

Therapie von säurebedingten
Zahnhartsubstanzerkrankungen mit Sn/F-
Verbindungen: vom in vitro-Test zur klinisch-
randomisierten Studie

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

Vorgelegt von Frau Neutard, Lina Sophia
aus Lauterbach

Gießen 2018

Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und präventive Zahnheilkunde
Kommissarische Leitung: Prof. Dr. Bernd Wöstmann

Gutachterin: Frau Prof. Dr. Carolina Ganß

Gutachter: Herr Prof. Dr. Wöstmann

Tag der Disputation: 07.06.2018

Erklärung zur Dissertation

„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, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. 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.“

Ort, Datum

Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Probanden, Materialien und Methoden	5
Studiendesign	5
Probenherstellung	6
Angewendete Lösungen	7
Versuchsdurchführung	8
Versuchsgruppen	12
Dosierung und Anwendung der Studienprodukte	12
Messmethode	15
Fallzahlschätzung	17
Randomisierung	19
Datenverarbeitung und Statistik	19
Unerwünschte Vorkommnisse im In situ-Versuch	19
3. Ergebnisse	20
Ergebnisse des in vitro Versuchs	20
Ergebnisse der in situ Studie	21
Durchführung	21
Ergebnisse Schmelz	23
Ergebnisse Dentin	24
4. Diskussion	26
Versuchsdurchführung	29
Messmethode	31
Ergebnisse	32
Effekte der NaF-Lösung im Schmelz	33
Applikationsformen	34
Effekte der Testlösung im Schmelz	36
Wirkmechanismus von Zinn	37
Effekte der NaF-Lösung im Dentin	40
Effekte der Testlösung im Dentin	41

Histologische Struktur von in vivo Erosionen	42
5. Zusammenfassung	45
6. Summary	47
7. Abbildungsverzeichnis	48
Tabellen	48
Abbildungen	48
8. Anhang	57
Ethikvotum	57
Genehmigung der Verwendung bereits veröffentlichter Inhalte	57
Materialliste	57
Unerwünschte Vorkommnisse	59
9. Publikationen	61
10. Danksagung	62

1. Einleitung

Erosionen der Zahnhartsubstanzen sind kein neues Phänomen. Sie wurden lange Zeit jedoch nicht als Problem wahrgenommen, sondern entweder als Effekte von Fehlfunktionen fehldiagnostiziert oder allgemein den alterungsbedingten Verschleißerscheinungen zugeordnet. Tatsächlich ist die Grenze zwischen physiologischem, altersbedingtem und pathologischem Zahnhartsubstanzverlust oftmals schwierig zu bestimmen, speziell bei Kindern, Jugendlichen oder jungen Erwachsenen sind erosive Defekte angesichts der noch zu erwartenden Lebensspanne jedoch eindeutig als Zahnerkrankung einzustufen. Da solche Defekte nicht regenerierbar sind, sollte in besonderem Maße auf initiale Stadien geachtet werden, damit wirksame präventive Maßnahmen rechtzeitig implementiert werden können. In allen Altersgruppen können rasch progrediente erosive Läsionen ein Hinweis auf eine ernsthafte psychische oder physische Erkrankung sein, die es zu behandeln gilt.

Erosionen entstehen durch den Einfluss von Säuren und/oder Chelatoren auf die Zahnhartgewebe (Featherstone & Lussi 2006). Der dadurch bedingte oberflächliche Substanzverlust schreitet mit wiederholter und zunehmender Säureeinwirkung zentripetal fort. Im Gegensatz zu Karies handelt es sich hierbei um einen Defekt, der auf plaquefreien Oberflächen entsteht. Mikroorganismen sind nicht beteiligt. Neben chemischen Einwirkungen tragen auch physikalische Effekte wie Attrition, Abrasion, Abfraktion und Demastikation zum Verlust von Zahnhartsubstanz bei.

Die extrinsische Ursache für Erosionen ist vorrangig der Konsum von säurehaltigen Lebensmitteln. Durch eine Kombination verschiedener chemischer Faktoren verursachen diese eine Demineralisation der natürlichen Zahnoberfläche. Dabei spielen der pH-Wert und die Pufferkapazität des konsumierten Produkts eine wichtige Rolle. Auch der Säuretyp, die Haftfähigkeit des Produkts auf der Zahnoberfläche, die Sättigung in Bezug auf Zahnmineral nehmen entscheidenden Einfluss auf die Demineralisation (Lussi & Jaeggi 2006). Neben der Aufnahme von säurehaltigen Lebensmitteln oder Medikamenten kann auch die berufliche Säureexposition als Ursache für Erosionen in Frage kommen.

Intrinsische Ursachen von Erosionen sind mit dem Übertritt von Mageninhalt in die Mundhöhle verbunden. Als Ursache sind vor allem Reflux-Erkrankungen und Essstörungen (Anorexie, Bulimie) zu nennen.

Klinisch kommt es zu Beginn der erosiven Läsion zu einem Verlust des Oberflächenglanzes der Zahnhartsubstanzen, die Zähne wirken matt. Insbesondere auf den Glattflächen eines Zahnes ist dieses Phänomen zu beobachten. Durch den

1. Einleitung

Kontakt mit Säuren kommt es zu einem Verlust der Oberflächenhärte des Schmelzes, in der Literatur wird die Dicke dieser erweichten Schicht mit 0,2 bis 3 µm angegeben. Starke mechanische Manipulationen, zum Beispiel intensives Zähneputzen in Kombination mit einer falschen Putztechnik, stehen daher im Verdacht die Symptome zu verstärken (Ganss 2006).

Es gibt eine Reihe von Studien, die das Ziel haben, die Prävalenz von Erosionen zu untersuchen. Diese sind jedoch aufgrund methodischer Unterschiede schwer zu vergleichen, vor allem in Bezug auf die verwendeten Indizes. Man kann jedoch feststellen, dass Erosionen in den Industrienationen ein weit verbreitetes Problem darstellen. Milch- und bleibende Zähne in nahezu jeder Altersgruppe sind betroffen (Jaeggi & Lussi 2014). Es wird vermutet, dass in Zukunft die Prävalenz von Erosionen vor allem in jüngeren Altersgruppen ansteigen wird (Jaeggi & Lussi 2006). Als Ursache hierfür können allgemein sich ändernde Ernährungsgewohnheiten und der zunehmende Konsum von erosiven Getränken angenommen werden.

Erosive Mineralverluste sind nicht reversibel, kommen aber durch Beseitigung der ursächlichen Noxe zum Stillstand. Die Versorgung mit direkten oder indirekten Restaurationen ist bei progredienten Erosionen sorgfältig abzuwägen, da es zu einem Fortschreiten der Defekte im Bereich der unversorgten Zahnoberflächen kommt (Jaeggi, Gruninger *et al.* 2006). Der wichtigste Therapieansatz ist daher die Hauptursache zu diagnostizieren und möglichst vollständig zu beseitigen. So sollte zunächst eine umfangreiche Ernährungsanalyse durchgeführt werden. Können hierbei potentielle Ursachen für die Erosionsentstehung festgestellt werden, sollten Möglichkeiten zur Reduktion des Säurekonsums besprochen werden. Eine Alternative besteht darin, die Erosivität der konsumierten Lebensmittel zu reduzieren. Es wurden Versuche unternommen, durch Modifikation von Getränken deren Erosivität zu reduzieren. Die Untersuchungen lieferten zum Teil ermutigende Ergebnisse (Hara AT & Zero DT 2008; West NX, Hughes JA *et al.* 2003). Durch die Zugabe von Kalzium konnte die Erosivität der untersuchten Getränke deutlich reduziert werden. Bei Erosionen, verursacht durch vermehrten Konsum säurehaltiger Getränke können solche modifizierten Produkte eine Alternative darstellen. Das zeitgleiche Konsumieren von erosiven Lebensmitteln und Produkten mit antierosivem Effekt, wie zum Beispiel Obst in Kombination mit Joghurt, kann ebenfalls empfohlen werden (Lussi & Jaeggi 2006).

Wenn anhand der Anamnese und des Ernährungsprotokolls kein Hinweis auf die Erosionsursache festgestellt werden kann, sollte eine internistische Untersuchung veranlasst werden. Im Falle einer Erkrankung, die mit Saurereflux oder chronischem

1. Einleitung

Erbrechen einhergeht, ist eine entsprechende Therapie indiziert (West, Addy *et al.* 1998). Oft ist es jedoch nicht möglich, die zugrundeliegende Ursache der Erosionen zu identifizieren oder ausreichend zu minimieren. Dies kann zum Beispiel bei Krankheiten aus dem psychogenen Formenkreis (Bulimie, Anorexia nervosa) oder bei bestimmten Ernährungsformen wie zum Beispiel Rohkostdiät der Fall sein, die ebenfalls ein erhöhtes Erosionsrisiko mit sich bringt (Ganss, Schlechtriemen *et al.* 1999). In solchen Fällen ist eine symptomatische Therapie notwendig. Ziel der Therapie ist es, das Fortschreiten des Substanzverlustes trotz weiterhin bestehender Erosionsursache zu stoppen oder zu verlangsamen. Ein wichtiger Ansatz ist, die Widerstandsfähigkeit der Zahnoberfläche erosiven Einflüssen gegenüber zu erhöhen. Verschiedenen Agentien werden stabilisierende Effekte auf die Zahnhartgewebe zugesprochen. Diese basieren auf der Auf- oder Einlagerung von mehr oder weniger stark säurelöslichen Präzipitaten (Ganss, Schlueter *et al.* 2008). In der Regel wird dazu die regelmäßige und häufige Anwendung von fluoridhaltigen Zubereitungen empfohlen, etwa in Form von Mundspüllösungen, Zahnpasten oder Gelen (Wiegand & Attin 2003). Sowohl in Laborversuchen als auch in Probandenstudien wurde die Wirksamkeit verschiedener Fluoridierungsmaßnahmen bei Erosionen in Schmelz und Dentin untersucht (Ganss, Klimek *et al.* 2001; Ganss, Klimek *et al.* 2004a). In diesen Versuchen konnte festgestellt werden, dass durch die Anwendung von fluoridhaltigen Zahnpasten für 3x5 Minuten täglich in Kombination mit der Anwendung eines hochkonzentrierten fluoridhaltigen Gels (NaF/Aminfluorid (AmF), 1,25% F⁻) eine deutliche Reduktion des erosiven Substanzverlustes erzielt werden konnte. Auch die kombinierte Anwendung einer fluoridhaltigen Zahnpaste und einer Mundspüllösung (SnF₂ /AmF; 0,025% F⁻) reduzierte den Substanzverlust. Es zeigte sich, dass unter in situ Bedingungen eine deutlich bessere Wirksamkeit der Fluoridierungsmaßnahmen erreicht werden konnte als im Laborversuch. Das Spülen mit natriumfluoridhaltigen Mundspüllösungen hat jedoch bei einmaliger täglicher Anwendung keinen klinisch relevanten protektiven Effekt. Erst durch die regelmäßige, mehrmals täglich wiederholte Anwendung verschiedener Darreichungsformen fluoridhaltiger Produkte kann eine relevante Schutzwirkung erreicht werden. Dies ist im Alltag mit einem erheblichen zeitlichen, organisatorischen und finanziellen Aufwand verbunden, was bei den unter Umständen notwendigen Langzeitbehandlungen Complianceprobleme mit sich bringen kann. Der therapeutische Nutzen isolierter Fluoridierungsmaßnahmen in Bezug auf Erosionen wird daher eher angezweifelt.

Auf der Suche nach wirkungsvolleren, einfach anzuwendenden Alternativen hat sich gezeigt, dass die Art der Fluoridverbindung einen Einfluss auf den protektiven Effekt

1. Einleitung

hat. Es wurde festgestellt, dass insbesondere die Anwendung von polyvalenten Metallkationen vielversprechende Ergebnisse liefert. In einer Laborstudie wurden Zink-, Zinn-, Kupfer- und Titanverbindungen auf ihre antierosiven Eigenschaften hin untersucht. Unter milden erosiven Bedingungen konnten sowohl zinn- als auch titanhaltige Lösungen überzeugen. Bei steigender Erosivität des angewendeten Versuchsmodells waren zinnhaltige Lösungen den titanhaltigen Lösungen überlegen (Schlueter, Duran *et al.* 2009). In einer weiteren Studie wurde die Wirksamkeit verschiedener experimenteller Lösungen verglichen. Diese enthielten entweder Fluoride (AmF/ NaF) oder Zinnverbindungen (SnCl₂/ SnF₂) beziehungsweise Kombinationen aus diesen Einzelkomponenten. Es konnte gezeigt werden, dass die Anwendung einer Kombination von Zinn und Fluorid deutlich bessere Ergebnisse lieferte als die Anwendung der Einzelkomponenten (Ganss, Schlueter *et al.* 2008). Es folgte eine Reihe von Dosisfindungsstudien im Labor (Schlueter, Klimek *et al.* 2009a) und in Probandenstudien (Schlueter, Klimek *et al.* 2009b; Schlueter, Klimek *et al.* 2011). Ziel dieser Studien war die Ermittlung wirkungsvoller Wirkstoffkonzentrationen von Zinn und Fluorid bei möglichst großer Akzeptanz der Lösung bei den Probanden. Es stellte sich heraus, dass Lösungen mit zu hoher Zinnkonzentration eine adstringierende Wirkung haben können und bei den Probanden ein unangenehm stumpfes Gefühl auf den Zähnen verursachten. In Folge wurde die Zinnkonzentration der Testlösungen deutlich reduziert.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das antierosive Potenzial einer in Bezug auf Zinn- und Fluoridgehalt optimierten Mundspüllösung sowohl an Schmelz- als auch an Dentinproben zu untersuchen. Die Versuche wurden zunächst in einem realitätsnahen zyklischen De- und Remineralisationsmodell im Labor durchgeführt. Im Anschluss daran wurde die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf ein *in situ* Modell überprüft. Dazu wurde eine randomisierte klinische Studie durchgeführt. Dabei sollte untersucht werden, ob die experimentelle Sn/F-Mundspüllösung den erosiv bedingten Zahnhartsubstanzverlust von Schmelz und Dentin gegenüber einer Placebolösung verringern kann und ob die experimentelle Lösung darüber hinaus den erosiv bedingten Zahnhartsubstanzverlust von Schmelz und Dentin im Vergleich zu einer in Bezug auf Fluorid gleich konzentrierten NaF-Lösung (Positiv-Kontrolle) wirksamer inhibieren kann.

2. Probanden, Materialien und Methoden

STUDIENDESIGN

Diese Arbeit umfasst zwei aufeinander aufbauende Versuche. Im ersten Versuch sollte zunächst eine Mundspüllösung zur Inhibition säurebedingter Zahnhartsubstanzen in Schmelz und Dentin unter Laborbedingungen (in vitro) untersucht werden. In der anschließenden Probandenstudie (in situ) sollten dann die Ergebnisse unter physiologischen Bedingungen reproduziert werden. Die durchgeführten Studien sind das Resultat einer Forschungskooperation der Poliklinik für Zahnerhaltungskunde des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde in Gießen und GABA International AG (Therwil, Schweiz). Die in situ-Studie wurde durch die Ethik-Kommission des Fachbereiches Medizin der Justus-Liebig-Universität Giessen geprüft und genehmigt (No.: 05/09). Beide Versuche wurden randomisiert und verblindet durchgeführt.

Für den in vitro Versuch wurden je 60, für die darauf folgende in situ Studie je 216 Schmelz- und Dentinproben präpariert.

Die Versuchsgruppen waren in beiden Versuchen die Gleichen:

Gruppe 1: Negativkontrollgruppe, nur Erosion bzw. Placebo

Gruppe 2: Positivkontrollgruppe, Erosion + Lösung mit 500 ppm NaF, pH 4.5

Gruppe 3: Testgruppe, Erosion + Lösung mit 125 ppm F⁻ aus AmF, 375 ppm F⁻ aus NaF, 800 ppm Sn²⁺ aus SnCl₂, pH 4.5

An der in situ Studie nahmen insgesamt 24 Probanden (6 männliche und 18 weibliche) teil. Der Altersdurchschnitt lag bei 32 ± 6,9 Jahren. Jeder Proband erhielt eine Teilnehmernummer fortlaufend von 101 bis 124.

Der Versuch wurde verblindet (Studienteilnehmer, Untersucher) im cross over Design in 3 Durchgängen durchgeführt. Die Durchgänge unterschieden sich nur durch die angewendeten Lösungen. Jeder Proband wendete jede der Lösungen (Placebo, Positivkontrolle, Testlösung) für die Dauer eines Durchganges an.

2. Probanden, Materialien und Methoden

Die Probanden wurden nach folgenden Kriterien ausgewählt:

Einschlusskriterien

- Volljährigkeit
- Keine schweren Allgemeinerkrankungen und keine Erkrankungen, die mit einer Verminderung des Speichelflusses einhergehen können
- Bereitschaft und Vermögen zum „informed consent“
- kein herausnehmbarer Zahnersatz, keine kieferorthopädischen Geräte
- gesundes oder saniertes Gebiss
- keine deutlich sichtbare Plaque
- klinisch physiologischer Speichelfluss

Ausschlusskriterien

- Bekannte Allergien gegen Mundhygieneprodukte oder die verwendeten zahnärztlichen Materialien
- Medikamente, die die Speichelsekretion beeinflussen können
- Schwangerschaft oder Stillzeit

Notwendige allgemeinmedizinische Behandlungsmaßnahmen waren erlaubt, solange sie nicht Bestandteil der Ausschlusskriterien waren. Jede Medikation wurde im Case Report Form (CRF) dokumentiert, ebenso wie jede während der Studie notwendig gewordene Medikamenteneinnahme.

PROBENHERSTELLUNG

Im Folgenden werden die in beiden Versuchen gleich laufenden Arbeitsschritte dargestellt, auf die Unterschiede der beiden Versuchsaufbauten wird im Anschluss gesondert eingegangen.

Für die Durchführung der Versuchsreihen wurden Schmelz- und Dentinproben aus menschlichen, vollständig retinierten dritten Molaren gewonnen. Die dafür benötigten Zähne wurden bis zur Weiterverarbeitung in einer gesättigten, wässrigen Thymollösung (Thymol, Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz) aufbewahrt.

Zunächst wurden eventuell anhaftende Weich- und Hartgewebsreste mechanisch entfernt. Anschließend wurden die Wurzeln abgetrennt und verworfen (Exact Trennschleifsystem, Exact Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Durch

2. Probanden, Materialien und Methoden

longitudinale Schnitte wurden von den verbliebenen Zahnkronen Schmelz- und Dentinproben von etwa 1 mm Dicke präpariert (Exact Trennschleifsystem, Exact Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Die Zahnkronen wurden dazu auf Kunststoffträgerplatten aufgeklebt (Technovit 7230 VLC, Kulzer-Exact, Wehrheim, Deutschland). Dann wurde zunächst eine ca. 1 mm dicke Schmelzscheibe parallel zur Zahnachse abgetrennt und zur weiteren Vorbereitung für die Schmelzprobenherstellung aufbewahrt. Von dem nun freiliegenden Dentin der aufgeklebten Zahnkrone wurden durch weitere parallele Schnitte die Dentinproben gewonnen. Für die weitere Verarbeitung wurden die Schmelz- und Dentinproben jeweils einzeln mit der späteren Probenoberseite nach oben auf einen Probenträger aufgeklebt (Technovit 7230 VLC, Kulzer-Exact, Wehrheim, Deutschland) und in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Die äußere, natürliche Oberfläche der Schmelzproben wurde dann zunächst mit Schleifpapier der Körnung P 1200 (Leco, St. Joseph, USA, nominale Korngröße 12 µm) plan geschliffen (Exact Mikroschleifsystem, Exact Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Dabei wurde ein Versuchsfeld mit einer Größe von mindestens 3x3 mm angestrebt. Der Abtrag betrug dabei etwa 250 µm. Dieses Versuchsfeld wurde anschließend mit Schleifpapier der Körnung P 4000 (Leco, St. Joseph, USA, nominale Korngröße 5 µm) feingeschliffen. Die Oberfläche der Dentinproben wurde in der gleichen Weise erstellt. Zur primären Herstellung des Versuchsfeldes war jedoch aufgrund der parallelen Schnitfführung bei der Gewinnung der Dentinproben ein geringerer Substanzabtrag notwendig. Alle Trenn- und Schleifprozeduren wurden bei ausreichender Wasserkühlung von etwa 50 ml/min. durchgeführt.

Die fertigen Proben wurden von den Probenträgern abgelöst ohne die Versuchsfläche zu beschädigen. Bis zur weiteren Verwendung erfolgte die Aufbewahrung im Kühlschrank in wöchentlich frisch angesetzter, gesättigter Thymollösung.

ANGEWENDETE LÖSUNGEN

Die erosive Demineralisation wurde in allen Gruppen der Versuchsreihen mit 0,05 molarer Zitronensäure durchgeführt (pH 2,35). Dazu wurden 10,51 g Zitronensäure Monohydrat (Merck, Darmstadt, Deutschland) in 1000 ml Aqua dest. gelöst. Die Abgabe an die Probanden der in situ Studie erfolgte in 1,5 l PET-Wasserflaschen, die mit Inhaltsbezeichnung und Probandennummer versehen waren.

Die Positivkontrolllösung (in situ und in vitro) enthielt 500 ppm NaF (pH 4,5)

2. Probanden, Materialien und Methoden

Die Testlösung (in situ und in vitro) enthielt 125 ppm F aus AmF, 375 ppm F aus NaF und 800 ppm Sn aus SnCl₂ (pH 4,5)

Die Placebolösung für die in situ Studie enthielt keine Wirkstoffe und hatte einen neutralen pH-Wert.

Positivkontrolllösung, Placebolösung und Testlösung wurden von GABA international AG (Grabetsmattweg, Therwil, Schweiz) zur Verfügung gestellt und verblindet. Alle nicht anders gekennzeichneten Chemikalien wurden von der Firma Merck, Darmstadt, Deutschland bezogen.

Die Remineralisationslösung (pH 6.7) für den in vitro Versuch wurde angesetzt, indem 0,4 g H₃PO₄ in 40 ml Aqua dest, 1,5 g KCl in 100 ml Aqua dest. und 1 g NaHCO₃ in 100 ml Aqua dest. gelöst wurden. Diese Lösungen wurden zusammengegeben und auf 600 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Dann wurden 0,2 g CaCl₂ in 100 ml Aqua dest. gelöst und unter Rühren hinzugefügt. Der Ansatz wurde mit Aqua dest. auf 1000 ml aufgefüllt.

Weitere Produkte:

Zahnpaste zur täglichen Mundhygiene der Probanden: standardisierte Zahnpaste (Elmex Kariesschutz Zahnpasta, 1250 ppm F aus AmF, GABA international AG Grabetsmattweg, Therwil, Schweiz)

Lösung zur Vermeidung von Plaqueanlagerung an den Proben der in situ Studie: Chlorhexamed® Fluid 0,1%, (Wirkstoff Chlorhexidinbis-D-Gluconat, Glaxo Smithkline consumer Healthcare GmbH & Co. KG, Bühl, Deutschland)

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Der in vitro Versuch wurde über einen Zeitraum von zehn Tagen (2 x 5 Wochentage) durchgeführt. Die Proben wurden mit einem lichthärtenden Kunststoff (Technovit 7230 VLC, Kulzer-Exact, Wehrheim, Deutschland) auf Objektträger aufgeklebt. Die Versuchsfläche wurde zur Hälfte mit dem Kunststoff abgedeckt und das freibleibende Areal sorgfältig auf Verunreinigungen kontrolliert. Die Objektträger wurden in Halterungen eingebracht (Färbegestelle, Schott, Mainz, Deutschland), die das gleichzeitige Umsetzen aller Proben in die verschiedenen Lösungen gewährleisten. Die Halterungen und Gefässe (Färbekästen, Schott, Mainz, Deutschland) wurden während der gesamten Versuchsdurchführung, also bei Anwendung der Testprodukte, der Demineralisation und der Zwischenlagerung in Remineralisationslösung nur für die

2. Probanden, Materialien und Methoden

jeweilige Gruppe verwendet. Nach Ablauf der ersten fünf Versuchstage wurden die Proben am Wochenende bei 100% Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank aufbewahrt.

Die Proben wurden in die drei Gruppen mit je 20 Dentin- und 20 Schmelzproben eingeteilt. Alle Gruppen wurden täglich für 6 x 5 Minuten in 250 ml 0,05 molarer Zitronensäure auf einer Schüttelplatte geschwenkt und anschliessend für eine Minute unter fließendem Wasser abgespült. Die erosive Demineralisation erfolgte sechsmal im Abstand von einer Stunde. Die Proben der Positivkontrollgruppe und der Testgruppe wurden anschliessend an die erste und letzte Erosion des Tages nach dem Abspülen für zwei Minuten in der jeweiligen Testlösung (je 250 ml im Färbekasten) geschwenkt, für eine Minute unter fließendem Wasser abgespült und anschließend in die Remineralisationslösung zurückgesetzt. Die Proben der Placebogruppe (Gruppe 1) wurden nach Demineralisation und Abspülen direkt in die Remineralisationslösung zurückgegeben. Alle Versuche wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Alle verwendeten Lösungen wurden jeden Tag vor Versuchsbeginn frisch in die dafür vorgesehenen Gefässe eingefüllt. Die pH-Werte aller Lösungen wurden täglich jeweils einmal vor und nach Versuchsdurchführung mit einer ionenselektiven Elektrode überprüft. Alle Zeiten wurden mit einer digitalen Stoppuhr genau abgemessen.

Am Ende des Versuchs wurde die Abdeckung des Referenzareals vorsichtig entfernt, ohne die Probenoberfläche zu berühren. Bis zur zeitnahen Weiterverarbeitung und Auswertung erfolgte die Lagerung in einer feuchten Kammer (100% Luftfeuchtigkeit).

Im der in situ Studie wurden die 24 Probanden zunächst über Ziel und Durchführung der Versuche informiert und es wurden schriftliche Informationen für die Probanden sowie die Einverständniserklärung ausgehändigt. Nach dem grundsätzlichen Einverständnis wurde beim nächsten Termin der schriftliche „informed consent“ eingeholt. Die Einschlusskriterien wurden mit einem standardisierten Anamnesebogen und einer klinischen Untersuchung überprüft.

Es folgte die Abformung von Ober- und Unterkiefer mit Alginat (Palgat™ Plus, 3M Espe AG, Seefeld, Deutschland) und die Herstellung von Gipsmodellen. Auf den Modellen wurde eine im Unterkiefer verankerte Probenhalterung mit bukkalen Flügeln und gefrästen Vertiefungen zur Aufnahme der Proben angefertigt (Abbildung 1). Die Herstellung der Modelle und der Probenhalterungen erfolgte in einem zahntechnischen Labor.

2. Probanden, Materialien und Methoden



Abbildung 1: Probenträger extraoral ohne Proben, gefräste Aussparung zur Probenaufnahme

Die Probanden trugen während drei jeweils 7 Tage dauernder Versuchsdurchgänge sowohl drei Schmelz- als auch drei Dentinproben in der individuell angefertigten, intraoralen Probenhalterung. Die Probanden demineralisierten die Proben extraoral sechsmal täglich und die Anwendung des jeweiligen Testprodukts erfolgte intraoral einmal täglich nach der ersten Demineralisation.

Vor Beginn jedes 7-tägigen Zyklus wurden je drei Schmelz- und Dentinproben alternierend mit einem lichthärtenden Kunststoff (Technovit 7230 VLC, Kulzer-Exact, Wehrheim, Deutschland) in die entsprechende Probenhalterung eingesetzt (Abbildung 2 bis Abbildung 4).

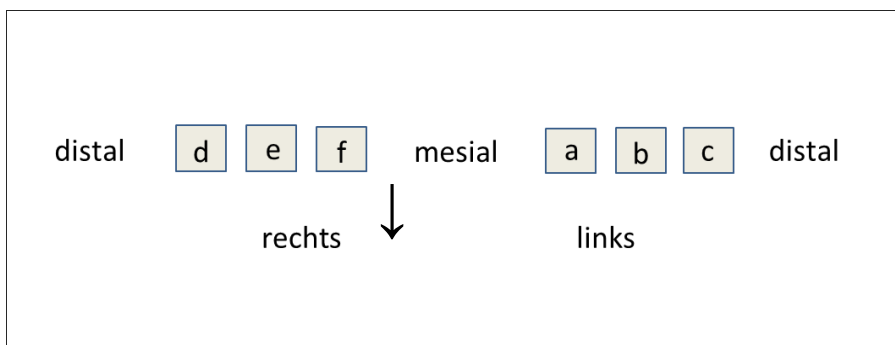


Abbildung 2: Positionsschema der Schmelzproben (a, c, e) und der Dentinproben (b, d, f) im Probenträger; Ansicht von frontal

2. Probanden, Materialien und Methoden

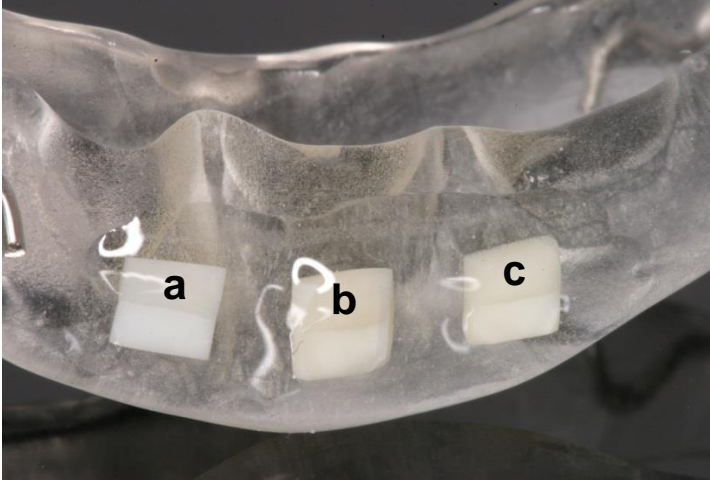


Abbildung 3: Probenträger extraoral mit eingesetzten Proben. Ansicht von links, Positionen a (Schmelz), b (Dentin) und c (Schmelz)



Abbildung 4: Probenträger intraoral mit alternierend eingesetzten Schmelzproben (a, c, e) und Dentinproben (d, e, f)

Vor und zwischen den drei Versuchsphasen lag eine jeweils fünf Tage andauernde „wash-out-Phase“, in der die Probanden nur die gewohnten Mundhygienemaßnahmen durchführten. Während der 7-tägigen Versuchsdurchgänge und der wash-out-Phasen wurden Speisen und Getränke mit hohem Fluoridgehalt (fluoridhaltige Mineralwässer, schwarzer und grüner Tee, Seefisch, fluoridiertes Speisesalz) bestmöglich vermieden. Mundhygienemaßnahmen wurden wie individuell gewohnt, jedoch mit der standardisierten Zahnpaste (Elmex Kariesschutz Zahnpaste, 1250 ppm F⁻ aus AmF) durchgeführt. Die Probanden verwendeten während des Experiments keine weiteren fluoridhaltigen Mundhygieneprodukte (andere Mundspüllösungen, Gele o.ä.). Während der Mundhygienemaßnahmen wurden die Proben extraoral in der feuchten Kammer aufbewahrt.

2. Probanden, Materialien und Methoden

Versuchsgruppen

- Placebogruppe: Placebolösung (kein Fluorid und kein Zinn), neutraler pH-Wert
- Positivkontrolllösung: 500 ppm F⁻ aus NaF, pH-Wert 4,5
- Testlösung: 125 ppm F⁻ aus AmF, 375 ppm F⁻ aus NaF, 800 ppm, Sn²⁺ aus SnCl₂, pH-Wert 4,5

Dosierung und Anwendung der Studienprodukte

Die Studienprodukte wurden einmal täglich für 30 Sekunden intraoral angewendet. Diese Anwendungsdauer entspricht den allgemeinen Anwendungsempfehlungen für Mundspüllösungen.

Die Probanden wendeten die verschiedenen Lösungen nacheinander in unterschiedlicher Reihenfolge an. Für jeden Probanden wurde ein codiertes Set von Testprodukten bereitgestellt. Die darin enthaltenen Lösungen wurden in einer vorgegebenen Reihenfolge ausgeteilt und angewendet. Diese wurde vor Versuchsbeginn festgelegt (Randomisierung)

Außerdem erhielten die Probanden:

- eine ausführliche schriftliche und praktische Anleitung
- einen Versuchsplan mit Kontrollliste
- Zitronensäure (0,05 molar) für 7 Versuchstage
- eine Flasche (200 ml) Chlorhexamed®Fluid, 0,1%, Wirkstoff Chlorhexidinbis (D-Gluconat) (GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH & Co. KG, 77815 Bühl, Deutschland)
- eine Stoppuhr
- drei dicht schließende Behältnisse (1x feuchte Kammer, 1x Zitronensäure, 1x Chlorhexamed)
- eine Zahnbürste, weich (GABA international AG, Therwil, Schweiz)
- eine standardisierte Zahnpaste: Elmex Kariesschutz Zahnpasta, 1250 ppm F aus Aminfluorid (GABA international AG, Therwil, Schweiz)

2. Probanden, Materialien und Methoden

Zu Beginn jeder Versuchsphase wurden die Probenhalterungen mit den jeweils neu eingesetzten Proben und die entsprechende Mundspüllösung ausgeteilt. Die Probenhalterungen wurden sowohl tagsüber als auch nachts getragen und nur während der Mahlzeiten oder während der persönlichen Mundhygiene entfernt und in einer feuchten Kammer gelagert. Die Probanden spülten einmal täglich mit 10 ml (eine Verschlusskappe) der Spüllösung für 30 Sekunden nach der ersten Erosion. Nach der Anwendung wurde die Lösung ausgespuckt, jedoch nicht mit Wasser ausgespült. Zur erosiven Demineralisation wurde für jeden Versuchsdurchgang eine ausreichende Menge an frisch angesetzter Zitronensäure ausgeteilt. Die Probanden füllten zu Beginn jedes Versuchstages mindestens 200 ml Zitronensäure in eines der ausgeteilten, entsprechend markierten, dicht schließenden Gefäße ein. Zur Demineralisation wurde der Probenträger in dieses Gefäß eingelegt und sichergestellt, dass die Proben vollständig mit Säure bedeckt waren. Nach 5 Minuten wurden die Probenträger entnommen, für 1 Minute unter fließendem Wasser abgespült und wieder inkorporiert. Die Erosionslösung wurde jeden Abend verworfen und morgens wieder frisch in die Gefäße eingefüllt.

Zur Vermeidung von Plaquewachstum wurden die Probenhalterungen, nicht jedoch die Proben, abends mit der ausgeteilten Zahnbürste ohne Zahnpaste gereinigt. Die Probenhalterung mit den Proben wurde anschließend für 1 Minute in die Chlorhexidindigluconatlösung eingelegt. Der pH-Wert dieses Produkts liegt im neutralen Bereich, Effekte in Bezug auf den Mineralverlust sind nicht bekannt.

Der Versuch wurde während der Wochentage durchgeführt. An den Wochenenden wurden die Probenhalterungen bei 100% Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank gelagert. Dazu kamen die Probenträger freitagabends oder samstagsmorgens in eine feuchte Kammer und wurden entsprechend entweder sonntagabends oder montagmorgens wieder inkorporiert. Es war darauf zu achten, dass sich zwischen zwei Erosionsbehandlungen die Probenhalter eine adäquate Zeit in situ befanden um die Bildung eines ausreichend stabilen Pellikels zu gewährleisten.

Die Probanden haben nach jeder Versuchsphase die restliche Mundspüllösung zurückgegeben. Anschließend wurde der tatsächliche Verbrauch an Mundspüllösung durch Wiegen ermittelt.

Nach jeder Versuchsphase wurden die Proben aus dem Probenhalter entnommen und für die Auswertung vorbereitet. Dazu wurden die Proben auf mit der jeweiligen Probenkennung beschriftete Objektträger aufgeklebt (Technovit 7230 VLC, Kulzer-Exact, Wehrheim, Deutschland) und die Abdeckung der Referenzfläche ohne

2. Probanden, Materialien und Methoden

Beschädigung der Probenoberfläche entfernt. Alle Proben wurden bis zur Auswertung in einer feuchten Kammer (100% Luftfeuchtigkeit) aufbewahrt.

MESSMETHODE

Die Messung des Substanzverlustes wurde für die Proben aus dem in vitro Versuch und der in situ Studie auf gleiche Weise durchgeführt.

Die Zielgröße wurde profilometrisch als Höhendifferenz zwischen dem während des Versuchs abgedeckten Referenzareal und dem den Versuchseinwirkungen ausgesetzten Versuchsareal bestimmt.

Die Proben der in situ Studie wurden dazu vorsichtig aus den Probenhalterungen gelöst und auf beschriftete Objektträger aufgeklebt. Die Proben des in vitro Versuchs konnten auf den während des Versuchs verwendeten Objektträgern belassen werden.

Die Messungen wurden mit einem Perthometer S8P und einem mechanischen Taster FRW-750 (jeweils Perthen Mahr, Göttingen, Deutschland) bei Dentin und einem optischen Taster (Rodenstock, München, Deutschland) bei Schmelz durchgeführt. Die Dentinproben wurden vor der Messung zur Entfernung der freigelegten organischen Matrix für 96 h bei 37 C° der Kollagenase ausgesetzt. Diese kam sowohl im in vitro Versuch als auch in der situ Studie zum Einsatz. Sie wurde angesetzt, indem 15 Units Kollagenase (Kollagenase von Clostridium histolyticum type VII, Sigma Aldrich, St. Louis, USA) in 150 ml der Remineralisationslösung, entsprechend der des Laborversuchs, gelöst wurden.

Der Erfolg der enzymatischen Entfernung der kollagenen Matrix von der Dentinoberfläche wurde visuell unter dem Mikroskop und mittels Sondenprüfung kontrolliert. Um Trocknungsartefakte zu vermeiden, wurde bei den Dentinproben vor jeder Messung für 30 Sekunden ein Tropfen Aqua dest. appliziert. Unmittelbar vor jedem Profilschrieb wurde der Tropfen mit einem Zellstofftuch entfernt, ohne die Probe zu berühren.

Vor jeder Messsitzung wurde das System nach Herstellerangaben kalibriert.

Die Objektträger mit den Proben wurden mit Knetmasse auf dem xy-Tisch des Profilometers fixiert. Es wurden je Probe drei Profilschriebe aufgezeichnet.

Bei den Messungen wurde das sog. D-Profil aufgezeichnet, welches der Geometrie der abgetasteten Oberfläche entsprechend den Vertikal- und Horizontalbewegungen des Tasters entspricht. Die Messstrecke betrug 1,75 mm. Die Profilschriebe wurden im Anschluss mit einer speziellen Software Perthometer Concept 4.0 (Perthen Mahr, Göttingen, Deutschland) ausgewertet. Zunächst wurde auf dem der Referenzebene entsprechenden Abschnitt des Profilschriebs eine Ausgleichsgerade berechnet, nach

2. Probanden, Materialien und Methoden

der das Profil in einem xy-Koordinatensystem ausgerichtet werden konnte. Auf dem der Versuchsfläche entsprechenden Abschnitt des Profilschriebs wurde eine zweite Ausgleichsgerade berechnet und auf beiden Geraden der mittlere Punkt automatisch bestimmt. Der Substanzverlust wurde als vertikaler Abstand dieser beiden Punkte in μm definiert. Der endgültige Messwert für jede Probe entsprach dem Mittelwert aus den drei Profilschrieben. Die Probengeometrie sowie die Auswertung eines Profilschriebs ist in den Abbildung 5 und Abbildung 6 dargestellt.

Die Reproduzierbarkeit der Methode liegt bei $1,1 \mu\text{m}$ (wiederholte Profilschriebe ($n = 10$) derselben Probe) bzw. $0,1 \mu\text{m}$ (wiederholten Analyse ($n = 10$) desselben Profilschriebs). Die Profilvarianz einer Probe betrug $0,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$. Die Proben wurden vor den einzelnen Messungen komplett aus dem System entfernt und neu wiedereingebracht. Der mittlere Substanzverlust bei den Referenzmessungen lag bei $16,7 \mu\text{m}$.

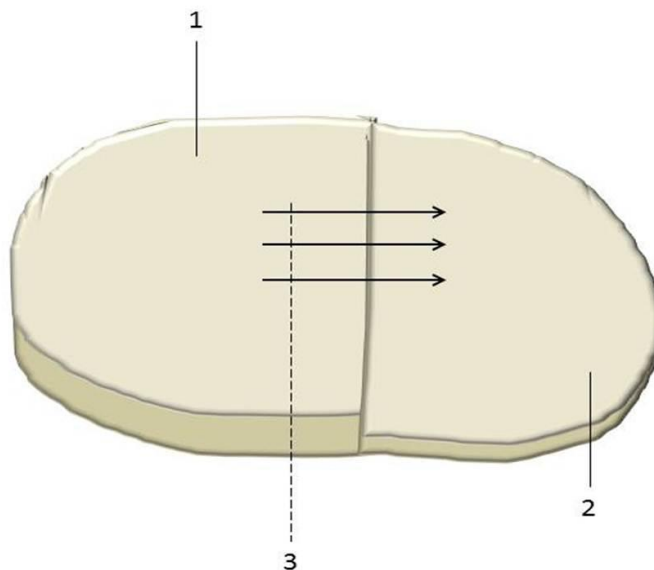


Abbildung 5: Probe in der Aufsicht

(1) Referenzfläche

(2) Versuchsfläche

(3) Die Profilschriebe wurden ausgehend von der Referenzfläche zur Versuchsfläche aufgezeichnet

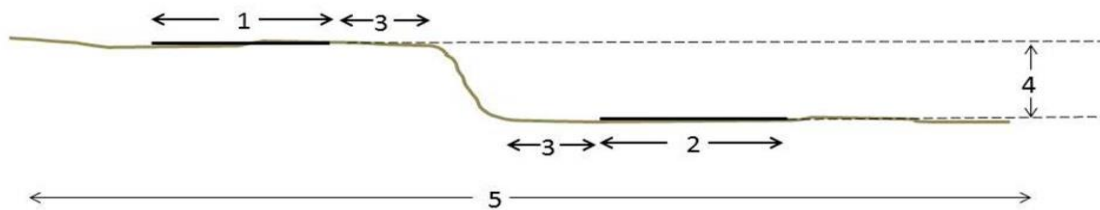


Abbildung 6: Auswertung eines Profilschriebs

- (1) Konstruktion der ersten Ausgleichsgeraden (Länge 0,5 mm) auf der Referenzebene zur Ausrichtung des Profilschriebs im Koordinatensystem
- (2) Konstruktion einer zweiten Ausgleichsgeraden (Länge 0,5 mm) im Bereich der Versuchsfläche
- (3) Abstand zur Grenze Versuchs-/Referenzebene jeweils 0,2 mm
- (4) Bestimmung des vertikalen Abstands der mittleren Punkte der Ausgleichsgeraden als Maß für den Substanzverlust
- (5) Gesamtlänge des Profilschriebs 1,75 mm

FALLZAHLSCHÄTZUNG

Es lag bereits eine Reihe von Daten aus *in vitro* und *in situ* Versuchen der Arbeitsgruppe vor, hinzu kam der vorliegende *in vitro* Versuch. Die in den vorangegangenen *in vitro* Studien beobachteten Effekte der Testlösung, im Vergleich zu NaF als Standard, waren im Schmelz sehr eindeutig. Auch im vorliegenden *in vitro* Versuch betrug die Reduktion des Substanzverlusts im Schmelz gegenüber der Placebogruppe für NaF nur 6,2%, für die Testlösung jedoch 77,6%. Im Dentin waren die Effekte stets deutlich geringer ausgeprägt. Grundlage der Fallzahlschätzung für die *in situ* Studie waren daher die erzielten Reduktionen des Substanzverlustes im Dentin.

Inwieweit Ergebnisse aus *in vitro* Versuchen eine Vorhersage für die zu erwartenden Werte *in situ* erlauben, zeigt ein Vergleich der vorangegangenen Studien. Die Daten vorheriger Studien mit ähnlichen Lösungen sind in der folgenden Tabelle (Tabelle 1) zusammengefasst. Aus den oben genannten Gründen sind hier nur die Werte für Dentin berücksichtigt.

Der Vergleich der Studien zeigt, dass die *in vitro* Ergebnisse insgesamt gut mit den Resultaten der *in situ* Studien übereinstimmen. Insgesamt kann ein Unterschied von

2. Probanden, Materialien und Methoden

ca. 8-9 μm zwischen NaF- und Testlösung im Dentin erwartet werden. In Relation zu dem Substanzverlust in der Placebogruppe bedeutet das eine um etwa 13-21% höhere Wirksamkeit der Testlösung im Vergleich zur Kontrollgruppe (NaF-Lösung). Gerade für Dentin ist eine effektive antierosive Wirkung relativ schwierig zu erzielen. Eine Verbesserung in der erwähnten Größenordnung gegenüber Standardwirkstoffen wäre daher klinisch relevant. Die in situ Studie wurde daher so angelegt, dass eine Differenz von 9 μm statistisch signifikant nachweisbar wäre.

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisse vorheriger Studien, in denen die erosionsinhibierende Wirkung bei Dentin untersucht wurde. Die Daten aus der in vitro Studie mit einer Versuchsdauer von 10 Tagen sind zum Vergleich mit der in situ Studie auch mit Schätzwerten für 7 Tage dargestellt, alle Werte in μm , %-Werte in Klammern entsprechen der Reduktion gegenüber Placebogruppe.

	Placebo	Testlösung	NaF-Lösung
in vitro (Schlueter, Neutard <i>et al.</i> 2010) Versuchsdauer 10 Tage		800ppm Sn aus SnCl_2 , 375 ppm F^- aus NaF, 125 ppm F^- aus AmF	500 ppm F^-
Substanzverlust	92,6 \pm 8,8 Entspricht bei 7 Tagen 65,1	43,6 \pm 4,6 (52,9%) Entspricht bei 7 Tagen 30,8	55,9 \pm 3,6 (40%) Entspricht bei 7 Tagen 39,1
in situ (Schlueter, Klimek <i>et al.</i> 2009b) Versuchsdauer 7 Tage		1900 ppm Sn aus SnCl_2 , 500 ppm F^- aus NaF, 500 ppm F^- aus AmF	1000 ppm F^-
Substanzverlust	47,8 \pm 15,5	23,8 \pm 6,4 (50,2%)	34,1 \pm 9,3 (28,7%)

Die Fallzahlberechnung wurde mit Cademo Version 3.25 durchgeführt. Bei einer Gruppengröße von $n = 20$ und einer mittleren Standardabweichung von 10 (Mittelwert der Standardabweichung aus allen Placebogruppen 12,2 μm ; Mittelwert aus allen Gruppen mit Anwendungen von Lösungen 6,0 μm ; $\alpha = 0,05$, $\beta = 0,2$) ergab sich bei drei Gruppen eine nachweisbare Mindstdifferenz von 9,0 μm . Das entspricht der oben diskutierten klinisch relevanten Differenz. In der erwähnten, vorangegangenen in situ Studie konnte bei einer Differenz dieser Größenordnung Signifikanz erreicht werden. Zur Absicherung dieser Fallzahl wurden 24 Probanden eingeschlossen, um eventuell ausscheidende Probanden oder Probenverluste ausgleichen zu können.

RANDOMISIERUNG

Die Firma GABA (GABA international AG, Therwil, Schweiz) lieferte die Produkte in neutralen Verpackungen randomisiert, verblindet und codiert, in der in situ Studie für jeden Studienteilnehmer als fertiges Set aus drei Flaschen. Die Randomisierung wurde mit der Software für die Generierung von Randomisierungstabellen „randommethod.htm“ durchgeführt. Ausführlich beschrieben wird das Verfahren in: McLeod AI. Remark AS R58. A remark on algorithm AS 183. An efficient and portable pseudo-random number generator. Appl. Stat. 34 (1985) 198-200 und in: Wichmann BA and Hill ID. Algorithm AS 183. An efficient and portable pseudo-random number generator. Appl. Stat. 31 (1982) 188-190. Die Entblindung erfolgte nach Abschluss aller Auswertungen.

DATENVERARBEITUNG UND STATISTIK

Die Rohdaten wurden im Laborversuch direkt in Excel Tabellen übertragen. In der in situ Studie wurden die Rohdaten in den jeweiligen Case Report Form (CRF) eingetragen, dann in eine Excel Tabelle übertragen und auf Richtigkeit überprüft. Die Daten wurden auf signifikante Abweichungen von der Gauß-Verteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test) sowie Abweichungen von der Varianzhomogenität (Levene-Test) geprüft. Der Vergleich zwischen den Gruppen wurde mit der einfachen Varianzanalyse (ANOVA) mit dem Anschlussstest nach Tukey durchgeführt.

UNERWÜNSCHTE VORKOMMNISSE IM IN SITU-VERSUCH

Ein unerwünschtes Vorkommnis ist jedes medizinische Ereignis bei einem Probanden, der ein Studienprodukt angewendet hat. Es kann, muss aber keine kausale Beziehung zu der Anwendung von Studienprodukten haben. Unerwünschte Vorkommnisse werden nach Schweregrad klassifiziert und beurteilt, ob ein Zusammenhang mit der Anwendung des Studienproduktes besteht. Die exakten Definitionen und Klassifizierungen sind im Anhang unter Unerwünschte Vorkommnisse zu finden.

3. Ergebnisse

ERGEBNISSE DES IN VITRO VERSUCHS

Der größte Substanzverlust im Schmelz fand sich in der Negativ-Kontrollgruppe (Tabelle 2). In der NaF-Gruppe konnte keine deutliche Verringerung des Substanzverlustes im Vergleich zur Negativkontrolle erzielt werden. Die Testlösung hingegen verringerte den Substanzverlust um 77,6% ($p \leq 0,001$) im Vergleich zur Negativkontrolle. Die NaF-Lösung und die Testlösung unterschieden sich in ihrer Wirksamkeit ebenfalls signifikant voneinander ($p \leq 0,001$).

Tabelle 2: Substanzverlust in vitro bei Schmelz nach 10 Versuchstagen (arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung in μm); unterschiedliche Buchstaben (a, b, c) bedeuten Signifikanz

Schmelz	Substanzverlust	Reduktion gegenüber Negativkontrolle
Negativkontrolle	74,1 \pm 12,1 ^a	
NaF-Lösung	69,5 \pm 13,7 ^a	6,2%
Testlösung	16,6 \pm 5,9 ^b	77,6%

Auch im Dentin (Tabelle 3) fand sich wie erwartet der größte Substanzverlust in der Negativkontrollgruppe. Im Gegensatz zur Versuchsreihe mit Schmelz konnte die NaF-Lösung hier eine erhöhte Wirksamkeit entfalten und erreichte eine Verringerung des Substanzverlustes um 39,6% im Vergleich zur Negativkontrolle. Die Testlösung konnte eine Verringerung des Substanzverlustes um 52,9% im Vergleich zur Negativkontrolle bewirken. Auch im Vergleich zur NaF-Lösung konnte durch Anwendung der Testlösung der Substanzverlust deutlich verringert werden ($p \leq 0,001$).

Tabelle 3: Substanzverlust in vitro bei Dentin nach 10 Versuchstagen (arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung in μm); unterschiedliche Buchstaben (a, b, c) bedeuten Signifikanz

Dentin	Substanzverlust	Reduktion gegenüber Negativkontrolle
Negativkontrolle	92,6 \pm 8,8 ^a	
NaF-Lösung	55,9 \pm 3,6 ^b	39,6%
Testlösung	43,6 \pm 4,6 ^c	52,9%

3. Ergebnisse

ERGEBNISSE DER IN SITU STUDIE

Durchführung

Alle Probanden beendeten den Versuch wie vorgesehen. Es gingen insgesamt 18 Proben (5 Dentin- und 13 Schmelzproben) (4,2%) während des Tragemodus beziehungsweise im Anschluss an den Versuchsdurchgang beim Entfernen aus der Probenhalterung verloren oder waren aufgrund des Verlustes der Abdeckung der Referenzfläche nicht auszuwerten (Tabelle 4)

Die übrigen Proben konnten vollständig und unversehrt aus den Probenhalterungen entfernt und ausgewertet werden.

Tabelle 4: nicht ausgewertete Proben, Schmelz hellgrau, Dentin dunkelgrau

Proband	Durchgang	Probe	Ursache
102	1	E	Verlust der Abdeckung der Referenzfläche
103	1	E	Referenzfläche erodiert
107	1	C	Referenzfläche erodiert
111	1	E	Verlust der Abdeckung der Referenzfläche
113	1	C	Verlust der Probe bei Entnahme aus Halterung
114	1	E	Probe bei Entnahme zerbrochen
115	1	E	Verlust der Probe während des Durchgangs
116	1	A	Verlust der Abdeckung der Referenzfläche
118	1	A	Verlust der Probe während des Durchgangs
118	1	C	Verlust der Probe während des Durchgangs
119	2	A	Probe bei Entnahme zerbrochen
120	3	A	Probe bei Entnahme zerbrochen
123	1	A	Probe bei Entnahme zerbrochen
101	1	D	Verlust der Abdeckung der Referenzfläche
103	3	D	Verlust der Probe bei Entnahme aus Halterung
115	1	D	Verlust der Probe während des Durchgangs
115	1	F	Verlust der Probe während des Durchgangs
118	1	B	Verlust der Probe während des Durchgangs

3. Ergebnisse

Zwei Probanden beließen den Probenhalter irrtümlich über einen längeren Zeitraum als vorgesehen in der Zitronensäure. Beide Probanden erklärten sich jedoch bereit den jeweiligen Durchgang mit neuen Proben erneut durchzuführen. Da die Probanden keine neuen Testprodukte erhielten, war der Verbrauch an Mundspüllösung in den jeweiligen Durchgängen erhöht (Tabelle 5).

Tabelle 5: Verbrauch an Spüllösung pro Proband [g]

Proband	Placebolösung	NaF-Lösung	Testlösung
101	77,5	83,5	82,0
102	72,5	75,5	71,0
103	73,0	78,5	83,5
104	84,5	102,5	90,5
105	72,0	75,5	79,0
106	79,5	77,0	85,5
107	112,0	88,5	100,5
108	78,0	79,5	80,5
109	79,0	83,5	83,5
110	77,5	83,0	83,5
111	74,0	84,0	86,0
112	81,0	93,5	89,5
113	75,0	85,5	146,5
114	72,0	130,5	85,0
115	82,0	89,5	96,5
116	132,0	182,5	175,5
117	69,0	63,0	59,5
118	129,0	70,5	103,5
119	82,5	89,0	89,5
120	81,0	83,5	91,0
121	71,5	78,0	72,5
122	79,0	89,0	79,5
123	85,5	87,0	84,0
124	82,5	146,5	66,5

Es kam zu geringfügigen Beeinträchtigungen der Probanden während der Versuchsdurchführung. Zwei Probanden klagten für einen Zeitraum von etwa 7 Tagen über Mundtrockenheit, die jedoch nach Beendigung des jeweiligen Durchgangs wieder verschwand. Zwei Probanden berichteten über eine zeitweilig verstärkte Sensibilität der Zähne, welche sich ebenfalls nach Beendigung des jeweiligen Durchgangs vollständig normalisierte. Bei einem Probanden konnte über einen Zeitraum von etwa sechs Tagen eine reversible, gelbliche Verfärbung der Zunge beobachtet werden. Bei

3. Ergebnisse

einem weiteren Probanden konnte während eines Durchgangs eine nicht schmerzhafte, scharf begrenzte rötliche Effloreszenz der Gaumenschleimhaut festgestellt werden. Diese heilte folgenlos ab und ein Zusammenhang mit dem Studienprodukt ist fraglich. Ein Proband erkrankte für vier Tage an einem grippalen Infekt und musste den Durchgang für diesen Zeitraum unterbrechen, konnte ihn aber nach Genesung fortsetzen.

Es trat kein moderates oder schweres unerwünschtes Ereignis auf.

Ergebnisse Schmelz

Die Substanzverluste aller Gruppen unterschieden sich deutlich voneinander (p jeweils $\leq 0,001$) (Tabelle 6). Im Schmelz zeigte sich erwartungsgemäß der größte Substanzverlust in der Placebogruppe. In der Positivkontrollgruppe zeigte sich eine Verringerung des Substanzverlustes um etwa 19%, in der Testgruppe sogar eine Verringerung um etwa 67% im Vergleich zu dem der Placebogruppe. Es konnte für die Testlösung neben der erosionsinhibierenden Wirkung im Vergleich zur Placebolösung auch eine Verbesserung der Wirkung im Vergleich zur NaF-Lösung nachgewiesen werden.

Tabelle 6: Substanzverlust Schmelz in situ (arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung in μm); unterschiedliche Buchstaben (a, b, c) bedeuten Signifikanz

Schmelz	Substanzverlust in μm	Reduktion gegenüber Placebolösung
Placebolösung	$28,2 \pm 6,1^a$	
NaF-Lösung	$22,8 \pm 6,0^b$	19,1%
Testlösung	$9,3 \pm 4,5^c$	67,0%

Auch probandenbezogen lässt sich der Unterschied bezüglich der erosionsinhibierenden Wirkung gut darstellen (Abbildung 7). Bei allen Probanden war eine deutliche Reduktion des Substanzverlustes durch die Testlösung sowohl im Vergleich zur Placebolösung, als auch im Vergleich zur NaF-Lösung beobachtet werden.

3. Ergebnisse

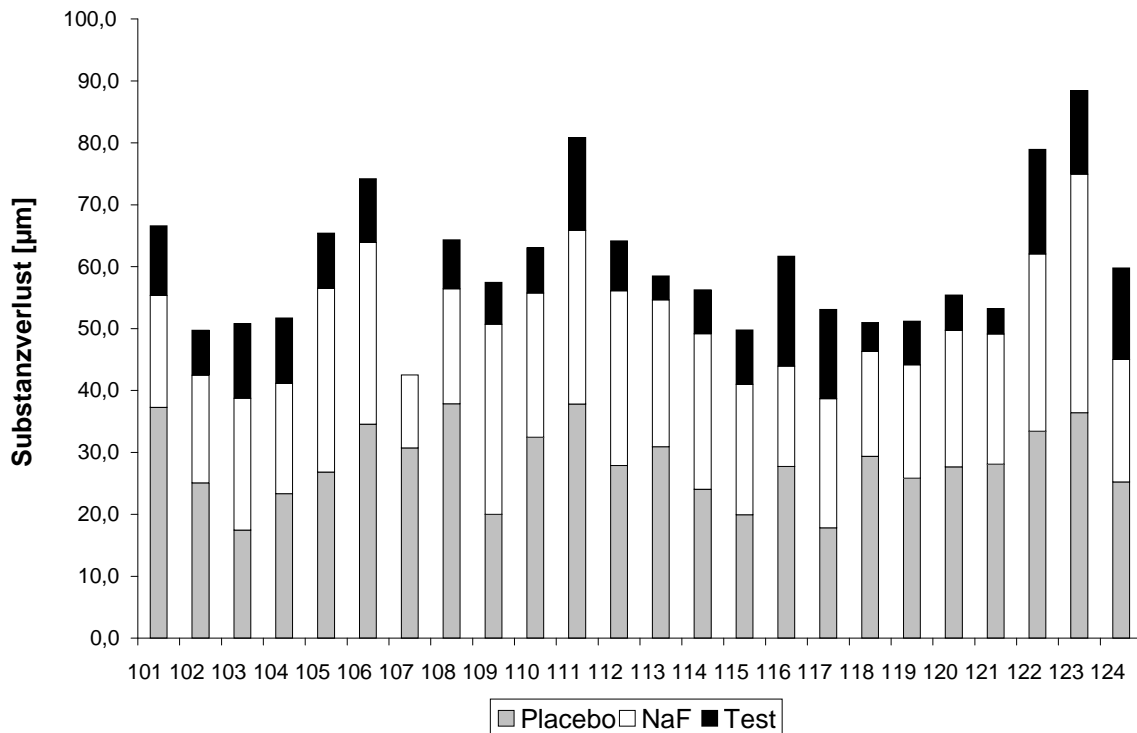


Abbildung 7: Substanzverlust Schmelz in situ (µm), aufgeteilt nach Probanden (101-124), der Wert für die Testlösung bei Proband 107 betrug -0,1 µm und ist daher nicht dargestellt; Dieses Diagramm wurde veröffentlicht im Journal of dental research (Ganss, Neutard *et al.* 2010).

Ergebnisse Dentin

Im Dentin konnten zwischen allen Gruppen Unterschiede in Bezug auf die Größe des Substanzverlustes festgestellt (p jeweils $\leq 0,001$) werden (Tabelle 7). Die Unterschiede waren jedoch zwischen den einzelnen Gruppen nicht so stark ausgeprägt wie im Schmelz. Es konnte eine Verringerung des Substanzverlustes in der NaF-Gruppe von etwa 23% im Vergleich zur Placebogruppe, sowie eine Verringerung von etwa 47% in der Testgruppe im Vergleich zur Placebogruppe gemessen werden. Der erosionsinhibierende Effekt der Testlösung war auch im Vergleich zur NaF-Lösung verbessert. Auch hier war der Unterschied im Dentin nicht so deutlich wie im Schmelz

Tabelle 7: Substanzverlust Dentin in situ (arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung in µm); unterschiedliche Buchstaben (a, b, c) bedeuten Signifikanz

Dentin	Substanzverlust in µm	Reduktion gegenüber Placebolösung
Placebolösung	43,8 \pm 9,2 ^a	
NaF-Lösung	33,7 \pm 6,6 ^b	23,1%
Testlösung	23,2 \pm 6,8 ^c	47,0%

3. Ergebnisse

Betrachtet man die Werte für jeden einzelnen Probanden, erkennt man die deutliche Reduktion des Substanzverlustes durch die Testlösung im Vergleich zur Placebolösung bei allen Probanden (Abbildung 8). Im Vergleich zur NaF-Lösung sind jedoch Unterschiede in der Effektivität zu erkennen. So gibt es Probanden die eine sehr deutliche Reduktion des Substanzverlustes durch die Testlösung im Vergleich zur NaF-Lösung zeigten (zum Beispiel Proband 103) und Solche bei denen kaum Unterschiede bezüglich der Wirkung erkennbar waren (zum Beispiel Proband 116).

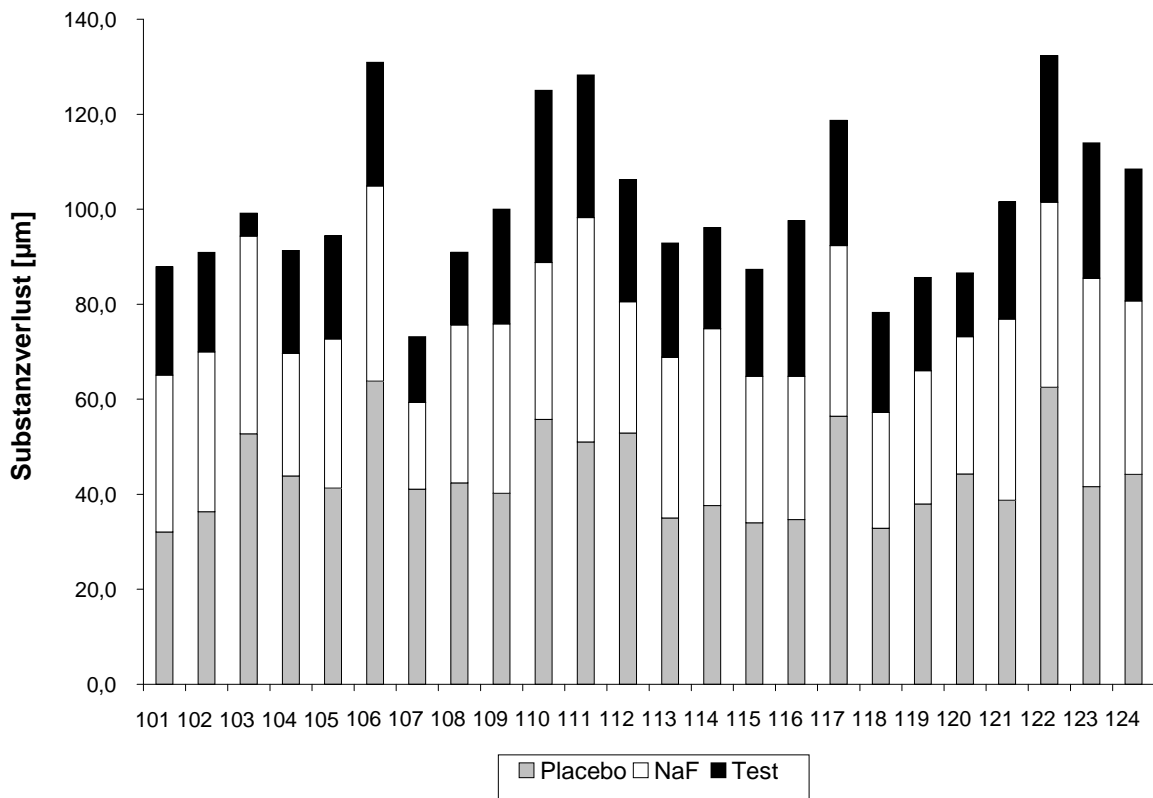


Abbildung 8: Dentin in situ (µm), aufgeteilt nach Probanden (101-124); Dieses Diagramm wurde veröffentlicht im Journal of dental research (Ganss, Neutard *et al.* 2010).

4. Diskussion

Die vorliegenden Versuche basieren auf einer ganzen Reihe vorangegangener Erosionsversuche der Arbeitsgruppe. In diesen wurde mit dem Wirkstoff Zinn, in Form von Zinnchlorid, in Kombination mit Aminfluorid und Natriumfluorid, als unabhängigen Fluoridquellen, experimentiert. Zunächst wurden *in vitro* Versuche durchgeführt, die den Nachweis einer grundsätzlichen antierosiven Wirkung von zinnhaltigen Lösungen zur Zielsetzung hatten. Bei diesen Versuchen kamen zum Teil sehr hohe Wirkstoffkonzentrationen zum Einsatz (Schlueter, Klimek *et al.* 2009a; Schlueter, Klimek *et al.* 2009c). Die Reproduktion der Laborergebnisse in einer *in situ* Studie lieferte vielversprechende Ergebnisse. Da jedoch bei diesen hohen Wirkstoffkonzentrationen bei einigen Probanden Nebenwirkungen beobachtet wurden, war eine Anpassung der Dosierung notwendig (Schlueter, Klimek *et al.* 2009b). Die vorliegende Arbeit gliedert sich in zwei Versuche. Zunächst wurde ein *in vitro* Versuch durchgeführt, in dem untersucht wurde, ob und in welchem Ausmaß die zu untersuchende fluoridhaltige Mundspüllösung mit niedrigerer Zinnkonzentration noch erosionsinhibierend wirkt. Da die Ergebnisse eines *in vitro* Versuchs zwar einen relativ guten Vorhersagewert haben, dennoch nicht ohne weiteres auf die Mundsituation übertragbar sind, wurde im Anschluss eine *in situ* Studie durchgeführt. Beide Untersuchungen fanden unter möglichst vergleichbaren Bedingungen statt.

Von Interesse für diese Versuche war die Situation von Personen, die einem erhöhten Risiko erosiver Zahnhartsubstanzverluste ausgesetzt sind. Zur Erosionserzeugung kam 0,05 molare Zitronensäure mit einem pH-Wert von 2,35 zum Einsatz. Dieser pH-Wert ist in etwa vergleichbar mit dem von Erfrischungsgetränken, zum Beispiel Sprite Light®: pH = 2,8, Coca-Cola®: pH = 2,5 (Devlin, Bassiouny *et al.* 2006).

In der Literatur finden sich einige Versuche, in denen Colagetränke oder Säfte zur Demineralisierung der Proben eingesetzt wurden (Attin, Buchalla *et al.* 2000; Attin, Siegel *et al.* 2004; Devlin, Bassiouny *et al.* 2006). Bei diesen Produkten kommen jedoch komplexe Rezepturen mit regional unterschiedlicher, teilweise unbekannter Zusammensetzung zur Anwendung. Dadurch ergibt sich eine eingeschränkte Reproduzierbarkeit der Versuchsaufbauten. Aus diesem Grund wurde auf ihren Einsatz in den vorliegenden Versuchen verzichtet. In anderen Versuchen wurde zur Erosionserzeugung Salzsäure mit einem pH-Wert von 2,6 verwendet (Wiegand, Bichsel *et al.* 2009; Wiegand, Meier *et al.* 2008). Diese ist natürlicher Bestandteil der menschlichen Magensäure. Sie kann bei Personen mit Refluxerkrankungen oder bei chronischem Erbrechen Erosionen verursachen. Zitronensäure hingegen kommt häufig

4. Diskussion

in Lebensmitteln wie Obst, Gemüse und in Getränken wie z.B. Säften vor. Auch ansonsten gesunde Personen können daher durch falsche Ernährungsgewohnheiten ausgeprägte Erosionen der Zahnhartsubstanzen entwickeln. Aus diesem Grund wurde Zitronensäure in den vorliegenden Versuchen eingesetzt.

In einer Studie über Personen, die sich ausschließlich von Rohkost ernährten, wurde festgestellt, dass der mittlere Obst- und Zitrusfrüchtekonsum bei etwa 4,8 Portionen am Tag liegt (maximal 16,1 Portionen) (Ganss, Schlechtriemen *et al.* 1999). Die vorliegenden Versuchsbedingungen mit 6 Erosionen am Tag haben sich vor diesem Hintergrund schon in mehreren vorherigen Versuchen als geeignet erwiesen, Erosionen in therapeutisch relevantem Maßstab zu erzeugen (Schlueter, Hardt *et al.* 2009; Schlueter, Klimek *et al.* 2009a; Schlueter, Klimek *et al.* 2009b).

Die Demineralisation der Proben erfolgte in der *in situ* Studie extraoral um eine Gefährdung der Probanden durch eine intraorale Säureeinwirkung ausschließen zu können. Die Studie konnte daher ohne Nachteile für die Probanden placebokontrolliert durchgeführt werden.

Es kam eine Erosionsdauer von fünf Minuten zur Anwendung. Nach kurzen erosiven Attacken kehrt der pH-Wert von oralen Flüssigkeiten normalerweise nach etwa 1-3 Minuten zum ursprünglichen Wert zurück. In einigen Fällen kann es jedoch bis zu 10 Minuten dauern, bis der pH einen Wert von 4,0 oder höher erreicht (Imfeld 1983). Hinzu kommt noch die Verweildauer der erosiven Substanzen in der Mundhöhle. Gewohnheiten, die die Kontaktzeit von erosiven Lebensmitteln mit den Zähnen steigern, wie etwa das „im-Mund-behalten“ von sauren Getränken vor dem Schlucken, Schlürfen oder Ähnliches, können zu einem deutlich verlängerten pH-Wertabfall auf den Zahnoberflächen führen (Johansson, Lingstrom *et al.* 2004). Dauer und Intensität der Erosionen in diesen Versuchen entsprechen somit den relativ strengen erosiven Bedingungen, denen ein Patient mit einem hohen Erosionsrisiko ausgesetzt sein kann.

In ähnlichen Versuchsmodellen wie dem vorliegenden *in vitro* Versuch wurde der Einfluss von Konzentration und Art der Fluoridverbindung auf die Wirksamkeit von zinn- und fluoridhaltigen Lösungen untersucht (Schlueter, Klimek *et al.* 2009a; Schlueter, Klimek *et al.* 2009c). Die Lösungen enthielten als unabhängige Zinnquelle Zinnchlorid und als Fluoridquelle eine Kombination aus Amin- und Natriumfluorid. Es wurde festgestellt, dass bei Fluoridkonzentrationen zwischen 500 und 1500 ppm die Wirksamkeit der Lösung positiv mit der Zinnkonzentration korreliert. Eine Verdreifachung des Fluoridgehaltes brachte keine nennenswerte Verbesserung der antierosiven Wirkung mit sich, wohl aber die Erhöhung der Zinnkonzentration.

4. Diskussion

Zinnchloridhaltige Lösungen, die keine Fluoride enthalten, zeigten nur eine moderate Reduktion des erosiven Mineralverlustes vergleichbar mit natriumfluoridhaltigen Lösungen (Ganss, Schlueter *et al.* 2008). Es ist daher sinnvoll Zinn und Fluorid in einer Mundspüllösung zur Therapie von Erosionen zu kombinieren. Die Verwendung von Zinnchlorid ermöglicht dabei die optimale Einstellung der Zinnkonzentration unabhängig von der Fluoridquelle.

Höhere Zinnkonzentrationen können unerwünschte Nebenwirkungen wie Mundtrockenheit oder ein stumpfes Gefühl auf den Zahnoberflächen verursachen (Schlueter, Klimek *et al.* 2009b). Die gewählte Zinnkonzentration von 800 ppm stellt daher einen Kompromiss zwischen maximaler Wirksamkeit und Anwenderfreundlichkeit dar. Ein Produkt mit diesen Wirkstoffkonzentrationen erscheint damit auch für die Heimanwendung gut geeignet.

Bei einem pH-Wert von 4,5 ist Zinn in wässrigen Lösungen instabil. Sn^{2+} kann dabei außerdem leicht zu Sn^{4+} oxidiert werden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass Sn^{4+} die Säurelöslichkeit von Schmelz weniger positiv beeinflusst als Sn^{2+} (Wachtel 1964). Der Zusatz von stabilisierenden Substanzen ist daher notwendig, um die dauerhafte Stabilität und optimale Wirksamkeit der zinnhaltigen Lösung zu gewährleisten. Es wurde festgestellt, dass Aminfluorid in der Lage ist, diese Forderungen zu erfüllen (Barbakow, Lutz *et al.* 1985).

Im Vergleich mit Aminfluorid hat sich jedoch Natriumfluorid als die gegen Erosionen wirksamere Fluoridquelle herausgestellt (Ganss, Schlueter *et al.* 2008). Als Kompromiss wurden daher Aminfluorid und Natriumfluorid in der zinnhaltigen Testlösung kombiniert (Mühlemann & Saxer 1981). Mit dieser Wirkstoffkombination kann eine ausreichend lange Lagerstabilität der entwickelten Mundspüllösung gewährleistet werden.

Zinn kommt in Lebensmitteln in Form von Zinnsalzen (Sn^{2+} beziehungsweise Sn^{4+}) oder Zinnchlorid (SnCl_2) vor. Der Zusatz von Zinn zu Lebensmitteln ist in der EU zulässig (E512). Die Grenzwerte des Zinngehaltes von Lebensmitteln liegen bei 200 mg/kg für Konservennahrung und 100 mg/kg für Getränke aus Konservendosen. In Großbritannien beträgt die durchschnittliche Aufnahme von Zinn durch Nahrungsmittelkonsum 1,8 mg/Tag. Die Absorptionsrate durch den menschlichen Verdauungstrakt ist gering. Etwa 98% der aufgenommenen Menge werden direkt mit dem Stuhl wieder ausgeschieden (European Food Safety Authority 2005). Aufgrund dieser geringen Resorptionsrate sind Vergiftungserscheinungen selbst bei versehentlichem Verschlucken von größeren Mengen der zinnhaltigen Mundspüllösung

4. Diskussion

(800 ppm Sn^{2+} aus $\text{SnCl}_2 = 800 \text{ mg/kg}$) unwahrscheinlich. Die Zinnkonzentration der verwendeten Lösung kann daher als gesundheitlich unbedenklich angenommen werden.

Da in der Testlösung dieser Studie Fluoride mit einer Konzentration von 500 ppm mit polyvalenten Metallkationen kombiniert wurden, ist eine Natriumfluoridlösung mit einer Fluoridkonzentration von 500 ppm als Positivkontrolle geeignet.

Um Unterschiede in der Wirksamkeit durch unterschiedliche pH-Werte der Lösungen ausschließen zu können, wurde in den vorliegenden Studien die pH-Werte der NaF-Lösung und der $\text{SnCl}_2/\text{NaF}/\text{AmF}$ -Testlösung auf den gleichen Wert eingestellt (pH 4,5).

Die Placebo-Lösung hatte einen neutralen pH-Wert um intraorale Erosionen bei den Probanden zu verhindern.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Mundspüllösungen wurden im in vitro Versuch zweimal täglich, jeweils nach der ersten und der letzten Erosion angewendet. Die Einwirkdauer der Lösungen betrug dabei zwei Minuten. Das Verhältnis von Erosionsdauer und Einwirkdauer betrug im in vitro Versuch 30/4 Minuten pro Tag. In der in situ Studie wurde nur einmal täglich nach der ersten Erosion für 30 Sekunden gespült. Das Verhältnis von Erosionsdauer zur Einwirkdauer der Spüllösung pro Tag betrug damit 30/0,5 Minuten. Die Applikationszeit der Mundspüllösung von 30 Sekunden einmal täglich entspricht den üblichen Anwendungszeiten für Mundspüllösungen und wird allgemein empfohlen. In einem in situ Pilotversuch wurde festgestellt, dass mit diesem Versuchsaufbau und der verhältnismäßig längeren Anwendungsdauer im in vitro Modell die in situ-Ergebnisse relativ gut vorhersagbar sind (Schlueter, Klimek *et al.* 2011).

Um mögliche Fehlerquellen in der Versuchsdurchführung durch die Probanden auszuschließen, erfolgte vor Beginn der in situ Studie eine ausführliche mündliche Aufklärung über Tragemodus und Verhaltensweisen. Jeder Proband erhielt eine schriftliche Instruktion in Kurzform zum Nachlesen sowie zu Beginn jedes Versuchsdurchganges ein Protokoll zum Vermerk der durchgeführten Maßnahmen. Die Probanden wurden gebeten, Abweichungen vom Versuchsprotokoll, eventuelle Nebenwirkungen oder sonstige Zwischenfälle umgehend mitzuteilen.

Jedem Probanden wurde ein digitaler Zeitmesser mit Alarmfunktion ausgehändigt, so dass die Erosions-, Abspül- und Spülintervalle zuverlässig eingehalten worden sein

4. Diskussion

dürften. Die Durchsicht der Protokolle ergab nur geringfügige Abweichungen vom vorgesehenen Versuchsplan.

Das Einhalten des Versuchsplanes, insbesondere auch der Wartezeiten zwischen den einzelnen Erosionen, soll vergleichbare Messungen ermöglichen. Nicht nur Dauer der Säure- bzw. Wirkstoffeinwirkung haben einen Einfluss auf das Fortschreiten einer Erosion, sondern auch die zwischenzeitliche Verweildauer im oralen Milieu. Hier bildet sich bereits nach kurzer Zeit sowohl auf den natürlichen Zähnen als auch auf den Probenoberflächen eine Schicht aus Proteinen, das sogenannte Pellikel, welches bereits nach wenigen Minuten elektronenmikroskopisch nachweisbar ist (Hannig 1999; Hannig & Joiner 2006). Es nimmt Einfluss auf die Erosionsvorgänge auf Zahnhartsubstanzen indem es als Diffusionsbarriere agiert und den direkten Kontakt von Säuren und Zahnhartsubstanzen verhindert (Lendenmann, Grogan *et al.* 2000). Es kann davon ausgegangen werden, dass ein Pellikel nach 45 Minuten vollständig ausgebildet ist (Hannig & Hannig 2014; Skjorland, Rykke *et al.* 1995). Da kein Proband weniger als 45 Minuten Tragezeit zwischen 2 Erosionen angegeben hat, kann davon ausgegangen werden, dass die Abweichungen der Wartezeiten keinen messbaren Einfluss auf die Ergebnisse genommen haben.

Die Anwendung der Spüllösungen wurde durch das Wiegen der Flasche vor und nach jedem Durchgang überprüft. Der Verbrauch sollte bei exaktem Dosieren über die Verschlusskappe (10 ml Inhalt) 70 ml pro Durchgang betragen. Bei insgesamt 72 erhobenen Messwerten (24 Teilnehmer mit jeweils 3 Durchgängen) wurde dieser Wert nur 4x bis auf ein Minimum von 59,5 ml unterschritten. Von der vollständigen Benetzung der Proben kann dennoch ausgegangen werden und es ist nicht zu erwarten, dass der geringere Verbrauch die Wirksamkeit der Lösungen beeinträchtigt hat.

Bei Verlust einzelner Proben oder deren Kunststoffabdeckung wurde der Versuch fortgeführt, die entsprechenden Proben kamen jedoch nicht zur Auswertung. Zwei Probanden haben den Probenträger versehentlich zu lange dem Erosionsmedium ausgesetzt. In diesen Fällen wurden sämtliche Proben verworfen. Die Probenträger wurden mit neuen Proben bestückt und der jeweilige Durchgang mit Zustimmung des Probanden neu begonnen. Auch nach Berücksichtigung aller verloren gegangenen und/oder beschädigten Proben waren in jedem Durchgang mindestens eine Dentin- und eine Schmelzprobe jedes Probanden auswertbar. Somit lag keine Beeinträchtigung der statistischen Aussagekraft der ermittelten Werte durch Probenverlust vor.

MESSMETHODE

In beiden Versuchen erfolgte die Auswertung sowohl für Schmelz als auch für Dentin profilometrisch. Profilometrie ist eine etablierte Methode um Oberflächenveränderungen quantitativ zu erfassen. Sowohl initiale, als auch fortgeschrittene Substanzverluste können gemessen werden (Schlueter, Hara *et al.* 2011)

Für Schmelz und Dentin kamen zwei unterschiedliche profilometrische Verfahren zum Einsatz. Die Messung im Schmelz erfolgte mit einem optischen Taster (Focodyn, Rodenstock, München, Deutschland). Die Messungen im Dentin wurden mit einem mechanischen Taster durchgeführt (FRW-750, Perthen Mahr, Göttingen, Deutschland).

Im Schmelz führen Säureangriffe zu einem oberflächlichen Substanzverlust, wobei nur geringfügige Strukturveränderungen der Oberfläche, nicht jedoch tieferreichende Demineralisationen entstehen (Addy & Shellis 2006). Der Höhenverlust in Relation zur ursprünglichen Oberfläche spiegelt daher relativ genau den tatsächlichen Mineralverlust wider.

Der optische Sensor hat durch seine höhere Auflösung dem mechanischen Taster eine etwas größere Präzision voraus. Außerdem kann die mechanische Tastspitze Spuren auf der Oberfläche hinterlassen, was bei einem optischen System ausgeschlossen werden kann. Messungen können daher mit dem optischen Taster beliebig oft wiederholt werden, ohne die Versuchsfläche zu verändern.

Die Dentinerosion hat eine komplexere histologische Struktur als die Schmelzerosion. Im Dentin sind Erosionen durch zentripetalen Substanzverlust beginnend im peritubulären Dentin gekennzeichnet. Bei länger andauernder Säureeinwirkung kommt es zur Vergrößerung der Dentintubuli mit Demineralisation des intertubulären Dentins (Meurman, Drysdale *et al.* 1991; Noack 1989). Es verbleibt eine oberflächliche Schicht komplett entmineralisierten Dentins, die im feuchten Zustand in ihrer Ausdehnung relativ stabil bleibt (Kinney, Balooch *et al.* 1995). Diese überwiegend aus Kollagen bestehende Schicht muss bei der Messung der Proben berücksichtigt werden.

Sowohl mechanische als auch optische Profilometrie wurden auf ihre Eignung als Messmethode für den Mineralverlust von erodiertem Dentin hin untersucht. Als Kontrollverfahren diente die Analyse des Kalziumgehaltes im Erosionsmedium (Ganss, Lussi *et al.* 2009). Diese Studie zeigte, dass der mit verschiedenen Methoden gemessene Substanzverlust stark variiert. Mit optischer Profilometrie konnten vor Entfernung der organischen Matrix nahezu keine Substanzverluste gemessen werden. Da die Proben feucht gelagert und gemessen wurden, hatte die Matrix das gleiche

4. Diskussion

Niveau wie die unerodierte Referenzfläche. Mit mechanischer Profilometrie wurden größere Substanzverluste gemessen, da der mechanische Taster in die Matrix einsinkt. Es wurde jedoch beobachtet, dass der Taster auch bei kurzen Erosionszeiten und damit geringer Schichtdicke der Matrix nicht bis zur Demineralisationsfront vordringt. Nach längerer Erosionszeit und größerer Schichtdicke der Matrix kam diese Ungenauigkeit noch deutlicher zum Tragen. Die Eindringtiefe des Tasters war nicht proportional zum Substanzverlust, der tatsächliche Substanzverlust kann daher nicht über die Eindringtiefe des Tasters berechnet werden.

Nach enzymatischer Entfernung der Matrix konnten sowohl optische als auch mechanische Profilometrie vergleichbare Ergebnisse liefern, die recht genau den tatsächlichen Mineralverlust widerspiegeln. Bei Vermessung von Proben mit großen Substanzverlusten fiel auf, dass der optische Taster tendenziell geringere Substanzverluste ermittelte als der mechanische. Es wird vermutet, dass diese Ungenauigkeit durch das Verbleiben organischer Rückstände verursacht wird, die durch den mechanischen Taster jedoch verdrängt werden. Auch eine aktuelle systematische Untersuchung belegt die Eignung dieser Messmethode (Schlueter, Jung *et al.* 2016). Die Messung der Dentinproben in den vorliegenden Versuchen erfolgte daher nach enzymatischer Entfernung der organischen Matrix mit Hilfe mechanischer Profilometrie.

Da vermutet wird, dass es bei Dentin durch den vergleichsweise hohen Anteil an organischen Komponenten und Wasser durch Austrocknung zu Schrumpfungsprozessen kommen kann (Attin, Becker *et al.* 2009; Schlueter, Jung *et al.* 2016), wurden die Messungen an feuchtem Dentin durchgeführt. Dazu wurde vor jeder Messung ein Tropfen Aqua dest. auf die Probenoberfläche gegeben und dort für exakt 30 Sekunden belassen. Danach wurde der Wassertropfen mit einem saugfähigen Tuch entfernt, ohne die Probenoberfläche zu berühren und im direkten Anschluss die erste Spur gemessen. Diese Prozedur wurde vor jeder Messung wiederholt.

ERGEBNISSE

Sowohl *in vitro* als auch *in situ* konnte ein Substanzverlust geeigneter Größenordnung erreicht werden. Dies entspricht den Vorhersagewerten, die durch den Vergleich vorhergehender Studien mit Labor und Probandenversuchen ermittelt wurden (Schlueter, Klimek *et al.* 2009a; Schlueter, Klimek *et al.* 2009b; Schlueter, Klimek *et al.* 2011). Interessant sind die Unterschiede, die der Einfluss der NaF-Lösung auf den Substanzverlust in den beiden unterschiedlichen Versuchsmodellen hatte.

4. Diskussion

Effekte der NaF-Lösung im Schmelz

Die NaF-Lösung hatte im *in vitro* Versuch bei Schmelz mit einer Reduktion des Substanzverlustes um 6,2% im Vergleich zur Negativkontrollgruppe, keinen Effekt. *In situ* dagegen wurde nach Anwendung der NaF-Lösung ein um 19,1% signifikant geringerer Substanzverlust als in der Negativkontrollgruppe gemessen.

Um diese Unterschiede zu erklären, muss zunächst die Wirkung von Fluoriden auf Zahnhartsubstanzen betrachtet werden. Diese wurde vor allem in Bezug auf die Kariesprophylaxe untersucht (Brambilla E. 2001). Eine 36 Studien umfassende Metaanalyse befasste sich zum Beispiel mit der protektiven Wirkung von fluoridhaltigen Mundspüllösungen bei Jugendlichen, die eine deutlich kariespräventive Wirkung dieser Fluoridierungsmaßnahme zeigen konnte (Marinho, Higgins *et al.* 2003). Da es sich bei beiden Formen des Substanzverlustes prinzipiell um Mineralverlust durch Säureeinwirkung handelt, ist eine ähnliche Wirkung von Fluoriden auch auf Erosionen naheliegend. Entsprechend wurden Empfehlungen zur Erosionstherapie und -prävention mit NaF-haltigen Produkten formuliert (Imfeld 1996). Auch aktuellere Studien konnten eine prinzipielle protektive Wirkung von Fluoriden nachweisen (Huysmans, Young *et al.* 2014).

Erosive Läsionen unterscheiden sich jedoch nicht nur in Bezug auf ihre Ätiologie, sondern auch in ihrer histologischen Struktur grundsätzlich von kariösen Läsionen. Bei initialen kariösen Läsionen liegt die demineralisierte Zone unterhalb einer pseudointakten Oberfläche. Eine Remineralisation des Läsionskörpers ist in einem gewissen Maß möglich. Im Gegensatz dazu ist die Schmelzerosion durch einen oberflächlichen, zentripetal fortschreitenden Substanzverlust gekennzeichnet, so dass eine strukturell veränderte Oberflächenschicht mit einer Tiefe von nur wenigen Mikrometern verbleibt (Zentner & Duschner 1996). Eine Remineralisation durch Fluorideinwirkung kann daher bestenfalls im Sinn einer Re-Präzipitation stattfinden, größere Defekte werden nicht repariert. Da Fluoride dennoch eine antierosive Wirkung besitzen, müssen andere Wirkungsmechanismen als bei Karies vorliegen.

In einer *in vitro* Studie (Petzold 2001) konnte gezeigt werden, dass sich nach Applikation von sauren NaF- oder AmF-haltigen Lösungen sehr schnell globuläre Präzipitate bilden. Diese bestehen aus CaF₂-ähnlichem Material. Sie behindern das direkte Einwirken der Säuren auf die Zahnhartsubstanz und können somit den Verlust von Zahnmineralien verzögern. Sie sind jedoch relativ leicht säurelöslich, so dass ein klinisch relevanter, protektiver Effekt nur durch häufige Applikationen unter milden erosiven Bedingungen eintritt.

4. Diskussion

Die Bildung dieser Präzipitate ist pH-Wert abhängig. Je saurer die Fluoridlösung ist, desto ausgeprägter ist die sich bildende Präzipitatschicht (Saxegaard & Rølla 1988). Da sowohl die NaF-Lösung als auch die SnCl₂/NaF/AmF-Lösung aus diesem Grund auf den gleichen pH Wert von 4,5 eingestellt wurden, dürfte es von daher zu keinen Unterschieden in der Wirksamkeit gekommen sein.

Von besonderem Interesse ist die Stabilität dieser CaF₂-ähnlichen Präzipitate, welche sich unter in situ und unter in vitro Bedingungen unterscheidet (Ganss, Schlueter *et al.* 2007). Nach initialer Fluoridierung wurden Schmelzproben entweder zyklisch de- und remineralisiert (in situ und in vitro) oder ohne weitere Manipulation in Remineralisationslösung aufbewahrt, beziehungsweise in intraoralen Haltern von Probanden getragen. Die Versuchsdauer lag dabei jeweils bei 4 Tagen im in vitro Versuch bzw. bei 7 Tagen in der in situ Studie. Die Menge an auf den Proben vorhandenem Fluorid wurde zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. Es wurde festgestellt, dass in der in situ Studie trotz der längeren Versuchsdauer auf den erodierten Proben deutlich länger und in größeren Mengen Fluorid nachweisbar war als im in vitro Versuch.

Die in der vorliegenden in situ Studie erzielte, im Vergleich zum in vitro Versuch gesteigerte Wirkung der NaF-Lösung erscheint vor diesem Hintergrund plausibel.

Applikationsformen

Ein Einfluss der Applikations- und Darreichungsform auf die Wirksamkeit von protektiven Agentien ist grundsätzlich denkbar.

Verschiedene Arbeitsgruppen verwendeten z.B. fluoridhaltige Lacke um den erosiven Substanzverlust zu reduzieren (Vieira A, Jager DH *et al.* 2007). Die verwendeten Konzentrationen von z.B. 2,26% F⁻ (Sorvari R, Meurman JH *et al.* 1994) konnten eine deutliche Reduktion der Substanzverluste erzielen. Da Erosionen jedoch durch frequente Säureeinwirkungen mit niedrigem pH-Wert verursacht werden, erscheint die Anwendung von Lacken als zahnarztbasierte Maßnahme wenig vielversprechend.

Fluoride können auch zu Getränken, etwa Milch (Magalhaes, Levy *et al.* 2014), aber auch zu erosiven Getränken (Sorvari 1989) zugesetzt werden. Die Wirksamkeit dieser Verabreichungsform konnte bestätigt werden, jedoch waren dazu relativ hohe Fluoridkonzentrationen notwendig, welche aufgrund des Risikos von Nebenwirkungen wie Skelettfleuorosen oder Fluoridintoxikationen als Zusatz zu regelmäßig konsumierten Lebensmitteln nicht praktikabel erscheinen.

4. Diskussion

Zahnpasten sind ein gut akzeptiertes und weitverbreitetes Produkt der häuslichen Mundhygiene. Die einfache und gewohnheitsmäßige Anwendung lassen Zahnpasten als optimales therapeutisches Medium erscheinen. Tatsächlich konnte nach Anwendung fluoridhaltiger Zahnpasten im Gegensatz zu fluoridfreien Zahnpasten eine Reduktion des Zahnhartsubstanzverlustes durch Säureeinwirkung beobachtet werden (Bartlett DW, Smith BG *et al.* 1994). Allerdings ist zu beachten, dass in diesem Versuch die Applikation der Paste mit Bürstabrasion verbunden war. In weiteren Versuchen konnte sowohl *in vitro* als auch *in situ* durch Anwendung fluoridhaltiger Zahnpasten der säurebedingte Substanzverlust reduziert werden. Die Zahnproben waren dabei einem zyklischen De- und Remineralisationsmodell ausgesetzt, wurden jedoch nicht gebürstet (Ganss, Klimek *et al.* 2001; Ganss, Klimek *et al.* 2004a).

Eine weitere mögliche Applikationsform mit breiter Akzeptanz in der Bevölkerung sind Mundspüllösungen. Auch sie sind für die regelmäßige, häusliche Anwendung geeignet. Bereits in vorangegangenen Versuchen wurden fluoridhaltige Lösungen erfolgreich verwendet.

So wurden beispielsweise in einem Versuch Schmelzproben 6 x 2 Minuten täglich erodiert und 6 x 2 Minuten mit verschiedenen Testlösungen behandelt. Unter diesen vergleichsweise milden Versuchsbedingungen mit häufiger Applikation hat eine Lösung mit 250 ppm F⁻ aus NaF zu einer Reduktion des Mineralverlusts um 70% geführt (Ganss, Schlueter *et al.* 2008). Die Wirkstoffapplikation in Form von Spüllösungen ist also grundsätzlich geeignet und kam daher in den Versuchen dieser Arbeit zum Einsatz.

Auffällig ist, dass die Natriumfluoridlösung in der *in situ* Studie bei einigen Probanden zu einer deutlich höheren Reduktion des Substanzverlustes geführt hat als bei anderen. Untersuchungen belegen, dass bei der Entwicklung von Erosionen nicht allein die Art der Säureeinwirkung für die individuellen Unterschiede des Verlaufs verantwortlich ist, sondern möglicherweise auch Varianten von Genen, die die Struktur und Mineralisation von Schmelz regulieren und damit die Säurelöslichkeit des Schmelzminerals beeinflussen (Uhlen, Stenhagen *et al.* 2016). Ein weiterer wichtiger Faktor, der die individuelle Prädisposition für Erosionen, aber auch die Wirksamkeit der Spüllösungen modulieren könnte, ist der Speichel.

Dieser hat zunächst eine wichtige Spülfunktion. Durch gesteigerten Speichelfluss werden Säuren verdünnt und dadurch die Dauer und Intensität der pH-Wertabsenkung reduziert (Dawes & Kubieniec 2004).

4. Diskussion

Der menschliche Speichel enthält weiterhin anorganische Bestandteile wie $(\text{H}_2\text{CO}_3)/\text{Hydrogenkarbonat } (\text{HCO}_3^-)$, Dihydrogenphosphat $(\text{H}_2\text{PO}_4^-)$ /Hydrogenphosphat (HPO_4^{2-}) , Kalzium (Ca^{2+}) oder Fluorid (F^-) welche den Sättigungsgrad in Bezug auf Zahnmineral und die Pufferkapazität bestimmen. Letztere bestimmt die Intensität und Verweildauer aktiver Säuren in der Mundhöhle (Hara, Lussi *et al.* 2006).

Im Gegensatz zu den verschiedenen, in *in vitro* Versuchen gebräuchlichen Remineralisationslösungen, enthält menschlicher Speichel zusätzlich zu den anorganischen Bestandteilen zahlreiche Proteine. Diese spielen eine wichtige Rolle bei der Bildung eines Pellikels auf Zahnoberflächen (Lendenmann, Grogan *et al.* 2000). Das Pellikel hat eine essentielle Schutzwirkung gegenüber Säureangriffen (Hannig, Fiebiger *et al.* 2004; Hara, Lussi *et al.* 2006), indem es beispielsweise den Transport anorganischer Ionen modifiziert (Zahradnik 1979). Eine besondere Rolle spielen die im Speichel enthaltenen Muzine. Diese wurden auch auf ihre Fähigkeit, Erosionen zu reduzieren oder zu verhindern, hin untersucht. Zahnproben wurden in menschlichem Speichel unterschiedlichen Muzingehaltes gelagert und nach Bildung des Pellikels das Entstehen erosiver Läsionen beobachtet. Es konnte festgestellt werden, dass die Läsionstiefe der Proben, die mit muzinreduziertem beziehungsweise muzinfreiem Speichel behandelt wurden, deutlich vergrößert war (Baumann, Kozik *et al.* 2016; Nieuw Amerongen, Oderkerk *et al.* 1987).

Die individuelle Zusammensetzung des Speichels nimmt also entscheidenden Einfluss auf die De- und Remineralisationsprozesse in der Mundhöhle sowohl im Schmelz als auch im Dentin. Dies muss insbesondere dann berücksichtigt werden, wenn entweder die Ätiologie der Erosionen unklar, oder die Erosionsursache nicht zu beseitigen ist.

Effekte der Testlösung im Schmelz

Die Prophylaxe und Therapie von Erosion alleine auf Basis von Fluorid erscheint gerade bei hohem individuellem Risiko wenig erfolgversprechend. Daher wurde die Wirkung von Fluoriden in Kombination mit einer Reihe unterschiedlicher, polyvalenter Metallkationen untersucht. Schmelzproben wurden zyklisch de- und remineralisiert und mit verschiedenen Testlösungen behandelt. Die Häufigkeit und Dauer der Anwendung sowie die Demineralisationszeiten variierten. Es stellte sich heraus, dass unter milden erosiven Bedingungen sowohl zinn- als auch titanhaltige Lösungen den Substanzverlust nahezu komplett verhindern konnten. Die ebenfalls untersuchte kupferhaltige Lösung zeigte nahezu keinen Effekt. Bei erosiveren Bedingungen waren

4. Diskussion

die zinnhaltigen den titanhaltigen Mundspüllösungen überlegen (Schlueter, Duran *et al.* 2009).

Als weiteres, möglicherweise relevantes Agens wurde Titan in einer Reihe von Studien auf seine antierosive Wirkung im Vergleich zu Fluoriden hin untersucht. Es stellte sich heraus, dass durch die einmalige Applikation von TiF_4 -haltigen Lösungen oder Lacken eine deutliche Reduktion des Mineralverlustes erzielt werden konnte. Die Wirksamkeit war dabei jedoch sehr stark abhängig vom pH-Wert des verwendeten Produktes. Dabei zeigten Produkte mit einem natürlichen pH von 1,2 eine protektive Wirkung, bei einem auf 3,5 gepufferten pH-Wert konnte nahezu keine Wirkung mehr festgestellt werden (Magalhaes, Kato *et al.* 2008; Wiegand, Magalhaes *et al.* 2009; Wiegand, Waldheim *et al.* 2009). Für die häusliche Anwendung ergibt sich anhand dieser Ergebnisse keine Indikation.

Zinn wurde wie Fluorid bereits in Bezug auf Kariesprävention untersucht (Muhler 1958) und schien auch in der Erosionsprävention und -therapie ein vielversprechender Wirkstoff zu sein. Eine Studie, in der verschiedene Kombinationen von Fluoriden mit oder ohne Zinn und eine reine Zinnchloridlösung untersucht wurde, ergab, dass Zinnchlorid tatsächlich eine deutliche antierosive Wirkung besitzt (Ganss, Schlueter *et al.* 2008).

Wirkmechanismus von Zinn

Ein möglicher Wirkmechanismus der zinnhaltigen Produkte besteht in der Auflagerung von zinnhaltigen, säurestabilen Schutzschichten. Bei der Reaktion von Zinn mit Hydroxylapatit können unterschiedliche Präzipitate, etwa $\text{Sn}_2(\text{PO}_4)\text{OH}$, $\text{Sn}_3\text{F}_3\text{PO}_4$, $\text{Ca}(\text{SnF}_3)_2$, CaF_2 , $\text{Sn}(\text{OH})_2$, $\text{Sn}_3\text{F}_3\text{PO}_4$, $\text{Sn}_2(\text{OH})\text{PO}_4$, $\text{Sn}_3\text{F}_3\text{PO}_4$, SnHPO_4 entstehen (Babcock, King *et al.* 1978; Hercules & Craig 1978; Krutchkoff, Jordan *et al.* 1972; Nelson & Bainbridge 1973). Die Bildung dieser Präzipitate ist von mehreren Faktoren, wie pH-Wert, Konzentration, Einwirkdauer, Art der der Fluoridkomponente und das F/Sn Verhältnis des einwirkenden Agens abhängig.

Es konnten zum Beispiel auf unerodierten, mit SnF_2 behandelten Schmelzproben oberflächliche Auflagerungen beobachtet werden, die auch nach 3 x 2-minütiger Säureexposition (0,01 M HCl; pH 2,0) noch nachweisbar waren (Hove, Holme *et al.* 2006). In einer weiteren Studie wurden oberflächliche Auflagerungen auf zuvor erodierten und anschließend mit zinnhaltigen Testlösungen behandelten Schmelzoberflächen gefunden. Diese waren auch nach einer zweiminütigen Inkubation in Zitronensäure (pH 2,3) noch sichtbar (Ganss, Schlueter *et al.* 2008). Auflagerungen,

4. Diskussion

die nach Applikation zinnhaltiger Lösungen entstehen, verfügen also nachweislich über eine erhebliche Säurestabilität.

Um weitere Wirkmechanismen zinnhaltiger Lösungen zu untersuchen, wurden in einem *in vitro* Versuch Schmelzoberflächen mit unterschiedlich konzentrierten zinnhaltigen Lösungen behandelt. Die Proben wurden dabei entweder zyklisch de- und remineralisiert oder blieben vor Applikation der Testlösungen unbehandelt. Elektronenmikroskopisch konnten bei allen Gruppen Präzipitate nachgewiesen werden. Die Präzipitate waren amorph gestaltet und hatten nicht das typische globuläre Aussehen von kalziumfluoridähnlichen Niederschlägen. Mit energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) konnte Zinn in diesen Auflagerungen nachgewiesen werden. In Querschnitten der zyklisch de- und remineralisierten Schmelzproben wurden elektronenmikroskopisch auffällige Strukturveränderungen in der oberflächlichen Schmelzschicht nachgewiesen. Die Dicke der veränderten Schicht stieg dabei proportional zur Zinnkonzentration der verwendeten Lösung auf bis zu 20 µm an. Durch EDX konnte in den Schmelz eingelagertes Zinn nachgewiesen werden. In den zuvor nicht erodierten, nur mit den Testlösungen behandelten Proben wurde keine Inkorporation von Zinn festgestellt. Sowohl die Bildung amorpher, zinnhaltiger Präzipitate auf unbehandelten Schmelzoberflächen als auch die Schichtdicke einer zinnhaltigen Oberflächenschicht war abhängig von der verwendeten Zinnkonzentration und stieg mit steigender Zinnkonzentration an (Schlueter, Hardt *et al.* 2009).

Daraus kann abgeleitet werden, dass die antierosive Wirkung von Zinn nicht allein durch die Bildung säurestabiler Auflagerungen auf der Zahnoberfläche verursacht wird, sondern insbesondere unter erosiven Bedingungen durch eine Modifikation der Säurelöslichkeit der oberen Schmelzschichten bedingt ist.

In einer vorangegangenen *in situ* Studie konnte gezeigt werden, dass bei der Anwendung von zinnhaltigen Testlösungen interindividuelle Unterschiede des oralen Milieus eine geringere Rolle zu spielen scheinen als bei Anwendung von NaF-Lösungen (Schlueter, Klimek *et al.* 2009b). Im vorliegenden *in situ*-Versuch konnte diese vielversprechende Beobachtung bestätigt werden, denn die Reduktion des Substanzverlustes unterlag bei den einzelnen Probanden nach Gebrauch der zinnhaltigen Testlösung deutlich geringeren Schwankungen als nach Anwendung der NaF-Lösung. Die geringe Löslichkeit der entstandenen Präzipitate ist offenbar unabhängiger von biologischen Faktoren, was den therapeutischen Effekt gut vorhersehbar macht.

4. Diskussion

Erosionen des Dentins

Schmelz und Dentin unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Säureresistenz. Dies verdeutlicht der, im Vergleich zum Schmelz, deutlich höhere Substanzverlust von Dentin in den Negativkontrollgruppen.

Da es vor allem bei Patienten mit fortgeschrittenen Erosionen zur Freilegung des Dentins kommen kann, war es in dieser Studie von besonderem Interesse, die Wirksamkeit der zinnhaltigen Testlösung nicht nur für Schmelz, sondern auch für Dentin zu untersuchen. Speziell in Bereichen, in denen der Schmelzmantel relativ dünn ist, etwa im Bereich des Zahnhalses, wird Dentin auch bei relativ gering ausgeprägten Erosionen früh exponiert, sodass die Beteiligung koronalen Dentins bei Erosionspatienten häufig ist. Da ab Erreichen der Schmelz-Dentingrenze mit einem beschleunigten Substanzverlust gerechnet werden muss, profitieren diese Patienten von einem Produkt welches auch eine gute Wirksamkeit im Dentin zeigt.

Unterschiede in der histologischen Struktur der Gewebe beeinflussen die Erosionsprozesse entscheidend (Ganss, Lussi *et al.* 2014b; Shellis, Featherstone *et al.* 2014). Im Schmelz handelt es sich beim Fortschreiten von Erosionen um einen linearen, zentripetal voranschreitenden Prozess. Im Dentin kommt es jedoch mit zunehmender Erosionsdauer zu einem nicht-linearen Verlauf des Substanzverlustes. Wie bereits in der Diskussion der Messmethode angedeutet, verbleibt nach Säureeinwirkung auf der Dentinoberfläche eine organische Matrix (Ganss, Lussi *et al.* 2014a; Kinney, Balooch *et al.* 1995). Diese Diffusionsbarriere beeinflusst das Fortschreiten einer Dentinerosion zumindest *in vitro* entscheidend (Ganss, Klimek *et al.* 2004b; Vanuspong, Eisenburger *et al.* 2002).

Etwa 90% der organischen Matrix bestehen aus Kollagen (Linde 1989). Unter dieser kollagenen Schicht schreitet die Demineralisation bei anhaltender Säureeinwirkung voran. Dabei wird das Kollagengeflecht weiter freigelegt, sodass eine dicker werdende Diffusionsbarriere entsteht. Säuren müssen also zunächst durch diese hindurchdiffundieren, bevor sie das daruntergelegene mineralisierte Gewebe erreichen. Dies führt zu einer Verringerung des pH-Wertabfalls an der Demineralisationsfront mit zunehmender Erosionsdauer. Zusätzlich verhindert die Matrix den raschen Abtransport von gelöstem Zahnmineral wodurch der Sättigungsgrad ansteigt. Beide Faktoren verursachen den nicht-linearen Erosionsverlauf, der für Dentinerosionen typisch ist. Entsprechend konnte nachgewiesen werden, dass der säurebedingte Mineralverlust im Dentin deutlich ansteigt, wenn die Matrix entfernt wird (Ganss, Lussi *et al.* 2010; Hara, Ando *et al.* 2005).

4. Diskussion

Die organische Matrix verlangsamt zwar die Erosionsvorgänge, dennoch waren die Substanzverluste *in vitro* der Negativkontrollgruppe im Dentin ($92,6 \pm 8,8 \mu\text{m}$) höher als im Schmelz ($74,1 \pm 12,1 \mu\text{m}$). Auch *in situ* waren die Verluste dieser Gruppe im Dentin mit $43,9 \pm 9,2 \mu\text{m}$ höher als im Schmelz ($28,2 \pm 6,1 \mu\text{m}$).

Der höhere Mineralverlust im Dentin trotz des Vorhandenseins der schützenden Matrix erklärt sich aus der unterschiedlichen histologischen Struktur von Dentin und Schmelz (Lussi, Schlueter *et al.* 2011). Schmelz besteht zu etwa 87 vol% aus Hydroxylapatit. Die übrigen 13% setzen sich aus etwa 2 vol% organischen Bestandteilen und Wasser zusammen. Dentin hingegen besteht zu etwa 47 vol% aus Hydroxylapatit. Der organische Anteil beträgt 33 vol% und besteht zum größten Teil aus Kollagen Typ I. Der Wasseranteil des Dentins wird mit 21 vol% angegeben. Man kann zwischen stark mineralisiertem, peritubulärem Dentin und weniger stark mineralisiertem, intertubulärem Dentin unterscheiden. Die mineralischen Bestandteile des Dentins enthalten einen höheren Anteil an Carbonatgruppen als die des Schmelzes, welche eine erhöhte Säurelöslichkeit des Apatits zur Folge haben. Die Apatitkristalle des Dentins sind außerdem deutlich kleiner und weniger dicht gepackt als die des Schmelzes. Vor allem das intertubuläre Dentin besteht überwiegend aus kalzifiziertem Kollagen und dazwischen angeordneten, unvollständigen Apatitkristallen. Auch steigen Anzahl und Durchmesser der Dentintubuli von der Schmelz-Dentingrenze zu den pulpanahen Schichten kontinuierlich an. Dies vergrößert im Dentin die Oberfläche im Verhältnis zur Masse und macht es für Säuren leichter angreifbar (Featherstone & Lussi 2006).

Effekte der NaF-Lösung im Dentin

Die Struktur des Dentins und die organische Matrix haben jedoch nicht nur Einfluss auf die Säureeinwirkung sondern auch auf Wirkungseffekte. Die Natriumfluoridlösung konnte den Substanzverlust *in vitro* um fast 40% und *in situ* um etwa 23% verglichen mit der Negativkontrollgruppe reduzieren, damit waren die Effekte besonders unter *in vitro* Bedingungen deutlich besser als bei Schmelz. Dass die Effekte von Wirkstoffen durch die entmineralisierte Matrix modifiziert werden, konnte bereits gezeigt werden (Ganss, Lussi *et al.* 2010). In diesen Versuchsreihen wurden Dentinproben sechsmal pro Tag für zwei Minuten mit 0,05 molarer Zitronensäure (pH 2,3) erodiert. Es wurden verschiedene Testlösungen ebenfalls sechsmal pro Tag für zwei Minuten appliziert. Die untersuchten Testlösungen waren unter anderem eine NaF-Lösung (250 ppm F⁻), eine AmF-Lösung (250 ppm F⁻) und eine AmF/NaF-Lösung (250 ppm F⁻). In einem ersten

4. Diskussion

Versuch wurde die entmineralisierte organische Matrix lediglich am Ende des Versuchs vor der profilometrischen Auswertung entfernt. In einem nachfolgenden Versuch wurde die Matrix, bei ansonsten identischen Versuchsbedingungen, während des Versuchs kontinuierlich enzymatisch degradiert. In diesem zweiten Versuch, in dem sich keine ausgeprägte organische Matrix bilden konnte, waren nicht nur die Substanzverluste generell signifikant höher als im ersten Versuch. Es konnte außerdem nachgewiesen werden, dass die Effekte von Natrium- und Aminfluorid in Abwesenheit der kollagenen Schicht deutlich geringer waren und dass das Kation der Fluoridverbindung (Aminrest oder Na^{2+}) eine effektmodulierende Wirkung zu haben scheint. Umgekehrt waren die Wirkungseffekte unter Erhaltung der Matrix und unabhängig von der Fluoridverbindung (Amin- oder Natriumfluorid) deutlich besser.

Diese Unterschiede erklären sich durch die unterschiedlichen Einwirkbedingungen. Bei bestehender Matrix sind die erosiven Bedingungen, wie oben schon ausgeführt, deutlich milder, sodass auch grundsätzlich weniger wirksame Wirkstoffe wie Amin- oder Natriumfluorid einen Effekt haben können. Weiterhin stellt die Matrix möglicherweise ein Diffusionshindernis für den relativ großen Aminrest dar, sodass die effektbestimmende Größe lediglich in der Konzentration von Fluoridionen an der Demineralisationsfront zu sehen ist.

Die vorliegenden Ergebnisse entsprechen etwa den Effekten, die im oben genannten Versuch ohne Entfernung der Matrix beobachtet wurden.

Effekte der Testlösung im Dentin

Im vorliegenden *in vitro* Versuch reduzierte die zinnhaltige Testlösung den Substanzverlust im Dentin gegenüber der Negativ-Kontrolle um fast 53%. Sie war damit effektiver als die Natriumfluoridlösung, jedoch weniger effektiv als im Schmelz. *In situ* konnte die Testlösung den Substanzverlust um 47% reduzieren und war damit etwas weniger effektiv als *in vitro* aber immer noch effektiver als die Natriumfluoridlösung. Generell lagen die Effekte der zinnhaltigen Lösungen auch für Dentin in therapeutisch relevanter Größenordnung.

Auch die antierosive Wirkung von Zinn wird durch die Anwesenheit der freigelegten Dentinmatrix beeinflusst, wie schon in dem bereits zuvor beschriebenen Versuch gezeigt werden konnte (Ganss, Lussi *et al.* 2010).

Denkbar wäre beispielsweise eine Interaktion von Sn^{2+} mit bestimmten nicht-kollagenen Proteinen. Diese Proteingruppe macht etwa 10% der organischen

4. Diskussion

Dentinmatrix aus und unterteilt sich in Phosphoproteine, Proteoglycane, verschiedene saure Glycoproteine und Serumproteine. Die nicht-kollagen Proteine spielen vermutlich bei der Mineralisation von Dentin eine entscheidende Rolle, da sie die Interaktionen von anorganischen Ionen (z.B. Ca^{2+}) mit Kollagen vermitteln (Linde 1989). Die positiv geladenen Komponenten der Spüllösungen, insbesondere Sn^{2+} könnten durch diese in der organischen Matrix gebunden werden und dort ein Reservoir bilden.

Diese Annahme konnte durch Elementanalysen bei Dentinproben, die erodiert und unter Entfernen oder Belassen der organischen Matrix mit verschiedenen konzentrierten zinnhaltigen Lösungen behandelt worden waren (Ganss, Hardt *et al.* 2010), zumindest für höhere Zinnkonzentrationen erhärtet werden. Wurden die Proben erodiert und die sich entwickelnde Matrix belassen, fand sich sowohl auf deren Oberfläche als auch über deren gesamte Dicke eine deutliche Zinnanreicherung. Ebenso konnte Zinn auch in den darunter angrenzenden mineralisierten Dentinbereichen nachgewiesen werden. Dabei war die Menge an Zinn, die im mineralisierten Dentin unterhalb der Matrix gefunden wurde, unabhängig von der Zinnkonzentration der angewendeten Lösungen. Damit scheint die Affinität des Zinns zu den anorganischen Anteilen des Dentins stärker zu sein als zu den organischen. Wurde die Matrix kontinuierlich entfernt fanden sich amorphe Präzipitate mit relativ hohen Zinnmengen auf der Oberfläche, Zinn scheint sich jedoch im Gegensatz zu Schmelz nur begrenzt in tiefere Gewebeschichten einzulagern.

In den vorliegenden Versuchen wurde die organische Matrix belassen, da es gegenwärtig kein Verfahren zur kontinuierlichen Entfernung in *in situ* Studien gibt. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung müssen dementsprechend vorsichtig interpretiert werden, lassen aber eine optimistische Bewertung der auch unter diesen Umständen effektiven zinnhaltigen Testlösung zu.

Histologische Struktur von *in vivo* Erosionen

Die kollagene Matrix wird auch *in vivo* demineralisiert und gegenüber dem Mundhöhlenmilieu exponiert. Klinisch erscheint die Oberfläche von Dentinerosionen jedoch bei Sondieren hart und unterscheidet sich damit von experimentellen Erosionen, deren Oberfläche resilient und eindrückbar erscheint. *In vivo* Erosionen entstehen im Gegensatz zu experimentellen Erosionen offenbar unter Bedingungen, die die Entwicklung nennenswerter demineralisierter organischer Strukturen verhindern.

Zunächst liegt die Vermutung nahe, dass die freiliegende Kollagenschicht durch die mechanischen Einwirkungen, denen die Zahnoberflächen in der Mundhöhle ausgesetzt

4. Diskussion

sind, wie das Zerkleinern der Nahrung oder die tägliche Mundhygiene, zerstört wird. Die organische Matrix hat sich jedoch als erstaunlich stabil gegenüber mechanischen Einflüssen erwiesen.

In einem *in vitro* Versuch in dem Dentinproben über 9 Tage für 6x2 Minuten täglich mit HCl erodiert und mit verschiedenen Bürstdrücken (Auflagegewicht 200, 300 und 400 g) gebürstet wurden (Ganss, Hardt *et al.* 2009), konnte gezeigt werden, dass die organische Matrix durch mechanische Einwirkungen, wie sie beispielsweise beim Zähneputzen entstehen können, nicht entfernt wird.

Neben mechanischen Einwirkungen sind Zahnoberflächen jedoch auch einer Vielzahl von Enzymen ausgesetzt, die demineralisiertes Kollagen degradieren können.

Dies wird beispielsweise bei Patienten, die an Bulimie oder Refluxerkrankungen leiden, deutlich. Bei diesen Erkrankungen gelangt regelmäßig Mageninhalt in die Mundhöhle. Die darin enthaltene Salzsäure (HCl) hat einen sehr niedrigen pH-Wert und ein höheres erosives Potential als zum Beispiel Zitronensäure bei gleicher Konzentration (Bartlett & Coward 2001; White, McIntyre *et al.* 2001). Zusätzlich können dabei auch gastrointestinale Enzyme, z.B. Pepsin und Trypsin, in den Pharynx und die Mundhöhle gelangen, (De Hertogh, Ectors *et al.* 2006; Kim, Lee *et al.* 2008; Schlueter, Hardt *et al.* 2010). Pepsin kann unter *in vitro* Bedingungen eine vollständige Degradation der organischen Matrix des Dentins bewirken, allerdings nur bei langen Einwirkzeiten (Tonami & Ericson 2005). Bei einem näher an die physiologische Mundsituation angelehnten Versuch konnte Pepsin Kollagen degradieren, jedoch nicht vollständig abbauen. (Schlueter, Ganss *et al.* 2007). Studien konnten dagegen nachweisen, dass eine kombinierte Behandlung von Dentinproben mit Pepsin und Trypsin, einem Pankreasenzym, zu einem deutlichen Anstieg des erosiven Substanzverlustes führt (Schlueter, Hardt *et al.* 2010). Eine weitere klinische Studie untersuchte die enzymatische Aktivität im Speichel. Eingeschlossen wurden 14 Patienten mit Bulimie, sowohl mit als auch ohne Erosionen, und 14 gesunde Kontrollprobanden. Bei der Untersuchung des Speichels konnte festgestellt werden, dass bei Bulimiepatienten mit Erosionen eine erhöhte Aktivität von Proteasen im stimulierten Speichel und zusätzlich eine erhöhte Aktivität von Kollagenasen und Pepsin in unstimuliertem Speichel vorlag. Dies kann sowohl auf die Degradation der Matrix als auch auf die Bildung des erworbenen Pellikels einen entscheidenden Einfluss nehmen und somit die Entstehung von Erosionen begünstigen (Schlueter, Ganss *et al.* 2012) Dieser Aspekt der Dentinerosion kann eventuell einen zusätzlichen Ansatzpunkt in der Therapie von Erosionen darstellen, bedarf jedoch weiterer Untersuchungen.

4. Diskussion

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Anwendung der SnCl₂/NaF/AmF-Testlösung bei dem sehr erosiven Protokoll dieser Studie in beiden Versuchen eine effektive Reduktion des Substanzverlustes sowohl im Schmelz als auch im Dentin zur Folge hatte. Für die klinische Wirksamkeit im Dentin ist ein großes Potenzial zu erwarten, da in vivo nicht mit den ausgeprägten Einflüssen durch die kollagene Matrix zu rechnen ist, wie sie im in vitro Versuch oder der in situ Studie zu beobachten waren. Die geringe Anwendungshäufigkeit und die niedrige Wirkstoffkonzentration der Lösung, die für den antierosiven Effekt ausreichend waren, ermöglichen eine regelmäßige und langfristige häusliche Anwendung.

Mit der Testlösung steht daher erstmals ein geeignetes Mittel zur Reduktion der erosiven Substanzverluste zur Verfügung. Gerade bei Patienten, bei denen eine ursächliche Erosionstherapie nicht durchführbar ist, erscheint der Einsatz als therapiebegleitende Maßnahme sehr vielversprechend.

5. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu überprüfen, ob und in welchem Maß eine experimentelle $\text{SnCl}_2/\text{NaF}/\text{AmF}$ (Aminfluorid)-Lösung (800 ppm Sn^{2+} aus SnCl_2 , 500 ppm F^- aus NaF/AmF) im Vergleich zu einer NaF -Lösung gleicher Konzentration erosionsinhibierend auf Schmelz und Dentin wirkt.

Es wurden zwei aufeinanderfolgende Untersuchungen durchgeführt. Der zuerst über 10 Tage durchgeführte Versuch war ein zyklisches De- und Remineralisationsexperiment in vitro. Dabei wurden Schmelz- und Dentinproben 6x5 min täglich in 0.05 M Zitronensäure (pH 2.35) erodiert und ansonsten in einer Remineralisationslösung aufbewahrt. Die beiden Testlösungen wurden 2x2 min täglich angewendet.

Der Versuch zeigte eine gute Wirksamkeit der $\text{SnCl}_2/\text{NaF}/\text{AmF}$ -Lösung im Vergleich zu alleiniger Erosion (keine Intervention) und der NaF -Lösung. Die Reduktion des Substanzverlustes betrug im Schmelz 77,6% im Vergleich zur alleinigen Erosion und 76,1% im Vergleich zur NaF -Lösung. Für Dentin konnte ebenfalls eine Verringerung des Substanzverlustes nach Anwendung der Testlösung gemessen werden. Die Wirkung der Testlösung war hier der NaF -Lösung jedoch nicht ganz so deutlich überlegen wie im Schmelz. Die Reduktion des Substanzverlustes betrug im Vergleich zur Placebogruppe 52,6% und im Vergleich zur NaF -Lösung 22,0%. In allen Fällen wurde Signifikanz auf 0.001 Niveau erreicht.

Im Anschluss an diese ermutigenden Ergebnisse wurde eine prospektive, randomisierte Doppelblindstudie im cross-over-design mit 24 gesunden Probanden durchgeführt. Intraoral getragene Schmelz- und Dentinproben wurden in 3 Durchgängen von je 7 Tagen zyklisch de- und remineralisiert (extraoral 6x5 min täglich in 0.05 M Zitronensäure, pH 2.35; ansonsten Verbleib in situ) und 1x30 s täglich intraoral mit den oben beschriebenen Lösungen oder Placebo behandelt. Die Zuordnung der 3 Lösungen zu den 3 Durchgängen erfolgte für jeden Probanden randomisiert. Auch in diesem Versuch konnte eine gute Wirksamkeit der $\text{SnCl}_2/\text{NaF}/\text{AmF}$ -Lösung gezeigt werden. Im Schmelz wurde eine deutliche Verringerung des Substanzverlustes von 67,0% im Vergleich zu Placebo und um 59,2% zur NaF -Lösung gemessen. Auch im Dentin konnten die Ergebnisse des vorangegangenen in vitro Versuchs bestätigt und eine Reduktion des Substanzverlustes von 47,0% im Vergleich zu Placebo und 31,2% im Vergleich zur NaF -Lösung gemessen werden. In allen Fällen wurde Signifikanz auf 0.001 Niveau erreicht.

5. Zusammenfassung

In beiden Versuchen war die $\text{SnCl}_2/\text{NaF}/\text{AmF}$ -Testlösung sowohl im Schmelz als auch im Dentin einer einfachen NaF-Lösung mit gleichem Fluoridgehalt überlegen. Somit kann festgehalten werden, dass es möglich ist, mit täglich einmaliger Anwendung einer kombinierten $\text{SnCl}_2/\text{NaF}/\text{AmF}$ -haltigen Mundspüllösung den durch Säuren verursachten Verlust von Zahnhartsubstanzen effektiv zu reduzieren.

6. Summary

Aim of the present study was to investigate whether and to what extent an experimental SnCl₂/NaF/AmF(aminefluoride) test solution (800 ppm Sn²⁺ as SnCl₂, 500 ppm F⁻ as NaF/AmF) is able to reduce erosive tissue loss in enamel and dentine compared to a NaF solution with the same fluoride content.

Two consecutive experiments were performed. The first was a cyclic de- and remineralisation experiment in vitro and was performed over 10 days. Samples were eroded 6x5 min/day with 0.05 M citric acid (pH 2.35) and otherwise stored in a remineralization solution. The test and NaF solutions were applied twice daily for 2 min.

The results showed a good effectiveness of the SnCl₂/NaF/AmF solution. The reduction of tissue loss in enamel was 77.6% compared to erosion only (no intervention) and 76.1% compared to the NaF solution. The test solution also reduced substance loss in dentine but was less effective than in enamel. The reduction of substance loss compared to erosion only was 52.6% and compared to the NaF-solution 22.0%. All differences were statistically significant on the 0.001 level.

Subsequent to these encouraging results, a prospective, randomised double-blind cross-over study including 24 healthy volunteers was conducted. In this study, the effect of the same solutions as used in the in vitro trial was examined under oral conditions. Over three periods of seven days each, intraorally carried enamel- and dentine samples were demineralized for 6x5 min in 0.05 M citric acid (pH 2.35; extraoral immersion) and otherwise harbored in the oral cavity. The two above mentioned solutions or a placebo solution were used every morning for 30 s (intraoral application). The allocation of the three interventions to the three test periods was randomized for each volunteer.

Also in this experiment the SnCl₂/NaF/AmF solution showed a remarkable effect. In enamel, a reduction of substance loss of 67.0% was measured compared to placebo and of 59.2% compared to the NaF solution. In dentine, the results of the first experiment were also confirmed. A reduction of substance loss of 47.0% compared to placebo and 31.2% compared to the NaF solution was measured. All differences were statistically significant on the 0.001 level.

In both experiments superior effects for the test solution were observed compared to the NaF solution. This could be shown for enamel as well as for dentine.

It is thus possible to reduce the loss of dental hard tissue caused by acids with the use of a SnCl₂/NaF/AmF solution only once a day.

7. Abbildungsverzeichnis

TABELLEN

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisse vorheriger Studien, in denen die erosionsinhibierende Wirkung bei Dentin untersucht wurde. Die Daten aus der in vitro Studie mit einer Versuchsdauer von 10 Tagen sind zum Vergleich mit der in situ Studie auch mit Schätzwerten für 7 Tage dargestellt, alle Werte in μm , %-Werte in Klammern entsprechen der Reduktion gegenüber Placebogruppe.	18
Tabelle 2: Substanzverlust in vitro bei Schmelz nach 10 Versuchstagen (arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung in μm); unterschiedliche Buchstaben (a, b, c) bedeuten Signifikanz	20
Tabelle 3: Substanzverlust in vitro bei Dentin nach 10 Versuchstagen (arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung in μm); unterschiedliche Buchstaben (a, b, c) bedeuten Signifikanz	20
Tabelle 4: nicht ausgewertete Proben, Schmelz hellgrau, Dentin dunkelgrau	21
Tabelle 5: Verbrauch an Spüllösung pro Proband [g]	22
Tabelle 6: Substanzverlust Schmelz in situ (arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung in μm); unterschiedliche Buchstaben (a, b, c) bedeuten Signifikanz	23
Tabelle 7: Substanzverlust Dentin in situ (arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung in μm); unterschiedliche Buchstaben (a, b, c) bedeuten Signifikanz	24

ABBILDUNGEN

Abbildung 1: Probenträger extraoral ohne Proben, gefräste Aussparung zur Probenaufnahme	10
Abbildung 2: Positionsschema der Schmelzproben (a, c, e) und der Dentinproben (b, d, f) im Probenträger; Ansicht von frontal.....	10
Abbildung 3: Probenträger extraoral mit eingesetzten Proben. Ansicht von links, Positionen a (Schmelz), b (Dentin) und c (Schmelz).....	11
Abbildung 4: Probenträger intraoral mit alternierend eingesetzten Schmelzproben (a, c, e) und Dentinproben (d, e, f).....	11

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 5: Probe in der Aufsicht	16
Abbildung 6: Auswertung eines Profilschriebs	17
Abbildung 7: Substanzverlust Schmelz in situ (μm), aufgeteilt nach Probanden (101-124), der Wert für die Testlösung bei Proband 107 betrug $-0,1 \mu\text{m}$ und ist daher nicht dargestellt; Dieses Diagramm wurde veröffentlicht im Journal of dental research (Ganss, Neutard <i>et al.</i> 2010).....	24
Abbildung 8: Dentin in situ (μm), aufgeteilt nach Probanden (101-124); Dieses Diagramm wurde veröffentlicht im Journal of dental research (Ganss, Neutard <i>et al.</i> 2010).	25

Literature Cited

- ADDY, M. & SHELLIS, R. P. 2006. Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 20:17-31.
- ATTIN, T., BECKER, K., ROOS, M., ATTIN, R. & PAQUE, F. 2009. Impact of storage conditions on profilometry of eroded dental hard tissue. *Clin. Oral Investig.* 13:473-478.
- ATTIN, T., BUCHALLA, W., GOLLNER, M. & HELLWIG, E. 2000. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. *Caries Res* 34:48-52.
- ATTIN, T., SIEGEL, S., BUCHALLA, W., LENNON, M. A., HANNIG, C. & BECKER, K. 2004. Brushing abrasion of softened and remineralised dentin: an in situ study. *Caries Res* 38:62-66.
- BABCOCK, F. D., KING, J. C. & JORDAN, T. H. 1978. The reaction of stannous fluoride and hydroxyapatite. *J.Dent.Res.* 57:933-938.
- BARBAKOW, F., LUTZ, F. & SENER, B. 1985. In vitro dissolution of human enamel after application of a mixture of stannous fluoride and amine fluoride 297: a pilot study. *ASDC J.Dent.Child* 52:444-448.
- BARTLETT DW, SMITH BG & WILSON RF . Comparison of the effect of fluoride and non-fluoride toothpaste on tooth wear in vitro and the influence of enamel fluoride concentration and hardness of enamel. *Br Dent J.* 176[9], 346-348. 1994.
Ref Type: Abstract
- BARTLETT, D. W. & COWARD, P. Y. 2001. Comparison of the erosive potential of gastric juice and a carbonated drink in vitro. *J Oral Rehab* 28:1045-1047.
- BAUMANN, T., KOZIK, J., LUSSI, A. & CARVALHO, T. S. 2016. Erosion protection conferred by whole human saliva, dialysed saliva, and artificial saliva 1. *Sci.Rep.* 6:34760.
- BRAMBILLA E. 2001. Fluoride - is it capable of fighting old and new dental diseases? An overview of existing fluoride compounds and their clinical applications. *Caries Res* 35:6-9.
- DAWES, C. & KUBIENIEC, K. 2004. The effects of prolonged gum chewing on salivary flow rate and composition. *Arch.Oral Biol.* 49:665-669.
- DE HERTOIGH, G., ECTORS, N., VAN EYKEN, P. & GEBOES, K. 2006. Review article: the nature of oesophageal injury in gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 24 Suppl 2:17-26.

8. Literaturverzeichnis

- DEVLIN, H., BASSIOUNY, M. A. & BOSTON, D. 2006. Hardness of enamel exposed to Coca-Cola and artificial saliva. *J.Oral Rehabil.* 33:26-30.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY 2005. European Food Safety Authority (EFSA) (2005): Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the Tolerable Upper Intake Level of Tin. *The EFSA Journal* 1-25.
- FEATHERSTONE, J. D. & LUSSI, A. 2006. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 20:66-76.
- GANSS, C. 2006. Definition of erosion and links to tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 20:9-16.
- GANSS, C., HARDT, M., BLAZEK, D., KLIMEK, J. & SCHLUETER, N. 2009. Effects of toothbrushing force on the mineral content and demineralized organic matrix of eroded dentine
1. *Eur.J.Oral Sci.* 117:255-260.
- GANSS, C., HARDT, M., LUSSI, A., COCKS, A. K., KLIMEK, J. & SCHLUETER, N. 2010. Mechanism of action of tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in dentine - an in vitro tin-uptake, tissue loss, and scanning electron microscopy study. *Eur.J.Oral Sci.* 118:376-384.
- GANSS, C., KLIMEK, J., BRUNE, V. & SCHÜRMAN, A. 2004a. Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res* 38:561-566.
- GANSS, C., KLIMEK, J., SCHÄFFER, U. & SPALL, T. 2001. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res* 35:325-330.
- GANSS, C., KLIMEK, J. & STARCK, C. 2004b. Quantitative analysis of the impact of the organic matrix on the fluoride effect on erosion progression in human dentine using longitudinal microradiography. *Arch Oral Biol* 49:931-935.
- GANSS, C., LUSSI, A., SCHARMANN, I., WEIGELT, T., HARDT, M., KLIMEK, J. & SCHLUETER, N. 2009. Comparison of calcium analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosion in dentine. *Caries Res.* 43:422-429.
- GANSS, C., LUSSI, A. & SCHLUETER, N. 2014a. The histological features and physical properties of eroded dental hard tissues. *Monogr Oral Sci.* 25:99-107.
- GANSS, C., LUSSI, A. & SCHLUETER, N. 2014b. The histological features and physical properties of eroded dental hard tissues
1. *Monogr Oral Sci.* 25:99-107.
- GANSS, C., LUSSI, A., SOMMER, N., KLIMEK, J. & SCHLUETER, N. 2010. Efficacy of fluoride compounds and stannous chloride as erosion inhibitors in dentine. *Caries Res.* 44:248-252.

8. Literaturverzeichnis

- GANSS, C., NEUTARD, L., VON, H. J., KLIMEK, J. & SCHLUETER, N. 2010. Efficacy of a tin/fluoride rinse: a randomized in situ trial on erosion 1. *J.Dent.Res.* 89:1214-1218.
- GANSS, C., SCHLECHTRIEMEN, M. & KLIMEK, J. 1999. Dental erosions in subjects living on a raw food diet. *Caries Res.* 33:74-80.
- GANSS, C., SCHLUETER, N., HARDT, M., SCHATTENBERG, P. & KLIMEK, J. 2008. Effect of fluoride compounds on enamel erosion in vitro: a comparison of amine, sodium and stannous fluoride. *Caries Res* 42:2-7.
- GANSS, C., SCHLUETER, N. & KLIMEK, J. 2007. Retention of KOH-soluble fluoride on enamel and dentine under erosive conditions--A comparison of in vitro and in situ results. *Arch.Oral Biol.* 52:9-14.
- HANNIG, M. 1999. Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. *Clin.Oral Investig.* 3:88-95.
- HANNIG, M., FIEBIGER, M., GUNTZER, M., DOBERT, A., ZIMEHL, R. & NEKRASHEVYCH, Y. 2004. Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch.Oral Biol.* 49:903-910.
- HANNIG, M. & HANNIG, C. 2014. The pellicle and erosion 1. *Monogr Oral Sci.* 25:206-214.
- HANNIG, M. & JOINER, A. 2006. The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci.* 19:29-64.
- HARA AT & ZERO DT 2008. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci* 116:60-65.
- HARA, A. T., ANDO, M., CURY, J. A., SERRA, M. C., GONZALEZ-CABEZAS, C. & ZERO, D. 2005. Influence of the organic matrix on root dentine erosion by citric acid. *Caries Res* 39:134-138.
- HARA, A. T., LUSSI, A. & ZERO, D. T. 2006. Biological factors. *Monogr Oral Sci.* 20:88-99.
- HERCULES, D. M. & CRAIG, N. L. 1978. Fluorine and tin uptake by enamel studied by x-ray photoelectron spectroscopy (ESCA). *J.Dent.Res.* 57:296-305.
- HOVE, L., HOLME, B., OGAARD, B., WILLUMSEN, T. & TVEIT, A. B. 2006. The protective effect of TiF₄, SnF₂ and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid in vitro measured by white light interferometry. *Caries Res.* 40:440-443.
- HUYSMANS, M. C., YOUNG, A. & GANSS, C. 2014. The role of fluoride in erosion therapy. *Monogr Oral Sci.* 25:230-243.
- IMFELD, T. 1996. Prevention of progression of dental erosion by professional and individual prophylactic measures. *Eur.J.Oral Sci.* 104:215-220.

- IMFELD, T. N. 1983. *Identification of Low Caries Risk Dietary Components*. Karger.
- JAEGGI, T., GRUNINGER, A. & LUSI, A. 2006. Restorative therapy of erosion. *Monogr Oral Sci.* 20:200-214.
- JAEGGI, T. & LUSI, A. 2006. Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci.* 20:44-65.
- JAEGGI, T. & LUSI, A. 2014. Prevalence, incidence and distribution of erosion 1. *Monogr Oral Sci.* 25:55-73.
- JOHANSSON, A. K., LINGSTROM, P., IMFELD, T. & BIRKHED, D. 2004. Influence of drinking method on tooth-surface pH in relation to dental erosion. *Eur.J.Oral Sci.* 112:484-489.
- KIM, T. H., LEE, K. J., YEO, M., KIM, D. K. & CHO, S. W. 2008. Pepsin detection in the sputum/saliva for the diagnosis of gastroesophageal reflux disease in patients with clinically suspected atypical gastroesophageal reflux disease symptoms. *Digestion* 77:201-206.
- KINNEY, J. H., BALOOCH, M., HAUPT, D. L. JR., MARSHALL, S. J. & MARSHALL, G. W. 1995. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralisation. *J Dent Res* 74:1179-1184.
- KRUTCHKOFF, D. J., JORDAN, T. H., WEI, S. H. & NORDQUIST, W. D. 1972. Surface characterization of the stannous fluoride-enamel interaction. *Arch.Oral Biol.* 17:923-930.
- LENDENMANN, U., GROGAN, J. & OPPENHEIM, F. G. 2000. Saliva and dental pellicle--a review. *Adv.Dent.Res.* 14:22-28.
- LINDE, A. 1989. Dentin matrix proteins: composition and possible functions in calcification. *Anat.Rec.* 224:154-166.
- LUSI, A. & JAEGGI, T. 2006. Chemical factors. *Monogr Oral Sci.* 20:77-87.
- LUSI, A., SCHLUETER, N., RAKHMATULLINA, E. & GANSS, C. 2011. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects 1. *Caries Res.* 45 Suppl 1:2-12.
- MAGALHAES, A. C., KATO, M. T., RIOS, D., WIEGAND, A., ATTIN, T. & BUZALAF, M. A. 2008. The effect of an experimental 4% Tif4 varnish compared to NaF varnishes and 4% TiF4 solution on dental erosion in vitro. *Caries Res.* 42:269-274.
- MAGALHAES, A. C., LEVY, F. M., SOUZA, B. M., CARDOSO, C. A., CASSIANO, L. P., PESSAN, J. P. & BUZALAF, M. A. 2014. Inhibition of tooth erosion by milk containing different fluoride concentrations: an in vitro study 1. *J.Dent.* 42:498-502.

8. Literaturverzeichnis

- MARINHO, V. C., HIGGINS, J. P., LOGAN, S. & SHEIHAM, A. 2003. Fluoride mouthrinses for preventing dental caries in children and adolescents
1. *Cochrane.Database.Syst.Rev*.CD002284.
- MEURMAN, J. H., DRYSDALE, T. & FRANK, R. M. 1991. Experimental erosion of dentin. *Scand J Dent Res* 99:457-462.
- MÜHLEMANN, H. R. & SAXER, U. P. Reduction of plaque and gingivitis by stannous fluoride stabilised with amine fluoride. *Caries Res* 15[2], 186. 1981.
Ref Type: Abstract
- MUHLER, J. C. 1958. Effects of fluoride and nonfluoride containing tin salts on the dental caries experience in children. *J.Dent.Res.* 37:422-426.
- NELSON, K. G. & BAINBRIDGE, C. A. 1973. SnHPO₄ from the reaction of stannous fluoride and hydroxyapatite at a low pH. *J.Dent.Res.* 52:318-321.
- NIEUW AMERONGEN, A. V., ODERKERK, C. H. & DRIESSEN, A. A. 1987. Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. *Caries Res.* 21:297-309.
- NOACK, M. J. 1989. REM-Untersuchungen an Erosionen der Zahnhartsubstanzen in vivo. *Dtsch Zahnärztl Z* 44:517-520.
- PETZOLD, M. 2001. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF₂ precipitation and microstructure. *Caries Res* 35 (suppl.):45-51.
- SAXEGAARD, E. & RØLLA, G. 1988. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 96:523-535.
- SCHLUETER, N., DURAN, A., KLIMEK, J. & GANSS, C. 2009. Investigation of the effect of various fluoride compounds and preparations thereof on erosive tissue loss in enamel in vitro. *Caries Res.* 43:10-16.
- SCHLUETER, N., GANSS, C., HARDT, M., SCHEGIETZ, D. & KLIMEK, J. 2007. Effect of pepsin on erosive tissue loss and the efficacy of fluoridation measures in dentine in vitro. *Acta Odontol.Scand.* 65:298-305.
- SCHLUETER, N., GANSS, C., POTSCHEKE, S., KLIMEK, J. & HANNIG, C. 2012. Enzyme activities in the oral fluids of patients suffering from bulimia: a controlled clinical trial
1. *Caries Res.* 46:130-139.
- SCHLUETER, N., HARA, A., SHELLIS, R. P. & GANSS, C. 2011. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine
1. *Caries Res.* 45 Suppl 1:13-23.
- SCHLUETER, N., HARDT, M., KLIMEK, J. & GANSS, C. 2010. Influence of the digestive enzymes trypsin and pepsin in vitro on the progression of erosion in dentine. *Arch Oral Biol* 55:294-299.

8. Literaturverzeichnis

- SCHLUETER, N., HARDT, M., LUSSI, A., ENGELMANN, F., KLIMEK, J. & GANSS, C. 2009. 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.* 117:427-434.
- SCHLUETER, N., JUNG, K. & GANSS, C. 2016. Profilometric Quantification of Erosive Tissue Loss in Dentine: A Systematic Evaluation of the Method
1. *Caries Res.* 50:443-454.
- SCHLUETER, N., KLIMEK, J. & GANSS, C. 2009a. Effect of stannous and fluoride concentration in a mouth rinse on erosive tissue loss in enamel in vitro. *Arch Oral Biol* 54:432-436.
- SCHLUETER, N., KLIMEK, J. & GANSS, C. 2009b. Efficacy of an experimental tin-F-containing solution in erosive tissue loss in enamel and dentine in situ. *Caries Res* 43:415-421.
- SCHLUETER, N., KLIMEK, J. & GANSS, C. 2009c. In vitro efficacy of experimental tin- and fluoride-containing mouth rinses as anti-erosive agents in enamel. *J Dent* 37:944-948.
- SCHLUETER, N., KLIMEK, J. & GANSS, C. 2011. Efficacy of tin-containing solutions on erosive mineral loss in enamel and dentine in situ
1. *Clin.Oral Investig.* 15:361-367.
- SCHLUETER, N., NEUTARD, L., VON HINCKELDEY J, KLIMEK, J. & GANSS, C. 2010. Tin and fluoride as anti-erosive agents in enamel and dentine in vitro. *Acta Odontol Scand* 68:180-184.
- SHELLIS, R. P., FEATHERSTONE, J. D. & LUSSI, A. 2014. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 25:163-179.
- SKJORLAND, K. K., RYKKE, M. & SONJU, T. 1995. Rate of pellicle formation in vivo. *Acta Odontol.Scand.* 53:358-362.
- SORVARI R, MEURMAN JH, ALAKUIJALA P & FRANK RM 1994. Effect of fluoride varnish and solution on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 28:227-232.
- SORVARI, R. 1989. Effects of various sport drink modifications on dental caries and erosion in rats with controlled eating and drinking pattern
1. *Proc.Finn.Dent.Soc.* 85:13-20.
- TONAMI, K. I. & ERICSON, D. 2005. Protein profile of pepsin-digested carious and sound human dentine. *Acta Odontol Scand* 63:17-20.
- UHLEN, M. M., STENHAGEN, K. R., DIZAK, P. M., HOLME, B., MULIC, A., TVEIT, A. B. & VIEIRA, A. R. 2016. Genetic variation may explain why females are less susceptible to dental erosion
1. *Eur.J.Oral Sci.* 124:426-432.

8. Literaturverzeichnis

- VANUSPONG, W., EISENBURGER, M. & ADDY, M. 2002. Cervical tooth wear and sensitivity: erosion, softening and rehardening of dentine; effects of pH, time and ultrasonication. *J Clin Periodontol* 29:351-357.
- VIEIRA A, JAGER DH, RUBEN JL & HUYSMANS MC 2007. Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. *Caries Res* 41:61-67.
- WACHTEL, L. W. 1964. In vitro comparison off effects of topical stannic fluoride and stannous fluoride solutions on enamel solubility. *Arch Oral Biol* 9:439-445.
- WEST NX, HUGHES JA, PARKER DM, MOOHAN M & ADDY M 2003. Development of low erosive carbonated fruit drinks 2. Evaluation of an experimental carbonated blackcurrant drink compared to a conventional carbonated drink. *J Dent* 31:361-365.
- WEST, N. X., ADDY, M. & HUGHES, J. 1998. Dentine hypersensitivity: the effects of brushing desensitizing toothpastes, their solid and liquid phases, and detergents on dentine and acrylic: studies in vitro. *J Oral Rehab* 25:885-895.
- WHITE, I., MCINTYRE, J. & LOGAN, R. 2001. Studies on dental erosion: an in vitro model of root surface erosion. *Aust Dent J* 46:203-207.
- WIEGAND, A. & ATTIN, T. 2003. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions - a review. *Oral Health Prev Dent* 1:245-253.
- WIEGAND, A., BICHSEL, D., MAGALHAES, A. C., BECKER, K. & ATTIN, T. 2009. Effect of sodium, amine and stannous fluoride at the same concentration and different pH on in vitro erosion
1. *J.Dent.* 37:591-595.
- WIEGAND, A., MAGALHAES, A. C., SENER, B., WALDHEIM, E. & ATTIN, T. 2009. TiF(4) and NaF at pH 1.2 but not at pH 3.5 are able to reduce dentin erosion. *Arch.Oral Biol.* 54:790-795.
- WIEGAND, A., MEIER, W., SUTTER, E., MAGALHAES, A. C., BECKER, K., ROOS, M. & ATTIN, T. 2008. Protective effect of different tetrafluorides on erosion of pellicle-free and pellicle-covered enamel and dentine
1. *Caries Res.* 42:247-254.
- WIEGAND, A., WALDHEIM, E., SENER, B., MAGALHAES, A. C. & ATTIN, T. 2009. Comparison of the effects of TiF4 and NaF solutions at pH 1.2 and 3.5 on enamel erosion in vitro. *Caries Res.* 43:269-277.
- ZAHRADNIK, R. T. 1979. Modification by salivary pellicles of in vitro enamel remineralization. *J.Dent.Res.* 58:2066-2073.
- ZENTNER, A. & DUSCHNER, H. 1996. Structural changes of acid etched enamel examined under confocal laser scanning microscope. *J Orofac Orthop* 57:202-209.

8. Anhang

ETHIKVOTUM

Vor Beginn der in situ Studie prüfte und genehmigte die Ethikkommission der Justus-Liebig-Universität Gießen das Studienprotokoll.

Datum: 05.2009

Codenummer: 140/07

GENEHMIGUNG DER VERWENDUNG BEREITS VERÖFFENTLICHTER INHALTE

Die auf Seite 26 und 27 abgebildeten Diagramme wurden bereits im Journal of Dental Research veröffentlicht (Ganss, Neutard *et al.* 2010). Als Autor des Artikels ist die Verwendung im Rahmen einer Dissertation ohne weitere Genehmigung möglich. Die diesbezüglichen Kriterien sind im Internet unter <https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet#formTop> dargestellt.

MATERIALLISTE

- Alginat Palgat™ Plus, 3M (Espe AG, Seefeld, Deutschland)
- Alkohol 75%ig, vergällt mit MEK (Otto Fischer GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Deutschland)
- Chlorhexamed® Fluid 0,1%, Wirkstoff Chlorhexidinbis(D-Gluconat) (Glaxo Smithkline consumer Healthcare GmbH & Co. KG, Bühl, Deutschland)
- dicht schließende Behältnisse Lock&Lock (iSi Deutschland GmbH, Solingen, Deutschland)
- Einmalskalpell (Aeskulap, Tuttlingen, Deutschland)
- Exact Mikroschleifsystem (Exact Apparatebau, Norderstedt, Deutschland)
- Exact Trennschleifsystem (Exact Apparatebau, Norderstedt, Deutschland)
- Färbekästen (Schott, Mainz, Deutschland)
- Getränkeflasche Kunststoff, Inhalt 1,5 l (Aldi Süd, Montabaur, Deutschland)
- Hartgips blau (Pluradent, Offenbach, Deutschland)
- Kollagenase von *Clostridium histolyticum type VII* (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
- mechanischer Taster FRW-750 Perthen (Mahr, Göttingen, Deutschland)
- Objektträger Glas, 76x26mm (R. Langenbrinck, Emmendingen, Deutschland)
- Objektträger Kunststoff, 50x100mm (Exact Apparatebau, Norderstedt, Deutschland)

9. Anhang

- optischer Taster, Focodyn (Rodenstock, München, Göttingen)
- Perthometer S8P (Mahr, Göttingen, Deutschland)
- pH-Meter 761 Calimatic (Knick, Berlin, Deutschland)
- Polymerisationslichtgerät Espe Elipa® Trilight 3M (Espe AG, Seefeld, Deutschland)
- Probenhalterungen (Tischler Dental, Giessen, Deutschland)
- Schleifpapier der Körnung P 1200 (Leco, St. Joseph, USA, nominale Korngröße 12 µm)
- Schleifpapier der Körnung P 4000; nominale Korngröße 5 µm (Leco, St. Joseph, USA)
- Software Perthometer Concept 4.0 Perthen (Mahr, Göttingen, Deutschland)
- Elmex Kariesschutz Zahnpasta, 1250 ppm F aus Aminfluorid (GABA International AG, Therwil, Schweiz)
- Stoppuhr (Roth, Deutschland)
- Technovit 7230 VLC (Kulzer-Exact, Wehrheim, Deutschland)
- Thymollösung Thymol (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz)
- Superhartgips Fujirock (GC, Leuven, Belgien)
- Zahnbürste, weich (GABA International AG, Therwil, Schweiz)
- Zitronensäure Monohydrat (Merck, Darmstadt, Deutschland)

UNERWÜNSCHTE VORKOMMNISSE

Unerwünschte Vorkommnisse werden nach Schweregrad klassifiziert als:

- | | |
|---------|---|
| Mild | Empfinden von Symptomen, leicht tolerierbar |
| Moderat | Symptome, die die normalen Lebensvollzüge beeinträchtigen |
| Schwer | Symptome, die die normalen Lebensvollzüge unmöglich machen, beispielsweise Arbeitsunfähigkeit |

Unerwünscht Ereignisse werden weiterhin als ernst (serious adverse event) klassifiziert wenn:

- der Todesfall eintritt
- sie lebensbedrohend sind
- ein Krankenhausaufenthalt erforderlich wird
- eine andauernde Behinderung entsteht
- es sich um andere schwerwiegende medizinische Ereignisse handelt, die nicht direkt lebensbedrohend sind, oder die indirekt oder später zu einem der oben genannten Zustände führen (zum Beispiel Notfallbehandlung einer schwerwiegenden allergischen Reaktion)

Beurteilung von Kausalität

Eine Kausalbeziehung zwischen unerwünschtem oder ernstem unerwünschten Ereignis und der Anwendung von Studienprodukten wird folgendermaßen beurteilt (alle Kriterien müssen erfüllt sein):

Wahrscheinlich, wenn

- zeitlicher Bezug besteht und die Symptome mit Absetzen des Studienprodukts abklingen und/oder bei Wiederaufnahme wieder auftreten und
- pharmakologische Plausibilität besteht und
- andere Ursachen klar ausgeschlossen werden können
- Fallberichte oder andere klinische Nachweise vorliegen

Möglich, wenn

- zeitlicher Bezug besteht und
- die Symptome mit Absetzen des Studienprodukts abklingen und/oder bei Wiederaufnahme wieder auftreten und
- pharmakologische Plausibilität besteht und
- andere Ursachen klar ausgeschlossen werden können
- keine Fallberichte oder andere klinische Nachweise vorliegen

9. Anhang

unwahrscheinlich, wenn

- kein zeitlicher Bezug besteht und/oder
- die Symptome mit Absetzen des Studienprodukts nicht abklingen und/oder bei Wiederanwendung nicht wieder auftreten und
- keine pharmakologische Plausibilität besteht und
- keine Fallberichte oder andere klinische Nachweise vorliegen

nicht im Zusammenhang, wenn

- kein zeitlicher Bezug besteht und
- die Symptome mit Absetzen des Studienprodukts nicht abklingen und/oder bei Wiederanwendung nicht wieder auftreten und
- keine pharmakologische Plausibilität besteht und
- keine Fallberichte oder andere klinische Nachweise vorliegen

nicht zu erheben, wenn

- nicht genügend Information vorhanden ist
kein Kontakt mit dem Studienteilnehmer möglich ist

9. Publikationen

Tin and fluoride as anti-erosive agents in enamel and dentine in vitro.

Schlueter N, Neutard L, von Hinckeldey J, Klimek J, Ganss C.

Acta Odontol Scand. 2010 May;68(3):180-4. doi: 10.3109/00016350903555395.

Efficacy of a tin/fluoride rinse: a randomized in situ trial on erosion.

Ganss C, Neutard L, von Hinckeldey J, Klimek J, Schlueter N.

J Dent Res. 2010 Nov;89(11):1214-8. doi: 10.1177/0022034510375291.

ORCA 2010, Montpellier, France; Poster und Vortrag

Fluoride toothpastes and special anti erosive formulations: effects on enamel.

L Neutard, N Schlueter, O Grunau, J Klimek, C Ganss

Prophylaxedialog 2010,

Zähneputzen nach Säureangriffen – sind Wartezeiten sinnvoll?

Hinckeldey, J.; Neutard, L.; Schlueter, N.; Klimek, J.; Ganss, C

10. Danksagung

An erster Stelle gilt mein Dank meiner Doktormutter, Frau Prof. Carolina Ganss für die wissenschaftliche, methodische und menschliche Unterstützung während der gesamten Bearbeitungsphase meiner Dissertation. Ich hätte mir keinen besseren Betreuer wünschen können!

Frau Prof. Nadine Schlüter möchte für ihre Geduld und ihre unermüdliche Unterstützung danken. Nicht nur während der Dissertation, schon während des Studiums war sie mir eine große Hilfe.

Besonders danken möchte ich meiner Mitstudentin und Mitdoktorandin Judith von Hinckeldey, ohne sie wäre ich niemals ein guter Zahnarzt geworden. Ihr Perfektionismus und ihre Begeisterungsfähigkeit sind immer noch der Maßstab an dem ich mich täglich messe.

Allen Mitarbeitern der Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und konservative Zahnheilkunde, sowie allen Beteiligten meiner Studien bin ich sehr dankbar für die gute und zahlreiche Unterstützung sowie die konstruktive und angenehme Zusammenarbeit. Natürlich bedanke ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden, die mich immer aufgefangen haben wenn es mal nicht so lief und stets ein offenes Ohr für mich hatten.

Bernd und Cornelia Neutard, ist seid die besten Eltern der Welt.

Nicht zuletzt gilt mein Dank meinem Mann, Herrn Dr. Andreas Kollas. Ohne ihn wäre mein Dasein sinnlos...