

**Reaktion von zweiwertigem und
vierwertigem Zinnfluorid mit
Zahnhartsubstanzen
-eine In-vitro-Studie-**

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

vorgelegt von Wiebke Grelek
aus Idar-Oberstein

Giessen (2004)

Aus dem Medizinischen Zentrum für Zahn, Mund- und Kieferheilkunde
Abteilung Zahnerhaltungskunde

Direktor: Prof. Dr. J. Klimek
des Universitätsklinikums Giessen

Gutachter: Prof. Dr. J. Klimek

Gutachter: PD Dr. Dr. Rödelsperger

Tag der Disputation: 18.04.2005

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten 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.“

1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1. Reaktion von Fluorid mit der Zahnhartsubstanz	3
2.1.1. Unterteilung in fest gebundenes Fluorid und KOH-lösliches Fluorid	4
2.1.1.1. Fest gebundenes Fluorid	4
2.1.1.2. KOH-lösliches Fluorid	5
2.2. Wirkungsweise einer AmF/SnF ₂ -haltigen Mundspüllösung	7
2.3. Zinnfluoride	9
2.3.1. Die Rückkehr zu zinnfluoridhaltigen Zahnputzmitteln	9
2.3.2. Eigenschaften	10
2.3.2.1. Antimikrobielle Eigenschaften	10
2.3.2.2. Reaktion mit Dentin und die Wirkung auf die Dentinhypersensibilität	11
2.3.2.3. Möglichkeiten der Stabilisierung	13
3. Material und Methode	16
3.1. Herstellung der Schmelz- und Dentinproben	16
3.2. Versuchsdurchlauf	21
3.2.1. verwendete Mundspüllösung	21
3.2.2. Versuchsablauf	21
3.3. Bestimmung des KOH- löslichen Fluoridgehaltes	22
3.3.1. Vorbereitung der Proben für die Fluoridanalytik	22
3.3.2. Aufbau der Messapparatur	23
3.3.3. Messvorgang	24
3.4. Bestimmung des fest gebundenen Fluoridgehaltes	25
3.4.1. Vorbereitung der Proben für die Fluoridanalytik	25
3.4.2. Messvorgang	26
3.5. Statistik	26
3.6. Materialliste	27

4. Ergebnisse	30
4.1. Konzentrationen KOH- löslichen Fluorids auf Schmelz und Dentin nach Behandlung mit Original oder inaktivierter Meridol Mundspüllösung	30
4.2. Konzentrationen fest gebundenen Fluorids in Schmelz und Dentin nach Behandlung mit Original oder inaktivierter Meridol Mundspüllösung	35
5. Diskussion	41
5.1. Methode	41
5.2. KOH-lösliches Fluorid	42
5.3. Fest gebundenes Fluorid	45
5.4. Resümee	47
6. Zusammenfassung	48
7. Summary	50
8. Literaturverzeichnis	51

1. Einleitung

Durch die Erfolge der Präventivzahnmedizin werden heute immer mehr Zähne bis ins höhere Alter erhalten. Die Prävalenz der gingivalen Rezession bei der erwachsenen Bevölkerung erhöht dabei das Risiko für Wurzelkaries und Zahnhalsüberempfindlichkeit. Diese Probleme verlangen nach lokal wirksamen Therapeutika, welche sowohl Schmelz-, Dentinkaries als auch Gingivitis bekämpfen und zusätzlich noch Zahnhalsüberempfindlichkeit mildern können. Aus diesen Gründen wird heutzutage dem Zinnfluorid wieder vermehrt Aufmerksamkeit geschenkt (Imfeld et al., 1997).

Neben der kariesprophylaktischen Wirkung hat Zinnfluorid antimikrobielle Eigenschaften, reagiert gut mit Dentinoberflächen und reduziert die Zahnhalsüberempfindlichkeit durch Verschluss der Dentinkanälchen (Tinanoff, 1995).

Zinnfluoridverbindungen waren die ersten Wirkstoffe, welche in den Vereinigten Staaten in Zahnpasten verwendet wurden. Die ersten klinischen Untersuchungen wurden in den 50er Jahren publiziert (Muhler, 1958). 1964 wurde die Zinnfluoridzahnpasta „Crest“ mit Kalzium-Pyrophosphat als Abrasivmittel als erste Zahnpasta zum Kariesschutz von der American Dental Association akzeptiert. Doch trotz der nachgewiesenen kariostatischen Wirkung von SnF_2 führten galenische Schwierigkeiten bei der Zinnstabilisierung in Zahnpasten zum Einsatz anderer Fluoridverbindungen wie Natriumfluorid (NaF), Monofluorphosphat (MFP) und Aminfluorid (AmF). Hierbei boten besonders Formulierungen mit Natriumfluorid und Silica als Abrasivmittel eine höhere Verfügbarkeit des Fluorids im Gegensatz zu der Zinnfluoridzahnpasta „Crest“.

In der später entwickelten „Crest Gum Care“ wurde durch Stabilisierung des Sn(II) und Verwendung von Silica als Abrasivmittel die Verfügbarkeit von Fluorid wesentlich verbessert (Faller et al, 1995). Dabei wird aber nicht differenziert, ob die erhöhte Verfügbarkeit durch die Stabilisierung des Sn(II) oder den Austausch der Abrasivmittel verursacht wurde.

Da diese Erkenntnisse ausschließlich die Zahnpastentechnologie betreffen, sollte in der vorliegenden In-vitro- Studie geklärt werden, ob in einer Lösung ohne Abrasivkörper wie der Aminfluorid- Zinn(II)Fluorid Meridol Mundspüllösung die Stabilität des Zinns die Reaktion des Fluorids mit der Zahnhartsubstanz beeinflusst.

Hierfür wurde die Meridol Mundspüllösung in Originalform und zusätzlich nach Überführung des biologisch aktiven zweiwertigen in inaktives vierwertiges Zinn untersucht. Der dazu gewählte Versuchsaufbau ermöglichte eine Differenzierung in KOH-lösliches und

festgebundenes Fluorid. Dieses ist von Bedeutung, da beiden Bindungsformen eine unterschiedliche prophylaktische Wirkung zugeschrieben wird.

2. Literaturübersicht

2.1. Reaktion von Fluorid mit der Zahnhartsubstanz

Das Fluoridion ist das eigentliche kariesprophylaktische Agens fast aller organischen und anorganischen Fluoridverbindungen. Hierbei wird die Reaktion lokal applizierten Fluorids mit Apatit stark von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Neben der Bindungsform der Fluoridverbindung und dem jeweiligen Kation (Sn, Na, Ti, Amine) sowie der Kontaktzeit sind der bestehende pH und die Fluoridkonzentration wichtig (Flim, 1976; Kirkegaard, 1977; Retief et al., 1980).

Wird Fluorid in niedrigen Konzentrationen angeboten, so begründet sich die kariostatische Wirkung des Fluorids in der Bereitstellung freier Fluoridionen (Margolis und Moreno, 1990). Diese freien Fluoridionen diffundieren in die Zahnhartsubstanz und verleihen dem Apatitkristalliten, durch unspezifische Bindung in der Hydratationsschicht oder durch spezifische Bindung an freie Bindungsstellen der Kristalloberfläche, Eigenschaften des Fluorapatits (FAP). Dieses ist infolge seines Löslichkeitsproduktes selbst bei niedrigem pH geringer löslich als Hydroxylapatit (HAP). Unter natürlichen Bedingungen wird jedoch kein reiner FAP, sondern ein Fluorhydroxylapatit (FHAP) gebildet, dessen Löslichkeit zwischen FAP und HAP liegt. So wird grundsätzlich in den Apatitkristall integriertes Fluorid auch als fest gebundenes Fluorid bezeichnet (Definition siehe unten).

Wird Fluorid in hohen Konzentrationen zugeführt, kommt es zur Bildung kalziumfluoridartiger Mineralien (CaF_2) (Caslavská et al., 1975; Saxegaard und Rolla, 1988; Dijkman und Arends, 1988; Larsen und Jensen, 1994), die sich mikroskopisch als aufgelagerte globuläre Strukturen darstellen (Nelson et al., 1983a,b, 1984; Rolla und Øgaard, 1986; Dijkman et al., 1983; Christoffersen et al., 1988). Das CaF_2 dissoziiert schon bei geringem Absinken des pH-Wertes und setzt Fluoridionen frei. Diese wiederum beeinflussen den Apatit-Auflösungsprozeß.

2.1.1. Unterteilung in fest gebundenes Fluorid und KOH-lösliches Fluorid

Aufgrund der Löslichkeit fluoridhaltiger Mineralien gegenüber einer KOH-Lösung kann analytisch fest gebundenes Fluorid (im Apatitkristallit gebundenes) und KOH-lösliches Fluorid unterschieden werden (Ten Cate, 1984). Hierbei spiegeln diese beiden Formen in gewisser Weise die Theorien wieder, dass fest gebundenes Fluorid die Resistenz des Apatits gegenüber Säuren erhöhen soll und KOH-lösliches Fluorid den Apatit-Auflösungsprozeß beeinflusst.

2.1.1.1. Fest gebundenes Fluorid

Durch die Bereitstellung freier Fluoridionen nach lokal applizierten Fluorid in niedrigen Konzentrationen sinkt der kritische pH-Wert für die (Auflösung) Demineralisation des Zahnschmelzes und die auf den Apatitkristalliten einwirkenden Lösungsgleichgewichte werden zur festen Phase hin verschoben. Die Folge ist, dass die Auflösung des Apatitkristalliten abnimmt, da es zur Reduzierung der Demineralisation sowie zur Begünstigung der Remineralisation kommt. Dabei wird dann bevorzugt Fluorid während der Remineralisation in die Oberflächen der Kristallite eingebaut (Koulourides, 1990). Dies erfolgt durch eine Präzipitation von FHAp in den oberflächlichen Schichten der Kristallite sowie der Umwandlung von HAp in FHAp, indem in einer Substitutionsreaktion Fluoridionen gegen Hydroxylionen ausgetauscht werden.

Der Umbau des karbonatreichen Apatits in einen fluoridhaltigen Apatit begründet sich in der hohen Löslichkeit des karbonatreichen Apatitkristalliten. In welcher Form Fluorid dabei ein- bzw. aufgelagert wird, ist in vitro abhängig von Konzentration und pH (Lammers et al., 1991a). Nach Lammers et al. (1990, 1991b, 1992) hat das Fluorid Einfluss auf den Präzipitationsmechanismus von Kalziumphosphat. Bei niedrigen Fluoridkonzentrationen ($\leq 0,03$ ppm) wird pH-abhängig entweder unter sauren Bedingungen DCPD (Dikalziumphosphatdihydrat) oder im neutralen Bereich OCP (Octakalziumphosphat) gebildet, beides Vorläufer des Hydroxylapatits. Bei hohen Fluoridkonzentrationen dagegen bildet sich direkt FHAp (Driessens et al., 1987; Eanes, 1980).

Die Auflösung von FAp und FHAp ist unter neutralen pH-Bedingungen nur minimal (McCann, 1986), die thermodynamische Löslichkeit von FAp ist viermal kleiner als die von HAp (McCann, 1968; McDowell et al., 1977). Die Löslichkeit von teilweise fluoridiertem Hydroxylapatit, FHAp, liegt etwa dazwischen. Die verringerte Löslichkeit von Fluorid enthaltenden Apatit wird nach LeGeros et al. (1988) durch die steigende Kristallitengröße und sinkenden kristallinen Spannungen bedingt.

Somit hat die Bildung von FAp und FHAp (d.h. fest gebundenes Fluorid) in erster Linie Einfluss auf das Löslichkeitsprodukt, die Kristallisation und damit die Säurewiderstandsfähigkeit der Apatitkristallite.

Der Zusammenhang zwischen dem Gehalt an festgebundenem Fluorid der Zahnhartsubstanzen und einer damit verbundenen erhöhten Kariesresistenz konnte in zahlreichen Untersuchungen nicht nachgewiesen werden (Mellberg et al., 1985; Retief et al., 1987, 1988). Øgaard et al. (1988) fand in einer situ Studie, dass sowohl im menschlichen Schmelz als auch im Hai-Schmelz (besteht hauptsächlich aus reinem Fluorapatit) unter gleichen Bedingungen gleichermaßen Karies entsteht. In einer weiterführenden Studie wies Øgaard et al. (1991) nach, dass mit 0,2 % Natriumfluoridspüllösung behandelte menschliche Schmelz signifikant weniger Ausbildung an Kariesläsionen zeigte als der Hai-Schmelz. Larson fand im Tierversuch (an Ratten) eine wesentlich geringere Wirkung fest eingelagerten Fluorids im Vergleich zu frei verfügbaren Fluoridionen (Larson, 1977; Larson et al., 1976). Diese Untersuchungen zeigen, dass mit der Bildung fest gebundenen Fluorids nur verhältnismäßig geringe Reduktionen der Löslichkeit erreicht werden. Der Haupteffekt des fest gebundenen Fluorids liegt somit in einer erhöhten Widerstandsfähigkeit der festen Phase gegenüber einer Auflösung durch Säuren.

2.1.1.2. KOH-lösliches Fluorid

Wird Fluorid während lokaler Fluoridierung in hohen Konzentrationen angeboten, so kommt es zur Bildung von KOH-löslichem Fluorid (Kalziumfluorid bzw. kalziumfluoridartiges Material). Das bei der Bildung notwendige Kalzium stammt dabei z.T. aus dem sich auflösenden Apatit (Duschner et al., 1984) und den umgebenden Flüssigkeiten.

Mikroskopisch handelt es sich um Auflagerungen kleiner, globulärer Partikel. 1984 fanden Nelson et al. solche Partikel mit einem Durchmesser von 4 – 15 µm bei der Fluoridierung von

Schmelz mit saurem Phosphatfluorid (APF) und Natriumfluorid (NaF). Auch Tsuda et al. (1993) konnten die Kalziumfluoridauflagerungen nach APF-Applikation beobachten. Rolla und Ellingsen (1994) zeigten die globulären Strukturen auf Schmelz nach SnF_2 - Behandlung. Arends et al. (1988) wiesen die globulären Auflagerungen auch innerhalb kariöser Läsionen nach, Saxegaard et al. (1987) auf Dentin.

Das KOH-lösliche Fluorid besitzt einen starken kariesprotektiven Effekt (Fejerskov et al., 1981; Øgaard und Rolla, 1986), bedingt durch die Abgabe freier Fluoridionen. Die langsame Abgabe dieser freien Fluoridionen ist möglich, da das KOH-lösliche Fluorid vor allem als pH-geregeltes Reservoir dient. Hierbei nimmt Rolla (1988) an, dass Phosphatgruppen welche die Kalziumfluoridauflagerungen bedecken mit absteigendem pH Protonen binden und so Fluoride abgeben. Diese beeinflussen dann während des kariogenen pH-Abfalls das Lösungsgleichgewicht zwischen fester und flüssiger Phase, was den kritischen pH herabsetzt. Außerdem bewirken die freien Fluoridionen eine Förderung des Mineralwachstums, d.h. die Präzipitation von FHAp und der Umbau von HAp in FHAp.

Wichtig für seine Wirkung ist jedoch, dass CaF_2 , welches in reiner Form eine sehr große Löslichkeit besitzt, nicht sofort nach seiner Bildung in Lösung geht. De Paola et al. (1978) wiesen eine lang anhaltende Retention des CaF_2 nach. Dies ist verwunderlich, da Speichel wie auch Plaquefluid hinsichtlich CaF_2 ungesättigt sind und so eine schnelle Auflösung des Materials zu erwarten wäre (McCann, 1968). In vivo ist das kalziumfluoridartige Material aber in starkem Maße mit Phosphat, Proteinen und anderem verunreinigt (Lagerlöf et al., 1988; Chander et al., 1982; Rolla und Øgaard, 1986; Kanauya et al., 1983). Nach Koulourides (1990) ist die Bildung eines FAp-Films, der in Anwesenheit von Phosphat gebildet wird, für ein längeres Bestehen bleiben des CaF_2 verantwortlich. Nach Øgaard (1990) besteht ein aus dem Speichel gebildeter Proteinmantel, der erst unter kariogenen Bedingungen zerstört wird und dann die Auflösung des CaF_2 zulässt. Andere Untersuchungen zeigten aber auch, dass die Auflösungsprozesse des kalziumfluoridartigen Materials in vivo wesentlich komplexer sind als unter in vitro Bedingungen (Rolla, 1988).

Abschließend lässt sich sagen, dass die frei verfügbaren Fluoridionen des KOH-löslichen Fluorids, durch Bereitstellung des Fluorids während eines Kariesprozesses, eine große Reduktion der Löslichkeit erzielen. Zusätzlich wird ein Teil des bei der lokalen Fluoridierung gebildeten CaF_2 auch genutzt, um Fluorid in die Apatitstruktur einzubauen (Caslavská et al., 1991), was wiederum zu einer erhöhten Säurewiderstandsfähigkeit des Apatits führt.

2.2. Wirkungsweise einer SnF₂/AmF-haltigen Mundspüllösung

Die Inhibierung der oralen Plaque stellt eine wesentliche Grundvoraussetzung zur erfolgreichen Prävention von Karies und Gingivitis/Parodontitis dar. So wurde in den letzten Jahrzehnten nach Möglichkeiten gesucht, die neben der mechanischen Plaqueentfernung gleichermaßen ein wirkungsvolles wie nebenwirkfreies Oralprophylaktikum darstellen. Der Anforderungskatalog an ein solches Präparat ist umfassend, nach Lang und Brex (1986) müssen folgende Eigenschaften an eine Mundspüllösung erfüllt werden: 1. Spezifität gegenüber oralen Mikroorganismen; 2. Effizienz, z.B. in ihrer antibakteriellen Wirkung; 3. Substantivität, d.h. eine ausreichend lange Retention an Zahnhart- oder oralen Weichgeweben; 4. Sicherheit im Sinne einer möglichst geringen toxischen Wirkung. Hier sind auch manifestierende Nebenwirkungen zu nennen. 5. Stabilität während der Lagerzeit wie auch in situ.

So wurden in der Vergangenheit verschiedene Präparate klinisch geprüft, unter anderem Pflanzenextrakte, Kombinationen verschiedener ätherischer Öle, Hexetidin-Zink-Kombinationen, Bisbiguanide (Chlorhexidin) sowie verschiedene Fluoridpräparate, hierbei mit besonderer Aufmerksamkeit auf die Kombination von Aminfluorid mit Zinnfluorid.

Der antibakterielle Wirkstoff Chlorhexidin gilt als bekanntester Vertreter der Chemoprophylaktika und wird als das am besten wirksame Agens gegen Plaque und Gingivitis angesehen (Brex 1997, Lang und Brex 1986). Doch obwohl Chlorhexidin gleichzeitig bakterizid, aggregations- und adhärenzinhibierend auf die Mikroorganismen des Zahnbelags wirkt (Löe et al., 1970), wird aufgrund von Verfärbungen an Zähnen und Schleimhäuten sowie Geschmacksirritationen nur eine kurzfristige kontrollierte Anwendung in der Praxis empfohlen (Fédération Dentaire Internationale, 1987). Auch der starke Eingriff in die Mikroökologie des Mundes des stark antibakteriellen Chlorhexidin steht einer unbedenklichen Langzeitanwendung entgegen, da die orale Mikroflora nicht reprimiert werden sollte und damit die im gesunden Mund herrschenden Wechselbeziehungen erhalten bleiben sollten (Newman, 1990).

Die Kombination des organischen Aminfluorids mit dem anorganischen Zinnfluorid, wie sie in der Mundspüllösung Meridol® enthalten ist, als antibakterielle und somit plaquehemmende Substanz wurde in den letzten Jahren sowohl in klinischen Kurzzeit- (Arweiler et al., 2001a; Arweiler et al., 2001b; Netuschil et al., 1997), als auch Langzeitstudien (Banoczy et al., 1989;

Brex et al., 1993; Brex et al., 1990) untersucht und durchweg als positiv eingestuft. Hierbei ergeben sich die antibakteriellen Eigenschaften aus den Einzelkomponenten. Neben dem antiglykolytischen Effekt des Fluorids, welcher allerdings von den Mundhöhlenbakterien schnell kompensiert wird, wird eine Verbesserung der Plaqueinhibierung vor allem durch die mit dem F-Ion gekoppelten Kationen erzielt, nämlich dem Zinn bzw. dem organischen Amin. So haben seit den ersten Publikationen über die Aminfluoride (Mühlemann et al., 1957), welche Additionsverbindungen von Fluorwasserstoff mit Kohlenwasserstoffaminen darstellen, zahlreiche Untersuchungen immer wieder die günstige kariesprophylaktische Wirkungsweise dieser organischen Fluoridverbindungen gezeigt. Andere Untersuchungen zeigten, dass Aminchlorid-Verbindungen eine dem Aminfluorid vergleichbare Wirkung auf die Plaque ausübten (Breitenmoser, 1975), eine Beobachtung die den Stellenwert der Komponente Amin verdeutlicht. Biochemische Studien wiesen nach, dass die Aminfluoride bereits in relativ geringer Konzentration auf die bakterielle Atmung und Glykolyse sowie auf die Polysaccharidsynthese von Streptokokken hemmend wirken (Hermann und Mühlemann, 1958; Bramstedt und Bandilla, 1966). Schneider und Mühlemann (1974) und Dolan et al. (1974) zeigten die hemmende Wirkung der Aminfluoride auf die Stoffwechselaktivität verschiedener oraler Keime und der Säurebildung.

Auch bei den Zinnfluoriden wird der antibakterielle Wirkungsmechanismus weniger vom Fluorid, sondern ganz wesentlich vom Kation, also dem Zinn, bestimmt. So werden am Einsatzort (antimikrobiell wirksame) Zinnionen freigesetzt, welche an der Bakterienoberfläche adsorbieren, den Metabolismus hemmen und damit die Etablierung der oralen bakteriellen Flora reduzieren (Gross und Tinanoff, 1977).

Meridol®, welches sich die Wirkung der Einzelkomponenten zunutze macht, stellt nach Künzel et al. (1990) eine klinisch effektive Spüllösung zur chemischen Plaquekontrolle dar, die den an präventive Agentien formulierten Anforderungen entspricht. Hierbei liegt die In-vitro-Hemmung des bakteriellen Wachstums bei 70 % bis 80 % des Effekts einer 0,2 %igen Chlorhexidin-Lösung (Perdok et al., 1989). Weitere Ergebnisse belegen, dass Meridol® gingivitisassoziierte Bakterien hemmt und somit die gesunde natürliche Mundflora unterstützt (Mengel et al., 1996). Allgemein stellt die Kombination AmF/SnF₂ somit ein wirksames Oralprophylaktikum dar, welches aufgrund seiner Doppelwirkung auf Karies und Gingivitis sowie seiner geringen zahnverfärbenden Wirkung, im Gegensatz zu Chlorhexidin, zum langfristigen präventiven Gebrauch angezeigt ist.

2.3. Zinnfluoride

2.3.1. Die Rückkehr zu zinnfluoridhaltigen Zahnputzmitteln

In den letzten vier Jahrzehnten war der Primärfokus der zahnmedizinischen Produktforschung die Hemmung der koronalen Karies. Hierbei war Zinnfluorid die erste wirkungsvolle Fluoridkombination in Zahnputzmitteln (Muhler, 1958; Muhler und Radike, 1957). So empfahl die American Dental Association, aufgrund von positiven Ergebnissen in kontrollierten klinischen Studien, die Zinnfluoridzahnpaste „Crest“ als Therapeutikum gegen koronale Karies einzusetzen (American Dental Association, 1964). Die Schwierigkeit zweiwertiges Zinnfluorid in einem Mundhygieneprodukt gegen Hydrolyse und Oxidation zu stabilisieren, ohne die Bioverfügbarkeit herabzusetzen, führte aber bald zum Einsatz anderer Fluoridverbindungen wie Natriumfluorid (NaF), Monofluorphosphat (MFP) und Aminfluorid (AmF). Zahnpasten mit diesen Fluoridverbindungen waren deshalb hauptverantwortlich für den eindrucklichen Rückgang der koronalen Karies in den Industrieländern während der letzten dreißig Jahre (Rölla et al., 1991). Durch diese Erfolge der Präventivzahnmedizin und der demographischen Entwicklung der Bevölkerungsstruktur, die Geburtenrate sinkt und der Anteil älterer Menschen nimmt zu (Statistisches Bundesamt, 2000), werden immer mehr Zähne bis ins höhere Alter erhalten. So zeigt eine deutsche Studie von Hahn und Reinhardt (1999), dass 15 % der 50 bis 60-jährigen Personen noch sämtliche Zähne hatten, 82 % besaßen noch mehr als 20 Zähne. Infolge dieser Tendenz zum Erhalt der Zähne bis ins hohe Alter und der Prävalenz der gingivalen Rezession wird das Risiko für Wurzelkaries und Zahnfleischüberempfindlichkeit erhöht. Dieses neuzeitliche Patientenbild verlangt nach lokal wirksamen Therapeutika, welche gegen Karies und Gingivitis wirksam sind. Aus diesen Gründen wird heute dem Zinnfluorid wieder vermehrt Aufmerksamkeit geschenkt. Dementsprechend können heutzutage sowohl wasserfreie als auch wasserhaltige Präparate durch die richtige Rezeptur stabilisiert werden. So behält nach Miller et al. (1994) z.B. ein wasserfreies SnF_2 -Präparat seine Zinnionen in einer stabilen, aber ungebundenen Form bei. Ein stabilisiertes SnF_2 -Präparat ist somit wie andere Fluoridverbindungen kariesprophylaktisch wirksam, weist zudem antimikrobielle Eigenschaften auf, reagiert gut mit Dentinoberflächen und reduziert die Zahnfleischüberempfindlichkeit durch Verschluss der Dentinkanälchen.

2.3.2. Eigenschaften

2.3.2.1 Antimikrobielle Eigenschaften

Die Wirkungsweise von Fluoriden auf den bakteriellen Stoffwechsel ist hinlänglich bekannt. So beeinflussen Fluoride indirekt den Zuckertransport durch die Zellmembran, verändern die Säuretoleranz vieler gram-positiver Bakterien und hemmen die Aktivität einiger essentieller Enzyme der mikrobiellen Glykolyse, insbesondere der Enolase (Hamilton und Bowden, 1988). Dennoch haben die meisten Fluoridverbindungen klinisch nur wenig Einfluss auf Plaquemenge und Plaquewachstum. Eine Ausnahme bildet hierbei das Zinnfluorid. König beobachtete erstmals 1959, dass Zinnfluoride (0,1 %) die Plaqueformation bei Ratten inhibieren. Tinanoff et al. (1976) zeigte dies später beim Menschen. Viele weitere Studien, die den antibakteriellen Effekt des SnF_2 erforscht haben, haben die Beeinflussung von Zinnfluorid auf die bakterielle Zell-zu-Zell-Kohäsion und der Adhäsion von Bakterien an der Zahnoberfläche nachgewiesen (Tinanoff et al., 1976; Ota et al., 1989; Kambara und Norde, 1995). Insbesondere Zinnionen werden an der Bakterienoberfläche adsorbiert, hemmen somit den Metabolismus und reduzieren damit die Etablierung der bakteriellen Flora. Lilenthal (1956) beobachtete, dass Zinnfluoride die Säureproduktion von Plaque und Bakterien hemmen. Dieser Effekt wurde später von anderen Autoren bestätigt (Svatan und Attramadal, 1979; Tinanoff, 1991; White et al., 1995). Weiterhin wurde gezeigt, dass Zinnfluoride die Anzahl von *Streptococcus mutans* im Speichel und in der Plaque reduzieren (Svanberg und Rolla, 1982; Zameck und Tinanoff; 1987).

Eine Studie von Scheie, Assev und Rölla (1986) zur Glykolyse durch *Streptococcus mutans* trug wesentlich zum besseren Verständnis der Zinnfluorid-Wirkung auf Wachstum und Stoffwechsel bei. Unter dem Einfluss von Zinnfluorid fanden sich in den Bakterienzellen Ansammlungen von Fruktose-1,6-bisphosphat und Glycerinaldehyd-3-P. Die Autoren zogen hieraus den Rückschluss, dass die Enzyme Aldolase und Glycerinaldehyd-3-P-Dehydrogenase durch Zinnionen gehemmt werden. Da beide Enzyme Schwefelwasserstoff-Gruppen enthalten, konnte auch die Hypothese von Oppermann et al. (1980) gestützt werden, wonach SnF_2 zur Enzymhemmung mittels Oxidation von Thiol-Gruppen fähig sein soll.

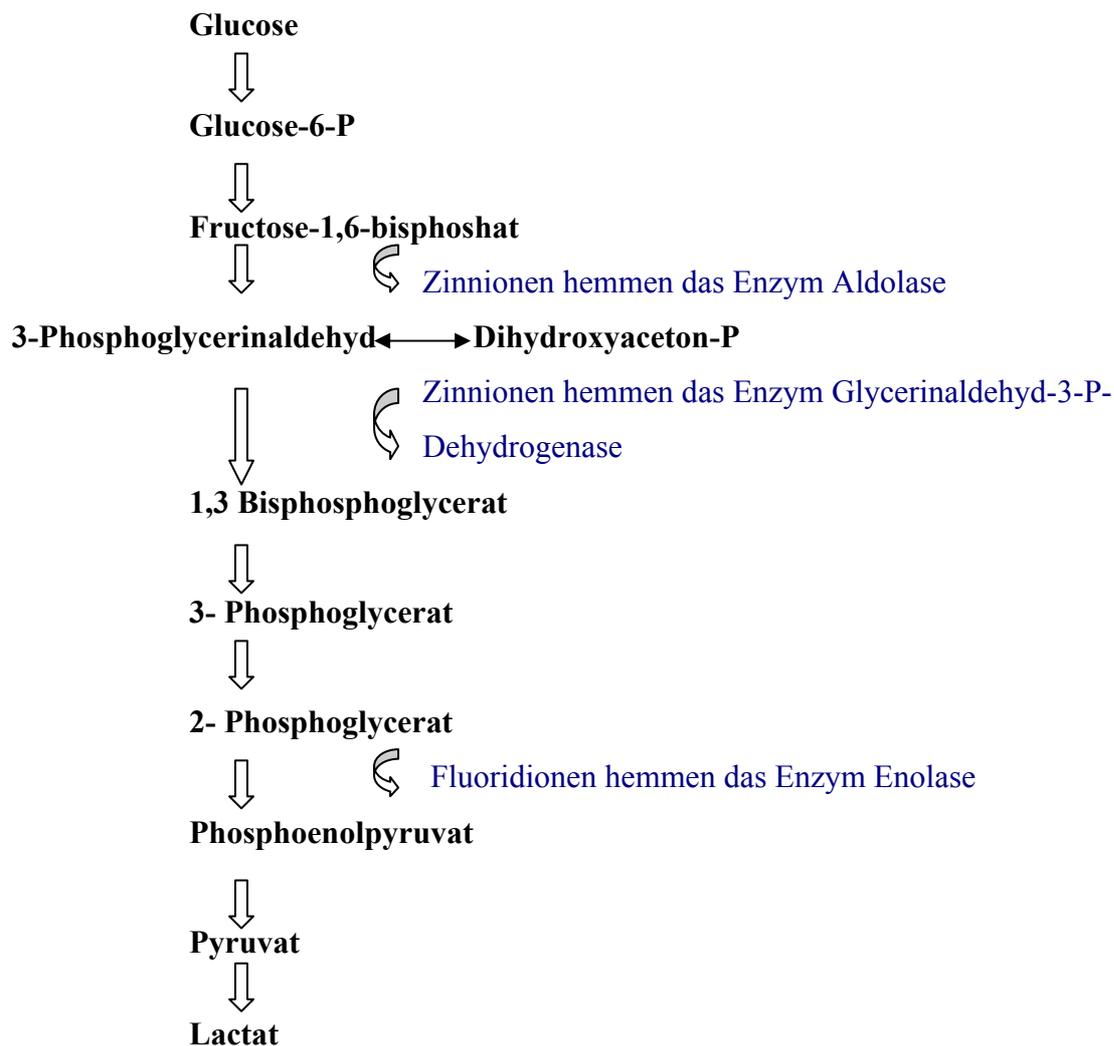


Abb.2.1.: Einfluss von Zinn und Fluorid auf den Glucoseabbau

2.3.2.2. Reaktion mit Dentin und die Wirkung auf die Dentinhypersensibilität

Verschiedene In-vitro-Studien haben die Reaktion von SnF_2 mit Dentin oder Hydroxylapatit untersucht (Wei und Forbes, 1969; Jordan et al., 1971; Gerrity und Jordan, 1977; Babcock et al., 1978; Purdell-Lewis et al., 1979; Ellingsen und Röllä, 1987; Addy und Mostafa, 1988; Miller et al., 1994). Diejenigen, die auch Rasterelektronenmikroskopie einschlossen (Ellingsen und Röllä, 1987; Addy und Mostafa, 1988; Miller et al., 1994) zeigten, dass die Reaktion von SnF_2 mit der Dentinoberfläche zu einer Auflagerung und damit zu einer

Abdeckung der Dentintubuli führt. Miller et al. (1994) untersuchten die Wirkung von in vitro und in situ appliziertem wasserfreiem 0,4 %igem Zinnfluorid-Gel auf Dentinproben. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten nach beiden Applikationsarten 2-3 µm dicke Auflagerungen, welche die Tubuli verschlossen. EDX-Mikrosondenanalysen wiesen Zinn in den Tubuli bis in 100 µm Tiefe nach. Elektronenspektroskopische Analysen ließen keine exakte chemische Beschreibung der Auflagerung zu, zeigten aber, dass schon früher (Martell, 1964) beschriebene Liganden wie Sauerstoff, Fluorid, Hydroxyde, und Phosphate mit Zinn komplexieren. Wahrscheinlich bilden sich Zinnoxide ($[\text{SnO}_N]$) oder -hydroxyde ($[\text{Sn}(\text{OH})_N]$) und Zinnhydroxyphosphat ($[\text{Sn}_2\text{OHPO}_4]$). Der Zinngehalt der Auflagerungen nahm in der Tiefe zu, und es wurden 6-7 % Zinn gemessen. Ellingsen (1986) und Ellingsen und Rölla (1987) untersuchten ebenfalls mit EDX die Zinnaufnahme in Schmelz und Dentin nach mehrmaliger Applikation von wässrigen 0,2 bis 10 %igem Zinnfluoridlösungen. Der Zinngehalt wurde als relative Konzentration von Sn als Gew. % der Gesamtmenge aller Elemente angegeben. Auf dem Dentin fand sich nach 5 minütiger Einwirkung einer 1 %igen Zinnfluoridlösung ein Zinngehalt von 17,8 Gew. %, auf dem Schmelz fand sich nach mehrmaliger Applikation einer 0,2 % Zinnfluoridlösung (7 x 1 Min.) ein Zinngehalt von 5,7 Gew. %. Klimek et al. (2001, noch unveröffentlicht) konnten ebenfalls mit EDX nachweisen, dass es nach Applikation einer Zinnfluoridlösung zu einer gegenüber den Kontrollgruppen (Aqua dest.) hoch signifikanten Anlagerung von Zinn auf Dentin und auch auf Zahnschmelz kommt. Addy und Mostafa (1988) zeigten einen Dentintubuliverschluss nach Behandlung mit Zinnfluorid- und Zinnchloridlösungen, jedoch nicht nach Applikation von Natriumfluorid oder Natriummonofluorophosphat. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass Zinn offensichtlich hauptverantwortlich für die Auflagerungen ist und Fluorid erst als zweiter Reaktor mit Sn(II) beteiligt wird.

Die Auflagerungen und damit der Tubulusverschluss bewirken neben dem Effekt der Verminderung der Zahnhalsüberempfindlichkeit – wahrscheinlich durch Verminderung oder Stopp der Tubulusflüssigkeitsbewegung – eine Säureresistenzhöhung (Debbrecht und Geurtsen, 1996). Letztere wirkt einerseits vorbeugend gegen Wurzelkaries und vermindert andererseits die wiederholte oberflächliche Anätzung und Erweichung freiliegender Zahnhälse durch diätetische Säuren. Damit wird ein weiteres wichtiges Behandlungsziel erreicht, nämlich die Verzögerung der Entstehung und/oder des Fortschreitens von keilförmigen Defekten durch mechanische Einflüsse der Mundhygiene auf vorgängig angeätzte Dentinoberflächen.

2.3.2.3. Möglichkeiten der Stabilisierung

Eine der Barrieren zum Gebrauch von Zinnfluoriden in der klinischen Zahnmedizin ist die Schwierigkeit, diese in wässrigen Lösungen zu stabilisieren. So ist das Zinnion (Sn^{+2}) sehr reaktiv und tendiert sehr stark zu Oxidation und Hydrolyse. Wichtig hierbei ist, dass die chemischen Reaktionen nicht nur während der Lagerung stattfinden, sondern auch während des Herstellungsprozesses. Die Reaktionsprodukte sind hierbei vierwertiges Zinnfluorid (SnF_4), Zinnoxide (Zinnstein) und Zinnhydroxide. Die Oxidation vom biologisch aktiven zweiwertigen Zinn in inaktives vierwertiges Zinn verläuft schnell, besonders in Anwesenheit von Sauerstoff oder oxidierenden Oberflächen, wie z.B. oxid-basierenden Zahnputzmitteln. Gleichzeitig ist sie wenig pH-abhängig und kann auch unter sauren Bedingungen stattfinden (Miller et al. 1994). Die Reaktion zu Zinnhydroxiden ist dagegen pH-abhängig, sie beginnt langsam unter sauren Konditionen ($\text{pH} < 4,0$), die Präzipitation beginnt ab einem pH-Wert über 4,0 (Hefferen, 1963).

Um diese chemischen Veränderungen in Zinnfluoridprodukten zu eliminieren, wurde zuerst versucht SnF_2 in einem wasserfreiem Material (Glycerin) anzubieten. Zusätzlich wurden diesen Produkten die abrasiven Zusatzstoffe entzogen, da diese mit den Zinnfluoriden reagieren könnten. Die daraus resultierenden stabilisierten, wasserfreien Produkte zeigten sich generell stabil gegen Oxidation und Hydrolyse (Shannon, 1969). Dennoch kam die Forderung nach einem stabilisierten wasserhaltigen Präparat, da die Akzeptanz durch den Verbraucher gegenüber wasserfreien Zinnfluoridmitteln unzureichend war (unangenehmes Gefühl im Mund, Schwierigkeit des Gebrauchs mit einer Zahnbürste, Fehlen von Poliermitteln).

So müssen nach Tinanoff (1995) folgende chemische Normen (Abb.2.2.) gegeben sein, um die Stabilität von SnF_2 in einem wasserhaltigen Produkt zu garantieren:

- 1) Hinzufügen von Zinnsalzen, die als Antioxidanten wirken und mit Sauerstoff reagieren
- 2) Hinzufügen von Zinnsalzen (Zinnpyrophosphate), welche ein Reservoir von Zinnionen darstellen
- 3) Hinzufügen von Chelatbildnern, welche Zinnfluoride binden

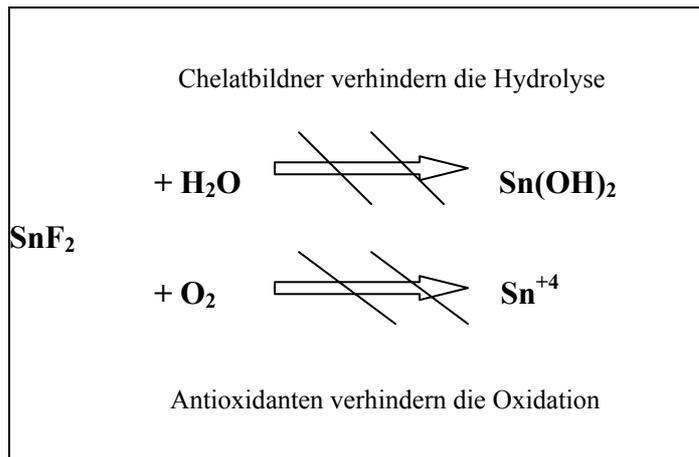


Abb.2.2.: Stabilisierungsmöglichkeiten von wasserhaltigen Zinnfluoridprodukten

Zur unterschiedlichen Wirkung eines zweiwertigen oder vierwertigen Zinns findet sich bei Miller et al. (1994) ein Hinweis, dass die Reaktion von zweiwertigem Zinn mit Dentin vermutlich für den desensibilisierenden Effekt verantwortlich ist und eine entsprechende Reaktion nicht auftritt, wenn das Zinn(II) nicht gut stabilisiert ist. Andererseits ist unumstritten, dass nur das zweiwertige Zinn antimikrobiell wirksam ist (Tinanoff, 1995). Klimek et al. (2001, noch unveröffentlicht) zeigten, dass die Zinnaufnahme nach Anwendung einer Lösung mit zweiwertigen Zinn in Schmelz und Dentin deutlich höher ist als nach Anwendung einer Lösung mit vierwertigem Zinn.

Hinweise zu der Fragestellung, ob die Fluoridaufnahme in Schmelz und Dentin nach Behandlung mit einer Sn(II)- oder Sn(IV)-haltigen Zinnfluoridlösung unterschiedlich verläuft, finden sich nur in veröffentlichten Studienberichten von Procter & Gamble (Faller et al., 1995; White, 1995). Hierbei zeigte sich, dass in der ursprünglich 1100 ppm F^- aus SnF_2 enthaltenden original „Crest“ Zahnpasta (Kalziumpyrophosphat als Abrasivmittel) schon direkt nach der Produktion nur 400 ppm lösliches Fluorid enthalten war. In der später entwickelten „Crest Gum Care“ wurde durch Stabilisierung des Sn(II) und Verwendung von Silica als Abrasivmittel die Verfügung von Fluorid (etwa 90 % der Fluoridaufnahme einer NaF Zahnpasta) wesentlich verbessert (Faller et al., 1995). Es wurde aber nicht differenziert, ob die erhöhte Verfügbarkeit durch die Stabilisierung oder durch den Austausch der Abrasivmittel verursacht wurde. Da diese Erkenntnisse aber wohl ausschließlich die Zahnpastentechnologie betreffen, sollte in der vorliegenden In-vitro-Studie geklärt werden, ob in einer Lösung ohne Abrasivkörper wie der Aminfluorid-Zinn(II)fluorid Meridol®-Mundspüllösung die Stabilität des Zinns die Reaktion des Fluorids mit der Zahnhartsubstanz beeinflusst. In einer Lösung ohne Abrasivkörper wie der Meridol® Mundspüllösung sollte die Stabilität des Sn(II) nicht ohne weiteres die Aufnahme und Retention des Fluorids

beeinflussen. Wird das Sn(II) zu Sn(IV), bleibt ja das Fluorid (wahrscheinlich in ionisierter Form) erhalten und verfügbar.

3. Material und Methode

3.1. Herstellung der Schmelz- und Dentinproben

Zur Herstellung der Schmelz- und Dentinproben wurden verlagerte, nicht in die Mundhöhle durchgebrochene, menschliche Weisheitszähne verwendet. Diese wurden nach chirurgischer Entfernung bis zur Probenherstellung in einer wässrigen, gesättigten Thymollösung (Mat.1) gelagert.

Bei der Probenherstellung wurden die Zähne zunächst mit einem Einmalskalpell (Mat.2) vom Weichgewebe befreit, anschließend erfolgte eine Trennung des Zahnes in Krone und Wurzel (Abb.3.1.). Hierfür wurden die Zähne mit ihren Okklusalfächen mit lichthärtenden Kunststoff (Mat.3) und einer Polymerisationslampe (Mat.4; 60sek) auf Plexiglasobjektträger (Mat.5) aufgeklebt. Die Trennung in Krone und Wurzel erfolgte nun mit dem Exakt-Trennschleifgerät (Mat.6). Der Plexiglasobjektträger mit dem aufgeklebtem Zahn wurde mit einer Vakuumpumpe (Mat.7; 700 mbar) an dem Exakt-Trennschleifgerät angebracht. Bei ausreichender Wasserkühlung, einer mittleren Geschwindigkeit der Bandsäge (Stufe 5, ca. 20 m/min) und einer Belastung des Schlittens von 50 g wurden die Wurzeln von der Krone abgetrennt. Hierbei betrug die Dicke des Sägeblattes 0,33 mm.

Um jeweils aus der Krone und der Wurzel zwei Proben zu erhalten, wurden nun von zwei verschiedenen, seitlichen Glattflächen der Zahnkrone und der Zahnwurzel Zahnlamellen parallel zur Zahnoberfläche abgetrennt (Abb.3.2.). Diese Abtrennung der Lamellen erfolgte wiederum nach Aufkleben der Krone und Wurzel auf Plexiglasobjektträger mit dem Exakt-Trennschleifgerät.

Die Schmelz- und Dentinlamellen wurden nun wieder auf Plexiglasobjektträger fixiert und es konnte mit Hilfe des Mikroschleifsystems (Mat. 8), mit einem Schmirgelpapier der Körnung 800 (Mat.9), eine plane Oberfläche geschaffen werden (Abb.3.3.). Hierbei war bei den Schmelzproben darauf zu achten, dass die geglättete Oberfläche innerhalb des Schmelzes lag. Wurde beim Schleifen Dentin mit angeschnitten, so war die Probe zu verwerfen.

Bei den Dentinlamellen war darauf zu achten, dass Ober- und Unterseite plan-parallel zueinander waren, eventuelle Unebenheiten der Unterseite durch Anschneiden der Pulpakammer wurden durch das Mikroschleifsystem behoben.

Das Wurzelzement der Dentinschnitte wurde durch die Schleifvorgänge vollständig beseitigt.

Um genau definiert große Oberflächen zu erhalten, wurden dann aus den planen Flächen unter Zuhilfenahme eines Hohlbohrers (Mat.10) runde Zylinder herauspräpariert (Abb.3.4.). Dabei war der Hohlbohrer in ein Handstück (Mat.11) mit 25.000 U/min eingespannt, das Handstück war wiederum in einem Bohrständer (Mat.12) eingebaut. Die Probenentnahme erfolgte unter ständiger Wasserkühlung senkrecht zu den planen Flächen. Beim Schmelz erfolgte die Entnahme zentral aus der Fläche, beim Dentin im Bereich des Zahnhalses.

Im Anschluss erfolgte eine Kontrolle der Proben unter dem Stereomikroskop (Mat.13). Waren Absplitterungen am Rand der Probe vorhanden, wurde die Probe verworfen.

Schließlich wurden die Proben unter Aussparung der Oberseite mit Gusswachs (Mat.14) ummantelt, um die Analyse des KOH-löslichen Fluorids ausschließlich auf der Oberseite sicherzustellen (Abb.3.4.).

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

Abschließend wurden die Probenoberflächen durch einmaliges Abwischen mit einem Wattestäbchen (Mat.15) und 96 % Alkohol (Mat.16) gereinigt.

Insgesamt wurden so 84 Schmelzproben und 84 Dentinproben hergestellt, wobei aus einem Zahn zwei Proben Schmelz und zwei Proben Dentin stammen. Die für die Versuche relevante Fläche betrug nun im Durchschnitt 9,82 mm².

Bis zum Versuchsbeginn wurden die Proben in Plexiglasbehälter (Mat.17) und mit einer mit destilliertem Wasser befeuchteten Watterolle (Mat.18) bei 100 % Luftfeuchtigkeit aufbewahrt.



Abb. 3.1.: Trennung des Zahnes in Krone und Wurzel



Abb. 3.2.: Schmelz- und Dentinlamellen



Abb. 3.3.: plangeschliffene Schmelz- und Dentinlamellen

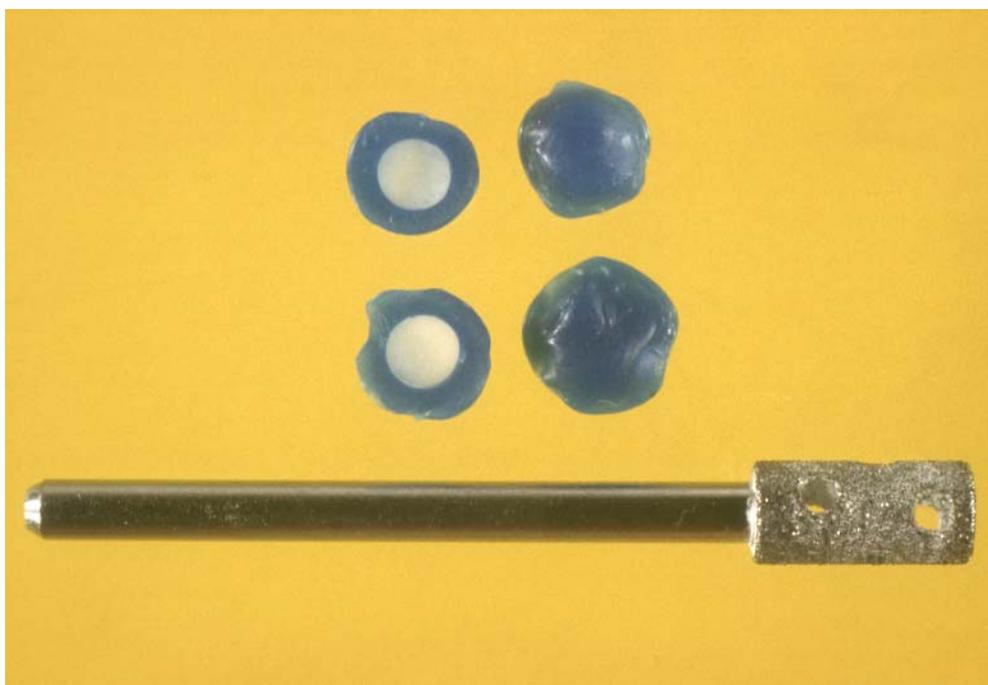
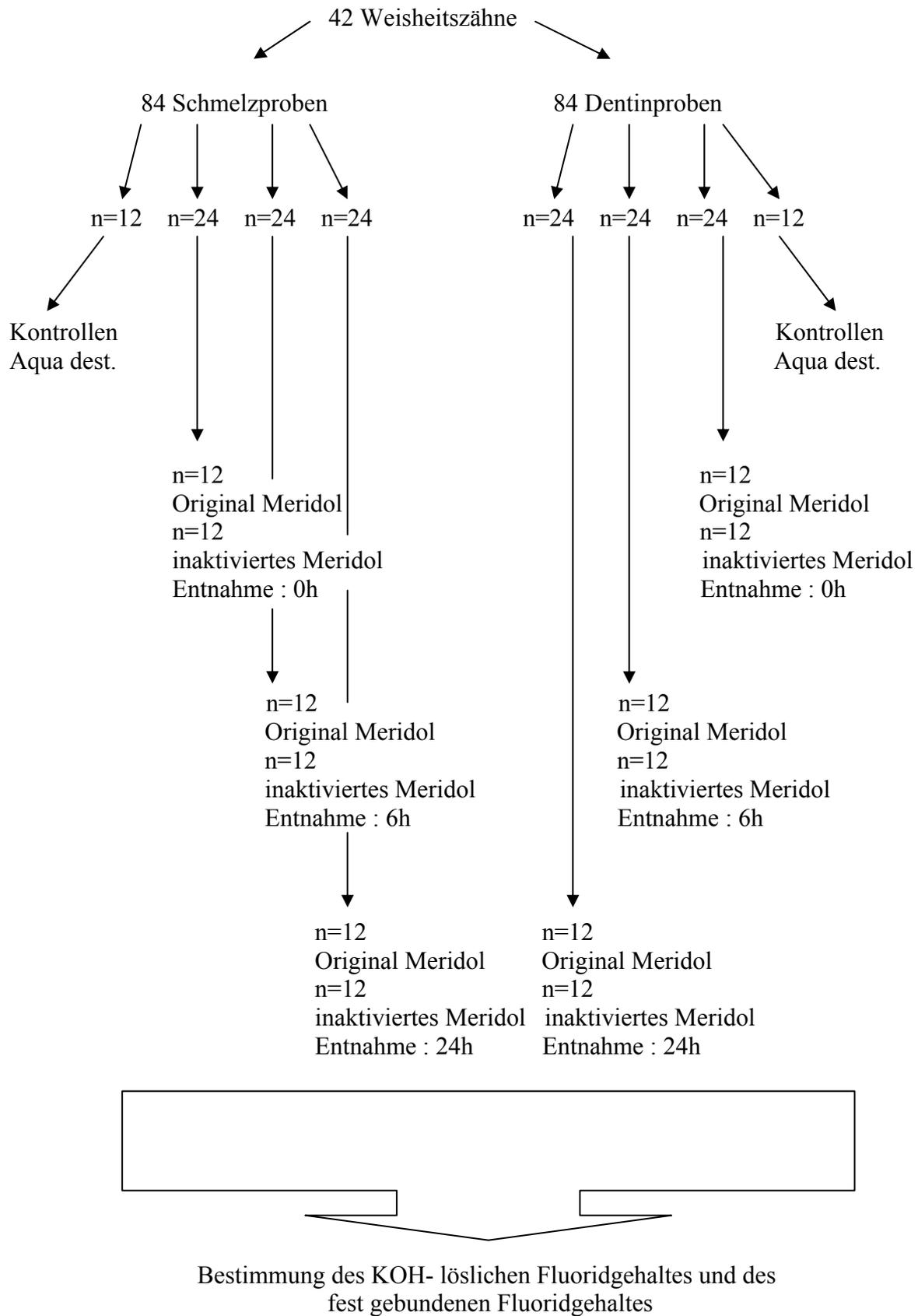


Abb. 3.4.: herauspräparierte und ummantelte Proben; Hohlzylinderbohrer

Abb. 3.5.: Versuchsschema



3.2. Versuchsdurchlauf

3.2.1. verwendete Mundspüllösung

Für den Versuch wurde die Aminfluorid-Zinn(II)Fluorid enthaltende Mundspüllösung Meridol® der GABA GmbH aus Lörrach (D) verwendet. Hierbei kam es zur Anwendung der Original Meridol® Mundspüllösung und zur Anwendung einer inaktivierten Form (durch eine 24-stündige Sauerstoffbehandlung wurde Zinn(II) komplett zu Zinn(IV) umgewandelt; Zinn(II) war anschließend iodometrisch nicht mehr nachweisbar).

Meridol® ist eine gebrauchsfertige, medizinische Mundspüllösung zur täglichen Mund- und Zahnpflege. Die Wirkstoffkombination des Meridols® besteht aus Zinn(II)fluoriden und Olafluor (Aminfluoriden). Der Fluoridgehalt beträgt hierbei 0,25 mg F⁻/ml, das entspricht 250 ppm F⁻, 125 ppm Zinnfluoride und 125 ppm Aminfluoride. Des weiteren besteht die Zusammensetzung des Meridols® aus Aqua, Xylitol, Polyvinylpyrrolidon, PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Aromastoffen, Sodium Saccharin und dem Farbstoff Ariavitblau.

3.2.2. Versuchsablauf

Die aus einem Zahn stammenden Proben wurden so verteilt, dass jeweils eine Schmelz- und eine Dentinprobe mit der unverdünnten Original Meridol Mundspüllösung, die Gegenstücke aus dem gleichen Zahn mit der inaktivierten Meridol Mundspüllösung behandelt wurden (Abb.3.5.).

Hierfür wurden jeweils vier Schmelz- oder Dentinproben mit lichthärtendem Kunststoff auf Objektträgern (Mat.19) aus Glas fixiert. Zum besseren Halt des Kunststoffes auf dem Glas waren die Objektträger zuvor gesandstrahlt (Mat.20) worden. Vor dem Aufkleben der Proben auf die Objektträger erfolgte auch noch eine Reinigung der Objektträger von anhaftenden losen Auflagerungen im Ultraschallbad (Mat.21, 10 Min.). Um später ein vollständiges Eintauchen der Proben in die Versuchsmittel zu gewährleisten, war auf ein Aufkleben der Proben auf das untere Drittel der Objektträger zu achten.

Auch die Proben wurden dann einer Reinigung im Ultraschallbad (Mat.21, 10 Min.) unterzogen, um anhaftende lose Auflagerungen zu lösen. Zusätzlich wurde anschließend bei den Schmelzproben durch Anätzen der Oberfläche eine oberflächlich gründliche Reinigung erzielt. Nach der Behandlung mit dem Ätzel (Mat.22, 30 sek.) wurden die Proben 30 Sekunden gründlich mit Wasser gespült.

So wurden dann jeweils zwölf Schmelz- und Dentinproben, also sechs Objektträger, in Färbegestelle (Mat.23) aus Glas eingebracht. Diese wurden dann gleichzeitig an fünf aufeinanderfolgenden Tagen zweimal täglich, in einem Abstand von sechs Stunden, für eine Minute in 72 ml (3 ml pro Probe) der unverdünnten original Meridol Mundspüllösung (Sn(II)) oder inaktivierten Meridol Mundspüllösung (Sn(IV)) in entsprechende Färbetröge (Mat.24) aus Glas eingebracht. Dabei wurde bei jeder Behandlung der Proben frisches Original Meridol bzw. inaktiviertes Meridol verwendet. Bei der Behandlung mit den Mundspüllösungen wurden die Färbetröge auf dem Schüttelgerät (Mat.25) sanft geschüttelt, um eine optimale Umspülung der Proben zu gewährleisten. Kontroll-, Schmelz- und Dentinproben wurden entsprechend mit Aqua dest. behandelt. Nach jeder Behandlung wurden die Proben für zehn Sekunden mit destilliertem Wasser abgespült. Anschließend wurden die Proben bis zur nächsten Behandlung in künstlichem Speichel (Mat.26) in einem Glaskasten (Mat.27) im Schüttelbad bei 37 °C gelagert. Der künstliche Speichel wurde an jedem neuen Versuchstag durch frischen Speichel ersetzt.

Nach der letzten Applikation der Mundspüllösungen (0 Stunden) und nach weiteren 6 bzw. 24 Stunden wurden die Proben entnommen (Abb.3.5.), für zehn Sekunden mit destilliertem Wasser abgespült und anschließend für die Fluoridanalytik vorbereitet.

3.3. Bestimmung des KOH-löslichen Fluoridgehaltes

3.3.1 Vorbereitung der Proben für die Fluoridanalytik

Mit Hilfe eines Einmalskalpells wurden die Proben vorsichtig vom Kunststoff und damit von den Objektträgern entfernt.

Dann wurden die ummantelten Proben jeweils einzeln in 0,5 ml einer 1-molaren KOH-Lösung (Mat.28) gelegt. Aufbewahrt wurden diese bei 37 °C unter permanenter Bewegung

im Schüttelwasserbad. Verwendung fanden hierbei nur Kunststoffreagenzgläser (Mat.29), um Reaktionen zwischen Fluorid und dem Glas auszuschließen. Nach 24 Stunden wurden die Reagenzgläser dem Schüttelbad entnommen, und es wurde nun 0,5 ml einer 1-molaren Salpetersäure (Mat.30) und 3 ml TISAB 2 (Mat.31) hinzugefügt. Insgesamt betrug der Inhalt eines jeden Reagenzglases nun 4 ml.

Durch die KOH-Lösung wurden die Fluoridauflagerungen von der Probe heruntergelöst, die Zugabe von der Salpetersäure bewirkt eine Pufferung der Kalilauge. TISAB 2 bindet die heruntergelösten Fluoridionen, außerdem dient es zur Einstellung eines konstanten Ionenstärke-Hintergrundes zum Dekomplexieren von Fluorid und um den pH-Wert der Lösung zwischen 5,0 und 5,5 einzustellen. Diese pH-Wert Einstellung ist wichtig, da bei einem pH-Wert unter 5,0 Wasserstoffionen einen Teil der Fluoridionen komplexieren, indem sie undissoziierte Säure HF und das Ion HF_2^- bilden. Das Hydroxidion würde so die Elektrodenansprechgeschwindigkeit auf Fluorid stören.

Da die Mischung der Lösung nun beendet war und das Konzentrationsverhältnis also gleich blieb, konnte die jeweilige Probe aus der Lösung entfernt werden. Die Proben wurden dann bis zur Bestimmung des fest gebundenen Fluorids in neuen Kunststoffreagenzgläsern bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Bis zur Messung des KOH-Löslichen Fluorids wurden die Reagenzgläser mit der verbliebenden Flüssigkeit im Kühlschrank aufbewahrt, um Verdunstungseffekten vorzubeugen.

3.3.2 Aufbau der Messapparatur

Für die Messung des Fluoridgehaltes wurde eine fluoridionenselektive Elektrode (Mat.32) benutzt. Das wesentliche Element der mit einem Epoxy-Schutzmantel versehenen Fluoridelektrode ist eine Lanthan-Fluorid-Eisenkristallmembran und eine innere Referenzableitung. Dieser Kristall ist ein Ionenleiter, in dem nur Fluoridionen beweglich sind. Wenn die Membran mit einer Fluoridlösung in Kontakt kommt, bildet sich an der Membran ein Elektrodenpotential. Dieses Potential, das von der Konzentration der freien, in der Lösung befindlichen Fluoridionen abhängt, wird gegen ein externes konstantes Referenzpotential mit einem spezifischen Ionenmeter (Mat.33) gemessen. Das gemessene Potential entspricht der in

der Lösung befindlichen Konzentration an Fluoridionen. Diese wurde in ppm umgerechnet digital am Ionenmeter angezeigt.

Damit die Elektrode, in die im Reagenzglas zu messende Flüssigkeit eingetaucht werden konnte, musste das Reagenzglas selber in eine mit Wasser gefüllte thermostatische Messzelle (Mat.34), einem doppelwandigen Glaszylinder eingebracht werden. Dieser war durch eine Korkplatte verschlossen, welche eine Aussparung für das Reagenzglas aufwies, wodurch dieses durch Klemmspannung in das Wasserbad ragte.

Unter der Messzelle befand sich ein Magnetrührgerät (Mat.35), welches einen Magnetrührer (Mat.36) in dem Wasserbad des Glaszylinders antrieb. Dieser wiederum trieb einen weiteren Magnetrührer an, welcher sich direkt darüber in dem Reagenzglas befand. Die Geschwindigkeit des Magnetrührers war hierbei auf 250 Umdrehungen pro Minute eingestellt, so dass sich kein Strudel bildete.

Die Messzelle war wiederum mit einem Temperierbad (Mat.37) verbunden, so dass die zu messenden Proben ständig auf 25 °C temperiert wurden. Das Temperierbad stellte selbst ein Wasserbad dar, in welchem in einem Reagenzglasständer (Mat.38), die Messlösungen mindestens eine halbe Stunde vor Messung aufbewahrt wurden. Somit war zu Messbeginn sichergestellt, dass die Lösungen auf 25 °C vortemperiert waren.

3.3.3 Messvorgang

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

Zur Eichung wurde eine 100 ppm Standardlösung (Mat.39) mit Aqua dest. auf eine Konzentration von 1 ppm verdünnt, da in diesem Bereich die später zu erwartenden Messwerte lagen.

Um die Elektrode gegen Querempfindlichkeiten resistent zu machen, wurde sie auch auf einen Nullwert geeicht. Diese 0 ppm Eichprobe wurde analog zu den messenden Proben mit 0,5 ml KOH, 0,5 ml Salpetersäure und 3 ml TISAB 2 hergestellt.

Vor jeder Messung wurde die Elektrode mit destilliertem Wasser gründlich abgespült und mit einem Papiertuch (Mat.40) getrocknet, um Verschleierungseffekte zu vermeiden. Sie wurde dann in die Lösung eingetaucht, wobei darauf zu achten war, dass sich keine

Luftblasen an der Elektrodenunterseite bildeten. Mit dem Ablesen des angezeigten Konzentrationswertes wurde fünf Minuten gewartet, bis sich ein stabiler Wert einstellte.

Die mit der Elektrode gemessenen Konzentrationswerte in ppm wurden dann in die absoluten Fluoridmengen umgerechnet. Beim KOH-löslichen Fluorid geschah diese Umrechnung über die Fläche, so dass die Werte des Ergebnisteils in $\mu\text{g pro cm}^2$ angegeben werden.

3.4 Bestimmung des fest gebundenen Fluoridgehaltes

3.4.1 Vorbereitung der Proben für die Fluoridanalytik

Zunächst wurde die Wachsummantelung der Proben entfernt, es erfolgte dann ein Aufkleben der Proben auf Objektträger aus Glas. Hierbei wurde jeweils eine Probe mit ihrer Unterseite auf dem Objektträger fixiert.

Schließlich wurde von jeder Probe mit der Mikrodrilltechnik eine $100\ \mu\text{m}$ Schicht abgeschliffen. Das dabei abgeschliffene Pulver wurde zur späteren Analyse aufbewahrt. Der Schleifvorgang erfolgte mit einem modifizierten Mikrodrillgerät, in dessen Halterung ein Hartmetall-Spiralbohrer (Mat.41) mit einem Durchmesser von $3\ \text{mm}$ eingespannt war. Der Objektträger mit der Probe konnte nun unter diesen Bohrer in einem beweglichen Schlitten eingespannt werden. So war ein ideales Positionieren der Probe zum Bohrer sowohl in vertikaler als auch in horizontaler Richtung möglich. Hierbei registrierte eine Mikrometerschraube (Mat.42) die vertikale Richtung, so dass ein genaustes Abschleifen in $100\ \mu\text{m}$ Tiefe sichergestellt war. Der Nullpunkt war hierbei dort festgelegt, wo der Bohrer die Probe gerade berührte.

Der abgeschliffene Schmelz- und Dentinstaub wurde schließlich auf einer Analysenwaage (Mat.43) eingewogen und in Kunststoffreagenzgläser eingebracht.

Zur Auflösung des Staubes wurden $0,5\ \text{ml}$ einer 1-molaren Perchlorsäure (Mat.44) zugesetzt. Danach verweilte diese Lösung für zwei Stunden bei $37\ ^\circ\text{C}$ unter permanenter Bewegung im Schüttelwasserbad. Daran anschließend wurden $3,5\ \text{ml}$ TISAB 2 zugegeben. Insgesamt betrug der Inhalt eines jeden Reagenzglases nun $4\ \text{ml}$.

Auch hier wurden die Messlösungen bis zum Messbeginn mit der Fluoridelektrode im Kühlschrank aufbewahrt.

3.4.2 Messvorgang

Es wurde, wie bei der Bestimmung des KOH-löslichen Fluoridgehaltes, zunächst die Elektrodensteilheit bestimmt.

Die Eichung der Elektrode wurde mit einer 0,1 ppm und einer 0 ppm Eichlösung durchgeführt. Die 0,1 ppm Eichlösung wurde wiederum durch Verdünnung aus der 100 ppm Standardlösung hergestellt, die 0 ppm Eichlösung setzte sich aus 0,5 ml destilliertem Wasser und 3,5 ml TISAB 2 zusammen.

Der eigentliche Messvorgang gestaltete sich wie der zur Bestimmung des KOH-löslichen Fluorids.

Abschließend wurden die ermittelten Konzentrationen in ppm F^- auf das Probengewicht bezogen, so dass hier die Werte im Ergebnisstil in $\mu\text{g pro g}$ angegeben werden.

3.5 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programms SPSS für Windows. Mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstestes wurde die Normalverteilung der Stichproben festgestellt. Der Vergleich innerhalb der Gruppen erfolgte mit einer einfachen Varianzanalyse für unabhängige einfache Stichproben.

Bei der Darstellung der Ergebnisse gelten folgende Abkürzungen:

\bar{x}	=	arithmetischer Mittelwert
S	=	Standardabweichung
MIN.	=	Minimalwert
MAX.	=	Maximalwert
*	=	signifikant ($p \leq 0,05$)
**	=	hoch signifikant ($p \leq 0,01$)
***	=	höchst signifikant ($p \leq 0,001$)
n.s.	=	nicht signifikant ($p > 0,05$)

Zusätzlich wurden die Ergebnisse in Form von Boxplots (Abb.3.6.) zusammengefasst. Während die Kästen (Boxes) denjenigen Bereich angeben, in den 50% der Werte zwischen

das 25. und 75. Perzentil fallen, erstrecken sich die Linien zum jeweils höchsten und niedrigsten Wert. Werte, die um mehr als einhalb Boxlängen außerhalb liegen (Ausreißer) sind mit einem Kreis, Werte, die um mehr als drei Kastenlängen außerhalb liegen (Extremwerte) sind mit einem Stern gekennzeichnet. Innerhalb der Kästen ist der jeweilige Medianwert in Form eines Querbalken markiert.

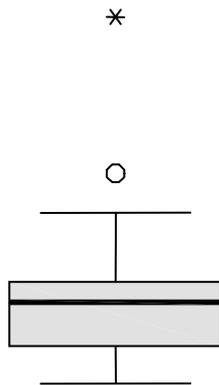


Abb.3.6.: Boxplot mit Median, 1. und 3.Quartil,
Minima, Maxima sowie Ausreißer und Extremwert

3.6 Materialliste

- Mat. 1: Thymol Pulver, Fluka Chemie AG Buchs, (CH)
- Mat. 2: Einmalskalpell Nr. 11, Aesculap, (D)
- Mat. 3: Fixationskleber Technovit 7230 VLC, Kulzer Wehrheim, (D)
- Mat. 4: Polymerisationslichtgerät Translux CL, Kulzer Wehrheim, (D)
- Mat. 5: Plexiglasobjektträger 5 x 10 cm , Exakt- Apparatebau
O. Herrmann Norderstedt, (D)
- Mat. 6: Exakt- Trennschleifgerät, Exakt- Apparatebau
O. Herrmann Norderstedt, (D)
- Mat. 7: Vakuumpumpe Typ N022 AN.18, Exakt- Apparatebau
O. Herrmann Norderstedt, (D)
- Mat. 8: Exakt- Mikroschleifsystem, Exakt- Apparatebau
O. Herrmann Norderstedt, (D)

- Mat. 9: Schmirgelpapier fe 50, WB Flex 18A, Körnung P- 800,
Körnung, Hermes, (D)
- Mat. 10: Hohlbohrer Außendurchmesser 5mm, Rio Grande
Albuquerque, (USA)
- Mat. 11: Handstück Typ 950 KaVO, Biberach, (D)
- Mat. 12: OBI- OTTO, Bohrständler für Bohrmaschinen und
Fräsmotoren mit 43- mm Spannhals Durchmesser
Maschinenaufnahme 360 ° schwenkbar Hub 90 mm,
Bestell- Nr. 209091 D, (D)
- Mat. 13: Stereolichtmikroskop, Leitz Wetzlar, (D)
- Mat. 14: Gusswachs, Orbis Dental (Pluradent) Offenbach, (D)
- Mat. 15: Wattestäbchen kleiner Kopf, Beese Verbandstoffe
Barsbüttel, (D)
- Mat. 16: 96 % Ethylalkohol, Merck Darmstadt, (D)
- Mat. 17: Plexiglasbehälter, Greiner Labortechnik Solingen, (D)
- Mat. 18: Watterolle, Roeko Langenau, (D)
- Mat. 19: Objektträger ca. 76 x 26 mm, Menzel Gläser
- Mat. 20: Sandstrahlgerät Typ 5420, KaVo Elektrotechnisches Werk
Leutkirch, (D)
- Mat. 21: Ultraschallbad Bandelin TK 52, Firma Sonorex Werk Berlin, (D)
- Mat. 22: Gluma Etch 35 Gel, Heraeus Kulzer Dormagen, (D)
- Mat. 23: Färbegestelle, Shoot Mainz, (D)
- Mat. 24: Färbetröge, Typ Schiefferdecker (klein), Shoot Mainz, (D)
- Mat. 25: Schüttelplatte, GFL Burgwedel, (D)
- Mat. 26: künstlicher Speichel, Zusammensetzung: 0,4 g H_3PO_4 , 1,5 g KCl, 1,0 g
 $NaHCO_3$, 0,22 g $CaCl_2$ ad 1000 ml Aqua dest., ph 6,5 –6,7
- Mat. 27: Gaskasten zur Aufnahme des Färbegestells, Shoot Mainz, (D)
- Mat. 28: Kalilauge 1 mol/l, Merck Darmstadt, (D)
- Mat. 29: Kunststoffreagenzglas, Firma Sarstedt Nürnbrecht, (D)
- Mat. 30: Salpetersäure 1mol/l, Merck Darmstadt, (D)
- Mat. 31: Ionenpuffer TISAB 2, Orion Research Beverly, (USA)
- Mat. 32: Fluorid- Elektrode Modell Orion 901, Colora Analysentechnik
Berlin, (D)
- Mat. 33: Ionenmeter Modell Orion 901, Colora Analysentechnik Berlin, (D)

- Mat. 34: Thermostatische Messzelle, Gebrüder Rettberg Göttingen, (D)
- Mat. 35: Magnetrührgerät IKAMG RET, Janke und Kunkel Staufen, (D)
- Mat. 36: Magnetrührer, IDL Windhaus Labortechnik Magdeburg, (D)
- Mat. 37: Temperierbad Typ NB S 15/16, Messegerätwerk Dr. Wobser
Lauda, (D)
- Mat. 38: Reagenzglasstände, Roth Karlsruhe, (D)
- Mat. 39: 100 ppm Standardfluoridlösung, Orion Research, (USA)
- Mat. 40: Papierserviette, Tork SCA Hygiene Products Wien, (A)
- Mat. 41: Bohrer, Komet Gebr. Brasseler GmbH und Co., Lemgo, (D)
- Mat. 42: Mikrometerschraube, Mitutoyo No. 2046-08, Made in Japan
- Mat. 43: Analysenwaage, Mettler, E. Mettler Zürich Feinwaage
- Mat. 44: Perchlorsäure 1mol/l, Merck Darmstadt, (D)
- Mat. 45: Thomas Color Instrument 48527, Orbis Dental (Pluradent)
Offenbach, (D)
- Mat. 46: Spirituslampe, Becht GmbH Offenburg, (D)
- Mat. 47: Brennspritus, Otto Fischar GmbH und Co KG Saarbrücken, (D)
- Mat. 48: Eurochron Stoppuhr, Junghaus Uhren GmbH Schramberg, (D)
- Mat. 49: Vollpipetten 50 ml, 10 ml, 5 ml, 1 ml, Hirschmann Eberstadt, (D)
- Mat. 50: Messzylinder 100 ml, Hirschmann Eberstadt, (D)

4. Ergebnisse

4.1. Konzentrationen KOH-löslichen Fluorids auf Schmelz und Dentin nach Behandlung mit Original oder inaktiverter Meridol Mundspüllösung

Tabelle 4.1.: Vergleich der Konzentrationen KOH- löslichen Fluorids ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) auf Schmelz nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden.

\bar{x} = arithmetischer Mittelwert, S = Standardabweichung, Max. = Maximalwert

Min. = Minimalwert

KOH- lösliches Fluorid in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ auf Schmelz (n = 12)			
Entnahmezeitpunkt	$\bar{x} \pm S$	Max.	Min.
0h Original Meridol	138,5 \pm 29,4	188,2	105,8
6h Original Meridol	54,0 \pm 6,6	63,0	40,0
24h Original Meridol	32,7 \pm 5,9	43,1	22,8
0h inakt. Meridol	48,8 \pm 7,3	58,5	35,6
6h inakt. Meridol	24,3 \pm 2,3	30,0	22,3
24h inakt. Meridol	27,0 \pm 9,3	44,2	15,0
Aqua dest. Kontrollen	2,1 \pm 0,6	3,5	1,3

Tabelle 4.2.: Vergleich der Konzentrationen KOH- löslichen Fluorids ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) auf Dentin nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden

\bar{x} = arithmetischer Mittelwert, S = Standardabweichung, Max. = Maximalwert

Min. = Minimalwert

KOH- lösliches Fluorid in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ auf Dentin (n = 12)			
Entnahmezeitpunkt	$\bar{x} \pm S$	Max.	Min.
0h Original Meridol	89,6 \pm 21,4	120,0	57,5
6h Original Meridol	43,6 \pm 6,8	54,0	28,9
24h Original Meridol	18,4 \pm 4,9	28,9	11,9
0h inakt. Meridol	23,0 \pm 7,7	42,1	15,9
6h inakt. Meridol	17,5 \pm 3,8	24,4	13,2
24h inakt. Meridol	10,2 \pm 4,1	19,7	5,0
Aqua dest. Kontrollen	1,8 \pm 0,9	3,4	0,8

Sämtliche fluoridierten Proben zeigten gegenüber den Kontrollproben (Schmelz $2,1 \pm 0,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, Dentin $1,8 \pm 0,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) eine hoch signifikante ($p \leq 0,01$) bis höchst signifikante ($p \leq 0,001$) Steigerung der Konzentrationen an KOH-löslichem Fluorid.

Hierbei fanden sich die höchsten durchschnittlichen Konzentrationen sowohl beim Schmelz (nach 0 Stunden $138,5 \pm 29,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, nach 6 Stunden $54,0 \pm 6,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ und nach 24 Stunden $32,7 \pm 5,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) als auch beim Dentin (nach 0 Stunden $89,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, nach 6 Stunden $43,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ und nach 24 Stunden $18,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) nach Behandlung mit der Original Meridol Mundspüllösung.

Im Vergleich zu den Werten nach Behandlung mit inaktivierter Meridol Mundspüllösung zeigten sich beim Schmelz (nach 0 Stunden $48,8 \pm 7,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ und nach 6 Stunden $24,3 \pm 2,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), mit Ausnahme der Entnahmezeit von 24 Stunden ($27,0 \pm 9,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), mehr als um die Hälfte niedrigere Werte. Die Unterschiede waren hierbei höchst signifikant für 0 und 6 Stunden, für 24 Stunden lag kein signifikanter ($p > 0,05$) Unterschied vor.

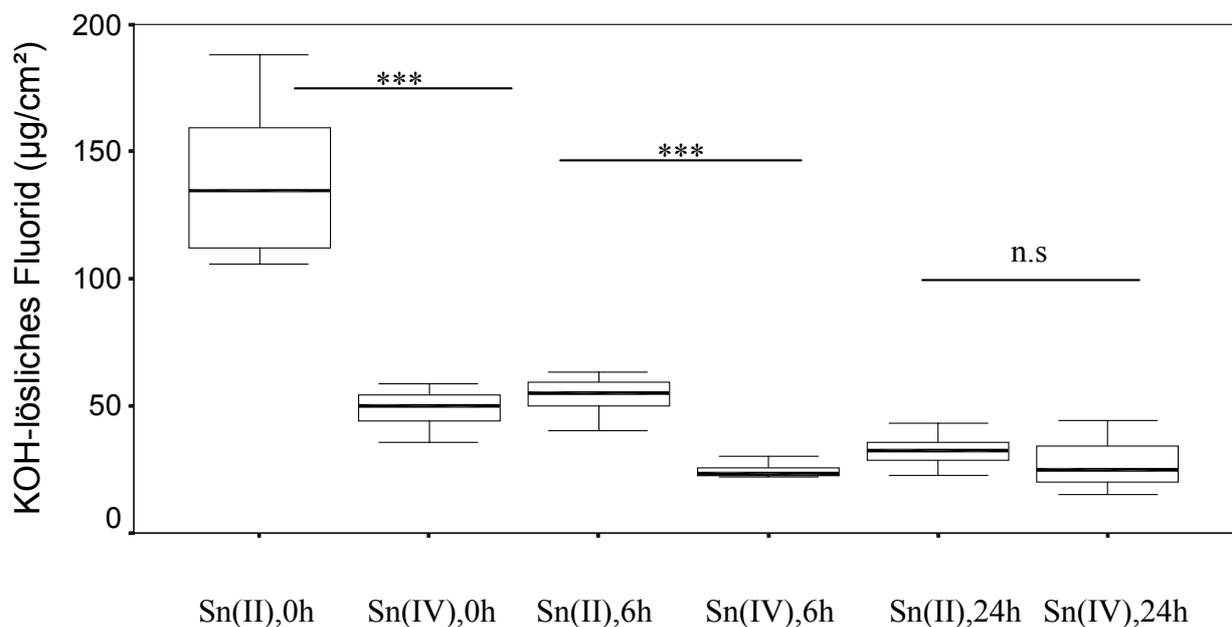


Abb. 4.1.: Vergleich der Konzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) KOH- löslichen Fluorids auf Schmelz nach Applikation der Original (II) bzw. inaktivierten (IV) Meridol Mundspüllösung ($n = 12$) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden

Auch beim Dentin stellten sich nach Behandlung mit der inaktivierten Meridol Mundspüllösung wesentlich niedrigere Werte (nach 0 Stunden $23,0 \pm 7,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, nach 6 Stunden $17,5 \pm 3,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ und nach 24 Stunden $10,2 \pm 4,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) dar, als nach Applikation der Original Meridol Mundspüllösung. Die Unterschiede waren hier für alle drei Entnahmezeiten höchst signifikant.

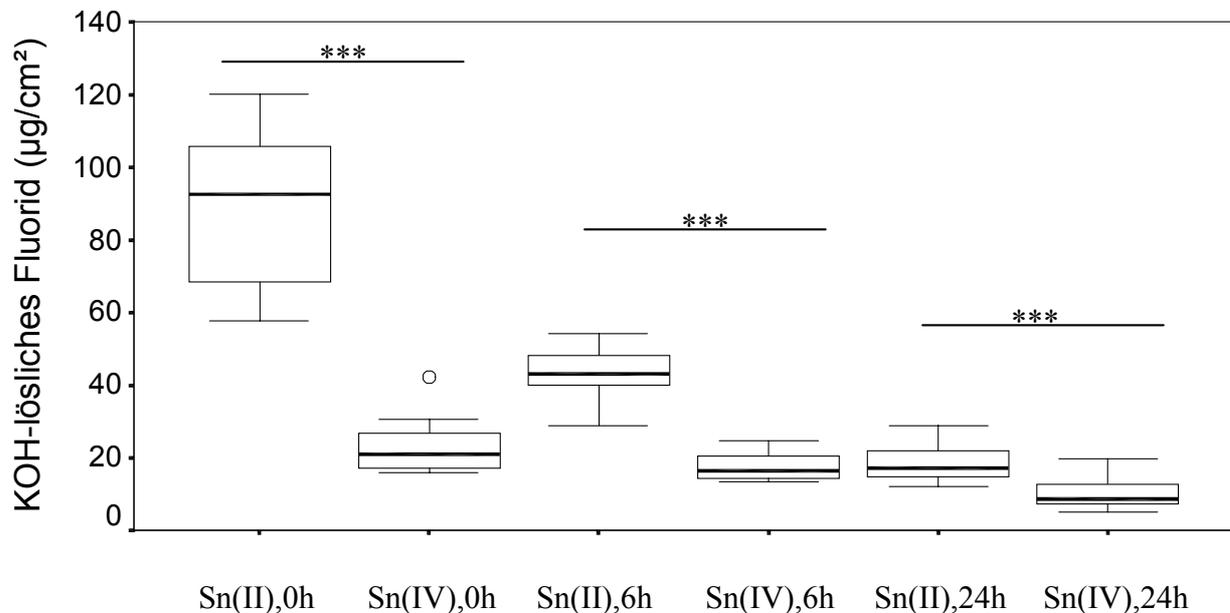


Abb. 4.2.: Vergleich der Konzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) KOH- löslichen Fluorids auf Dentin nach Applikation der Original (II) bzw. inaktivierten (IV) Meridol Mundspüllösung ($n = 12$) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden

Vergleicht man nun den Verlauf der Entnahmezeiten nach Behandlung mit Original bzw. inaktiviertem Meridol, so ergibt sich folgende Darstellung:

Beim mit Original Meridol behandelten Schmelz lag die durchschnittliche Konzentration an KOH-löslichem Fluorid nach 0 Stunden ($138,5 \pm 29,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) höchst signifikant über der von 6 Stunden ($54,0 \pm 6,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) bzw. der von 24 Stunden ($32,7 \pm 5,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$).

Auch beim mit inaktiviertem Meridol behandelten Schmelz entstand ein ähnliches Bild. Hier lag die durchschnittliche Konzentration nach 0 Stunden ebenfalls ($48,8 \pm 7,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) über der von 6 Stunden ($24,3 \pm 2,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) und 24 Stunden ($27,0 \pm 9,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Allerdings bestand hier kein signifikanter Unterschied zwischen der Entnahmezeit von 6 und 24 Stunden.

Beim mit Original Meridol behandelten Dentin konnte bei der Entnahmezeit von 0 Stunden ($89,6 \pm 21,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) auch eine deutliche Anlagerung von Fluorid gemessen werden, die gegenüber den Entnahmezeiten von 6 ($43,6 \pm 6,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) und 24 Stunden ($18,4 \pm 4,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) höchst signifikant war.

Beim mit inaktiviertem Meridol behandelten Dentin bestand ein nur signifikanter ($p \leq 0,05$) Unterschied zwischen der Entnahmezeit von 0 Stunden ($23,0 \pm 7,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) und 6 Stunden ($17,5 \pm 3,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), ein höchst signifikanter Unterschied lag auch hier wieder zwischen der Entnahmezeit von 0 und 24 Stunden ($10,2 \pm 4,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) vor.

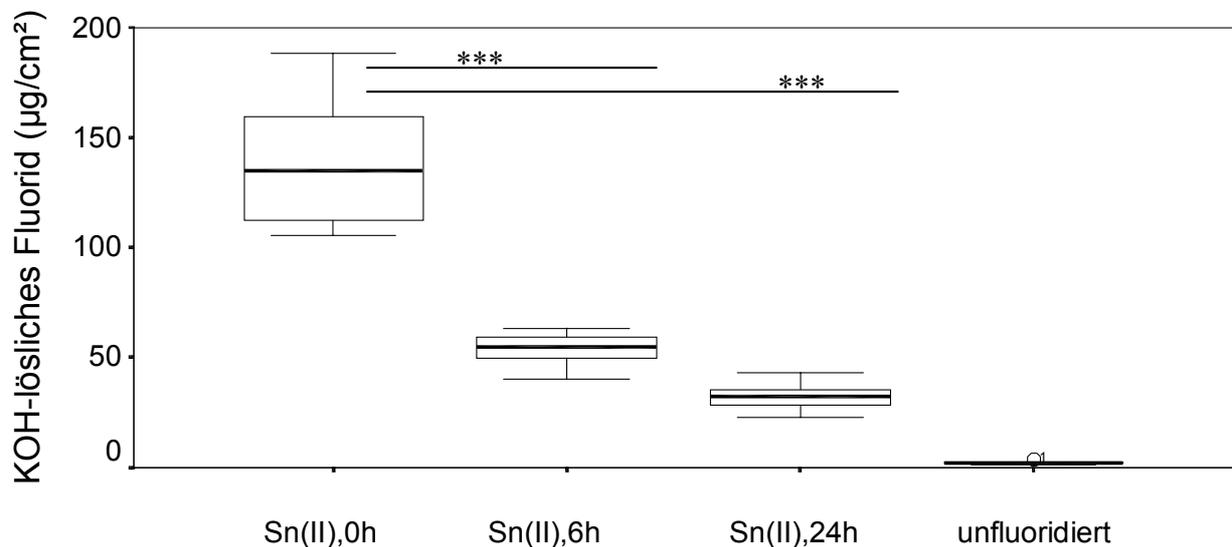


Abb. 4.3.: Vergleich der Konzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) KOH-löslichen Fluorids auf Schmelz nach Applikation der Original (II) Meridol Mundspüllösung ($n = 12$) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden sowie der Vergleich zu den unfluoridierten Kontrollproben

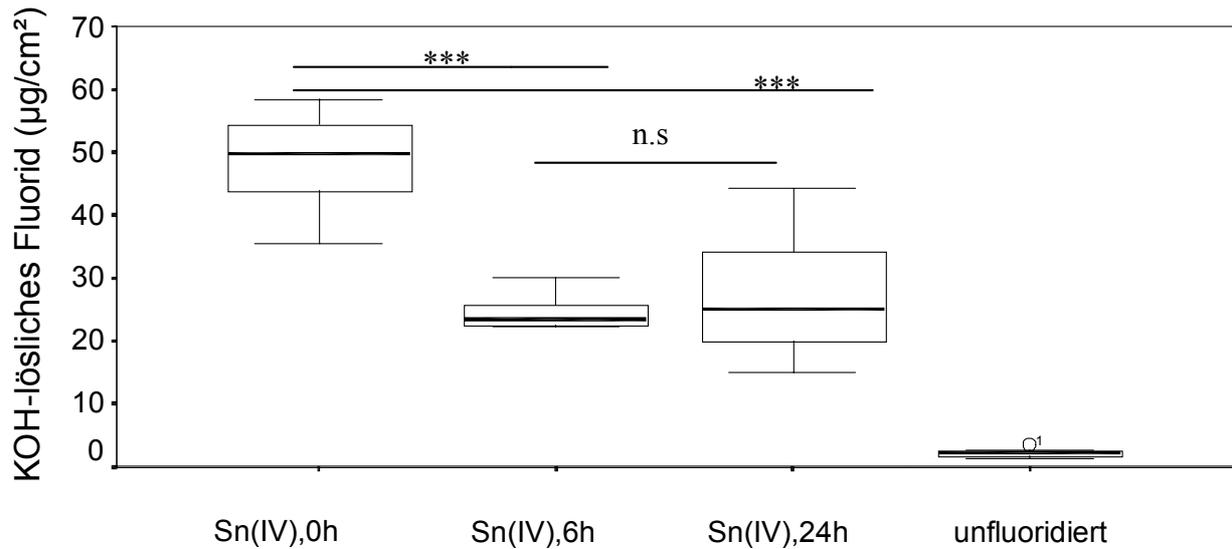


Abb.4.4.: Vergleich der Konzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) KOH- löslichen Fluorids auf Schmelz nach Applikation der inaktivierten (IV) Meridol Mundspüllösung ($n = 12$) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden sowie der Vergleich zu den unfluoridierten Kontrollproben

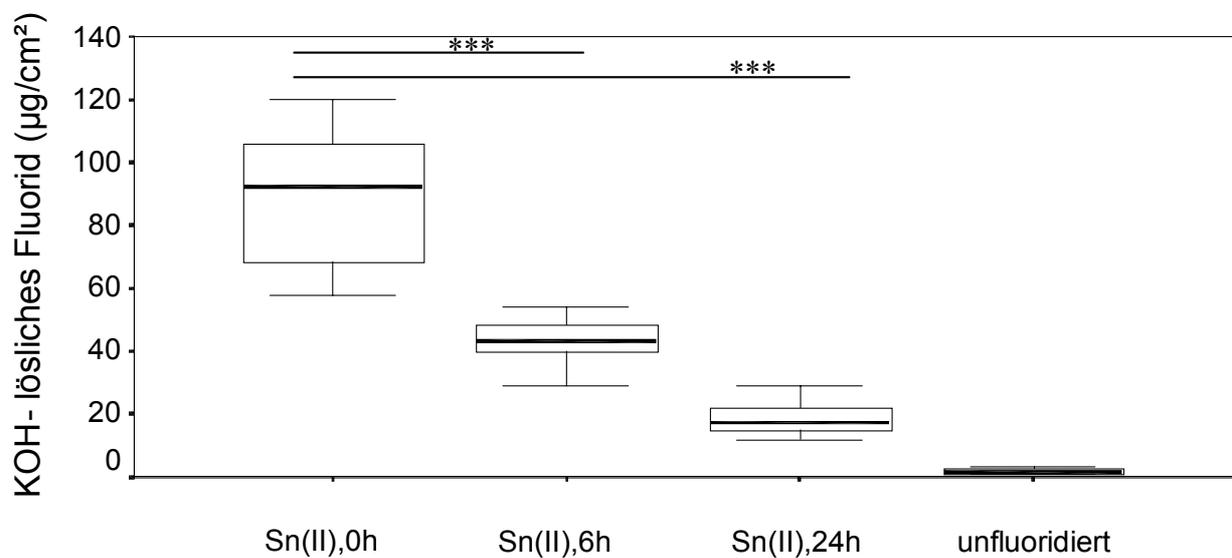


Abb.4.5.: Vergleich der Konzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) KOH- löslichen Fluorids auf Dentin nach Applikation der Original (II) Meridol Mundspüllösung ($n = 12$) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden sowie der Vergleich zu den unfluoridierten Kontrollproben

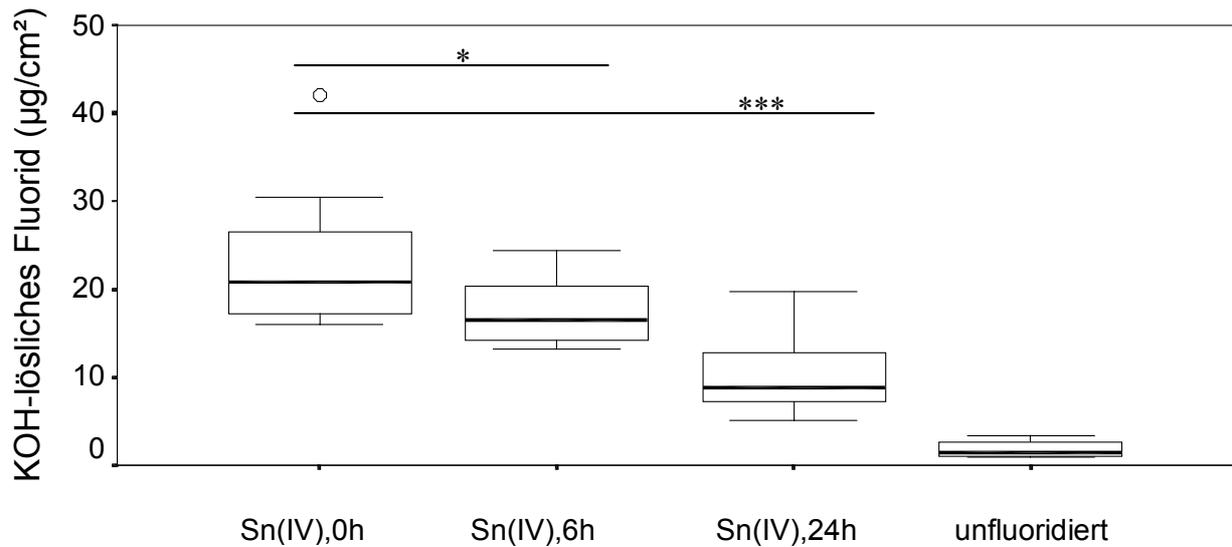


Abb.4.6.: Vergleich der Konzentrationen ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) KOH- löslichen Fluorids auf Dentin nach Applikation der inaktivierten (IV) Meridol Mundspüllösung ($n = 12$) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden sowie der Vergleich zu den unfluoridierten Kontrollproben

4.2.: Konzentrationen fest gebundenen Fluorids in Schmelz und Dentin nach Behandlung mit Original oder inaktivierter Meridol Mundspüllösung

Die Konzentrationen fest gebundenen Fluorids sämtlich fluoridierter Proben gegenüber den Kontrollproben (Schmelz $129,8 \pm 67,2$ ppm, Dentin $243,4 \pm 173,5$ ppm) stellten sich nicht so einheitlich dar, wie bei der Darstellung des KOH-löslichen Fluorids.

Die mit inaktiviertem Meridol behandelten Proben zeigten beim Schmelz ($266,3 \pm 64,4$ ppm) als auch beim Dentin ($584,3 \pm 209,0$ ppm) nach der Entnahmezeit von 0 Stunden eine signifikante Steigerung an fest gebundenen Fluorid gegenüber den Kontrollproben. Nach 6 Stunden (Schmelz $395,9 \pm 148,5$ ppm, Dentin $837,4 \pm 255,0$ ppm) und 24 Stunden (Schmelz $377,1 \pm 129,8$ ppm, Dentin $801,5 \pm 487,8$ ppm) waren höchst signifikante Steigerungen zu verzeichnen.

Tabelle 4.3.: Vergleich der Konzentrationen fest gebundenen Fluorids (ppm) im Schmelz nach Auswaschzeiten von 0,6 und 24 Stunden.

\bar{x} = arithmetischer Mittelwert, S = Standardabweichung, Max. = Maximalwert
Min. = Minimalwert

Fest gebundenes Fluorid in ppm im Schmelz (n =12)			
Entnahmezeitpunkt	$\bar{x} \pm S$	Max.	Min.
0h Original Meridol	341,0 ± 174,7	607,1	80,8
6h Original Meridol	391,3 ± 135,4	637,3	173,6
24h Original Meridol	756,0 ± 514,9	2058,8	254,5
0h inakt. Meridol	266,3 ± 64,4	362,5	142,4
6h inakt. Meridol	395,9 ± 148,5	592,6	136,7
24h inakt. Meridol	377,1 ± 129,8	587,9	138,2
Aqua dest. Kontrollen	129,8 ± 67,2	233,0	43,2

Tabelle 4.4.: Vergleich der Konzentrationen fest gebundenen Fluorids (ppm) im Dentin nach Auswaschzeiten von 0,6 und 24 Stunden.

\bar{x} = arithmetischer Mittelwert, S = Standardabweichung, Max. = Maximalwert
Min. = Minimalwert

Fest gebundenes Fluorid in ppm im Dentin (n = 12)			
Entnahmezeitpunkt	$\bar{x} \pm S$	Max.	Min.
0h Original Meridol	985,3 ± 379,9	1959,2	622,5
6h Original Meridol	1139,8 ± 300,2	1650,8	470,7
24h Original Meridol	946,6 ± 393,8	1826,7	216,2
0h inakt. Meridol	584,3 ± 209,0	927,9	153,8
6h inakt. Meridol	837,4 ± 255,0	1307,7	458,4
24h inakt. Meridol	801,5 ± 487,8	1671,2	268,3
Aqua dest. Kontrollen	243,4 ± 173,5	699,2	96,9

Nach Behandlung mit Original Meridol Mundspüllösung zeigten sich beim Dentin nach allen drei Entnahmezeiten (nach 0 Stunden 985,3 ± 379,9 ppm, nach 6 Stunden 1139,8 ± 300,2 ppm, nach 24 Stunden 946,6 ± 393,8 ppm) Steigerungen an fest gebundenem Fluorid, die gegenüber den Kontrollproben höchst signifikant waren.

Beim mit Original Meridol behandelten Schmelz war nur nach der Entnahmezeit von 24 Stunden (756,0 ± 514,9 ppm) eine höchst signifikante Steigerung festzustellen. Infolge der starken Streuung in dieser Gruppe waren die Steigerungen an fest gebundenem Fluorid

gegenüber den Kontrollproben nach 0 Stunden ($341,0 \pm 174,7$ ppm) und 6 Stunden ($391,3 \pm 135,4$ ppm) nicht signifikant.

Beim Vergleich der Aufnahme an fest gebundenem Fluorid nach Behandlung mit Original Meridol oder inaktiviertem Meridol entstand folgendes Bild:

Beim Schmelz waren nach 0 Stunden ($341,0 \pm 174,7$ ppm nach Original- und $266,3 \pm 64,4$ ppm nach inaktiviertem Meridol) und 6 Stunden ($391,3 \pm 135,4$ ppm nach Original- und $395,9 \pm 148,5$ ppm nach inaktiviertem Meridol) keine wesentlichen Unterschiede in der Aufnahme an fest gebundenem Fluorid festzustellen. Bei der Entnahmezeit von 24 Stunden war die Aufnahme an Fluorid nach Behandlung mit Original Meridol ($756,0 \pm 514,9$ ppm) mehr als doppelt so hoch, wie nach Behandlung mit inaktiviertem Meridol ($377,1 \pm 129,8$ ppm). Der Unterschied hierbei war signifikant.

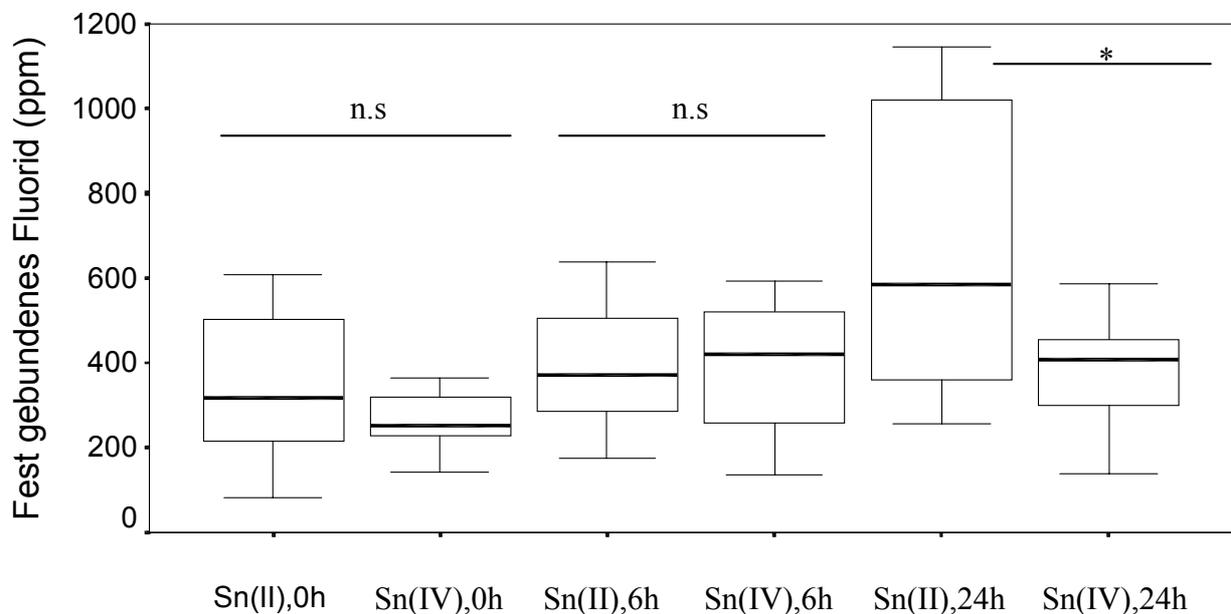


Abb.4.7.: Vergleich der Konzentrationen (ppm) fest gebundenen Fluorids im Schmelz nach Applikation der Original (II) bzw. inaktivierten (IV) Meridol Mundspüllösung (n = 12) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden

Beim Dentin waren nach Behandlung des Original Meridols ($985,3 \pm 379,9$ ppm) nach der Entnahmezeit von 0 Stunden höhere Aufnahmen an fest gebundenem Fluorid zu messen, als nach Behandlung mit inaktiviertem Meridol ($584,3 \pm 209,0$ ppm). Der Unterschied hierbei war hoch signifikant.

Auch bei der Entnahmezeit von 6 Stunden ($1139,8 \pm 300,2$ ppm nach Original- und $837,4 \pm 255,0$ ppm nach inaktiviertem Meridol) waren signifikante höhere Aufnahmen an fest gebundenem Fluorid nach Applikation des Original Meridols zu verzeichnen.

Nach der Entnahme von 24 Stunden ($946,6 \pm 393,8$ ppm nach Original- und $801,5 \pm 487,8$ ppm) war kein signifikanter Unterschied zwischen den mit Original Meridol und inaktivierten Meridol behandelten Proben festzustellen.

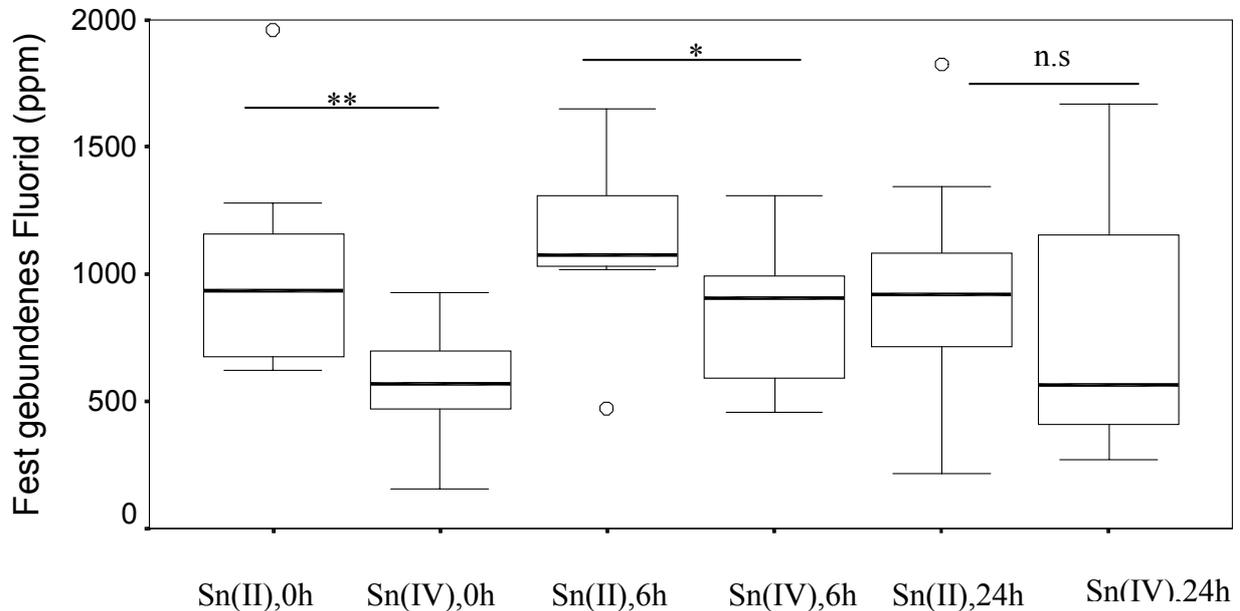


Abb.4.8.: Vergleich der Konzentrationen (ppm) fest gebundenen Fluorids im Dentin nach Applikation der Original (II) bzw. inaktivierten (IV) Meridol Mundspüllösung ($n = 12$) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden

Beim Vergleich des Verlaufes der Entnahmezeiten ergab sich ein uneinheitliches Bild.

Betrachtet man zunächst die Ergebnisse beim mit Original Meridol behandelten Schmelz, so lag die durchschnittliche Konzentration an fest gebundenem Fluorid nach 24 Stunden ($756,0 \pm 514,9$ ppm) hoch signifikant über der von 0 Stunden ($341,0 \pm 147,7$ ppm) und signifikant über der von 6 Stunden ($391,3 \pm 135,4$ ppm).

Beim mit inaktiviertem Meridol behandelten Schmelz lag der Gehalt an festem Fluorid nach 6 Stunden ($395,9 \pm 148,5$ ppm) signifikant über dem Gehalt nach 0 Stunden ($266,3 \pm 64,4$ ppm). Allerdings ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich der Entnahme nach 24 Stunden ($377,1 \pm 129,8$ ppm) zu der Entnahme nach 0 Stunden und 6 Stunden.

Beim Dentin lagen sowohl nach Applikation mit Original Meridol (nach 0 Stunden $985,3 \pm 379,9$ ppm, nach 6 Stunden $1139,8 \pm 300,2$ ppm, nach 24 Stunden $946,6 \pm 393,8$ ppm) als auch nach Applikation mit inaktiviertem Meridol (nach 0 Stunden $584,3 \pm 209,0$ ppm, nach 6 Stunden $837,4 \pm 255,0$ ppm, nach 24 Stunden $801,5 \pm 487,8$ ppm) zu allen drei Entnahmezeiten vergleichbare Werte vor. Die Unterschiede waren hierbei nicht signifikant.

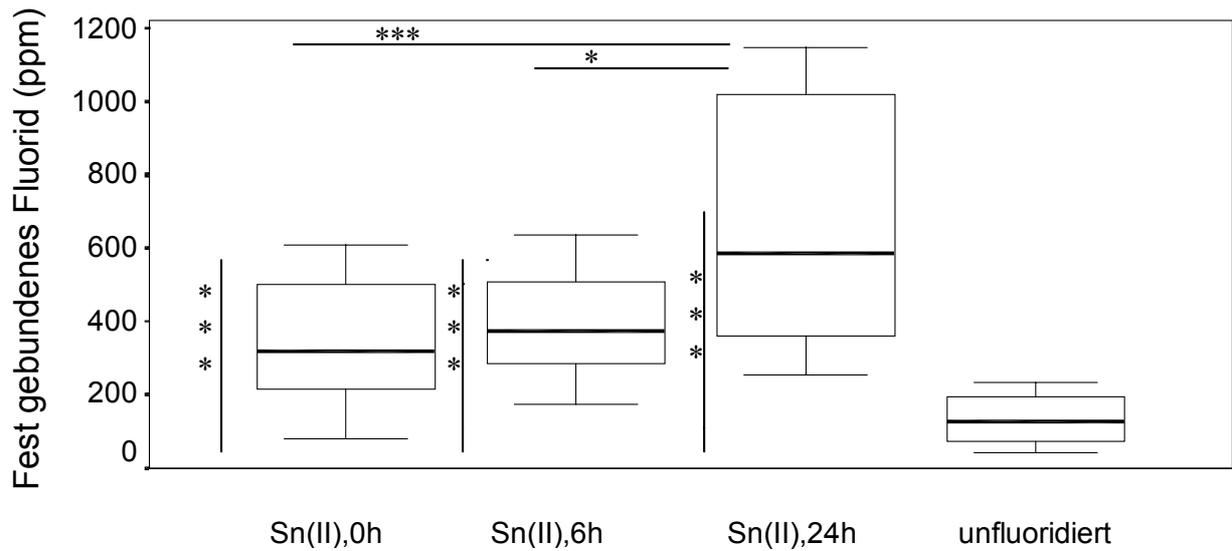


Abb. 4.9.: Vergleich der Konzentrationen (ppm) fest gebundenen Fluorids im Schmelz nach Applikation der Original (II) Meridol Mundspüllösung (n = 12) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden sowie der Vergleich zu den unfluoridierten Kontrollproben

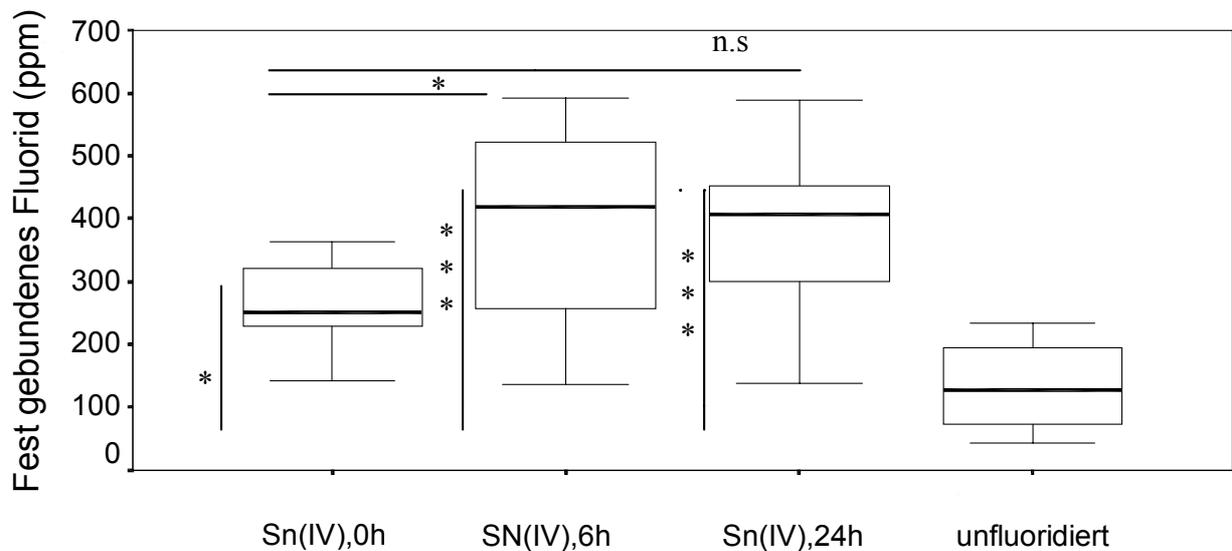


Abb. 4.10.: Vergleich der Konzentrationen (ppm) fest gebundenen Fluorids im Schmelz nach Applikation der inaktivierten (IV) Meridol Mundspüllösung (n = 12) nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden sowie der Vergleich zu den unfluoridierten Kontrollproben

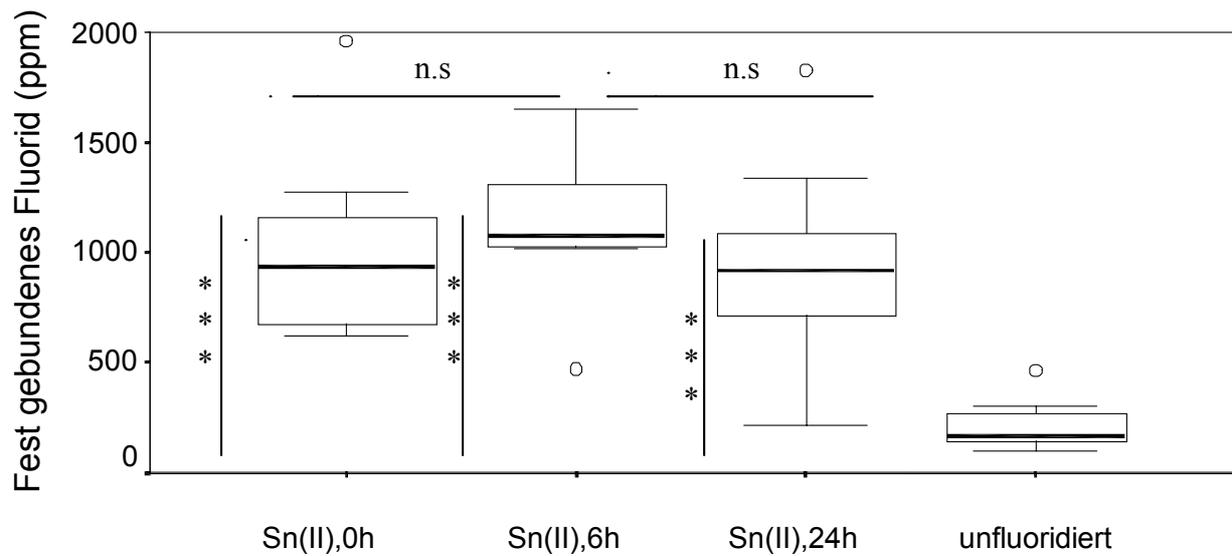


Abb.4.11.: Vergleich der Konzentrationen (ppm) fest gebundenen Fluorids im Dentin nach Applikation der Original (II) Meridol Mundspüllösung nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden sowie der Vergleich zu den unfluoridierten Kontrollproben

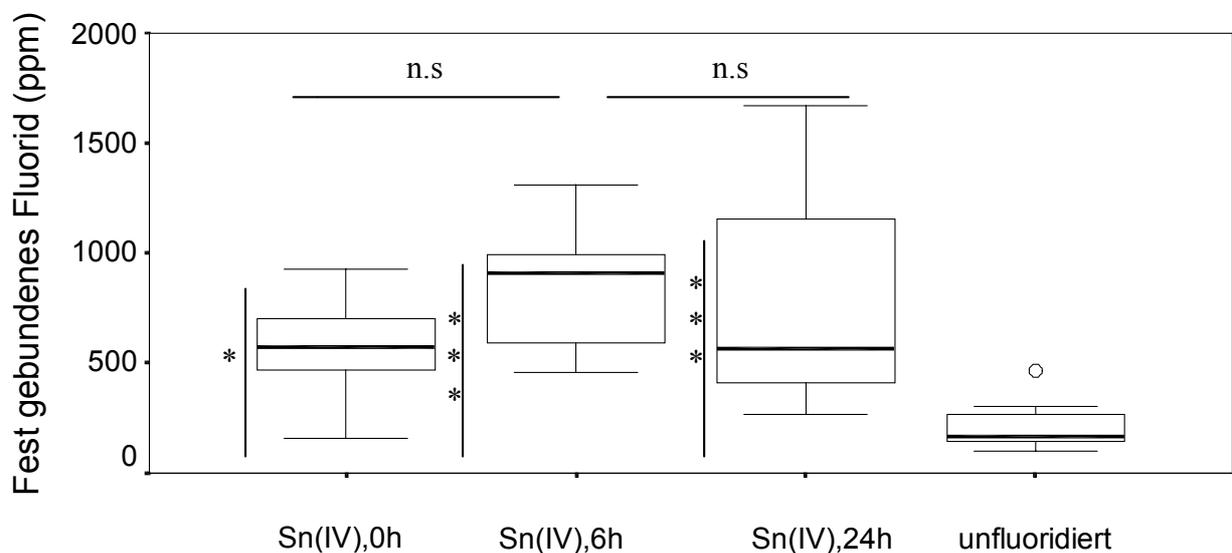


Abb.4.12.: Vergleich der Konzentrationen (ppm) fest gebundenen Fluorids im Dentin nach Applikation der inaktivierten (IV) Meridol Mundspüllösung nach Auswaschzeiten von 0, 6 und 24 Stunden sowie der Vergleich zu den unfluoridierten Kontrollproben

5. Diskussion

5.1. Methode

Es wurde untersucht, ob die Fluoridaufnahme und Retention in Schmelz und Dentin nach Behandlung mit einer zweiwertigen oder vierwertigen Zinnfluoridlösung unterschiedlich verläuft. Der Versuchsaufbau wurde so gewählt, dass eine differenzierte Messung von löslichem und fest gebundenem Fluorid zu erreichen war, da heute vornehmlich dem löslichen Fluorid eine protektive Wirkung zugesprochen wird. Die zu diesen Zwecken angewandte Methodik wurde zuerst im Bereich von differenzierten Fluoridbestimmungen bei Schmelzproben verwendet (Caslavská et al., 1975), später aber auch zur Analyse von Dentinproben herangezogen (Hellwig, 1992a, b; Klimek et al., 1993). Zwar gibt es auch Untersuchungen zur Fluoridanreicherung im Schmelz, bei denen mit HClO_4 Schichten abgeätzt wurden (Mellberg et al., 1986; Clark et al., 1986), die abgetragenen Schichten variieren jedoch stark und eine Differenzierung in KOH-lösliches und fest gebundenes Fluorid war so nicht möglich.

Zur Probengewinnung wurden retiniert und verlagerte Weisheitszähne verwendet, um eine Exposition zum Mundmilieu und eine damit verbundene schon früher erfolgte lokale Fluoridwirkung auszuschließen. Bei der weiteren Vorbereitung der Proben erfolgte ein Abtrag der äußeren Schichten, bis sich eine ebene Fläche ergab. Dabei wurde bei den Dentinproben das Wurzelzement, das zum einen eine höhere Permeabilität als andere Zahnhartgewebe besitzt und einen höheren Fluoridgehalt als Dentin aufweist, vollständig entfernt. Je nach Krümmung der Wurzeloberfläche oder der Schmelzlamelle mussten unterschiedlich dicke Schichten abgetragen werden. Dadurch gelangte man in Schichten mit unterschiedlichen Ausgangskonzentrationen an fest gebundenem Fluorid. Im Dentin nimmt die Fluoridkonzentration von der Zement-Dentin-Grenze (ZDG) zur Pulpa-Dentin-Grenze (PDG) hin zu (Kato et al., 1990). Im Schmelz dagegen nimmt die Fluoridkonzentration von der Schmelzoberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze (SDG) hin ab. Durch die unterschiedliche Herkunft der Proben waren somit etwas variierende Ausgangskonzentrationen an fest gebundenem Fluorid zu erwarten.

Untersuchungen zur Fluoridaufnahme aus Mundhygieneprodukten im Zahnschmelz werden in der Regel bei Schmelz mit künstlich induzierten initialen Kariesläsionen durchgeführt. Um

diesem internationalen Standard gerecht zu werden, wurden die Schmelzproben entsprechend vorbehandelt, die Dentinproben aber nicht, da hier das therapeutische Ziel auch der nicht kariöse, freiliegende Zahnhals ist. Im Vorfeld zu dieser Studie wurden verschiedene Möglichkeiten der Läsionserzeugung erprobt (Klimek et al., 2002, noch unveröffentlicht) Hierzu wurde einmal eine angesäuerte Carbopollösung verwendet. Die Proben wurden nach Entnahme aus der Carbopollösung mit destilliertem Wasser abgespült. Doch zeigte die EDX-Analyse, dass bei solchermaßen vorbehandelten Proben Reste von Carbopols auf der Schmelzoberfläche verblieben und die Proben somit unbrauchbar waren. Versuchsweise wurde anschließend eine andere Methode zur Erzeugung künstlicher Initialkaries erprobt, bei der eine Demineralisationslösung verwendet wurde, die keine hochviskösen Substanzen enthielt. Hier zeigten die behandelten Schmelzproben eine extrem empfindliche Oberfläche, so dass schon bei einfachen Manipulationen kleine Teile der demineralisierten Oberfläche ausbrachen. Auf die Weiterverfolgung dieser Demineralisationsmethode wurde deshalb verzichtet. Letztlich kam man zu dem Schluss, dass der Zahnschmelz ausschließlich einer oberflächlich gründlichen Reinigung unterzogen werden muss. Um dies zu erreichen, wurden die Schmelzproben vor der Behandlung mit den Mundspüllösungen mit 37% Phosphorsäure angeätzt und anschließend gründlich abgespült.

5.2. KOH-lösliches Fluorid

Da heute vornehmlich dem bei der lokalen Fluoridapplikation gebildeten löslichen Fluorid die kariesprotektive Wirkung zugeschrieben wird (ten Cate, 1997), ist dessen Ablagerung nach Behandlung einer Zinnfluoridlösung auf Schmelz und Dentin von besonderem Interesse. Untersucht wurden insgesamt zwei Applikationsweisen der Aminfluorid-Zinn(II)Fluorid Meridol Mundspüllösung. Einmal die Applikation der Sn(II)-haltigen Original Mundspüllösung und die Applikation der Sn(IV)-haltigen inaktivierten Mundspüllösung. Die Analyse erfolgte direkt nach der Fluoridierung (0 Stunden), nach 6 Stunden und nach 24 Stunden sowie an mit Aqua dest. behandelten Kontrollproben. Hierbei lagen die durchschnittlichen Werte der Kontrollproben für das KOH-lösliche Fluorid bei $2,1 \pm 0,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ für den Schmelz und $1,8 \pm 0,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ für das Dentin. Vergleichswerte liegen hierzu nicht vor, einzig Hellwig (1992a) fand keine messbaren Mengen an KOH-löslichem Fluorid

auf unbehandelten Dentinproben. Allerdings wurden hier die Kontrollproben von Probanden sieben Tage in der Mundhöhle getragen, bevor diese Konzentrationen bestimmt wurden. Da während dieser Zeit jegliche Fluoridzufuhr von außen vermieden wurde, kann man annehmen, dass das KOH-lösliche Fluorid während dieser Zeit verloren ging. An unbehandelten Schmelzproben wiesen Rosin-Greget et al. (2002) in einer In-vitro-Studie nach, dass keine messbaren Ergebnisse an KOH-löslichem Fluorid vorhanden waren. Fraglich ist, warum im vorliegenden Versuch KOH-lösliches Fluorid auf den Kontrollproben nachzuweisen war, zumal CaF_2 -artige Ablagerungen erst nach lokalen Fluoridapplikationen entstehen. Nach Caslavská (1975) erfolgt bei der 24-stündigen Behandlung von fluoridarmen Schmelz mit 1-molarer KOH-Lösung durchaus eine geringe oberflächliche Lösung der Apatitstrukturen, welche jedoch wenig ausgeprägt ist und nicht zu messbaren oder sichtbaren Veränderungen führt. Larsen und Richards (2004) geben dagegen an, dass die Löslichkeit von Fluorapatit bei einem pH-Wert zwischen 12 und 14 um das zehnfache ansteigt und somit die Gefahr der oberflächlichen Auflösung des Zahnschmelzes durch KOH erhöht ist. Sie empfehlen zur CaF_2 -Analyse nicht mehr eine 1-molare KOH-Lösung (pH=14) sondern eine Mischung aus KOH und KCl. Inwieweit die Anätzung mit der 37% Phosphorsäure, die ja auch bei den mit Aqua dest. behandelten Schmelzkontrollproben durchgeführt wurde, hierauf Einfluss nimmt, ist fraglich. Auch ist eine solche oberflächliche Auflösung durch KOH bei Dentin anzunehmen, sogar stärker infolge einer größeren Oberfläche und Permeabilität. Inwieweit die im vorliegenden Versuch eingetretene Bildung einer Schmierschicht, die ja bei der Bearbeitung der Dentinoberfläche im Zuge der Probenherstellung entsteht, eine Rolle spielt, bleibt offen, da dies nicht untersucht wurde. Ebenso gibt es keine Untersuchung, die die Eindringtiefe der KOH-Lösung in das Dentin, welches ja eine wesentlich höhere Porosität als Schmelz besitzt, beziffert.

Bei allen fluoridierten Proben zeigte sich ein Gehalt an KOH-löslichem Fluorid, welcher gegenüber den Kontrollproben hoch bis höchst signifikant erhöht war. Hierbei waren die Werte für die jeweilige Versuchskonstellation (0 Stunden, 6 Stunden, 24 Stunden) bei den Schmelzproben immer den Werten der Dentinproben überlegen, ebenso zeigte die Behandlung mit der Original Sn(II)-haltigen Meridol Mundspüllösung eine höchst signifikante Überlegenheit gegenüber der Behandlung mit der inaktivierten Sn(IV)-haltigen Meridol Mundspüllösung sowohl beim Schmelz als auch beim Dentin. Einzige Ausnahme bildete dabei die Analyse nach 24 Stunden bei den Schmelzproben. Hier lag kein signifikanter Unterschied zwischen der Behandlung mit der Original bzw. inaktivierten Meridol Mundspüllösung vor.

Andere Untersuchungen zur KOH-löslichen Fluoridanlagerung durch Zinnfluoride liegen kaum vor, nur Dijkman et al. (1982) zeigte, dass es nach Behandlung von gesunden Schmelzproben mit einer 4 % wässrigen SnF₂-Lösung zur Ausbildung von KOH-löslichem Fluorid kam. Hierbei zeigte sich nach einer 5-minütigen Behandlung der Proben mit der SnF₂-Lösung und unmittelbarer Analyse ein Wert von 6,2 µg/cm², nach 30-minütiger Behandlung und unmittelbarer Analyse ein Wert von 7,4 µg/cm². Da die Meridol Mundspüllösung neben 125 ppm Zinn(II)fluoriden auch 125 ppm Aminfluoride aufweist, sind indirekte Vergleiche der vorliegenden Studie mit Untersuchungen zur Fluoridaufnahme durch Aminfluoride möglich. Hier zeigt z.B. eine In-vitro-Studie (Rosin-Grget, 2002) zur Fluoridaufnahme von Schmelz bei verschiedenen Aminfluoridkonzentrationen folgende Ergebnisse für das KOH-lösliche Fluorid: für die Fluoridkonzentration von 1,0 % einen Wert von 35,2 ± 16,1 µg/cm², für die Fluoridkonzentration von 0,5 % einen Wert von 33,2 ± 16,3 µg/cm² und für die Fluoridkonzentration von 0,25 % einen Wert von 18,6 µg/cm². Hierbei wurden die gesunden Schmelzproben an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils für drei Minuten mit der entsprechenden Aminfluoridlösung behandelt und die Fluoridanalyse unmittelbar nach der letzten Fluoridapplikation durchgeführt. Hellwig (1992b) zeigt die Anlagerung von 48,7 ± 14 µg/cm² auf Dentinproben nach 3-minütiger Behandlung mit einer 1,23 % Aminfluoridlösung, bzw. eine Konzentration von 68 µg/cm² nach 7-tägiger Behandlung mit einer 1500 ppm enthaltenden Aminfluoridlösung (Hellwig, 1992a).

Im Gegensatz zu den obengenannten Werten zeigt sich in der vorliegenden Studie vor allem beim Schmelz (nach 0 Stunden 138,5 ± 29,4 µg/cm², nach 6 Stunden 54,0 ± 6,6 µg/cm² und nach 24 Stunden 32,7 ± 5,9 mg/cm²) nach Behandlung mit der Original Meridol Mundspüllösung doch eine höhere Anreicherung an KOH-löslichem Fluorid. Ein Grund hierfür liegt sicherlich in der Verwendung von angeätzten Schmelz im Gegensatz zu der Anwendung von gesundem Schmelz in den obengenannten Studien. So deklarierten schon Nelson et al. (1983b), dass mehr CaF₂ gebildet wird, wenn sich Defekte auf der Schmelzoberfläche befinden oder dieser demineralisiert ist. Bruun und Givskov (1993) gaben an, dass kein CaF₂ auf gesundem Schmelz entsteht.

Fraglich ist, ob Reaktionsprodukte wie Sn₃F₃PO₄ und Ca(SnF₃)₂, die neben CaF₂ bei der Reaktion von SnF₂ mit Hydroxylapatit entstehen (Babcock et al., 1978), einen Anteil an KOH-löslichem Fluorid auf der Schmelzoberfläche haben. Dies ist nicht anzunehmen, da das sehr reaktive Zinnion (SnF₂) oxidiert oder hydrolysiert und sich dabei stabile thermodynamische Endprodukte, wie SnO_N (Zinnstein) oder [Sn(OH)]_N, bilden. Sn₃F₃PO₄ und Ca(SnF₃)₂ sowie Sn₂OHPO₄ stellen hierbei instabile Zwischenprodukte dar.

Gegenüber den Angaben aus der Literatur (Saxegaard, 1987), dass mehr KOH-lösliches Fluorid auf Zement und Dentin entsteht (aufgrund einer poröseren Oberfläche, einem höheren organischen Anteil und den Dentintubuli), widersprechen die Ergebnisse dieser Studie. Hier liegt die größere Anlagerung von Fluorid immer bei den Schmelzproben, sowohl nach Behandlung mit der zweiwertigen, als auch nach Behandlung mit der vierwertigen Mundspüllösung. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass durch die Anätzung des Schmelzes ein mikroretentives Relief entsteht. Beim Ätzen geht eine Schmelzschicht von ca. 10 µm irreversibel verloren, die histologischen Veränderungen reichen bis in eine Tiefe von 30-50 µm und die Oberfläche wird deutlich vergrößert.

Das in der vorliegenden Studie erzielte eindeutige Resultat, dass die Anreicherung von KOH-löslichem Fluorid nach Anwendung einer Lösung mit zweiwertigem Zinn in Schmelz und Dentin deutlich höher ist als nach Anwendung einer Lösung mit vierwertigem Zinn, ist neu und kann deshalb nur schwer interpretiert werden. Ob ein direkter Zusammenhang zwischen der Zinnanlagerung am Zahn und der Fluoridanlagerung am Zahn besteht, sollte weitergehend untersucht werden. Ein Hinweis hierzu zeigt eine vorangegangene Untersuchung (Klimek et al., 2002 noch unveröffentlicht). Dort kommt es nämlich zu einer wesentlich höheren Zinnanlagerung an Schmelz und Dentin nach Behandlung einer zweiwertigen Zinnfluoridlösung im Gegensatz zu der Behandlung mit einer vierwertigen Zinnfluoridlösung.

5.3. Fest gebundenes Fluorid

Zur Bestimmung des fest gebundenen Fluorids wurde von jeder Probe mit der Mikrodrilltechnik ein 100 µm Schicht abgeschliffen und der gewonnene Schmelz- bzw. Dentinstaub analysiert. Die hierbei gefundenen Messwerte für die unfluoridierten Kontrollproben (Schmelz $129,8 \pm 67,2$ ppm und Dentin $243,4 \pm 173,5$ ppm) sind mit den Werten anderer Studien vergleichbar. So zeigen Reintsema et al. (1984) in einer In-vivo-Studie durchschnittliche Werte von 168,13 ppm fest gebundenen Fluorids in einer Tiefe von 120 µm an mit Wasser behandelten Schmelzproben. Mobley (1981) fand ebenfalls in einer Tiefe von 120 µm durchschnittliche Werte von 179,86 ppm fest gebundenen Fluorids an unbehandelten Schmelzproben.

Bei allen fluoridierten Proben zeigte sich ein Gehalt an fest gebundenem Fluorid der gegenüber den Kontrollproben erhöht war. Hierbei muss es der Theorie entsprechend mit der

Zeit der Abnahme der löslichen Fluoridmenge zu einer gleichzeitigen Steigerung an fest gebundenen Fluorid kommen. Dies zeigt Hellwig (1992b) nach Applikation eines hochkonzentrierten (1,23%) Aminfluoridgels, hier kommt es in den äußeren 2 Schichten (Abtrag von jeweils 30 µm) mit der Zeit zur Zunahme an fest gebundenem Fluorid. In der vorliegenden Studie trifft dies vor allem auf den mit Original Meridol behandelten Schmelz zu. Während das KOH-lösliche Fluorid signifikant mit den entsprechenden Auswaschzeiten abnimmt, kam es vor allem nach der Auswaschzeit von 24 Stunden zu einer Steigerung an fest gebundenem Fluorid, welche gegenüber der Kontrollgruppe höchst signifikant war. Tendenziell zeigt sich dies auch bei den mit inaktivierten Meridol behandelten Gruppen. Hier kommt es, sowohl beim Schmelz als auch beim Dentin, nach 0 Stunden zu signifikanten Steigerungen und nach 6 und 24 Stunden zu höchst signifikanten Steigerungen an fest gebundenem Fluorid. Eine Ausnahme zeigte sich bei den mit Original Meridol behandelten Dentinproben, hier ist keine Steigerung des Fluoridgehaltes mit der Zeit festzustellen, obwohl auch hier die Konzentration des KOH-löslichen Fluorids mit Zunahme der Auswaschzeit abnimmt. Dies kann durch verschiedene Faktoren bedingt sein. Je nach Entnahmestelle können die Dentinproben unterschiedlich große Tubuli aufweisen, so dass unterschiedlich große Anteile an Inter- und Peritubulardentin vorliegen. Weitere Faktoren können die bei der Probenherstellung entstandene Schmierschicht, Unterschiede in der Orientierung der Dentintubuli zur Oberfläche oder unterschiedliche Basisfluoridkonzentrationen sein. Möglich sind auch geringe Messfehler aufgrund eines unterschiedlichen Feuchtigkeitsgehaltes des abgeschliffenen und später analysierten Staubes, der Abweichungen im Gewicht bedingen würde. Um dem vorzubeugen wurde jedoch die Aufbewahrung bei 100 % Luftfeuchtigkeit gewährleistet.

Ein eindeutiges Resultat zum Vergleich der Fluoridaufnahme durch eine zweiwertige oder vierwertige Zinnfluoridlösung, wie es beim KOH-löslichen Fluorid aufgezeigt wurde, liegt hier nicht vor. Ferner sind keine vergleichenden Studien zu nennen, so dass hier auch die Ergebnisse schwer interpretiert werden können. Als erfreuliches Ergebnis kann man die doch bei allen Proben gefundene beträchtliche Fluoridanreicherung gegenüber den Kontrollen sehen. Auch wenn aus heutiger Sicht dem fest gebundenem Fluorid in der Kariesprophylaxe eine geringere Bedeutung als dem KOH-löslichen Fluorid zuerkannt wird, sollte dies bei der Bewertung dennoch nicht unberücksichtigt bleiben.

5.4. Resümee

Die Fragestellung, ob die Stabilität des Zinns in einer Aminfluorid-Zinn(II)Fluorid Mundspüllösung Einfluss auf die Fluoridaufnahme und Retention durch Zahnhartsubstanzen hat, konnte in der vorliegenden Studie geklärt werden. Dabei waren zwei Beobachtungen von besonderem Interesse. Zum einen zeigte sich bei allen fluoridierten Proben, sowohl für das KOH-lösliche Fluorid als auch für das fest gebundene Fluorid, ein gegenüber den Kontrollproben erhöhter Fluoridgehalt. Es konnte auch gezeigt werden, dass es nach Anwendung der Sn(II) enthaltenden Original Mundspüllösung im Gegensatz zu der Anwendung der inaktivierten Sn(IV) enthaltenden Mundspüllösung zu einer wesentlich höheren Ausbildung an KOH-löslichem Fluorid kam. Damit bestätigt sich insgesamt die Annahme, dass die Stabilität des Zinns in einer Mundspüllösung Einfluss auf die Reaktion des Fluorids mit Zahnhartsubstanzen hat.

6. Zusammenfassung

Ziel der Untersuchung war es zu prüfen, ob Unterschiede in der Fluoridaufnahme und Retention in Schmelz und Dentin nach Behandlung einer Original Sn(II)- oder inaktivierten Sn(IV)-haltigen AmF/SnF₂ Mundspüllösung (250 ppm F⁻) bestehen. Hierfür wurden jeweils aus 42 chirurgisch entfernten Weisheitszähnen 2 Schmelz- und 2 Dentinproben mit einem Hohlzylinderbohrer gewonnen. Unter Aussparung der Oberseite wurden die Proben dann mit Gusswachs ummantelt und die aus einem Zahn stammenden Proben wurden so verteilt, dass jeweils eine Schmelz- und Dentinprobe mit der unverdünnten Original Sn(II)-haltigen AmF/SnF₂ Mundspüllösung, die Gegenstücke aus dem gleichen Zahn mit der inaktivierten Sn(IV)-haltigen Mundspüllösung behandelt wurden. Die Proben wurden gleichzeitig an fünf aufeinanderfolgenden Tagen zweimal täglich in einem Abstand von 6 Stunden für eine Minute der entsprechenden Mundspüllösung zugeführt (3 ml pro Probe) und nach jeder Behandlung in künstlichem Speichel gelagert. Kontroll-, Schmelz- und Dentinproben wurden entsprechend mit Aqua dest. behandelt. Nach der letzten Applikation der Mundspüllösungen (0 Stunden) und nach weiteren 6 bzw. 24 Stunden Lagerung im künstlichem Speichel wurden jeweils 12 Proben entnommen und die Konzentration an KOH-löslichem und fest gebundenem Fluorid bestimmt. Die Analyse des KOH-löslichen Fluorids erfolgte nach der Methode nach Caslavská et al. (1975). Für die Bestimmung des fest gebundenen Fluorids wurde von jeder Probe mit der Mikrodrilltechnik eine 100 µm Schicht abgeschliffen. Nach entsprechender Vorbereitung des Schmelz- und Dentinstaubes wurde der Fluoridgehalt schließlich mit einer ionenselektiven Fluoridelektrode ermittelt.

Bei allen fluoridierten Proben zeigte sich ein Gehalt an KOH-löslichem Fluorid, welcher gegenüber den Kontrollproben hoch bis höchst signifikant erhöht war. Hierbei waren die Werte für die jeweilige Versuchskonstellation (0 Stunden, 6 Stunden, 24 Stunden) bei den Schmelzproben immer den Werten der Dentinproben überlegen. Ebenso zeigte die Behandlung mit der Original Sn(II)-haltigen Mundspüllösung eine höchst signifikante Überlegenheit gegenüber der Behandlung mit der inaktivierten Sn(IV)-haltigen Mundspüllösung sowohl beim Schmelz als auch beim Dentin.

Beim fest gebundenen Fluorid zeigte sich bei allen fluoridierten Proben ein gegenüber den Kontrollproben erhöhter Fluoridgehalt.

Nur tendenziell zeigte sich eine höhere Fluoridaufnahme nach Behandlung mit Original AmF/SnF₂ Mundspüllösung gegenüber der inaktivierten Mundspüllösung.

Die Resultate zeigen, dass es nach Applikation einer zweiwertigen Zinn enthaltenden AmF/SnF₂ Mundspüllösung im Gegensatz zu der Applikation einer vierwertigen Zinn enthaltenden Mundspüllösung zu einer wesentlich höheren Ausbildung an KOH-löslichem Fluorid kam. Dieses Ergebnis ist neu und kann daher nur schwer interpretiert werden. Insgesamt bestätigt sich aber die Vermutung, dass die Stabilisierung des Zinns nicht nur Einfluss auf die antimikrobiellen Eigenschaften einer Zinnfluorid enthaltenden Mundspüllösung, sondern auch auf die Verfügbarkeit des Fluorids hat.

7. Summary

Stannous fluoride has been proven as a prophylactic agent against caries and gingivitis and as a therapeutic agent against dental hypersensitivity. It is well known that SnF₂ preparations are susceptible to oxidation. In this study fluoride uptake and retention on enamel and dentine after application of a AmF/SnF₂ mouthrinse containing 250 ppm F⁻ was compared to the application of the mouthrinse after oxidation. The oxidised mouthrinse contained Sn only as Sn(IV).

84 dentine and 84 enamel samples were prepared from impacted human molars, ground flat, polished and then cleaned in an ultrasonic bath for 10 minutes. The enamel samples were etched with 37 % phosphoric acid. 72 enamel samples and 72 dentine samples were treated twice a day for 1 minute on 5 consecutive days with the original Meridol mouthrinse [content Sn(II)] or the oxidised Meridol mouthrinse [content Sn(IV)]. 12 enamel samples and 12 dentine samples were treated with distilled water and served as control. During the experimental period the samples were stored in artificial saliva. 12 samples each were analysed directly and at 6- and 24-hour intervals after the last application. KOH-soluble fluoride (µg/cm²) was determined by the method of Caslavská et al. (1975). Using the microdrill technique structurally bound fluoride (ppm F⁻) was determined in a 100 µm layer. After the experimental period the KOH-soluble fluoride was significantly higher in all test samples compared with the controls. Directly and after 6 and 24 hours after the last application of the Sn(II) mouthrinse the KOH-fluoride content on enamel and dentine was significantly higher than after the application of the Sn(IV) mouthrinse.

Structurally bound fluoride was found in higher concentration in all test samples compared with the control group. The content after the application of Sn(II) mouthrinse show a tendency to higher structurally bound results than after the application of the Sn(IV) mouthrinse.

The results show that the oxidised AmF/SnF₂ mouthrinse is less effective in accumulating fluoride on and in enamel and dentine. The need of sufficient stabilisation of Sn(II) in stannous fluoride containing formulations is emphasised.

8. Literaturverzeichnis

1. Addy, M., Mostafa, P.: Dentine hypersensitivity. I. Effects produced by the uptake in vitro of metal ions, fluoride and formaldehyde onto dentine. *J. Oral. Rehab.* 15, 575-585. (1988)
2. American Dental Association, Council on Dental Therapeutics: Reclassification of Crest toothpaste. *JADA* 69, 195-196. (1964)
3. Arends, J., Reintsma, H., Dijkmann, A.G.: Calcium fluoride-like material formed in partially demineralised human enamel in vivo owing to the action of fluoridated toothpastes. *Acta. Odontol. Scand.* 46, 347-353. (1988)
4. Arweiler, N.B., Netuschil, L., Reich, E.: Alcohol-free mouthrinse solutions to reduce supragingival plaque regrowth and biofilm vitality. *J. Clin. Periodontol.* 28, 168-174. (2001a)
5. Arweiler, N.B., Brex, M., Dörner, M., Netuschil, L.: Influence of ethanol on the antibacterial and anti-plaque efficacy of an amine fluorid/stannous fluoride mouthrinse solution. *J. Parodontol Implantol Orale* 22, 331-340. (2001b)
6. Babcock F.D., King, J.C., Jordan, T.H.: The reaction on stannous fluoride and hydroxyapatite. *J. Dent. Res.* 57, 933-938. (1978)
7. Banoczy, J., Szöke, J., Kertesz, P., Toth, Z.S., Zimmermann, P., Gintner, Z.: Effect of amine fluoride/stannous fluoride-containing toothpaste and mouthrinsings on dental plaque, gingivitis plaque and enamel F accumulation. *Caries Res.* 23, 284-288. (1989)
8. Bramstedt, F., Bandilla, J.: Über den Einfluss organischer Fluorverbindungen auf Säurebildung und Polysacharidsynthese auf Plaques-Streptokokken. *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 21, 111. (1966)
9. Brex, M.: Strategies and agents in supragingival chemical plaque control. *Periodontology* 2000, 15, 100-108. (1997)
10. Brex, M., Mac Donald, L., Legary, K., Cheang, M., Forgay, M.: Longterm effects of meridol and chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingivitis, staining and bacterial vitality. *J. Dent. Res.* 72, 1194-1197. (1993)
11. Brex, M., Netuschil, L., Reichert, B., Schreil, G.: Efficacy of Listerine, Meridol and chlorhexidine mouthrinses on plaque, gingivitis and plaque bacteria vitality. *J. Clin. Periodontol.* 17, 292-297. (1990)
12. Breitenmoser, Th.: The antiglycolytic action on dental plaque of amine chlorides. *Helv. Odontol. Acta.* 19, 13-17. (1975)

13. Bruun, C., Givskov, H.: Calcium fluoride formation in enamel from semi- or low-concentrated F agents in vitro. *Caries Res.*, 27 96-99. (1993)
14. Caslavská, V., Gron, P., Kent, R.L., Joshipura, K., De Paola, P.F.: CaF₂ in enamel biopsies 6 weeks and 18 month after fluoride treatment. *Caries Res.* 25, 21-26. (1991)
15. Caslavská, V., Moreno, E.C., Brudevold, F.: Determination of the calcium fluoride formed in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch. Oral Biol.* 20, 333-339. (1975)
16. Chander, S., Chiao, C.C., Fuerstenau, D.W.: Transformation of calcium fluoride for caries prevention. *J. Dent. Res.* 61, 403-407. (1982)
17. Christoffersen, J., Christoffersen, M.R., Kibalczyk, W., Perdok, W.G.: Kinetics of dissolution and growth of calcium fluoride and effects of phosphate. *Acta. Odontol. Scand.* 46, 325-336. (1988)
18. Clark, J.W., Quiros, A., Corpron, R.E., More, F.G., Kowalski, C.J.: In vivo effects of SnF₂ gel on acid-softened enamel. *J. Dent. Res.* 65, 698-702. (1986)
19. Debbrecht, M., Geurtsen, W.: Die Remineralisation artifiziieller initialkariöser Wurzeloberflächenläsionen mit NaF und SnF₂ in vitro. *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 51, 219-222. (1996)
20. De Paola, P.F., Bakhos, Y., Soparkar, P.: The effect of semiannual topical applications of 0,62 M ammonium fluoride. *J. Dent. Res.* 57, 276 (Abstr. 806). (1978)
21. Dijkman, A.G., Arends, J.: The role of CaF₂-like material in topical fluoridation of enamel in situ. *Acta. Odontol. Scand.* 46, 391-397. (1988)
22. Dijkman, A.G., de Boer, P., Arends, J.: In vivo investigation on the fluoride content in and on human enamel after topical applications. *Caries Res.* 17, 392-402. (1983)
23. Dijkman, A.G., Tak, J., Smith, M.L., Jongebloed, W.L., Arends, J.: Fluoride deposited by topical application with stannous fluoride in human enamel. *J. Biol. Buccale.* 10, 63-71. (1982)
24. Dolan, M.M., Harding, E.T., Yankell, S.L.: Salivary glycolysis after mouthrinses. *Helv. Odontol. Acta.* 18 (Suppl. 8), 54. (1974)
25. Driessens, F.C.M., Borggreven, J.M.P.M., Verbeek, R.M.H.: The dynamics of biomineral systems. *Bull. Soc. Chim. Belg.* 96, 173-179. (1987)
26. Duschner, H., Uchtmann, H., Duschner, H.A.: Wirkungsmechanismen von Fluorid nach Duraphat®-Behandlung. *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 39, 705-709. (1984)
27. Eanes, E.D.: The influence of fluoride on seeded growth of apatite from stable supersaturated solutions at pH 7,4. *J. Dent. Res.* 59, 144-150. (1980)

28. Ellingsen, J.E. : Scanning electron microscope and electron microprobe study of reactions of stannous fluoride and stannous chloride with dental enamel. *Scand. J. Dent. Res.*, 299-305. (1986)
29. Ellingsen, J.E., Rolla, G.: Treatment of dentin with stannous fluoride: SEM and electron microprobe study. *Scand. J. Dent. Res.* 15, 281-286. (1987)
30. Faller, R.V., Best, J.M., Featherstone, J.D.B., Barrett-Vespone, B.S. : Anticaries efficacy of an improved stannous fluoride toothpaste. *J. Clin. Dent.* 6 (Spec. Iss.), 89-96. (1995)
31. FDI (Fédération Dentaire Internationale): Topical and systemic antimicrobial agents in the treatment of chronic gingivitis and periodontitis. FDI Technical Report Nr. 26, *Int. Dent. J.* 37, 52. (1987)
32. Fejerskov, D., Thylstrup, A., Larsen, M.J.: Rational use of fluorides in caries prevention – A concept based on possible mechanisms. *Acta. Odontol. Scand.* 39, 241-249. (1981)
33. Flim, G.J.: Diffusion of calcium and fluoride ions in bovine enamel. Thesis 1976. Rijksuniversiteit Groningen, The Netherlands, 1976. In: Arends, J., Lodding, A., Petersson, L.G.: Fluoride uptake in enamel – In vitro comparison of topical agents. *Caries Res.* 14, 403-413. (1980)
34. Gerrity, D., Jordan, T.H.: Reaction of SnF₂ with hydroxyapatite: Sn₂OHPO₄, Sn₃F₃PO₄, Ca(SnF₃). *J. Dent. Res.* 56 (Spec. Iss. B) B53, Abstr. 7. (1977)
35. Gross, A., Tinanoff, N.: Effect of SnF₂ mouthrinse on initial bacterial colonization of tooth enamel. *J. Dent. Res.* 56, 1179. (1977)
36. Hahn, P., Reinhardt, D.: So sehen die 50- bis 60jährigen das Thema Zahngesundheit. *Zahnärztl. Mitt.* 14, 24-27. (1999)
37. Hamilton, I., Bowden, G.: Effect of Fluoride on oral microorganisms. In: Ekstrand, J., Fejerskov, O., Silverstone, L.: *Fluoride in Dentistry*. Munksgaard, Kopenhagen. (1988)
38. Hefferen, J.J.: Qualitative and quantitative tests for stannous fluoride. *J. Pharm. Sci.* 52, 1090-1096. (1963)
39. Hellwig, E.: Reaktion von lokal applizierten Fluoridverbindungen mit plaquebedecktem und sauberem Dentin in situ. *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 47, 225-228. (1992a)
40. Hellwig, E.: Fluoride retention in dentin after topical application of aminfluoride. *J. Dent. Res.* 71, 1558-1560. (1992b)
41. Hermann, U., Mühlemann, H.R.: Inhibition of salivary respiration and glycolysis by an organic fluoride. *Helv. Odontol. Acta.* 2, 28. (1958)

42. Imfeld, T., Sener, B.: Wirkung von Zinnfluorid-Gels auf Dentin. *Acta. Med. Dent. Helv.* 2, 17-22. (1997)
43. Jordan, T.H., Wei, S.H.J., Bromberger, S.H., King, J.C.: SnF_3PO_4 : The product of the reaction between stannous fluoride and hydroxyapatite. *Arch. Oral Biol.* 16, 241-246. (1971)
44. Kambara, W., Norde, W.: Influence of fluoride applications on some physicochemical surface properties of synthetic hydroxyapatite and human dental enamel and its consequences for protein adsorption. *Caries Res.* 29, 210-217. (1995)
45. Kanauya, Y., Spooner, P., Fox, J.L., Higuchi, W.I., Muhammad, N.A.: Mechanistic studies on the bioavailability of calcium fluoride for remineralisation of dental enamel. *Int. J. Pharmacol.* 16, 171-179. (1983)
46. Kato, K., Nakagaki, H., Robinson, c., Weatherell, J.A.: Distribution of fluoride across cementum, dentine and alveolar bone in rats. *Caries Res.* 24, 117-120. (1990)
47. Kirgegaard, E.: In vitro fluoride uptake in human dental enamel from various solutions. *Caries Res.* 11, 16-23. (1977)
48. Klimek, J., Ganß, C.: Aufnahme und Retention von Zinn und Fluorid in Schmelz und Dentin nach 5-tägiger Anwendung von Meridol-Mundspüllösung und inaktivierter Meridol-Mundspüllösung in vitro. Abschlussbericht (2002)
49. Klimek, J. Masselter, D., Ganß, C.: KOH-soluble and structurally Fluorid in dentin after topical application of Duraphat. *Caries Res.* 27, 210 (Abstr.No.14).(1993)
50. König, K.G.: Dental caries and plaque accumulation in rats treated with stannous fluoride and penicillin. *Helv. Odontol. Acta.* 3, 39-44. (1959)
51. Koulourides, T.: Summary of sessions II: Fluoride and the caries process. *J. Dent. Res.* 69, 558. (1990)
52. Künzel, W., Stösser, E., Schulz, E.: Plaqueinhibition durch Aminfluorid/Zinnfluorid. *Quintess.* 11, 1813-1824. (1990)
53. Lagerlöf, F., Saxegaard, E., Barkvoll, P., Rfla, G.: Effects of inorganic orthophosphate and pyrophosphate on dissolution of calcium fluoride in water. *J. Dent. Res.* 67, 447-449. (1988)
54. Lammers, P.C., Borggreven, J.M.P.M., Driessens, F.C.M.: Acid-susceptibility of lesions in bovine enamel after remineralization at different pH values and in the presence of different fluoride concentrations. *J. Dent. Res.* 70, 1486-1490 (1991a)
55. Lammers, P.C., Borggreven, J.M.P.M., Driessens, F.C.M.: Influence of fluoride and pH on in vitro remineralization on bovine enamel. *Caries Res.* 26, 8-13. (1992)

56. Lammers, P. C., Borggreven, J.M.P.M., Driessens, F.C.M.: Influence of fluoride on in vitro remineralization of artificial subsurface lesions determined with a sandwich technique. *Caries Res.* 24, 81-85. (1990)
57. Lammers, P.C., Borggreven, J.M.P.M., Driessens, F.C.M., Van Djik, I.W.E.: Influence of fluoride and carbonate on in vitro remineralization of bovine enamel. *J. Dent. Res.* 70, 970-974. (1991b)
58. Lang, N.P., Brex, M.C. : Chlorhexidine digluconate – an agent for chemical plaque control and prevention of gingival inflammation. *J. Periodont. Res.* 21 (Suppl 16), 74. (1986)
59. Larsen, M.J., Jensen, S.J.: Experiments of the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arch. Oral Biol.* 39, 23-27. (1994)
60. Larsen, M.J., Richards, A.: Conditions for Extraction of CaF₂: A Study of Caslavská's Method. *Caries Res.* 38, 357-412. (2004)
61. Larson, R.H.: Animal studies relating to caries inhibition by fluoride. *Caries Res.* 11 (Suppl. 1), 42-58. (1977)
62. Larson, R.H., Mellberg, J.R., Englander, H.R., Senning, R.: Caries inhibition in the rat by water-borne and enamel-borne fluoride. *Caries Res.* 10, 321-331. (1976)
63. LeGeros, R.Z., Kijkowska, R., Jia, W., LeGeros, J.P.: Fluoride-cation interactions in the formation and stability of apatites. *J. Fluor Chem.* 41, 53-64. (1988)
64. Lilienthal, B.: The effect of stannous fluoride mouthwash on acid formation in the mouth and some observations on the mechanism of inhibition. *Aust. Dent. J.* 1, 221-227. (1956)
65. Løe, H., Schiött, C.R.: The effect of mouthrinses and topical applications of chlorhexidine on development of dental plaque and gingivitis in man. *J. Periodont. Res.* 5, 79. (1970)
66. Margolis, H.C., Moreno, E.C.: Physiochemical perspective on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides. *J. Dent. Res.* 69 (Spec. Iss.). 606-613. (1990)
67. Martell, A.E. : Stability constants of metal-ion complexes. The Chemical Society, Special Publication No. 17, London, pp. 68, 193, 221. (1964)
68. Mellberg, J.R., Charig, A., Deutchman, M., O'Brien W., Lass, A.: Effects of two fluoride gels on fluoride uptake and phosphorus loss during artificial caries formation. *J. Dent. Res.* 65, 1084-1093. (1986)
69. McCann, H.G.: The solubility of fluorapatite and its relationship to that of calcium fluoride. *Arch. Oral Biol.* 13, 987-1001. (1968)

70. McDowell, H., Gregory, T.M., Brown, W.E.: Solubility of $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ in the system $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ at 5,15,25 and 37°C. *J. Res. Natl. Bur. Std. (US)*, 81A, 273-281. (1977)
71. Mellberg, J.R., Ripa, L.W., Leske, G.S., Sanchez, M., Polanski, R.: The relationship between dental caries and tooth enamel fluoride. *Caries Res.* 19, 385-389. (1985)
72. Mengel, R., Wissing, E., Schmitz-Habben, A., Florés-De-Jacoby, L.: Comparative study of plaque and gingivitis prevention by AmF/SnF_2 and NaF . *J. Clin. Periodontol.* 23, 372-378. (1996)
73. Miller, S., Truong, T., Heu, R., Stranick, M., Bouchard, D., Gaffar, A.: Recent advances in stannous fluoride technology: antibacterial efficacy and mechanism of action towards hypersensitivity. *Int. Dent. J.* 44, 83-98. (1994)
74. Mobley, M.J.: Fluoride uptake from in situ brushing with a SnF_2 and a NaF dentifrice. *J.Dent. Res.*, 60 1943-1948. (1981)
75. Muhler, J.C.: The effect of a modified stannous fluoride-calcium pyrophosphate dentifrice on dental caries in children. *J. Dent. Res.* 37, 448-450. (1958)
76. Muhler, J.C., Radike, A.W. : Effect of a dentifrice containing fluoride on dental caries in adults. II. Results at the end of two years of unsupervised use. *J. Am. Dent. Assoc.* 58, 196-198. (1957)
77. Mühlemann, H.R., Schmid, H., König, K.G.: Enamel solubility reduction studies with inorganic and organic fluorides. *Helv. Odontol. Acta.* 1, 23. (1957)
78. Nelson, D.G.A., Featherstone, J.D.B., Duncan, J.F., Cutress, T.W.: Effect of carbonate and fluoride on the dissolution behaviour of synthetic apatites. *Caries Res.* 17, 200-211. (1983a)
79. Nelson, D.G.A., Jongebloed, W.L., Arends, J.: Morphology of enamel surfaces treated with topical fluoride agents: SEM considerations. *J. Dent. Res.* 62, 1201-1208. (1983b)
80. Nelson, D.G.A., Jongebloed, W.L., Arends, J.: Crystallographic structure of enamel surfaces treated with topical fluoride agents : TEM and XRD considerations. *J. Dent. Res.* 63, 6-12. (1984)
81. Netuschil, L., Rauh, T., Riethe, P.: Substantivität und antibakterielle Wirkung von Aminfluorid/Zinnfluorid in situ. *Paradontologie* 8, 7-16. (1997)
82. Newman, H.N.: Plaque and chronic inflammatory periodontal disease. A question of ecology. *J. Clin. Periodontol.* 17, 533. (1990)

83. Øgaard, B.: Effects of fluoride on caries development and progression in vivo. *J. Dent. Res.* 69 (Spec. Iss.), 813-819. (1990)
84. Øgaard, B., Rolla, G.: Retention of fluoride on sound and in demineralised enamel in vivo. In: Leach, S.A. (Hrsg): Factors relating to demineralisation and remineralization of the teeth. IRL Press, Oxford, England, 1986, S. 191-199.
85. Øgaard, B., Rolla, G., Ruben, J., Dijkman, T., Arends, T.: Microradiographic study of demineralisation of shark enamel in a human caries model. *Scand. J. Dent. Res.* 96, 209-211. (1988)
86. Oppermann, R.V., Rølla, G., Johansen, J.R., Assev, S.: Thiol groups and acidogenicity of dental plaque in the presence of metal ions in vivo. *Scand. J. Dent. Res.* 88, 389-396 (1989)
87. Ota, K., Kikuchi, S., Beierle, J.W.: Stannous fluoride and its effect on oral microbial adhesive properties in vitro. *Pediatr. Dent.* 11, 21-25. (1989)
88. Perdok, J.F., Mei, H.C. Van Der, Buscher, H.J. : A comparison of bacterial growth inhibiting effects of six commercially available mouthrinses. *Microbiol. Ecology in Health and Disease* 2, 191-196. (1989)
89. Purdell-Lewis, D.J., Arends, J., Schuthof, J.A.: SnF₂ treatment on enamel, hydroxyapatite or brushite at 37°C and 50°C: an infrared investigation. *J. Biol. Bucc.* 7, 179-190. (1979)
90. Reintsema, H., Schuthof, J., Arends, J.: An in vivo investigation of the Fluoride uptake in Partially Demineralized Human Enamel from Several Different Dentifrices. *J. Dent. Res.* 64, 19-23. (1985)
91. Retief, D.H., Harris, B.E., Bradely, E.L.: Relationship between enamel fluoride concentration and dental caries experience. *Caries Res.* 21, 68-78. (1987)
92. Retief, D.H., Sorvas, P.G., Bradely, E.L., Taylor, R.E., Walker, A.R.: In vitro fluoride uptake, distributions, and retention by human enamel after 1 – and 24 - hour applications of various topical fluoride agents. *J. Dent. Res.* 59, 573-582. (1980)
93. Retief, D.H., Wallace, M.C., Brewer, K.P., Bradly Jr., E.L.: Relationship between cementum fluoride concentration and root caries experience. *Gerodont.* 4, 28-31. (1988)
94. Rolla, G.: On the role of calcium fluoride in the cariostatic mechanism of fluoride. *Acta. Odontol. Scand.* 46, 341-345. (1988)
95. Rolla, G., Øgaard, B.: Studies on the solubility of calcium fluoride in human saliva. In: Leach, S.A.: Factors relating to demineralisation and remineralisation of teeth. IRL Press, Oxford, England, 1986, S. 45-50.

96. Rolla, G., Øgaard, B., De Almeida Cruz, R.: Fluoride-containing toothpastes, their clinical effect and mechanism of cariostatic action: a review. *Int. Dent. J.* 41, 171-174. (1991)
97. Rosin-Grget, K., Lincir, I., Andrijanic, A.: In vitro Fluoride uptake by enamel from different Amine Fluoride Concentration. *Caries Res.* 36, 266-269. (2002)
98. Saxegaard, E., Rolla, G.: Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand. J. Dent. Res.* 96, 523-535. (1988)
99. Saxegaard, E., Valderhang, J., Rflla, G.: Deposition of fluoride on dentin and cementum after topical applications of 2% NaF. In: Thylstrup, A, Leach, S.A., Qvist, V. (Hrsg.): *Dentine and dentine in the oral cavity*. IRL Press Limited, Oxford, England, 1987, S. 199-206.
100. Scheie, A.A., Assev., Rölla, G.: The effect of SnF₂ and NaF on glucose uptake and metabolism in *S. mutans* OMZ 176. In: Leach, S.A.: *Factors relating to demineralisation and remineralisation on the teeth*. IRL Press, Oxford, England. (1986)
101. Schneider, P., Mühlemann, H.R.: The antiglycolytic action of amine fluorides on dental plaque. *Helv. Odontol. Acta.* 18 (Suppl. 8), 63-67. (1974)
102. Shannon, I.L.: Water-free solutions of stannous fluoride and their incorporation in to a gel for topical application. *Caries Res.* 3, 339-347. (1969)
103. Statistisches Bundesamt (Hrsg.) *Bevölkerungsentwicklung Deutschlands bis 2050-Ergebnisse der 9. Koordinierten Bevölkerungsvorausberechnung des Bundes und der Länder zur Bevölkerungsentwicklung bis 2050*. Wiesbaden (2000)
104. Svanberg, M., Rolla, G.: *Streptococcus mutans* in plaque and saliva after mouthrinsing with SnF₂. *Scand. J. Dent. Res.* 90, 292-298. (1982)
105. Svatan, B., Attramadal, A.: The effect of stannous fluoride on human plaque acidogenicity in situ (Stephan curve). *Acta. Odontol. Scand.* 36,211-218. (1979)
106. ten Cate, J.M.: The effect of fluoride on enamel de- and remineralisation in vitro and in vivo. In: Guggenheim, B (Hrsg.): *Cariology today*. Karger, Basel, 1984, S. 231-236.
107. ten Cate, J.M.: Review on fluoride with spezial emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur. J. Oral. Sci.* 105, 461-465. (1997)
108. Tinanoff, N.: Review of the antimicrobial action of stannous fluoride. *J. Clin. Dent.* 2, 22-27. (1991)
109. Tinanoff, N.: Progress regarding the use of stannous fluoride in clinical dentistry. *J. Clin. Dent.* 6 (Spec. Iss.), 29-36. (1995)

110. Tinanoff, N., Brady, J.M., Gross, A.: The effect of a NaF and SnF₂ mouthrinses on bacterial colonization of tooth enamel: TEM and SEM studies. *Caries Res.* 10, 415-426. (1976)
111. Tsuda, H., Jongebloed, W.L., Stokroos, J., Arends, J.: Combined raman and SEM study of CaF₂ formed on/in enamel by APF treatments. *Caries Res.* 27, 445-454. (1993)
112. Wei, S.H.J., Forbes, W.C.: Reactions of powdered sound dentine with several fluoride solutions. *J. Dent. Res.* 48, 149-152. (1969)
113. White, D.J.: A return to stannous fluoride dentifrices. *J. Clin. Dent.* 6 (Spec. Iss.), 29-36. (1995)
114. White D.J., Cox, E.R., Gwynn, A.V.: Effect of stabilized stannous fluoride dentifrice on plaque acid (toxin) production. *J. Clin. Dent.* 6 (Spec. Iss.), 84-88. (1995)
115. Zameck, R.L., Tinanoff, N.: Effects of NaF and SnF₂ on growth, acid and glucan production of several oral streptococci. *Arch. Oral Biol.* 32, 807-810. (1987)

Ich danke meiner Familie und Olav für ihre wunderbare Unterstützung.

Frau Birgit Meier möchte ich für die wertvolle Hilfe bei der Vorbereitung und Durchführung der Untersuchung danken.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. J. Klimek für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Lebenslauf

Name: Wiebke Grellck

Geburtsdatum: 27.10.78

Geburtsort: Idar-Oberstein

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung: 1985-1989 Grundschule Weilerswist
1989-1998 Gymnasium Marienschule Euskirchen
Juni 1998 Erwerb der allgemeinen Hochschulreife

Hochschulbildung: 1998- 2004 Studium der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
an der Justus-Liebig-Universität Giessen
August 1999 Naturwissenschaftliche Vorprüfung
September 2001 Zahnärztliche Vorprüfung
Juli 2004 Zahnärztliche Prüfung