicapartikel darstellten. Auf den Partikeln der zinnhaltigen Positivkontrollzahnpaste waren Zinnionen zu finden.

Die jeweiligen Untersuchungsparameter können vereinzelt die gemessenen Wirkeffekte erklären. Allerdings ist davon auszugehen, dass das multifaktorielle Zusammenspiel der

verschiedenen Komponenten die Wirkeffekte in einem größeren Ausmaß beeinflusst als jeder einzelne Parameter für sich.

Die Untersuchung der erodierten Schmelzproben auf Präzipitate zeigte sowohl in vitro als auch in situ keine Bildung einer Schutzschicht durch hydroxylapatithaltige Zahnpflegeprodukte. Berücksichtigt man die Komplexität der humanen Schmelzbildung, ist generell fraglich, wie das Hydroxylapatit der Zahnpflegeprodukte unter physiologischen Bedingungen und Kontaktzeiten den Zahnschmelz reparieren bzw. in säureresistenter Form auf den Zahnschmelz aufgebürstet werden kann. Zusätzlich ist anzunehmen, dass einzelne Inhaltsstoffe (Pyrophosphate) eine Präzipitation verhindern.

Zur Beantwortung der Fragestellungen des Untersuchungsziels kann zusammenfassend festgestellt werden, dass die hier untersuchten hydroxylapatithaltige Zahnpflegeprodukte (Hydroxylapatitformulierungen und Kombinationszahnpasten) nicht in der Lage sind, den erosiven Zahnhartsubstanzverlust effektiv gegenüber der Negativkontrolle oder den etablierten Wirkstoffen zu verringern. Der neue Wirkstoff ist nicht in der Lage Präzipitate auf erodiertem Zahnschmelz zu bilden. Der neue Wirkstoff scheint außerdem nicht hochkristallin, sondern an den Partikeln angelagert oder in Lösung in den Produkten vorzuliegen.

Daher kann festgehalten werden, dass nach jetzigem Kenntnisstand hydroxylapatithaltige Zahnpflegeprodukte in der symptomatischen Erosionstherapie nicht gewinnbringend eingesetzt werden können. Ein Abweichen von der bisherigen Empfehlung, der Verwendung von zinn- und fluoridhaltigen Zahnpflegeprodukten, wird als nicht sinnvoll erachtet.

## 6 Zusammenfassung

Säurebedingte Zahnhartsubstanzverluste (Erosionen) rücken, wie die Deutschen Mundgesundheitsstudien (DMS) zeigen, verstärkt in den Fokus der Zahnmedizin. Auch Hersteller von Zahnpflegeprodukten bringen immer mehr Produkte auf den Markt, die mit speziellen Wirkstoffen gegen diese Zahnhartsubstanzverluste schützen sollen. So sind seit einiger Zeit auch Zahnpflegeprodukte mit Hydroxylapatit als Wirkstoff gegen Erosionen erhältlich. Bislang ist allerdings wenig über die Effekte, die Wirkungsweise und den Wirkmechanismus des neuen Wirkstoffes, insbesondere in Zahnpflegeprodukten, bekannt.

Das Ziel dieser Dissertation war es deshalb zu zeigen, ob der neue Wirkstoff Hydroxylapatit in der symptomatischen Therapie von säurebedingten Zahnhartsubstanzverlusten eingesetzt werden kann. Außerdem sollte die Wirkungsweise und der Wirkmechanismus analysiert werden. Hierzu sollten die folgenden Fragen beantwortet werden:

- Kann Hydroxylapatit den erosiv bedingten Zahnhartsubstanzverlust gegenüber der Negativkontrolle effektiv verringern?
- Kann Hydroxylapatit den erosiv bedingten Zahnhartsubstanzverlust gegenüber etablierten Wirkstoffen effektiv verringern?
- Sind Präzipitate nach der Anwendung von Hydroxylapatit auf erodierten Schmelzoberflächen nachweisbar?
- In welcher Form liegt Hydroxylapatit in den Zahnpasten und Mundspüllösungen vor?

Um diese Fragen zu beantworten, wurden drei Hydroxylapatitformulierungen (zwei Zahnpasten, eine Mundspüllösung), zwei Kombinationszahnpasten (hydroxylapatit- und fluoridhaltig), zwei zinn- und fluoridhaltige Produkte (Positivkontrolle; eine Zahnpaste, eine Mundspüllösung) und eine wirkstofffreie Zahnpaste (Negativkontrolle) untersucht. Es wurde der Substanzverlust von humanen Schmelzproben in einem Erosions-/Abrasionsmodell nach Behandlung mit den Versuchsprodukten gemessen. Außerdem wurden erodierte Schmelzoberflächen nach einerseits In-vitro- und andererseits In-situ-Anwendung der Zahnpflegeprodukte auf morphologische Veränderungen rasterelektronenmikroskopisch untersucht. Zusätzlich wurden die relevanten Parameter der Zahnpflegeprodukte wie die pH-Werte und die Fluorid- und Kalziumkonzentration analysiert. Es wurde der Partikelgehalt der

Zahnpasten ermittelt, die Partikel der Zahnpasten auf ihre Form, Größe und Oberflächenbeschaffenheit hin analysiert und die RDA-/REA-Werte der Zahnpasten bestimmt.

Bei der Substanzverlustmessung konnte weder unter alleiniger Erosion noch unter zusätzlicher Abrasion eine signifikante Reduktion durch hydroxylapatithaltige Produkte (Hydroxylapatitformulierungen und Kombinationszahnpasten) gegenüber der Negativkontrolle festgestellt werden. Bei einigen Anwendungen erhöhte sich sogar der Substanzverlust. Auch gegenüber den Positivkontrollen zeigen fast alle hydroxylapatithaltigen Produkte signifikant schlechtere Ergebnisse. Lediglich bei der Anwendung einer der Kombinationszahnpasten und der hydroxylapatithaltigen Mundspüllösung unter zusätzlicher Abrasion konnten keine signifikanten Unterschiede zur Anwendung der Positivkontrollzahnpaste festgestellt werden. Die Positivkontrollmundspüllösung war allen anderen Produkten signifikant überlegen. Eine Korrelation zum Partikelgehalt, den pH- sowie den RDA- und REA-Werten war nicht erkennbar. Zum Fluoridgehalt und der Konzentration an Kalziumionen scheint zumindest teilweise ein Zusammenhang zu bestehen.

Die morphologische Strukturanalyse der erodierten Schmelzoberflächen *in vitro* zeigte keine Präzipitation durch die Produkte. Die teilweise erkennbaren Veränderungen scheinen eher durch die verwendete Remineralisationslösung hervorgerufen zu werden und nicht durch die verwendeten Produkte. Auch *in situ* konnte keine Präzipitation nachgewiesen werden. Hier scheinen die teilweise erkennbaren Veränderungen durch eine Pellikelakkumulation hervorgerufen zu werden und probanden- und nicht produktabhängig zu sein.

Die Analyse der partikulären Phase und die Bestimmung der Konzentration an Kalziumionen lässt darauf schließen, dass sich das Hydroxylapatit nicht in hochkristalliner Form, sondern entweder an den Partikeln gebunden oder aber in Lösung in den hydroxylapatithaltigen Zahnpflegeprodukten befindet.

Die Ergebnisse der Dissertation zeigen, dass Hydroxylapatit als Wirkstoff keinen positiven Wirkeffekt gegenüber der Negativkontrolle und den etablierten Wirkstoffen bezogen auf den säurebedingten Zahnhartsubstanzverlust aufweist. Eine Präzipitation auf erodierten Zahnoberflächen konnte nicht gezeigt werden. Die Ergebnisse lassen außerdem vermuten, dass Hydroxylapatit nicht hochkristallin, sondern auf Partikeln gebunden oder in Lösung vorliegt. Hydroxylapatithaltige Mundpflegeprodukte sollten folglich nicht in der symptomatischen Erosionstherapie verwendet werden. Ein Abweichen von der bisherigen Empfehlung, zinn- und fluoridhaltige Produkte zu verwenden, erscheint als nicht sinnvoll.

## 7 Summary

Acid-related tooth structure loss (erosion) is increasingly becoming the focus of dental medicine, as shown by the German Oral Health Studies (DMS). Manufacturers of dental care products are also launching more and more products on the market that are intended to protect against this loss of tooth structure with special active ingredients. Dental care products containing hydroxyapatite as an active ingredient to combat erosion have been available for some time. So far, however, little is known about the effects, mode of action and mechanism of action of the new active ingredient, particularly in dental care products.

The aim of this dissertation was therefore to show whether the new active ingredient hydroxyapatite can be used for the symptomatic therapy of acid-induced tooth structure loss. In addition, the mode of action and the mechanism of action were to be analyzed. For this purpose, the following questions should be answered:

- Can hydroxyapatite effectively reduce erosively induced tooth structure loss compared to negative control?
- Can hydroxyapatite effectively reduce erosively induced tooth structure loss compared to established active ingredients?
- Are precipitates detectable on eroded enamel after hydroxyapatite application?
- In what form is hydroxyapatite present in toothpastes and mouth rinses?

To answer these questions, the loss of substance of human enamel samples was measured in an erosion/abrasion model after treatment with the test products. Furthermore, eroded enamel surfaces were examined for morphological changes by scanning electron microscopy after in vitro or in situ application of the dental care products. In addition, further analyses of the relevant parameters of the dental care products, such as pH determination and determination of fluoride concentration and calcium concentration, were carried out. The particle content of the toothpastes was determined, the particles of the toothpastes were analyzed for their shape, size and surface texture, and the RDA /REA values were determined. Three hydroxyapatite formulations (two toothpastes, one mouth rinse), two combination toothpastes (containing hydroxyapatite and fluoride), two products containing tin and fluoride (positive control; one

toothpaste, one mouth rinse) and one toothpaste containing no active ingredients (negative control) were investigated.

In the substance loss measurement, no significant reduction by hydroxyapatite-containing products (hydroxyapatite formulations and combination toothpastes) could be detected compared to the negative control, both under erosion alone and under additional abrasion. In some applications, the loss of substance even increased. Also compared to the positive controls, almost all hydroxyapatite-containing products showed significantly worse results. Only when one of the combination toothpastes and the hydroxyapatite-containing mouth rinse was applied with additional abrasion, no significant differences could be found compared to the application of the positive control toothpaste. The positive control mouth rinse was significantly superior to all other products. No correlation to particle content, pH and RDA and REA values was evident. There seems to be at least a partial correlation to the fluoride content and the concentration of calcium ions values.

Morphological structural analysis of the eroded enamel surfaces *in vitro* showed no precipitation by the products. The partially discernible changes seem to be caused by the remineralization solution used rather than by the products itself. No precipitation could be detected *in situ* either. Here, the partially detectable changes appear to be caused by pellicle coverage and to be subject-dependent rather than product-dependent.

Analysis of the particulate phase and determination of the concentration of calcium ions suggests that the hydroxyapatite is not in a highly crystalline form, but either bound to the particles or in solution in the dental care products containing hydroxyapatite.

The results of the dissertation show that hydroxyapatite as an active ingredient has no positive effect compared to the negative control as well as the established active ingredients regarding acid-induced tooth structure loss. Precipitation on eroded tooth surfaces could not be demonstrated. The results also suggest that hydroxyapatite is not highly crystalline but bound on particles or in solution. Consequently, oral care products containing hydroxyapatite should not be used in symptomatic erosion therapy. A deviation from the previous recommendation to use products containing stannous and fluoride does not appear to be reasonable.

## 8 Literaturverzeichnis

Akkerman M, Larsen LB, Sørensen J, Poulsen NA: Natural variations of citrate and calcium in milk and their effects on milk processing properties. *J Dairy Sci*, 2019; 8: 6830–6841.

Algarni AA, Mussi MCM, Moffa EB, Lippert F, Zero DT, Siqueira WL, Hara AT: The impact of stannous, fluoride ions and its combination on enamel pellicle proteome and dental erosion prevention. *PloS one*, 2015; 6: 1-11.

Attin T, Koidl U, Buchalla W, Schaller HG, Kielbassa AM, Hellwig E: Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Arch oral Biol*, 1997; 3: 243–250.

Babcock FD, King JC, Jordan TH: The reaction of stannous fluoride and hydroxyapatite. *J Dent Res*, 1978; 57: 933–938.

Badr NA, El Hadary AA: Hydroxyapatite-electroplated cp-titanium implant and its bone integration potentiality: An in vivo study. *Implant dent*, 2007; 16: 297–308.

Barbour ME, Lussi A: Erosion in relation to nutrition and environment. *Monogr Oral Sci*, 2014; 25: 143–154.

Beniash E, Metzler RA, Lam RSK, Gilbert PUPA: Transient amorphous calcium phosphate in forming enamel. *J Struct Biol*, 2009; 166: 133–143.

Bradna P, Vrbova R, Fialova V, Housova D, Gojisoava E: Formation of protective deposits by anti-erosive toothpastes - A microscopic study on enamel with artificial defects. *Scanning*, 2016; 36: 380–388.

Brito ACM, Dantas LR, Brito AL de, Silva Muniz AC, Ramos IA, Rodrigues Cardoso AM, Cabral Xavier AF, Cavalcanti AL: Loss on drying, calcium concentration and pH of fluoride dentifrices. *Contemp Clin Dent*, 2015; 6: 72–76.

Carvalho TS, Colon P, Ganss C, Huysmans MC, Lussi A, Schlueter N, Schmalz G, Shellis RP, Tveit AB, Wiegand A: Consensus report of the european federation of conservative dentistry, Erosive tooth wear - diagnosis and management. *Clin Oral Investig*, 2015; 19: 1557–1561.

Comar LP, Gomes MF, Ito N, Salomão PA, Grizzo LT, Magalhães AC: Effect of NaF, SnF(2), and TiF(4) toothpastes on bovine enamel and dentin erosion-abrasion in vitro. *Int J Dent*, 2012; 2012: 134350.

Comar LP, Souza BM, Gracindo LF, Buzalaf MAR, Magalhães AC: Impact of experimental nano-HAP pastes on bovine enamel and dentin submitted to a pH cycling model. *Braz Dent J*, 2013; 24: 273–278.

Cong WL, Zhang PF, Pei ZJ: Experimental investigations on material removal rate and surface roughness in lapping of substrate wafers, A Literature Review. *Key Eng Mater*, 2009; 404: 23–31.

Coronado JJ: Effect of abrasive size on wear. in: Adamiak, M (Editor.): *Abrasion Resistance of Materials*, Rijeka, 2012, S. 167–84.

Dabanoglu A, Wood C, Garcia-Godoy F, Kunzelmann K-H: Whitening effect and morphological evaluation of hydroxyapatite materials. *Am J Dent*, 2009; 22: 23–29.

Daculsi G, Kerebel B: High-resolution electron microscope study of human enamel crystallites: size, shape, and growth. *J Ultrastruct Res*, 1978; 65: 163–172.

Dewi AH, Ana ID: The use of hydroxyapatite bone substitute grafting for alveolar ridge preservation, sinus augmentation, and periodontal bone defect: A systematic review. *Heliyon*, 2018; 10: 1-30.

Dorozhkin SV, Epple M, Laws DD, Bitter HML, Jerschow A: Die biologische und medizinische Bedeutung von Calciumphosphaten. *Angew Chem*, 2002; 114: 3260–3277.

Eggert F, Neubert R: In vitro investigation of the liberation of fluoride ions from toothpaste compounds in a permeation model. *Eur J Pharm Biopharm*, 1999; 47: 169–173.

Eisenburger M, Shellis RP, Addy M: Scanning electron microscopy of softened enamel. *Caries Res*, 2004; 38: 67–74.

Enax J, Epple M: Die Charakterisierung von Putzkörpern in Zahnpasten. *DZZ*, 2018a; 73: 100–108.

Enax J, Epple M: Synthetic hydroxyapatite as a biomimetic oral care agent. *Oral Health Prev Dent*, 2018b; 16: 7–19.

Enax J, Fabritius H-O, Amaechi BT, Meyer F: Hydroxylapatit als biomimetischer Wirkstoff für die Remineralisation von Zahnschmelz und Dentin. *ZWR – Das Deutsche Zahnärzteblatt*, 2020; 129: 277–283.

Esteves-Oliveira M, Santos NM, Meyer-Lueckel H, Wierichs RJ, Rodrigues JA: Caries-preventive effect of anti-erosive and nano-hydroxyapatite-containing toothpastes in vitro. *Clin Oral Investig*, 2017; 21: 291–300.

Fabritius-Vilpoux K, Enax J, Herbig M, Raabe D, Fabritius H-O: Quantitative affinity parameters of synthetic hydroxyapatite and enamel surfaces in vitro. *Bioinspired Biomim Nanobiomaterials*, 2019; 8: 141–153.

Ferguson DB: Salivary electrolytes. in: Tenovuo, JO (Editor.): *Human saliva: Clinical chemistry and microbiology.*, Roca Baton, Florida, 1989, S. 75–99.

Fernandez E, Gil FJ, Ginebra MP, Driessens FCM, Planell JA: Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part II: Precipitate formation during setting reactions. *J Mater Sci Mater Med*, 1999; 10: 177–183.

Fleisch H, Bisaz S: Isolation from urine of pyrophosphate, a calcification inhibitor. *Am J Physiol*, 1962; 203: 671–675.

Fleisch H, Russel RGG, Bisaz S: Influence of pyrophosphate on the transformation of amorphous to crystalline calcium phosphate. *Calcif Tissue Res*, 1968; 2: 49–59.

Franzò D, Philpotts CJ, Cox TF, Joiner A: The effect of toothpaste concentration on enamel and dentine wear in vitro. *J Dent*, 2010; 38: 974–979.

Ganss C, Hinckeldey J von, Tolle A, Schulze K, Klimek J, Schlueter N: Efficacy of the stannous ion and a biopolymer in toothpastes on enamel erosion/abrasion. *J Dent*, 2012; 40: 1036–1043.

Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N: Conventional and anti-erosion fluoride toothpastes: Effect on enamel erosion and erosion-abrasion. *Caries Res*, 2011; 45: 581–589.

Ganss C, Marten J, Harab AT, Schlueter N: Toothpastes and enamel erosion/abrasion - Impact of active ingredients and the particulate fraction. *J Dent*, 2016; 54: 62–67.

Ganss C, Möllers M, Schlueter N: Do abrasives play a role in toothpaste efficacy against erosion/abrasion? *Caries Res*, 2017; 51: 52–57.

Ganss C, Neutard L, Hinckeldey J von, Klimek J, Schlueter N: Efficacy of a tin/fluoride rinse: a randomized in situ trial on erosion. *J Dent Res*, 2010; 89: 1214–1218.

Ganss C, Schlueter N, Hardt M, Schattenberg P, Klimek J: Effect of fluoride compounds on enamel erosion in vitro: a comparison of amine, sodium and stannous fluoride. *Caries Res*, 2008; 42: 2–7.

Ganss C, Schlueter N, Klimek J: Retention of KOH-soluble fluoride on enamel and dentine under erosive conditions - A comparison of in vitro and in situ results. *Arch oral Biol*, 2007; 52: 9–14.

Ganss C, Schlueter N, Preiss S, Klimek J: Tooth brushing habits in uninstructed adults - frequency, technique, duration and force. *Clin Oral Investig*, 2009; 13: 203–208.

Ganss C, Schulze K, Schlueter N: Toothpaste and erosion. *Monogr Oral Sci*, 2013; 23: 88–99.

Grunau O: Abrasivität und anti-erosive Wirkung verschiedener Zahnpasten auf den Zahnschmelz, Fluoridverbindungen und neue anti-erosive Wirkstoffe im Vergleich. *Med Diss*, Gießen, 2016.

Güçlü ZA, Gjorgievskab ES, Coleman NJ: An in vitro comparison of the enamel remineralisation potential of bioactive glass, hydroxyapatite and CPP-ACP. *Acta Phys Pol A*, 2017; 131: 571–575.

Hooper SM, Newcombe RG, Faller R, Eversole S, Addy M, West NX: The protective effects of toothpaste against erosion by orange juice: studies in situ and in vitro. *J Dent*, 2007; 35: 476–481.

Hove LH, Holme B, Young A, Tveit AB: The erosion-inhibiting effect of TiF<sub>4</sub>, SnF<sub>2</sub>, and NaF solutions on pellicle-covered enamel in vitro. *Acta Odontol Scand*, 2007; 65: 259–264.

Hove LH, Holme B, Young A, Tveit AB: The protective effect of TiF<sub>4</sub>, SnF<sub>2</sub> and NaF against erosion-like lesions in situ. *Caries Res*, 2008; 42: 68–72.

Hove LH, Stenhagen KR, Holme B, Tveit AB: The protective effect of SnF<sub>2</sub> containing toothpastes and solution on enamel surfaces subjected to erosion and abrasion in situ. *Eur Arch Paediatr Dent*, 2014; 15: 237–243.

Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H: Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res*, 2011; 45: 460–468.

Huysmans MCDNJM, Jager DHJ, Ruben JL, Unk DEMF, Klijn CPAH, Vieira AM: Reduction of erosive wear in situ by stannous fluoride-containing toothpaste. *Caries Res*, 2011; 45: 518–523.

Jin J, Xu X, Lai G, Kunzelmann K-H: Efficacy of tooth whitening with different calcium phosphate-based formulations. *Eur J Oral Sci*, 2013; 121: 382–388.

Jordan AR, Micheelis W: Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V). Institut der Deutschen Zahnärzte (IDS), Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln, 2016.

Jung MS: Wirkungsmechanismus von erosionsinhibierenden Sn/F-Zahnpasten im Schmelz: Effekte von Putzkörpern in experimentellen Formulierungen mit und ohne Chitosan: Eine Studie zur Zinnaufnahme und Ultrastruktur. *Med Diss*, Gießen, 2014.

Junker R, Dimakis A, Thoneick M, Jansen JA: Effects of implant surface coatings and composition on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*, 2009; 20: 185–206.

Kensche A, Holder C, Basche S, Tahan N, Hannig C, Hannig M: Efficacy of a mouthrinse based on hydroxyapatite to reduce initial bacterial colonisation in situ. *Arch oral Biol*, 2017; 80: 18–26.

Kensche A, Pötschke S, Hannig C, Richter G, Hoth-Hannig W, Hannig M: Influence of calcium phosphate and apatite containing products on enamel erosion. *Sci World J*, 2016: ID 7959273.

Kim J, Lawler DF: Characteristics of zeta potential distribution in silica particles. *Bull Korean Chem Soc*, 2005; 26: 1083–1089.

König K: Verbesserte Modelle zur Einschätzung der Abrasivität von Zahnpasten. *SMfZ*, 2002; 112: 673–674.

Larsen MJ: Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res*, 1990; 69: 575–580.

Larsen MJ, Jensen SJ: Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arch oral Biol*, 1994; 39: 23–27.

Leeuw NH de: Resisting the onset of hydroxyapatite dissolution through the incorporation of fluoride. *J Phys Chem B*, 2004; 108: 1809–1811.

Lelli M, Putignano A, Marchetti M, Foltran I, Mangani F, Procaccini M, Roveri N, Orsini G: Remineralization and repair of enamel surface by biomimetic Zn-carbonate hydroxyapatite containing toothpaste, A comparative in vivo study. *Front Physiol*, 2014; 5: 1–7.

Lippert F: An introduction to toothpaste - its purpose, history and ingredients. *Monogr Oral Sci*, 2013; 23: 1–14.

Lussi A, Joao-Souza SH, Megert B., Carvalho TS, Baumann T: Das erosive Potenzial verschiedener Getränke, Speisen und Medikamente, Ein Vademecum. *Swiss Dent J*, 2019; 129: 479–487.

Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C: Dental erosion - an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res*, 2011; 45: 2–12.

Maggio B, Guibert RG, Mason SC, Karwal R, Rees GD, Kelly S, Zero DT: Evaluation of mouthrinse and dentifrice regimens in an in situ erosion remineralisation model. *J Dent*, 2010; 38: 37-44.

Mallatt ME, Beiswanger BB, Stookey GK, Swancar JR, Hennon DK: Influence of soluble pyrophosphate on calculus formation in adults. *J Dent Res*, 1985; 64: 1159–1162.

Mandel ID: Calculus update: prevalence, pathogenicity and prevention. *J Am Dent Assoc*, 1995; 126: 573–580.

Manly RS, Schickner FA: Factors influencing tests on the abrasion of dentin by brushing with dentifrices. *J Dent Res*, 1944; 23: 59–72.

Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S: Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*, 2003: CD002278.

Meyer F, Amaechi BT, Fabritius H-O, Enax J: Overview of calcium phosphates used in biomimetic oral care. *Open Dent J*, 2018; 12: 406–423.

Micheelis W, Reich E: Dritte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS III). Institut der Deutschen Zahnärzte (IDS), Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 1999.

Micheelis W, Schiffner U: Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). Institut der Deutschen Zahnärzte (IDS), Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln, 2006.

Moazzez R, Barlett D: Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci*, 2014; 25: 180–196.

Moradian-Oldak J: Protein- mediated enamel mineralization. *Front Biosci*, 2012; 17: 1996–2023.

Mühlemann H-R, Schmid H: Orale Kompositionen mit stabilisierten Zinnsalzen, 0026539 B1, Gaba International AG, 25.09.1980.

Najibfard K, Ramalingam K, Chedjieu I, Amaechi BT: Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *Clin Dent Rev*, 2011; 22: 139–143.

Nikiforuk G: *Understanding dental caries, Etiology and mechanisms*, Karger, Basel, New York, 1985a. 83-118.

Nikiforuk G: *Understanding dental caries, Prevention*, Karger, Basel, New York, 1985b. 45-62.

Onuma K, Ito A: Cluster growth model for hydroxyapatite. *Chem Mater*, 1998; 10: 3346–3351.

Peetsch A, Epple M: Characterization of the solid components of three desensitizing toothpastes and a mouth wash. *MatWerk*, 2011; 42: 131–135.

Petzold M: The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: A descriptive in vitro study of the CaF<sub>2</sub> precipitation and microstructure. *Caries Res*, 2001; 35: 45–51.

Piekarz C, Ranjitkar S, Hunt D, McIntyre J: An in vitro assessment of the role of Tooth Mousse in preventing wine erosion. *Aust Dent J*, 2008; 53: 22–25.

Poggio C, Gulino C, Mirando M, Colombo M, Pietrocola G: Protective effect of zinc-hydroxyapatite toothpastes on enamel erosion, An in vitro study. *J Clin Exp Dent*, 2017; 9: e118-e122.

Priyadarshini B, Rama M, Chetan, Vijayalakshmi U: Bioactive coating as a surface modification technique for biocompatible metallic implants: a review. *J Asian Ceram Soc*, 2019; 7: 397–406.

Rees J, Loyn T, Chadwick B: Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. *J Dent*, 2007; 35: 355–357.

Rios D, Honorio HM, Magalhães AC, Silva SMB, Delbem ACB, Machado MAA, Buzalaf MAR: Scanning electron microscopic study of the in situ effect of salivary stimulation on erosion and abrasion in human and bovine enamel. *Braz Oral Res*, 2008; 22: 132–138.

Roveri N, Battistella E, Bianchi CL, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, Lelli M, Naldoni A, Palazzo B, Rimondini L: Surface enamel remineralization: Biomimetic apatite nanocrystals and fluoride ions different effects. *J Nanomater*, 2009; ID 746383.

Roveri N, Battistella E, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, Lelli M, Palazzo B, Rimondini L: Synthetic biomimetic carbonate-hydroxyapatite nanocrystals for enamel remineralization. *Adv Mater Res*, 2008; 47-50: 821–824.

Ryu S-C, Lim B-K, Sun F, Koh K, Han D-W, Lee J: Regeneration of a micro-scratched tooth enamel layer by nanoscale hydroxyapatite solution. *Bull Korean Chem Soc*, 2009; 30: 887–890.

Saxegaard E, Lagerlöf F, Rølla G: Dissolution of calcium fluoride in human saliva. *Acta Odontol Scand*, 1988; 46: 355–359.

Scherge M, Sarembe S, Kiesow A, Petzold M: Dental tribology at the microscale. *Wear*, 2013; 297: 1040–1044.

Schlueter N, Hardt M, Lussi A, Engelmann F, Klimek J, Ganss C: Tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in enamel: an in vitro tin-uptake, tissue-loss, and scanning electron micrograph study. *Eur J Oral Sci*, 2009a; 117: 427–434.

Schlueter N, Klimek J, Ganss C: Efficacy of an experimental tin-F-containing solution in erosive tissue loss in enamel and dentine in situ. *Caries Res*, 2009b; 43: 415–421.

Schlueter N, Klimek J, Ganss C: Efficacy of tin-containing solutions on erosive mineral loss in enamel and dentine in situ. *Clin Oral Investig*, 2011; 15: 361–367.

Schlueter N, Neutard L, Hinckeldey J von, Klimek J, Ganss C: Tin and fluoride as anti-erosive agents in enamel and dentine in vitro. *Acta Odontol Scand*, 2010; 68: 180–184.

Shellis RP, Featherstone JDB, Lussi A: Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci*, 2014; 25: 163–179.

Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A: Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res*, 2011; 45: 69–77.

Siddiqui HA, Pickering KL, Mucalo MR: A review on the use of hydroxyapatite-carbonaceous structure composites in bone replacement materials for strengthening purposes. *Materials*, 2018; 11: 1813.

Smith CE: Cellular and chemical events during enamel maturation. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1998; 9: 128–161.

Smith DC: Dental cements. *Adv Dent Res*, 1988; 2: 134–141.

Stenhagen KR, Hove LH, Holme B, Tveit AB: The effect of daily fluoride mouth rinsing on enamel erosive/abrasive wear in situ. *Caries Res*, 2013; 47: 2–8.

Supová M: Problem of hydroxyapatite dispersion in polymer matrices: a review. *J Mater Sci Mater Med*, 2009; 20: 1201–1213.

Tamaki N, Tada T, Morita M, Watanabe T: Comparison of inhibitory activity on calcium phosphate precipitation by acidic proline-rich proteins, statherin, and histatin-1. *Calcif Tissue Int*, 2002; 71: 59–62.

Tomazic B, Tomson M, Nancollas GH: The growth of calcium phosphates on natural enamel. *Calcif Tissue Res*, 1976; 19: 263–271.

Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM: Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent*, 2011; 39: 430–437.

Üsküdar A.: Bildung von KOH-löslichem Fluorid in Abhängigkeit von Applikationshäufigkeit, Fluoridkonzentration und Fluoridverbindung von Zahnpasten, Gießen, 2012.

Warshawsky H, Smith CE: Morphological classification of rat incisor ameloblasts. *Anat Rec*, 1974; 179: 423–446.

Wegehaupt FJ, Tauböck TT, Stillhard A, Schmidlin PR, Attin T: Influence of extra- and intra-oral application of CPP-ACP and fluoride on re-hardening of eroded enamel. *Acta odontologica Scandinavica*, 2012; 70: 177–183.

Wiegand A, Attin T: Design of erosion/abrasion studies - insights and rational concepts. *Caries Res*, 2011; 45: 53–59.

Wiegand A, Bichsel D, Magalhães AC, Becker K, Attin T: Effect of sodium, amine and stannous fluoride at the same concentration and different pH on in vitro erosion. *J Dent*, 2009; 37: 591–595.

Wiegand A, Schlueter N: The role of oral hygiene: Does toothbrushing harm? *Monogr Oral Sci*, 2014; 25: 215–219.

Xiao Y, Karttunen M, Jalkanen J, Mussi MCM, Liao Y, Grohe B, Lagugné-Labarthe F, Siqueira WL: Hydroxyapatite growth inhibition effect of pellicle statherin peptides. *J Dent Res*, 2015; 94: 1106–1112.

Young A, Thrane PS, Saxegaard E, Jonski G, Rølla G: Effect of stannous fluoride toothpaste on erosion-like lesions: an in vivo study. *Eur J Oral Sci*, 2006; 114: 180–183.

Zantner C, Kielbassa AM: Wie wirksam sind Weißmacher-Zahnpasten? *Oralprophylaxe*, 2002; 24: 23–29.

Zentner A, Duschner H: Strukturelle Veränderungen in säuregeätztem Schmelz im konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop. *J Orofac Orthop*, 1996; 57: 202–209.

## 9 Publikationen

Teile der Dissertation wurden auf der 67. und 68. Jahrestagung der European Organisation of Caries Research (ORCA) präsentiert und als Abstract publiziert:

### **Potential of Hydroxyapatite for the Prevention of Erosive Tooth Wear**

C. Witecy, P. Kerzel, C. Ganss

Caries Research 2020; 54: S. 416

### **Composition and Potential Mode of Action of Hydroxyapatite in Products Against Erosive Tooth Wear**

P. Kerzel, C. Witecy, C. Ganss

Caries Research 2020; 54: S. 447

### **In situ investigation on the surface morphology of eroded enamel after using hydroxyapatite-containing formulations**

P. Kerzel, C. Ganss, C. Witecy

Caries Research 2021; 55: S. 450

# 10 Anhang

## 10.1 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 3.1: Kunststoffprobenhalter mit Anordnung der Schmelzproben; a: abgedeckter Referenzbereich; b: Versuchsbereich; die Punktmarkierung dient als Orientierung zum Einbringen in den Putzsimulator; S: Schwenkbewegung des Schwenktisches bzw. Wasserbades bei der Bestimmung des Substanzverlustes
- Abbildung 3.2: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs zu Bestimmung des Substanzverlustes
- Abbildung 3.3: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs zur morphologischen Strukturanalyse in vitro; a: Schmelzprobe, b: Referenzprobe, c: Versuchsprobe
- Abbildung 3.4: Intraoraler Probenhalter mit integrierten Schmelzproben; links: Ansicht von okklusal, rechts: Ansicht von lateral
- Abbildung 3.5: links: 0,5 Gramm Zahnpaste in Einmalspritze; mittig: 10 ml Mundspüllösung in Szintillationsfläschchen; rechts: 0,5 Gramm Zahnpaste auf Bürstenkopf
- Abbildung 3.6: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs zur morphologischen Strukturanalyse in vitro; bei Mundspüllösungen entfällt das Aufschäumen der Zahnpasten
- Abbildung 3.7: Profilschrieb einer Probe; 1: Ausgleichsgrade durch die sich in den endständigen 0,5 mm befindlichen Messpunkte im Referenzbereich (blau); 2: Ausgleichsgrade durch die sich in den endständigen 0,5 mm befindlichen Messpunkte im Versuchsbereich (grün); d: Substanzverlust
- Abbildung 3.8: Beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der drei Kategorien und die zugehörigen Referenzproben; oberes Bild: keine Oberflächenveränderung, auf Referenz- und Versuchsprobe sind Prismen- und Kristallstruktur zu erkennen; mittleres Bild: geringgradige Oberflächenveränderung, auf Versuchsprobe sind Prismenköpfe bedeckt, Kristallstruktur ist zu erkennen; unteres Bild: deutliche Oberflächenveränderung, Prismen- und Kristallstruktur sind deutlich bedeckt aber erkennbar

- Abbildung 3.9: Beispiel für Auswertung einer rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme, die zur Ja/Nein-Aussage mit einem 30 µm Raster (rot) überlagert ist
- Abbildung 4.1: Zahnhartsubstanzverluste im Erosions-/ Abrasionsmodell unter Anwendung der verschiedenen Zahnpflegeprodukte
- Abbildung 4.2: Beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Referenz- und Versuchsproben von Karex (Probe 5, 4 und 1); oberes Bild: keine Oberflächenveränderung, auf Referenz- und Versuchsprobe sind Prismen- und Kristallstruktur zu erkennen; mittleres Bild: geringgradige Oberflächenveränderung, Prismenköpfe der Versuchsprobe sind bedeckt, Kristallstruktur ist zu erkennen; unteres Bild: deutliche Oberflächenveränderung, Prismen- und Kristallstruktur sind deutlich bedeckt aber noch zu erkennen
- Abbildung 4.3: Grad der Oberflächenveränderungen der Versuchsproben in Abhängigkeit von den Slurries mit Remineralisationslösung und *Aqua dest.*
- Abbildung 4.4: Beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Referenz- und Versuchsproben der Produkte Biorepair, Apacare und Negativkontrollzahnpaste; zusätzlich ist eine Referenz- und Versuchsprobe mit der alleinigen Behandlung durch Remineralisationslösung abgebildet; Referenzproben: klare Prismen- und Kristallstruktur; Versuchsproben: spongiöses Geflecht, Prismenstruktur noch zu erkennen, Kristallstruktur nicht mehr vorhanden
- Abbildung 4.5: Grad der Oberflächenveränderung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in situ in Abhängigkeit von den Produkten
- Abbildung 4.6: Grad der Oberflächenveränderung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in situ in Abhängigkeit von den Probanden
- Abbildung 4.7: Beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Referenz- und Versuchsproben der Produkte Apacare, Zahnmilch und der Positivkontrollmundspüllösung des Probanden D; zusätzlich ist eine Referenz- und Versuchsprobe des Vorversuchs abgebildet (siehe 3.7.3 Morphologische Strukturanalyse in situ); Referenzproben: klare Prismen- und Kristallstruktur; Versuchsproben: muköse Substanz zwischen und auf den Prismen

- Abbildung 4.8: links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe mit abgerundeten Prismen; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der abgerundeten Prismen
- Abbildung 4.9: links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe mit spongiöser Oberflächenstruktur; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der spongiösen Oberflächenstruktur
- Abbildung 4.10: links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe mit muköser Veränderung; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der mukösen Veränderung
- Abbildung 4.11: links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe nach zinnhaltiger Behandlung *in vitro*; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der Probe mit zinnhaltiger Behandlung *in vitro*
- Abbildung 4.12: links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe nach zinnhaltiger Behandlung *in situ*; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der Probe mit zinnhaltiger Behandlung *in situ*
- Abbildung 4.13: links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Referenzprobe; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der Referenzprobe
- Abbildung 4.14: links: beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Probe nach Behandlung mit Remineralisationslösung *in vitro*; rechts: Massenprozent der Elementanalyse der Probe Behandlung mit Remineralisationslösung *in vitro*
- Abbildung 4.15: Beispielhafte Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der extrahierten Partikel der Zahnpasten bei einer 300-fachen Vergrößerung. Es sind Partikel verschiedener Formen, Oberflächenstrukturen und Größen erkennbar
- Abbildung 4.16: Substanzverluste unter Bürstabration in Abhängigkeit des Partikelgehaltes der Zahnpasten
- Abbildung 4.17: Massenprozent der Elementanalyse der ungewaschenen Partikel
- Abbildung 4.18: Massenprozent der Elementanalyse der gewaschenen Partikel
- Abbildung 4.19: Substanzverluste unter Bürstabration in Abhängigkeit der RDA-Werte der Zahnpasten
- Abbildung 4.20: Substanzverluste unter Bürstabration in Abhängigkeit der REA-Werte der Zahnpasten

## 10.2 Tabellenverzeichnis

- Tabelle 3.1: Abkürzungen der Versuchsprodukte
- Tabelle 3.2: Abkürzungen der Kontrollprodukte
- Tabelle 3.3: pH-Werte der Demineralisationslösung; SD = Standardabweichung
- Tabelle 3.4: pH-Werte der Remineralisationslösung; SD = Standardabweichung
- Tabelle 3.5: Inhaltsstoffe der Versuchsprodukte wie von den Herstellern deklariert
- Tabelle 4.1: Substanzverluste der verschiedenen Produkte unter den beiden unterschiedlichen Behandlungsweisen in  $\mu\text{m}$
- Tabelle 4.2: Signifikanzen der Substanzverluste der Versuchsgruppen mit Slurry-Behandlung; n.s.: nicht signifikant
- Tabelle 4.3: Signifikanzen der Substanzverluste der Versuchsgruppen mit Slurry + Bürst-Behandlung; n.s.: nicht signifikant
- Tabelle 4.4: Zuordnung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in vitro, die durch mit *Aqua dest.* angesetzten Slurries behandelt wurden, in die drei Grade; grün: Grad 1: keine Oberflächenveränderung, blau: Grad 2: mäßige Oberflächenveränderung, rot: Grad 3: starke Oberflächenveränderung
- Tabelle 4.5: Zuordnung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in vitro, die mit Remineralisationslösung angesetzten Slurries behandelt wurden, in die drei Grade; grün: Grad 1: keine Oberflächenveränderung, blau: Grad 2: mäßige Oberflächenveränderung, rot: Grad 3: starke Oberflächenveränderung
- Tabelle 4.6: Zuordnung der Versuchsproben der morphologischen Strukturanalyse in situ in die drei Grade; grün: Grad 1: keine Oberflächenveränderung, blau: Grad 2: mäßige Oberflächenveränderung, rot: Grad 3: starke Oberflächenveränderung; A-E: Probanden; weißes Feld: Versuchsprobe beschädigt
- Tabelle 4.7: Größe der Partikel in der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung, RT = Rastertellernummer, ja = Partikelgröße vorhanden, nein = Partikelgröße nicht vorhanden
- Tabelle 4.8: Partikelgehalt in Gewichtsprozent der Zahnpasten in absteigender Reihenfolge
- Tabelle 4.9: Elementanalyse der ungewaschenen Partikel in normierten Gewichtsprozent, Mittelwert + Standardabweichung

- Tabelle 4.10: Elementanalyse der gewaschenen Partikel in normierten Gewichtsprozent, Mittelwert + Standardabweichung
- Tabelle 4.11: Silizium-Sauerstoff-Verhältnisse der ungewaschenen und gewaschenen Partikel und Kalzium-Phosphor-Verhältnisse der ungewaschenen Partikel
- Tabelle 4.12: pH-Werte der Slurries und Mundspüllösung an den 10 Versuchstagen mit Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichung (SD)
- Tabelle 4.13: Gemessene und deklarierte Fluoridkonzentration der Versuchsprodukte; Konzentrationen in ppm angegeben; n.n.: nicht nachweisbar, SD: Standardabweichung
- Tabelle 4.14: Kalziumkonzentration der Versuchsprodukte in ppm, Mittelwert und Standardabweichung (SD); \*: keine vorherige Verdünnung, Im Produkt: zurückgerechnete Kalziumkonzentration im jeweiligen Produkt
- Tabelle 4.15: Gemittelte RDA- und REA-Werte; SD: Standardabweichung
- Tabelle 4.16: Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse der Versuche und Messverfahren in absteigender Reihenfolge des Substanzverlustes

# 11 Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig 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 sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. 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 und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Münster, 21.02.2023

Ort, Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

## 12 Danksagung

Mein größter Dank gilt Frau *Prof. Dr. C. Ganß* für die Überlassung des Themas dieser Dissertation und die außerordentlich gute Beratung und Betreuung.

Auch bei Frau *Dr. C. Witecy* möchte ich mich herzlichst bedanken, die mich stets freundlich, kompetent und kritisch betreut hat und mir bei allen Fragen hilfreich zur Seite stand.

Ein besonderer Dank gilt Frau *Birgit Meier* für die tatkräftige und hilfsbereite Unterstützung bei der Durchführung der Versuchsreihen und dem Einsatz der Analyse- und Messverfahren.

*Prof. Dr. A. Hara* danke ich sehr herzlich für die Bestimmung und Überlassung der RDA- und REA-Werte der Versuchsprodukte.

Bei Herrn *Andreas Stadler* bedanke ich mich für die Durchführung der Kalziumbestimmung in den Slurries und Mundspüllösungen.

Sehr herzlich bedanke ich mich auch bei meiner Frau *Julia*, die mich während meines gesamten Studiums und der Promotion liebevoll und verständnisvoll begleitet hat.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die es überhaupt ermöglicht haben, dass ich studieren und promovieren konnte und mich stets bei allen Belangen unterstützt haben.

## **13 Akademischer Lebenslauf**

Der Inhalt wurde aus Datenschutzgründen entfernt.



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

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

ISBN: 978-3-8359-7106-6



9 783835 197106 6