

Aus der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde,

Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof. Dr. M. Hannig

# **Die erosionsprotektive Wirkung von Tanninsäure und ätherischen Ölen auf bovines Dentin im *In-* *situ*-Versuch**

*Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde*

**der Medizinischen Fakultät**

**der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES**

2018

vorgelegt von:

Katharina Marie Lotter

geb. am: 01.11.1991 in Miltenberg

Tag der Promotion:

Dekan: Prof. Dr. M.D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Hannig

2. Berichterstatter:

**(MEINEN ELTERN UND GROBELTERN IN DANKBARKEIT GEWIDMET.)**

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1	Deutsche Zusammenfassung.....	1
1.2	Abstract .....	2
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>4</b>
2.1	Literaturübersicht .....	5
2.1.1	Die Pellikel .....	5
2.1.2	Erosion – Grundlagen und Ätiologie.....	8
2.1.3	Reagenzien – ätherische Öle und Adstringenzien .....	9
2.2	Fragestellung .....	11
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODE.....</b>	<b>12</b>
3.1	Versuchsaufbau .....	12
3.2	Grundlagen für die Gewinnung der Dentinprüfkörper.....	13
3.2.1	Herstellung, Reinigung und Aufbewahrung der Prüfkörper .....	13
3.2.2	Standardisierung der Dentinprüfkörper .....	14
3.2.3	Herstellung der Trägerschienen und Fixierung der Prüfkörper.....	14
3.2.4	Herstellung der verschiedenen Spüllösungen.....	15
3.3	Gewinnung der <i>In-situ</i> -Prüfkörper .....	16
3.3.1	Probanden .....	16
3.3.2	Versuchsbedingungen.....	16
3.3.3	Spülung mit unterschiedlichen Reagenzien.....	16
3.4	Gewinnung der <i>In-vitro</i> -Prüfkörper .....	17
3.5	Künstliche Erosion der Prüfkörper.....	18

3.6	Entfernung der Pellikel der <i>In-situ</i> -Proben .....	18
3.7	Untersuchungsmethoden der gewonnenen Prüfkörper.....	19
3.7.1	FRT- Scan.....	19
3.7.2	Mikrohärtemessung .....	20
3.7.3	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung .....	21
3.8	Vorversuche und endgültige Festlegung der Methodik .....	22
3.8.1	Vorversuch mit Pellikel.....	22
3.8.2	Versuchsreihe mit und ohne Pellikel.....	23
3.8.2.1	Versuchsreihe mit Standardisierung und mit endgültigen Versuchsparametern .....	23
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>25</b>
4.1	Ergebnisse der Vorversuche.....	25
4.1.2	Ergebnisse der Versuchsreihen mit und ohne Pellikel .....	28
4.1.3	Ergebnisse der Versuchsreihen mit endgültigen Versuchsparametern sowie Standardisierung.....	30
4.2	Ergebnisse der Versuche mit endgültigen Versuchsparametern .....	32
4.2.1	Ergebnisse der FRT- Auswertungen .....	32
4.2.2	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Dentinprüfkörper .....	39
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>51</b>
5.1	Diskussion von Material und Methodik.....	51
5.1.1	Studiendesign und Fragestellung.....	51
5.1.2	Art, Herstellung und Bearbeitung der Prüfkörper .....	51
5.1.3	Pellikelgewinnung und Pellikelentfernung.....	53
5.1.4	Probandenselektion.....	54
5.1.5	Spülung mit Spüllösungen.....	55

5.1.6	Künstliche Erosion der Prüfkörper .....	56
5.1.7	Mess- und Analysemethoden .....	57
5.2	Diskussion der Ergebnisse.....	59
5.2.1	FRT- Scan.....	59
5.2.2	Mikrohärtemessung .....	60
5.2.3	Rasterelektronenmikroskop.....	60
5.3	Schlussfolgerung .....	61
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>62</b>
<b>7</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>74</b>

# 1 Zusammenfassung

## 1.1 Deutsche Zusammenfassung

Werden Festkörperoberflächen, wie zum Beispiel Zahnschmelz oder Dentin, dem oralen Milieu ausgesetzt, werden sie innerhalb von Sekunden von einer Pellikel bedeckt, bei der es sich um eine azelluläre, bakterienfreie Schicht handelt. Dieser Proteinfilm aus adsorbierten Speichelbestandteilen wirkt als physiologischer Schutzfilm auf der Zahnoberfläche und bietet Schutz vor erosiven Einflüssen. Um die schützende Funktion der Pellikel gegenüber Erosionen zu verbessern, versucht man die Pellikel mit Hilfe von unterschiedlichen Reagenzien, wie Tanninsäure oder Pflanzenextrakten, zu modifizieren. Bisher wurden hauptsächlich Untersuchungen, die die Pellikelbildung auf bovinen Schmelzprüfkörpern und deren Modifikation untersuchten, durchgeführt. In der vorliegenden Studie soll die protektive Bedeutung einer durch Adstringenzen oder durch ätherische Ölen modifizierten Pellikel im Hinblick auf Erosionen, welche durch Zitronensäure auf bovinem Dentin ausgelöst wurden, untersucht werden. Als Kontrolle wurden pellikelfreie *In-vitro*-Versuche durchgeführt. Die Versuche erfolgten auf standardisiert oberflächenbearbeiteten Prüfkörpern aus Rinderdentin. Bei den *In-situ*-Versuchen trugen 4 Probanden die Prüfkörper für jeweils 2,5 h auf intraoralen Trägerschienen, die im Molarenbereich adaptiert wurden. Nach 3-minütiger intraoraler Expositionsdauer wurde für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung theranovis®, Tanninsäure oder der Kontrolle, bestehend aus sterilem Wasser, gespült. Die Spüllungen wurden nach jeweils 30 min, 1 h, 1,5 h und 2 h intraoraler Expositionszeit wiederholt. Nach Ablauf von 2,5 h intraoraler Expositionsdauer wurden die Schienen aus der Mundhöhle entnommen und es erfolgte eine 1-minütige künstliche Erosion der pellikelbedeckten Prüfkörper. Dazu wurde 1 µl 1%-ige Zitronensäure auf die Prüfkörper pipettiert und nach 1-minütiger Einwirkdauer mit sterilem Wasser entfernt. Bei den *In-vitro*-Versuchen erfolgten die Spüllungen mit den Spüllösungen extraoral. Zwischen den einzelnen Spüllungen wurden die Prüfkörper in sterilem Wasser gelagert, bis nach 2,5 h auch die künstliche Erosion nach demselben Prinzip erfolgte.

Danach wurde die Pellikel der *In-vivo*-Prüfkörper chemisch und ultraschallaktiv entfernt. Zur Auswertung des erosiven Effektes wurden vor und nach der Säureexposition Mikrohärtmessungen sowie Oberflächenmessungen vorgenommen. Hiermit sollten sowohl die Abnahme der Mikrohärtigkeit als auch die Zunahme der Oberflächenrauigkeit, welche mit Erosionen vergesellschaftet sind, bestimmt werden. Zusätzlich wurde eine qualitative Analyse der erodierten, von der Pellikel befreiten Dentinoberfläche mittels Rasterelektronenmikroskopie vorgenommen.

## Zusammenfassung

Die Mikrohärtemessungen zeigten allgemein eine Abnahme der Mikrohärtigkeit nach der Säureexposition. Es zeigten sich aber keine eindeutigen Unterschiede zwischen den Mikrohärtewerten nach den Spülungen mit den unterschiedlichen Spüllösungen. Die Oberflächenmessungen zeigten, dass die pellicelfreien Prüfkörper deutlich höhere Rauheitswerte nach der Säureerosion aufwiesen als die pellicelbedeckten. Das zeigt deutlich die Schutzwirkung der Pellicel, allerdings konnte auch hier keine Verbesserung der Schutzwirkung, die mit einer der Spüllösungen assoziiert wäre, festgestellt werden. Der schützende Effekt der Pellicelschicht gegenüber Erosion konnte mit Hilfe der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen bestätigt werden. Diese Beobachtungen stehen im Konsens mit der aktuellen Literatur. In Bezug auf die schützende Wirkung von Adstringenzien und ätherischen Ölen gegen Erosionen auf dem Dentin sollten in Zukunft noch weitere Untersuchungen erfolgen.

### 1.2 Abstract

The erosion protective effect of tannic acid and essential oils on bovine dentin an *in-situ*-investigation

Solid substrata like enamel or dentine, which are exposed to the oral cavity, are covered within seconds by a pellicle. This pellicle is an acellular, bacteria-free layer. This protein layer is formed by adsorbed components from saliva, and has a protective function on the tooth surface against dental erosion. To improve the erosion protective properties of the pellicle, plant extracts or tannic acid are used to modify the components of the pellicle. So far mainly investigations with the aim of pellicle modification on enamel specimens were made. In the present study the protective relevance against erosive effects on dentin specimens, which are modified by tannic acid or by essential oils was examined. As control also *in-vitro*-experiments were performed. For the experiments surface-polished and standardized bovine dentin specimens were used. The dentine slabs were fixed on removable intraoral splints and were worn by 4 healthy volunteers for 2,5 h. After an intraoral exposure time of 3 min the volunteers rinsed for 30 s with theranovis®, tannic acid or with sterile water as control. The irrigation was performed again after an intraoral exposure time of 30 min, 1 h, 1,5 h and 2 h. After the final time of 2,5 h the splints were taken out of the oral cavity and were artificially eroded. The erosion was performed on the pellicle covered surface with 1 µl of citric acid for 1 min, subsequently the slabs were washed with sterile water. The *in-vitro*-experiments were performed extraorally. Between the different rinsing times the slabs were stored in sterile water. After 2,5 h the artificial erosion was performed the same way. Afterwards the pellicle of the *in-*

## **Zusammenfassung**

*vivo*-experiments was removed chemically and by a ultrasonic cleaning. To analyse the erosive effects, microhardness measurements were conducted before and after acid exposition. Also the surface conditions were scanned by a profilometric scanner, before and after the acid treatment. Herewith, the decrease of the surface microhardness, as well as the increase of the surface roughness, which is a consequence of erosion, was diagnosed. Additionally to evaluate the eroded pellicle-free dentin surface, the scanning electron microscopy was used. The microhardness measurements indicated a common hardness loss after the etching was performed. However there were no clear differences between the hardness values after rinsing with the different irrigations. The Scanning of the surfaces indicated clearly a higher increase of the surface roughness on the pellicle-free samples compared to the pellicle-covered ones. This fact clearly reveals the protective properties of the pellicle, but it was not associated with the different irrigation solutions. The protective properties of the dentin pellicle were proved by scanning electron microscopy. These investigations are in accordance to the literature. Concerning the erosion protective properties of tannic acid and essential oils on bovine dentin, further research should be conducted.

## 2 Einleitung

In den letzten Jahren haben die Häufigkeit und der Schweregrad der erosiven Abnutzung der Zähne zugenommen (Jaeggi and Lussi, 2014; Lussi and Schaffner, 2000). Einer der Hauptgründe für das vermehrte Auftreten von Erosionen ist der Konsum von säure- und zuckerhaltigen Getränken (Ehlen et al., 2008), 100%-igen Frucht- und Gemüsesäften und Nahrungsmitteln (Ehlen et al., 2008; Lussi and Carvalho, 2014; Lussi et al., 2002; Lussi et al., 2004). Medikamente, wie Beruhigungsmittel, Antihistaminika und Antiemetika, aber auch Refluxerkrankungen, Alkoholismus und Bulimie haben einen Einfluss auf das erosive Potenzial in der Mundhöhle (Lussi et al., 2004; Moazzez and Bartlett, 2014; Zero, 1996).

Ebenso ist ein gesteigertes Gesundheits- und Fitnessbewusstsein der Bevölkerung, welches oft mit einer überdurchschnittlichen Mundhygiene einhergeht, zu beobachten. Diese übertriebene Mundhygiene in Kombination mit einer sehr säurehaltigen Ernährung führt gehäuft zu Erosionen (Hellwig et al., 2009).

Aufgrund dieser Tatsachen hat sich in den vergangenen Jahrzehnten ein ansteigendes Interesse an dentaler Erosion in den zahnärztlichen Kliniken und Praxen, der Forschung sowie der Bevölkerung etabliert (Lussi and Carvalho, 2014).

Um dieses Problem der Zahnhartsubstanzzerstörung zu verringern oder sogar zu beseitigen, versucht man das erworbene Schmelzoberhäutchen, auch Pellikel genannt, welche sich schützend auf der Zahnoberfläche befindet (Hannig et al., 2007), durch Zusatz von verschiedenen chemischen Zusatzstoffen zu modifizieren. Sogar Hochrisikopatienten, etwa solche die regelmäßig erbrechen oder an Refluxerkrankungen litten, konnten Linderung der Erosionen durch die Anwendung von Mundspülungen erreichen (Lussi and Carvalho, 2014).

In der Vergangenheit wurde bereits der Einfluss von Tanninsäure sowie von pflanzlichen Extrakten auf die schützende Wirkung der Pellikel gegen Erosionen getestet. Es wurden die antibakteriellen und antiadhärenten Effekte der Tanninsäure und bestimmter pflanzlicher Extrakte erforscht (Hertel et al., 2017; Weber et al., 2015). Dies wurde auf bovinen Schmelzprüfkörpern getestet. Außerdem konnte bereits gezeigt werden, dass konventionelle Mundspüllösungen, die handelsübliche Fluoride enthalten, die Demineralisation reduzieren, antibakterielle Effekte haben und die initiale Biofilmbildung vor allem auf Dentin inhibieren (Hannig et al., 2013).

## 2.1 Literaturübersicht

### 2.1.1 Die Pellikel

#### a) Pellikel allgemein

Alle oralen Festkörperoberflächen, die dem Milieu der Mundhöhle ausgesetzt sind, werden von dem erworbenen Schmelzoberhäutchen, auch Pellikel genannt, überzogen. Die Bezeichnung „erworbenes Schmelzoberhäutchen“ wurde das erste Mal von Dawes und Mitarbeitern im Jahre 1963 eingeführt. Die Pellikel ist ein azellulärer Biofilm und setzt sich aus Lipiden, Peptiden, Proteinen und anderen Speichelbestandteilen sowie Bestandteilen der Sulkusflüssigkeit zusammen (Hannig and Joiner, 2006; Siqueira et al., 2007a). Die Pellikel ist von der bakteriellen Plaque zu unterscheiden. Die Plaque entsteht auf der Grundlage der Pellikel (Hannig and Hannig, 2007). Die Entstehung der Pellikel beginnt unverzüglich mit der Adsorption von einzelnen Peptiden und Proteinen nach der Zahnreinigung auf der gesäuberten Zahnoberfläche (Hannig and Hannig, 2014). Denn das Besondere an den Zahnoberflächen im Gegensatz zu anderen Oberflächen im menschlichen Organismus ist, dass keine Abschilferung oder Regeneration stattfinden. Die Bildung der Pellikel lässt sich zum leichteren Verständnis in mehrere Teilschritte aufteilen. Anfangs erfolgt eine spontane Adsorption von Speichelproteinen, die nur wenige Sekunden dauert. Die Schmelzoberfläche interagiert mit den Speichelproteinen über elektrostatische Wechselwirkungen, sodass eine Schicht entsteht, die zwischen 10 und 20 nm dick ist (Hannig and Joiner, 2006).

Da die Schmelzoberfläche in ständigem Austausch mit dem elektrolythaltigen Speichel steht, gehen die Ionen des Schmelzes teilweise in Lösung. Die Phosphat- und Calciumionen des Schmelzes weisen allerdings eine unterschiedliche Löslichkeit auf, sodass eine positiv geladene Schicht aus Calciumionen auf der Schmelzoberfläche verbleibt, da die Phosphationen nicht so schnell in Lösung gehen. Sogenannte Pellikel-Präkursoren, wie Statherin, Histatin und die prolinreichen Proteine, haben eine große Affinität zu dieser geladenen Oberfläche. Es findet ein Ionenaustausch dieser Pellikel-Präkursoren mit den Phosphationen der Oberfläche statt und die Proteine adsorbieren mittels Calciumbrücken und elektrostatischen Interaktionen. Zusätzlich können während der initialen Biofilmbildung, die sich zwischen 30 s und 3 min vollzieht, Enzyme wie Amylase, Cystatine, Lysozym, Carboanhydrasen oder Lactoferrin nachgewiesen werden. Die initiale Pellikelbildung ist also durch elektrostatische sowie hydrophobe Wechselwirkungen und Van-der-Waals-Kräften gekennzeichnet (Hannig and Hannig, 2007; Hannig and Joiner, 2006). Die zweite Phase der Pellikelbildung ist deutlich langsamer als die erste Phase.

Es folgt eine kontinuierliche Anlagerung von weiteren Molekülen, die durch Wechselwirkungen von Proteinen und Proteinagglomeraten erfolgt. Diese Adsorption erreicht nach 30 bis 90 min ein Plateau (Hannig, 1997). Es ist davon auszugehen, dass die schnelle Zunahme der Pellikeldicke vor allem durch Proteinagglomerate und nicht durch einzelne Proteine zustande kommt. Die meisten Parotisproteine bilden mizellenartige Strukturen, die zwischen 100 und 200 nm groß sind. Man geht davon aus, dass die Mizellen eine negativ geladene Oberfläche und einen hydrophoben Kern haben (Young et al., 1999). Im Speichel sind verschiedene heterotype Komplexe, bestehend aus Proteinen wie Amylase, Lysozym, prolinreichen Proteinen, Cystatin und Statherin, die nicht kovalent gebunden sind, vorgefunden worden. Deshalb nimmt man an, dass diese heterotrope Komplexe ebenso an der Pellikelbildung beteiligt sind. Sie sind ein Reservoir für die Pellikel-Präkursor-Proteine und schützen sie möglicherweise vor dem proteolytischen Abbau durch Speichelproteine (Vitkov et al., 2004).

Im Elektronenmikroskop lassen sich die zwei Phasen der Pellikelbildung gut differenzieren. Man sieht eine basale, elektronendichte Schicht auf dem Schmelz, die von einer äußeren, nicht so elektronendichten globulären Schicht bedeckt ist (Hannig and Joiner, 2006).

Die Pellikelbildung ist ein dynamischer Prozess, der durch kontinuierliche Adsorptions- und Desorptionsprozesse, die Modifizierung von angelagerten Molekülen durch bakterielle und nicht bakterielle Enzyme sowie durch Komplexbildung mit anderen Makromolekülen beeinflusst wird (Vacca Smith and Bowen, 2000b).

Die Pellikel hat verschiedene schützende Komponenten und Funktionen, deren Vorteile man vor allem in der präventiven Zahnheilkunde zu nutzen versucht.

Sie überzieht die Zahnoberfläche als Lubrikant und reduziert die Friktion zwischen antagonistischen Zähnen, den Zähnen und der Mukosa (Aguirre et al., 1989; Hannig and Joiner, 2006).

Außerdem fungiert die Pellikelschicht als semipermeable Barriere. Sie reguliert die De- und Remineralisation der Schmelzoberfläche, indem sie die Säurediffusion und den Transport von Calcium- und Phosphationen in und aus der Oberfläche heraus beeinflusst (Zahradnik et al., 1976). Die Pellikelschicht bietet zusätzlich eine schützende Funktion gegen Demineralisation durch bakterielle Säuren und gegen erosive Angriffe und kann die Demineralisation des Schmelzes verzögern und auch verringern (Hannig and Balz, 1999; Hannig and Balz, 2001; Hannig et al., 2003; Zahradnik et al., 1976). Die Pellikel kann die erosiven Angriffe jedoch nicht vollständig verhindern (Hannig, 2002; Hannig et al., 2004).

Man geht davon aus, dass die Fähigkeit der Pellikel vor Erosionen zu schützen mit ihrer Dicke, aber auch ihrer Zusammensetzung, zusammenhängt (Hannig and Joiner, 2006).

Es konnte ebenso gezeigt werden, dass eine Pellikel, die nach 3 Minuten Reifungszeit in der Mundhöhle gebildet wurde, fast dieselbe Schutzfunktion aufweist wie eine Pellikel nach 2 h Reifungszeit. Man kann also davon ausgehen, dass eine längere Reifungszeit der Pellikel die schützenden Funktionen nicht deutlich verbessert (Hannig et al., 2004).

Zusätzlich beeinflusst die Pellikelschicht den Vorgang von mineralischen Ausfällungen auf der Schmelzoberfläche und die bakterielle Adhärenz an der Zahnoberfläche (Hannig and Joiner, 2006; Zahradnik, 1979).

Die Zusammensetzung der Pellikel aus Speichelbestandteilen kann durch die Ernährung und durch manche Ernährungsbestandteile beeinflusst werden (Ryke and Sonju, 1991; Vacca Smith and Bowen, 2000b; van der Mei et al., 2002). So konnten Unterschiede in der Zusammensetzung der Pellikel gezeigt werden, die mit den unterschiedlichen Mundhygiene- und Ernährungsgewohnheiten der Individuen zusammenhängen (Hannig and Joiner, 2006).

### b) Pellikel speziell auf Dentin

Die in der Vergangenheit erhobenen Studien zur Pellikelbeschaffenheit und ihrer Funktionen waren jedoch meist auf Schmelzprüfkörper bezogen (Hara et al., 2006). Obwohl der Einfluss der Pellikel auf das Dentin klinisch von großer Bedeutung ist, besonders für Symptome wie freiliegende Zahnhälse und durch Attrition freigelegtes Dentin (Abbas et al., 1985; Hannig et al., 2007; Wetton et al., 2006), gibt es aktuell nur sehr wenige Daten, die sich mit dem schützenden Effekt der Pellikel gegen Erosionen auf dem Dentin beschäftigen (Hall et al., 1999; Wetton et al., 2006).

Der Artikel „Protective effect of the *in-situ*-pellicle on dentin erosion-an *ex vivo* pilot study“ beschäftigt sich nun mit der Thematik der protektiven Eigenschaften der Pellikel auf Dentin (Hannig et al., 2007). Die Pellikel, die sich auf dem Dentin bildete, wurde als locker strukturierte, globuläre Schicht von 300-750 nm Dicke identifiziert, die einer elektronendichten basalen Schicht von ca. 60 nm aufliegt (Hannig et al., 2007). Diese Pellikelschicht hatte nur ein beschränktes Potential, das darunterliegende Dentin vor erosiven Angriffen zu schützen. Die 2 h-Pellikel schien eher wie ein durchlässiges Netz und nicht wie eine Diffusionsbarriere zu funktionieren (Hannig et al., 2007).

### c) Modifizierung der Pellikel

Eine neue Herangehensweise, die Zahnoberflächen vor Erosionen zu schützen, ist es, die Zusammensetzung der Pellikel zu verändern und damit ihre schützenden Eigenschaften zu

verstärken. Nahrungsbestandteile wie z.B. Polyphenole, Lipide, oder Casein können in die Pellikel eingelagert werden und somit ihre protektive Wirkung verbessern (Barbour et al., 2008; Cheaib and Lussi, 2011; Hemingway et al., 2010; Joiner et al., 2003; Kensche et al., 2013; White et al., 2011). In früheren Experimenten konnte bereits gezeigt werden, dass polyphenolhaltige Agenzien zu einer Erhöhung der Pellikeldicke führen, denn die Polyphenole bewirken die Ausfällung und Ablagerung von Speichelproteinen, die dann in die Pellikel eingebaut werden und somit zu einer Zunahme der Pellikeldicke führen. Außerdem reduzieren Polyphenole die Löslichkeit der adsorbierten Proteine auf der Zahnoberfläche, indem sie Querverbindungen zwischen den eingebauten Polyphenolen bilden (Joiner et al., 2006; Joiner et al., 2003). Diese dickere Pellikelschicht kann den Zahn nun besser vor erosiven Angriffen schützen.

Jedoch liegen aktuell nur sehr wenige wissenschaftliche Daten vor, die sich mit der Modifizierung der Pellikel beschäftigen (Hannig and Hannig, 2014).

### 2.1.2 Erosion – Grundlagen und Ätiologie

Grundsätzlich handelt es sich bei Erosionen um einen pathologischen Prozess. Durch dauerhaftes und lokalisierendes Einwirken von Säuren und Chelatbildnern auf die Zahnoberflächen, kommt es zum Verlust von Zahnhartsubstanz. Dies geschieht ohne den Einfluss von Bakterien oder deren Stoffwechselprodukte (ten Cate and Imfeld, 1996).

Man kann zwischen extrinsischen und intrinsischen Säuren unterscheiden, welche die Erosionen verursachen. Zu den intrinsischen Säuren zählt man beispielsweise die Magensäure, die durch Refluxerkrankungen, aber auch durch Bulimie in den Mundraum gelangen kann. Zu den extrinsischen Säuren gehören unter anderem Säuren aus Nahrungsmitteln oder Getränken sowie durch Umwelteinflüsse einwirkende Säuren (Lussi et al., 2002). Der Erosionsverschleiß der Zähne ist kein neues Phänomen, aber aufgrund von sinkenden Karieszahlen in vielen Industrienationen und dem erheblichen Anstieg des Konsums von säurehaltigen Getränken und Nahrungsmitteln, kommt der Erosion eine vermehrte Bedeutung in der Zahnmedizin zu (Asher and Read, 1987; Jarvinen et al., 1991; Lussi and Schaffner, 2000; Milosevic et al., 1997).

Die Prävalenz von Erosionen in der Bevölkerung ändert sich mit dem Alter: Die Zunahme von Erosionen ist in der älteren Bevölkerung stärker zu beobachten als bei der jüngeren Bevölkerung (Lussi and Schaffner, 2000).

Wichtige Faktoren, die einen potentiellen Einfluss auf das erosive Potenzial haben, lassen sich grob in 3 Gruppen einteilen: Die chemischen Faktoren, die biologischen Faktoren und die verhaltensgesteuerten Faktoren. Zu den chemischen Faktoren werden der pH-Wert, die Pufferkapazität, die Art der Säure, das Adhäsionsverhalten der Nahrungsmittel an der Zahnoberfläche sowie die Calcium-, Phosphat und Fluoridkonzentration der Nahrungsmittel gezählt. Die biologischen Faktoren beinhalten den Speichel (Zusammensetzung, den pH-Wert, die Fließrate, die Pufferkapazität sowie die mögliche Stimulationsrate), die Pellikel (die Dicke und die diffusionsverhindernden Eigenschaften), die Zahnstellung und Zahnzusammensetzung und die Weichgewebsmorphologie. Zur dritten Gruppe gehören die Essgewohnheiten, ein gesunder Lebensstil, der den Konsum von säurehaltigen Lebensmitteln und Gemüsen beinhaltet, exzessiver Genuss von säurehaltigen Getränken, anstrengende sportliche Aktivitäten, Diäten, nächtliches Trinken von säurehaltigen Getränken und besonders wichtig die oralen Hygienegewohnheiten (Lussi et al., 2002).

### 2.1.3 Reagenzien – ätherische Öle und Adstringenzien

#### a) Ätherische Öle

Bei dem in dieser Studie verwendeten theranovis® oral Spray, handelt es sich um eine Emulsion, die aus reinen Ölen besteht, welche mit Kräuterextrakten versetzt sind. theranovis® oral Spray setzt sich aus 72,25% Wasser, 25% Alkohol, 1,2% Pfefferminz Öl, 1,2% Rosmarin Öl, 0,05% Thymian Öl, 0,1% Traubenkernextrakt und 0,1% Grapefruitextrakt zusammen. Die aktiven Substanzen in dieser Emulsion sind Ätheröl, Fettsäure und Polyphenole. Laut der offiziellen Website der theranovis® GmbH wird das theranovis® oral Spray zur natürlichen Zahnsteinentfernung, zur Bekämpfung von Mundgeruch und Zahnfleischentzündung verwendet.

In der Vergangenheit wurde bereits eine Untersuchung durchgeführt, in der gezeigt werden konnte, dass 2%-ige Olivenölemulsionen einen schützenden Effekt gegen Erosionen auf Dentin als auch Schmelz haben (Wiegand et al., 2007). In anderen Versuchen wurde der Effekt von Speiseölen auf Schmelz untersucht und es konnte ein möglicher Nutzen für die präventive Zahnheilkunde festgestellt werden (Hannig et al., 2012; Kensche et al., 2013).

Ebenso konnte eine Modifizierung und Verbesserung der Dicke und der Elektrodendichte der Pellikel durch Pflanzenextrakte, wie Blätter der wilden Form der

schwarzen Johannisbeere und der wilden Form des Oregano, bereits nachgewiesen werden (Weber et al., 2015).

### b) Adstringenzen

Adstringenz kommt aus dem lateinischen „adstringere“ und bedeutet zusammenziehen. Der Begriff Adstringenz wird häufig im Zusammenhang mit Tanninen bzw. Gerbstoffen im Rotwein verwendet, da die Adstringenzen ein pelziges/ zusammenziehendes Gefühl auf der Zunge und den Mundschleimhäuten auslösen. Dabei handelt es sich um eine chemische Reaktion der Tannine mit der Mundschleimhaut. Tanninsäure hydrolysiert hauptsächlich zu Glykose und Gallussäure. Ihre adstringierende Wirkung erhält die Tanninsäure durch die polyphenolischen Gruppen. Bei den in dieser Studie verwendeten Adstringenzen handelt es sich um Tanninsäure. Tannine (meist bezeichnet als Tanninsäure) sind wasserlösliche Polyphenole, die in vielen Pflanzen, Saaten und Früchten vorkommen. Tannine sind beispielsweise in Saaten wie Sorghum Hirse, Gerste, Erbsen, in manchen Bohnensorten, in Früchten wie Datteln, Grapefruits, Cranberrys und Pflanzen wie der Lotusblume, Buschklie oder Galläpfeln enthalten, um nur eine Auswahl zu nennen. Außerdem findet man Tanninverbindungen in Wein und Tee (Chung et al., 1998). Es gibt zahlreiche Studien, welche sich mit der Wirkung von Tanninen auf verschiedene Prozesse im menschlichen und tierischen Organismus beschäftigen. Tannine werden mit vielen positiven, medizinischen Eigenschaften in Verbindung gebracht (Aguerre et al., 2016; Bee et al., 2016; Bilic-Sobot et al., 2016; Candek-Potokar et al., 2015; Caruana et al., 2016; Chang et al., 2017; de Morais Cardoso et al., 2017; Henke et al., 2017; Minieri et al., 2016; Villalba et al., 2016). Tannine haben einen geringen Nährstoffgehalt und ziehen eine verminderte Nahrungsaufnahme und verringerte Nahrungsverwertung nach sich. Viele Inhaltsstoffe der Tannine scheinen eine antimutagene und antikarzinogene Wirkung zu haben, die mit dem antioxidativen Potenzial derselben zusammenhängt. Tannine hemmen das Wachstum von Pilzen, Hefen, Viren und Bakterien. Diese antimikrobielle Wirkung der Tannine wird von den Pflanzen als natürlicher Schutzmechanismus vor mikrobiellen Infektionen genutzt (Chung et al., 1998).

Die Gruppe der Polyphenole, zu welcher auch die Tannine gehören, ist auch in der Zahnheilkunde von großer Relevanz. In einer Studie wurde der antikariogene Effekt von Polyphenolen nachgewiesen, indem Ratten, die im Laufe der Studie mit

Streptococcus mutans infiziert wurden, mit kariogener Nahrung, die mit Polyphenolen aus grünem Tee versetzt war, gefüttert wurden (Otake et al., 1991). Eine Kontrollgruppe erhielt Nahrung ohne Polyphenole. Die Gruppe, die Nahrung mit Polyphenolen erhielt, wies geringere Karieszahlen auf (Otake et al., 1991). Ebenso konnte die antibakterielle Wirkung von polyphenolhaltigen Verbindungen auf Escherichia coli, Streptococcus salivarius und Streptococcus mutans gezeigt werden (Rasheed and Haider, 1998). Polyphenolhaltiger Cistustee reduziert die bakterielle Kolonisation und die Enzymaktivitäten der *In-situ*-Pellikel und des initialen Biofilms. Man könnte polyphenolhaltige Agenzien möglicherweise zur Reduktion der initialen Bakterienadhärenz in der Mundhöhle verwenden (Hannig et al., 2009; Hannig et al., 2008; Hertel et al., 2017).

## 2.2 Fragestellung

Frühere Studien haben bereits die protektive Eigenschaft der Pellikel auf Dentin gegen Säureangriffe und den damit verbundenen Mineralverlust gezeigt (Magalhaes et al., 2009; Wiegand et al., 2008a). Die schützenden Eigenschaften der Pellikel konnten in der Vergangenheit modifiziert und auch verbessert werden (Cheaib and Lussi, 2011; Kensche et al., 2013).

Polyphenolische Verbindungen und auch verschiedene Öle wurden in Verbindung mit der Pellikelmodifikation untersucht (Hannig et al., 2012; Hertel et al., 2017; Joiner et al., 2006; Joiner et al., 2004; Joiner et al., 2003; Kensche et al., 2013; Weber et al., 2015). Dabei konnten bereits positive Effekte der Tanninsäure auf die Pellikel gezeigt werden (Hertel et al., 2017), jedoch sind weitere Untersuchungen nötig, um diese Beobachtungen zu validieren.

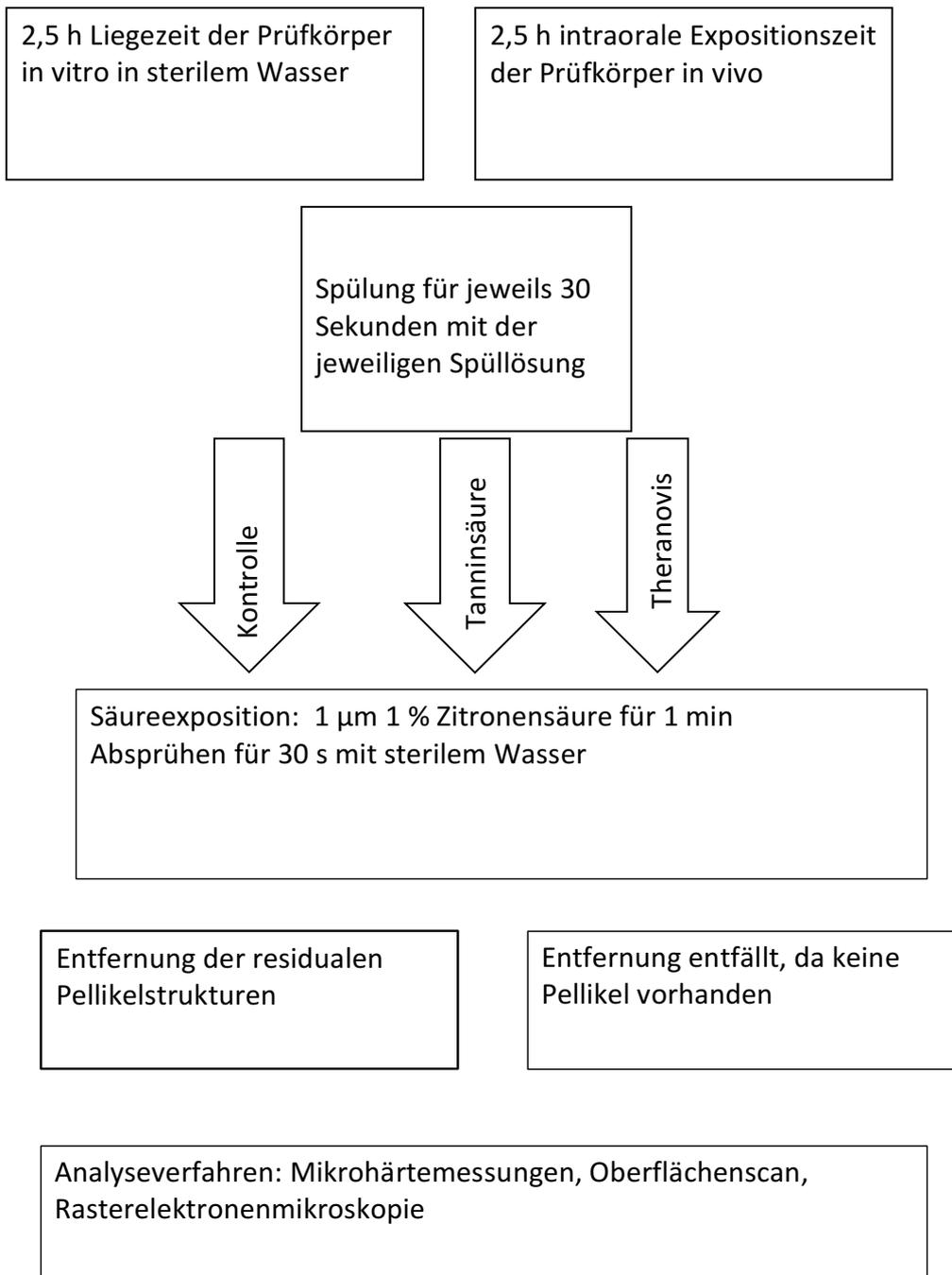
In dieser Studie soll nun untersucht werden, ob die Anwendung von theranovis® oral Spray und Tanninsäure einen Effekt oder eine Schutzfunktion auf die Pellikel / die Dentinoberfläche gegen erosive Säureangriffe hat. Dies soll mittels Mikrohärtmessungen nach Vickers, FRT-Oberflächenscans und mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops visuell untersucht werden. Bei den ersten beiden Verfahren handelt es sich um quantitative Verfahren, bei letzterem um ein qualitatives Verfahren.

### 3 Material und Methode

#### 3.1 Versuchsaufbau

Der Versuchablauf ist im Folgenden vereinfacht grafisch dargestellt.

Versuchsablauf:



## 3.2 Grundlagen für die Gewinnung der Dentinprüfkörper

### 3.2.1 Herstellung, Reinigung und Aufbewahrung der Prüfkörper

Zur Herstellung der bovinen Dentinprüfkörper wurden frisch extrahierte permanente Schneidezähne von 2 Jahre alten, BSE negativ getesteten Rindern, welche im Schlachthof Zweibrücken zu Lebensmitteln weiterverarbeitet wurden, verwendet. Die Zähne werden nach der Extraktion in 0,1%-iger Thymollösung bei 4 °C gelagert. Mit Hilfe von wassergekühlten Diamanttrennscheiben (Schleiftrennmaschine WOCO 50p, Conrad GmbH, Clausthal, Deutschland) wurden die Wurzeln der Rinderzähne abgetrennt. Nach Teilung der Krone in der Frontalebene wurden die Inzisalkanten sowie die mesialen und distalen Approximalflächen der Labialflächen der Zahnkronen abgetrennt. Diese Zahnstücke wurden je nach Größe in 2 bis 6 rechteckige Prüfkörperrohlinge zerteilt. Im weiteren Verlauf wurden unter Verwendung eines Nassschleifgerätes (Phoenix 3000 Variable Speed Grinder-Polisher, Illinois, USA) die Dentin- und die Schmelzseite plan geschliffen. Die Außenkanten der Prüfkörper wurden dazu rechteckig geschliffen. Nach Ausdünnung und Markierung der Schmelzseite mit Bleistift wurde die Dentinoberfläche mit Silikonkarborundpapier (Waterproof Silicon Carbide Paper, Struers GmbH, Willich, Deutschland) mit aufsteigendem Grit (240, 600, 800, 1200, 2500 und 4000) und bei einer Umdrehungszahl von 300 U/min – 600 U/min unter kontinuierlicher Wasserkühlung poliert. Zur Kontrolle der Unversehrtheit der Dentinprüfkörper wurde ein Auflichtmikroskop (Zoom-Stereomikroskope SMZ 168 Series, Motic GmbH, Wetzlar, Deutschland) mit 12-facher Vergrößerung verwendet. Die entstandenen Dentinprüfkörper haben eine minimale Dicke von 1 mm und sind circa 2 x 4 mm groß. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Prüfkörper im Kühlschrank bei 4 °C und in 0,1%-iger Thymollösung gelagert. Vor Benutzung der Prüfkörper wurden sie erneut auf 4000 Grit poliert und nach Reinigungsprotokoll gereinigt, um Rückstände der Lagerung zu entfernen. Dazu wurden die Prüfkörper für 30 s in Wellplatten (Well Cell-Culture Plate, Greiner bio-one GmbH, Frickenhausen, Deutschland) die mit 3% NaOCl (Natriumhypochlorit-Lösung 3% DAC 500ml, Hedinger, Stuttgart, Deutschland) befüllt waren, gelegt und danach so lange unter fließendem VE-Wasser gereinigt, bis die Proben geruchlos waren. Danach wurden sie in Eppendorf- Reaktionsgefäßen (Eppendorf Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) für 15 min in 70%-igem Isopropylalkohol gelegt sowie 2-mal mit sterilem Wasser (Aqua B.Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) gespült und für mindestens 6 h und maximal 3 Tage in sterilem Wasser bei 4 °C gelagert. Nach der Reinigung erfolgte die Standardisierung der Prüfkörper.

### 3.2.2 Standardisierung der Dentinprüfkörper

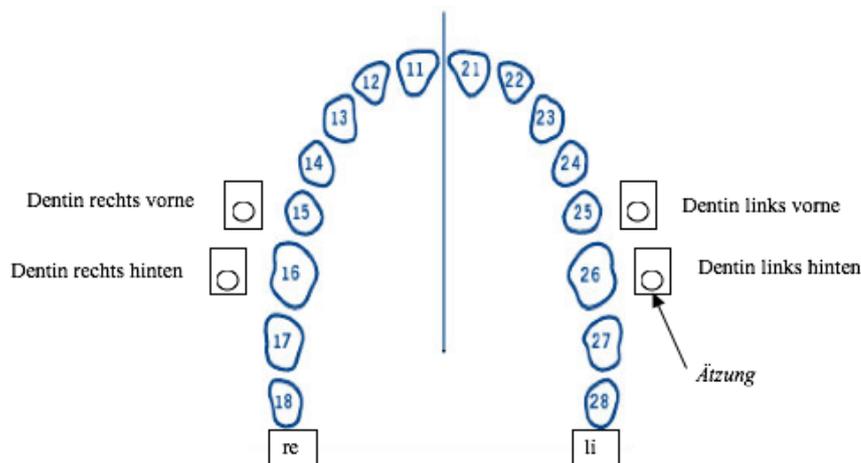
Bei den Dentinprüfkörpern handelt es sich um ein Naturprodukt. Um eine standardisierte Anzahl von Prüfkörpern zu erhalten, wurden vor der Verwendung der Prüfkörper Mikrohärtmessungen durchgeführt, um zu weiche oder zu harte Prüfkörper auszusortieren. Mithilfe eines Vickers-Härtmessgerätes (Struers Duramin 5 Microhardnesstester, Serien-Nummer 5655124, Struers A/S, DK-2610 Redovre, Denmark) wurden pro Prüfkörper an 5 verschiedenen Stellen mit einer Pressload von 100 P und einer Presstime von 10 s Mikrohärtmessungen vorgenommen. Um eine Mikrohärtmessung nach Vickers (DIN EN ISO 6507,2006) durchzuführen, wird die Materialprobe mit einem definierten Indentationskörper über einen festgelegten Zeitraum und mit einer bestimmten Kraft belastet. Bei dem Indentationskörper handelt es sich um eine vierflächige Pyramide mit einem Öffnungswinkel von 136 °. Die Impression auf der Prüfkörperoberfläche, die aus diesem Vorgang resultiert, gibt mit ihrem Durchmesser die Eindringtiefe des Indentationskörpers und damit die „Härte“ der Probe an. Die angewendete Kraft ist direkt proportional zur Größe der Impression, sodass sich der Vickers-Härtewert aus der mathematischen Formel  $HV = 0,102 F/A$  ergibt. Der Härtewert der Prüfkörper sollte zwischen 40 und 60 liegen. Prüfkörper, die über oder unter diesen Werten lagen, wurden aussortiert. Bis zur Montierung auf den Trageschienen wurden die Dentinprüfkörper in 30% Ethanol (Ethanol, Carl Roth GmbH+Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) gelagert.

### 3.2.3 Herstellung der Trägerschienen und Fixierung der Prüfkörper

Auf Oberkiefermodellen der Probanden wurden im Tiefziehverfahren (Erkopress ES 2004, Erkodent GmbH, Pfalzgrafenweiler, Deutschland) mit hartelastischen, transparenten Duran®-Folien 1,0 x 125 mm (Scheu-Dental, Iserlohn, Deutschland) individuelle Trägerschienen hergestellt. Diese wurden so gekürzt, dass sie den Gaumen nicht bedeckten. Sie umfassten den Bereich vom 1. Prämolaren bis zum 2. Molaren, jeweils im I. und II. Quadranten (Hannig, 1997; Hannig, 1999). Die Dentinprüfkörper wurden bukkal auf den Trägerschienen mit dem A-Silikon President light body (Coltène/Whaledent GmbH und Co.KG, Langenau, Deutschland) fixiert. Die präparierten Trägerschienen (siehe Abb. 1) wurden bis zum Versuchsbeginn in geschlossenen mit sterilem Wasser befüllten Kunststoffbehältnissen gelagert. Zwischen den einzelnen Versuchsreihen wurden die Trägerschienen für mindestens 10 min in 70%-iges Propanol (2-Propanol 70%, Otto Fischar GmbH & Co.KG, Saarbrücken, Deutschland) gelegt und ins Ultraschallbad (Sonorex, Typ RK31, SN 329.00104706.019, Bandelin, Berlin, Deutschland) gestellt.



**Abb. 1** Beispiel einer fertig vorbereiteten Prüfkörperschiene; die Prüfkörper wurden mit dem Silikon President befestigt.



**Abb. 2** Muster für die Anordnung der Prüfkörper auf der Schiene für die intraorale Exposition

### 3.2.4 Herstellung der verschiedenen Spüllösungen

Bei den verwendeten ätherischen Ölen handelte es sich um theranovis® Oral Spray. (Inhaltsstoffe: 72,25% Wasser, 25% Alkohol, 1,2% Pfefferminz Öl, 1,2% Rosmarin Öl, 0,05% Thymian Öl, 0,1% Traubenkernextrakt und 0,1% Grapefruitextrakt).

Bei dem angewendeten Adstringenz handelte es sich um 1%-ige Tanninsäurelösung. Zur Herstellung von 1%-iger Tanninsäurelösung wurden 0,1 g Tanninsäurepulver (Tannic Acid, Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) und 9,9 ml steriles Wasser (Aqua B.Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) mit einer sterilen Pipette in einen 15 ml-Falkon gegeben. Das Pulver und das Wasser wurden mit dem Vortex-Gerät (Model G-560E, Serial #269686, Scientific Industries Inc., Bohemia, N.Y., USA) gemischt, bis eine Lösung entstanden war.

Für die Kontrollreihe wurde steriles Wasser (Aqua B.Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) verwendet.

### 3.3 Gewinnung der *In-situ*-Prüfkörper

#### 3.3.1 Probanden

Es haben 5 Probanden (4 weiblich, 1 männlich, zwischen 23 und 35 Jahren alt) an den Versuchen teilgenommen, wobei eine Probandin aufgrund späterer Kariesaktivität von der Versuchsreihe ausgeschlossen werden musste. Die 4 restlichen, für die Studie ausgewählten Probanden, wiesen eine gute Mundgesundheit auf, was zwingend nötig für die Teilnahme war. Es durften weder Kariesaktivität noch parodontale Erkrankungen vorliegen. Die Erhebung der allgemeinen und speziellen Anamnese ergab keine Auffälligkeiten bezüglich Medikamenteneinnahme oder verminderten Speichelflusses.

Die Probanden wurden vor Beginn der Versuchsreihe über Ess- und Trinkverhalten sowie Mundhygieneverhalten während der Versuchsreihe aufgeklärt.

Vor Versuchsbeginn lag bereits das positive Votum der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes für die Durchführung der vorliegenden Studie vor (Kenn.-Nr. 238/03, 2012).

#### 3.3.2 Versuchsbedingungen

1,5 h vor Versuchsbeginn putzten die Probanden die Zähne mit handelsüblicher Zahnpasta. 30 min vor Versuchsbeginn wurden die Zähne ohne Zusatz von Zahnpasta geputzt, um Zahnpastarückstände zu entfernen. Dazu verwendeten die Probanden Einmalzahnbürsten (Einmal Zahnbürste, REF 101135 Centramed, Koblenz, Deutschland), welche vorher von Zahnpastarückständen unter fließendem Wasser gereinigt wurden.

Die intraorale Expositionszeit betrug 2,5 h. Zu Beginn jeder *In-situ*-Versuchsreihe wurden die Prüfkörperschienen von den Probanden vorsichtig und ohne Berührung der Prüfkörperoberflächen in den Mund eingesetzt. Die Probanden bekamen vor jeder *In-situ*-Versuchsreihe 5 x 15 ml-Falkons mit jeweils 10 ml sterilem Wasser, Tanninsäurelösung oder theranovis®, je nach Versuchsrunde, ausgehändigt.

#### 3.3.3 Spülung mit unterschiedlichen Reagenzien

##### a) *Kontrollspülung mit sterilem Wasser*

In der *In-situ*-Kontrollversuchsreihe wurde mit sterilem Wasser (Aqua B.Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) gespült.

3 Minuten nach dem Einsetzen der Schienen wurde das erste Mal für 30 s mit 10 ml sterilem Wasser gespült. Dieser Vorgang wurde jeweils nach 30 min, 60 min, 90 min

und 120 min wiederholt. Nach 150 min wurden die Schienen vorsichtig, ohne Berührung der Prüfkörperoberflächen, aus der Mundhöhle entnommen.

b) *Spülung mit Tanninsäurelösung*

In einer weiteren *In-situ*-Versuchsreihe wurde mit Tanninsäurelösung gespült. Es wurde das erste Mal nach 3 min intraoraler Expositionsdauer der Schienen für 30 s mit 10 ml TS gespült. Dies wurde jeweils nach 30 min, 60 min, 90 min und 120 min wiederholt. Nach 150 min wurden die Schienen ebenso vorsichtig und ohne Berührung der Prüfkörperoberflächen entnommen.

c) *Spülung mit theranovis®*

In der dritten *In-situ*-Versuchsreihe spülten die Probanden mit theranovis®. Die Anzahl und Dauer der Spülung erfolgte, wie bei der Kontrollspülung und der Spülung, mit Tanninsäurelösung.

Nach Entnahme der Prüfkörper aus dem Mund wurden diese vorsichtig mithilfe einer Drucksprühflasche (Drucksprüher, Bürkle GmbH, Bad Bellingen, Deutschland) ohne Druck mit sterilem Wasser abgespritzt, um Speicherrückstände, aber nicht die Pellikel zu entfernen. Dann wurden die Prüfkörper mit der Schmelzseite nach unten auf einem fusselfreien Tuch (VWR Light Duty Tissue Wipers, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) kurz luftgetrocknet, solange bis die Dentinoberseite trocken war. Die Lufttrocknung erfolgte, damit der danach applizierte Säuretropfen nicht durch Flüssigkeit verdünnt wurde.

### 3.4 Gewinnung der *In-vitro*-Prüfkörper

Für die *In-vitro*-Versuchsreihe wurden Wellplatten, befüllt mit sterilem Wasser, vorbereitet, sowie eine 6 er Wellplatte mit jeweils 2 Fächern, befüllt mit Tanninsäurelösung oder theranovis®.

Zu Anfang der *In-vitro*-Versuchsreihe wurden je Spüllösung und Kontrolle 2 Dentinprüfkörper in Wellplatten gelegt, welche mit sterilem Wasser befüllt waren, sodass die Prüfkörper komplett mit Wasser bedeckt waren. Die Prüfkörper der Kontrollgruppe verblieben für 2,5 h in den Fächern mit sterilem Wasser.

Die Prüfkörper (jeweils 2) der Tanninsäure- und der theranovis®- Gruppe wurden nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min für jeweils 30 s in ein Fach der Wellplatte gelegt, welches mit der entsprechenden Spüllösung befüllt war. Bevor und nachdem die Prüfkörper für 30 s in die Tanninsäure- oder theranovis®- Spüllösung eingebracht wurden, wurden sie vorsichtig mit fusselfreien Tüchern getrocknet, damit keine Verdünnung der Spüllösungen sowie keine Verunreinigung des sterilen Wassers stattfand. Dann wurden sie wieder in das jeweilige Fach der 6 er Wellplatte, die mit sterilem Wasser befüllt war, gelegt.

Nach 150 min wurden die Prüfkörper aus dem sterilen Wasser entnommen und kurz luftgetrocknet, bevor sie der künstlichen Erosion unterzogen wurden.

### 3.5 Künstliche Erosion der Prüfkörper

Jeder Prüfkörper der *In-situ*-, als auch der *In-vitro*-Versuchreihe wurde *ex situ* halbseitig mit 1 µl 1%-iger Zitronensäure (Citric acid analytical grade 38640, Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland) für 1 min geätzt. Danach wurde die Zitronensäure für 30 s ohne Druck mit sterilem Wasser abgespült.

### 3.6 Entfernung der Pellikel der *In-situ*-Proben

Zur Entfernung der Pellikel wurden die erodierten Proben in Eppendorf-Reaktionsgefäße (Safe-Lock Tubes 2,0 ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) gelegt, die mit jeweils 500 µl Tritonlösung befüllt worden waren. Zur Herstellung von 4 ml Tritonlösung wurden 400 µl Tris-HCl-NaCl-Puffer (Tris Pufferan®≥99,5% p.a., Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe, Deutschland), 40 µl Triton x 100 (Triton x 100 reinst., Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe, Deutschland) und 3560 µl steriles Wasser gemischt. Die Proben wurden für 5 s gevortext, bevor sie für 5 min auf Eis gekühlt wurden. Danach wurden sie in mit RIPA-Puffer befüllte Eppendorf-Reaktionsgefäße gelegt und abermals für 5 s gevortext. Um 4 ml RIPA-Puffer herzustellen wurden 400 µl RIPA Buffer mit 3600 µl sterilem Wasser gemischt. Nach 5 min im eisgekühlten Ultraschallbad wurden die Proben erneut gevortext und der RIPA-Puffer wurde mit VE-Wasser abgespült.

Für 24 h wurden die Proben dann in Wellplatten luftgetrocknet.

Nachdem die Proben für 24 h getrocknet wurden, mussten sie zeitnah mittels FRT- Messgerät und Mikrohärtmessgerät ausgewertet werden, da die Gefahr der übermäßigen Versprödung der Prüfkörper an der Luft bestand und somit ein verfälschtes Ergebnis zu erwarten gewesen wäre.

## 3.7 Untersuchungsmethoden der gewonnenen Prüfkörper

### 3.7.1 FRT- Scan

Bevor die Proben untersucht wurden, wurden sie mit sterilem Wasser abgespült und vorsichtig auf fusselfreien Tüchern luftgetrocknet.

Mit dem FRT MicroProf (Fries Research & Technologie GmbH, Art. Nr. MPR 10099, Bergisch Gladbach, Deutschland) wurde die Oberfläche der Prüfkörper abgescannt, um die Rauigkeit der geätzten Seite von der Rauigkeit der ungeätzten Seite zu differenzieren, ebenso sollte der Volumenabtrag der Proben bestimmt werden. Hierfür wurden die Proben mit einer Auflösung von 20 µm einer interferometrischen Scanningmessung unterzogen. Hierzu wurde ein Sensor mit einem Scanbereich von 500 µm x 500 µm gewählt.

Danach konnten mit Hilfe der Software MarkIII (Fries Research & Technologie GmbH, Art. Nr. MPR 10099, Bergisch Gladbach, Deutschland) die unterschiedlichen Rauigkeiten der Proben bestimmt werden.

Bei dem FRT MicroProf handelt es sich um ein Oberflächentopographie- und Rauheits-Messgerät, das mit dem Prinzip der chromatischen Aberation arbeitet. Weißes Licht mit ausgeprägter chromatischer Aberation wird auf die Oberfläche des zu prüfenden Objektes gestrahlt. Das Licht, das auf die Prüfkörperoberfläche gelangt, wird mit unterschiedlichen Wellenlängen reflektiert, abhängig vom Abstand der Prüfkörperoberfläche. Die Wellenlänge des reflektierten Lichtes ergibt somit über eine Kalibrationstabelle die Entfernung des Sensors zur Probe. Wenn gehäuft Licht, einer bestimmten Wellenlänge, registriert wird, kommt es zu einem Peak. Die Entfernung zum Prüfkörper kann durch diesen Peak gemessen werden. So kann die Prüfkörperoberfläche dargestellt werden.

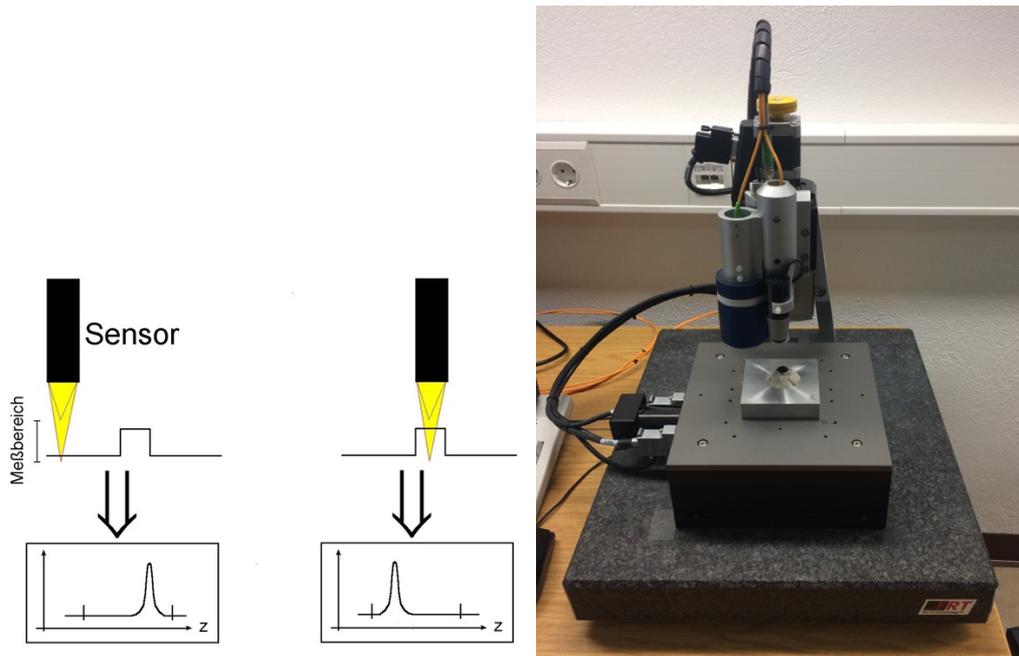


Abb. 3 links: Veranschaulichung des Messverfahrens des optischen Sensors. Je nachdem, welche Farbe des Lichtes auf der Oberfläche im Fokus liegt, ergeben sich unterschiedliche Messwerte im Spektrometer („Bedienungsanleitung FRT Micro Prof, 2009“) rechts: Abbildung des verwendeten FRT-Scanners

Nachdem die Prüfkörper mittels des FRT-Scanners abgescannt wurden, wurden sie mit der Datenanalysesoftware Mark III ausgewertet, und die Rauheit der Oberfläche bestimmt (siehe Bedienungsanleitung FRT Mark III Version 3.10).

Es wurden pro Proband 4 Prüfkörper je Spüllösung ( $n = 47$ ) ausgewertet. Für die *In-vitro*-Versuche wurden je Spüllösung 2 Prüfkörper ( $n = 6$ ) ausgewertet. Pro Prüfkörper wurden jeweils 4 Oberflächenmessungen durchgeführt. 2 Oberflächenmessungen erfolgten auf der ungeätzten Seite und 2 auf der geätzten Seite. Aus diesen beiden Messungen wurde für jeden Prüfkörper jeweils der Durchschnittswert für die ungeätzte Seite und einmal die geätzte Seite gebildet. Aus den 4 Prüfkörpern wurde für jeden Probanden erneut der Mittelwert für die geätzte als auch die ungeätzte Seite errechnet.

### 3.7.2 Mikrohärtemessung

Zum Vergleich der Härte der geätzten Areale der Prüfkörperoberfläche mit den ungeätzten Arealen der Prüfkörperoberfläche wurde abermals das Vickers-Härtmessgerätes (Struers Duramin 5 Microhardnesstester, Serien-Nummer 5655124, Struers A/S, DK-2610 Redovre, Denmark) verwendet. Es wurden dieselben Voreinstellungen wie bei der Standardisierung getroffen. (siehe Kapitel 3.2.2). Es wurden pro Proband 4 Prüfkörper je Spüllösung ( $n = 47$ ) ausgewertet. Für die *In-vitro*-Versuchsreihe wurden 2 Prüfkörper pro Spüllösung ( $n = 6$ ) verwendet. Pro Prüfkörper wurden jeweils auf 5 Stellen der ungeätzten Oberfläche und auf 5 Stellen der geätzten

Oberfläche des Prüfkörpers Mikrohärtmessungen durchgeführt. Diese 5 gemessenen Werte der jeweiligen Oberfläche wurden für jeden Prüfkörper gemittelt. Aus den 4 Prüfkörpern wurde für jeden Probanden ein Mittelwert (geätzt/ ungeätzt) errechnet.

### 3.7.3 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

#### a) *Vorbereitung der Proben*

Zum Transport und zur Lagerung wurden die Proben nach der Mikrohärtmessung in 30% -igem Ethanol (Ethanol, Carl-Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe, Deutschland) gelagert. Die Entwässerung der Proben erfolgte in einer aufsteigenden Ethanolreihe (50% → 2 x 10 min, 70% → 1 x 5 min, 80% → 1 x 5 min, 90% → 1 x 5 min, 100% → 2 x 10 min), bevor die Proben 30 min in Hexamethyldisilazane (Hexamethyldisilazane; 98,5%, abcr GmbH&Co.KG, Karlsruhe, Deutschland) eingelegt und dann über Nacht unter dem Abzug getrocknet wurden.

#### b) *Besputterung der Proben*

Anschließend wurden die Prüfkörper mittels eines leitfähigen Haftaufklebers (Plano Leit-Tabs, Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland) auf REM-Probeteller (0,5'' Aluminium Specimen Stubs, Agar Scientific Ltd, Essex, England) aufgebracht und mit Hilfe des Sputtercoaters (Model SCD 030, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar, Deutschland ehem. Bal-Tec) mit einer leitfähigen, ultradünnen Kohleschicht (Kohlegarn ca.0,7 g/m, Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland) besputtert.

#### c) *Rasterelektronenmikroskopische Analyse der Proben*

Zur Beurteilung der Oberflächenmorphologie vor und nach der Behandlung der Prüfkörper mit dem erosiven Reagenz wurde das Rasterelektronenmikroskop (FEI/Philips XL30 FEG ESEM with Electron Backscatter Diffraction analysis and Energy-Dispersive X-ray capability, FEI Corporate Headquarters, Oregon, USA) verwendet. Die Einstellungen für das Rasterelektronenmikroskop, wie der Neigungswinkel, die Spot Größe und der Scanmodus, wurden für alle Proben konstant gehalten.

Es wurden von jedem Prüfkörper eine Übersichtsaufnahme in 24-facher Vergrößerung und dann jeweils von der ungeätzten sowie von der geätzten Seite Aufnahmen in 500-, 1.000-, 5.000-, 10.000-, 20.000-facher Vergrößerung angefertigt. So konnten systematisch der erosive Einfluss der Zitronensäure auf die Dentinprüfkörper, im Vergleich zur

ungeätzten Seite der Prüfkörper, unter dem Einfluss der verschiedenen Spüllösungen untersucht werden.

Zum Vergleich wurden exemplarisch Dentinprüfkörper von einem Probanden, bei dem der Pellikel nicht entfernt, sondern fixiert wurde, mittels Rasterelektronenmikroskop untersucht.

### 3.8 Vorversuche und endgültige Festlegung der Methodik

Bis die endgültige Methodik schließlich feststand, mussten einige Vorversuche und Modifizierungen der Versuchsparameter vorgenommen werden.

#### 3.8.1 Vorversuch mit Pellikel

##### a) *Intraorale Exposition*

Es erfolgte keine Standardisierung der Dentinprüfkörper vor der intraoralen Exposition. Nach Insertion der Schienen, die mit jeweils 2 Dentinprüfkörpern links und rechts bestückt waren, in die Mundhöhle der Probanden, wurde nach 3 min mit der jeweiligen Spüllösung (Tanninsäurelösung, theranovis®, steriles Wasser) für 30 s gespült. Nach 30 min intraoraler Expositionszeit wurden die vorderen Prüfkörper von den Schienen (links und rechts) entfernt und für die weitere Untersuchung vorbereitet. Die Schiene wurde wiedereingesetzt und die Probanden spülten erneut für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung. Die Proben wurden für weitere 1,5 h im Mund belassen, bevor erneut für 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung gespült wurde. Dann wurden die Schienen aus der Mundhöhle genommen und die Proben ebenso vorbereitet.

Somit sind Proben mit 30 min intraoraler Expositionszeit und Proben mit 2 h intraoraler Expositionszeit entstanden.

##### b) *Säureerosion und Vorbereitung der Proben zur weiteren Analyse*

Die Dentinprüfkörper wurden für 1 min mit 1 µl 5%-iger Zitronensäure (Citric acid analytical grade 38640, Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland) halbseitig geätzt.

Nach der Säureexposition wurde der Pellikel mit der Fixierlösung für REM (2%-iges Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer) 2 h fixiert. Danach wurden die Proben 5-mal für 10 min in 0,1 M Cacodylat Puffer gespült. Bevor die Proben mittels FRT-Scan und Mikrohärtmessgerät untersucht wurden, wurden sie mit sterilem Wasser abgespült und kurz luftgetrocknet. Es folgte eine aufsteigende Ethanolreihe (50% → 2 x 10 min, 70% → 1 x 5 min, 80% → 1 x 5 min, 90% → 1 x 5 min, 100% → 2 x 10 min), bevor die

Proben 30 min in Hexamethyldisilazane (Hexamethyldisilazane; 98,5%, aber GmbH&Co.KG, Karlsruhe, Deutschland) eingelegt und dann über Nacht unter dem Abzug getrocknet wurden. Dann wurden die Proben mittels Rasterelektronenmikroskop untersucht.

### 3.8.2 Versuchsreihe mit und ohne Pellikel

#### a) *Intraorale Exposition*

Der Ablauf der *In-situ*-Versuchsreihe erfolgte wie bei den Vorversuchen. Die intraorale Expositionszeit betrug 2 h (siehe Kapitel 3.8.1).

#### b) *Vorbereitung der Proben zur weiteren Analyse*

Bei der Hälfte der Proben wurde nun die Pellikel fixiert, bei der anderen Hälfte wurde der Pellikel entfernt. Der Pellikel sollte zur besseren Inspektion der Dentinoberfläche der Proben unter dem Rasterelektronenmikroskop entfernt werden.

Dies sollte mittels 3% NaOCl (Natriumhypochlorid-Lösung 3% DAC 500 ml, Hedinger, Stuttgart, Deutschland) erfolgen. Jedoch konnte mit diesem Reagenz die Oberfläche der Proben nicht ausreichend von der Pellikelschicht befreit werden.

Zur endgültigen Entfernung der Pellikel wurden die erodierten Proben in Eppendorf-Reaktionsgefäße (Safe-Lock Tubes 2,0 ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) gelegt, die mit jeweils 500 µl Tritonlösung befüllt worden waren. Die Proben wurden für 5 s gevortext, bevor sie für 5 min auf Eis gekühlt wurden. Danach wurden sie in mit RIPA-Puffer befüllte Eppendorf-Reaktionsgefäße gelegt und abermals für 5 s gevortext. Nach 5 min im eisgekühlten Ultraschallbad wurden die Proben erneut gevortext und der RIPA-Puffer mit VE-Wasser abgespült. (Zur Herstellung des Triton- und RIPA-Puffers siehe Kapitel 3.6) Die andere Hälfte der Proben wurde fixiert. Nachdem die Proben einmal mit sterilem Wasser gespült wurden, erfolgte eine zweistündige Fixierung in 2%-iger Glutaraldehydlösung (in 0,1 M Cacodylatpuffer). Die Proben wurden 5-mal für jeweils 10 min mit 0,1 M Cacodylatpuffer gespült. Sowohl die gereinigten als auch die fixierten Prüfkörper wurden mit dem FRT und dem Rasterelektronenmikroskop nachuntersucht.

#### 3.8.2.1 Versuchsreihe mit Standardisierung und mit endgültigen Versuchsparametern

##### a) *Standardisierung*

Das genaue Procedere der Standardisierung ist in Kapitel 3.2.2 beschrieben.

*b) Intraorale Exposition*

Ab dieser Versuchsreihe wurden die endgültigen Versuchsparameter verwendet.

Die *In-situ*-Tragezeit der Schienen wurde auf 2,5 h verlängert. Die Spülungen mit Tanninsäurelösung, theranovis® oder dem sterilen Wasser wurden nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min und 120 min durchgeführt.

*c) Säureerosion und Vorbereitung der Proben zur weiteren Analysierung*

Die Nachbereitung der Proben erfolgte wie in der vorherigen Versuchsreihe (siehe Kapitel 3.8.3). Allerdings wurde die Konzentration der Zitronensäure auf 1% gesenkt.

Es wurden wieder die Hälfte der Proben fixiert, die andere Hälfte der Proben wurde von der Pellikel gereinigt. Die fixierten Proben wurden allerdings nicht mit dem FRT ausgewertet und nicht Mikrohärtmessungen unterzogen.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse der Vorversuche

#### 4.1.1 Ergebnisse Vorversuch mit Pellikel

##### a) FRT- Auswertungen

Die Ausgangsrauhigkeit der unerodierten Prüfkörper (*in-situ*) nach Spülung mit der Kontrollspülung betrug  $sRq = 0,09 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,06 \mu\text{m}$ , nach Spülung mit Tanninsäurelösung betrug  $sRq = 0,17 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,02 \mu\text{m}$  und nach Spülung mit theranovis® betrug  $sRq = 0,16 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,02 \mu\text{m}$ . Nach der Säureeinwirkung konnte, unabhängig davon mit welcher Spüllösung gespült wurde, bei fast jeder Messung eine Zunahme der Oberflächenrauhigkeit festgestellt werden.

Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Oberflächenmessungen ohne und mit Säureätzung der Probandenprüfkörper mit einer Expositionszeit von 30 min sowie 2 h sind in

Abb. 4 und Abb. 5 dargestellt.

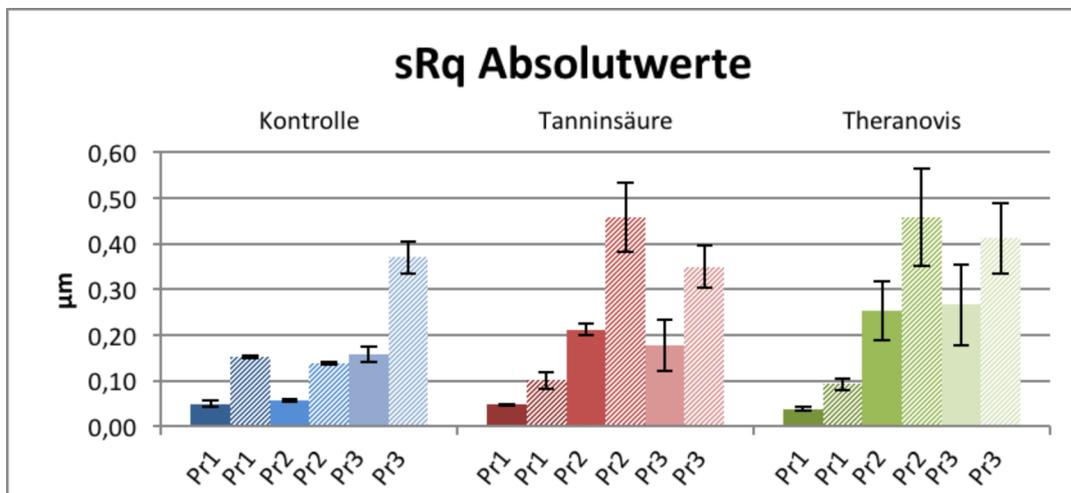


Abb. 4 Darstellung der Ergebnisse der sRq-Messungen der Vorversuche mit Pellikel. Eine Standardisierung der Dentinprüfkörper ist nicht erfolgt. Es sind jeweils die sRq Absolutwerte bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) aller Probanden (Pr1, Pr2, Pr3) dargestellt. Die unifarbene Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Alle Werte sind mit Standardabweichungen angegeben. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung; nach weiteren 30 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite Spülung für jeweils 30 s; nach Entnahme erfolgte die einminütige Ätzung mit 5%-iger Zitronensäure.

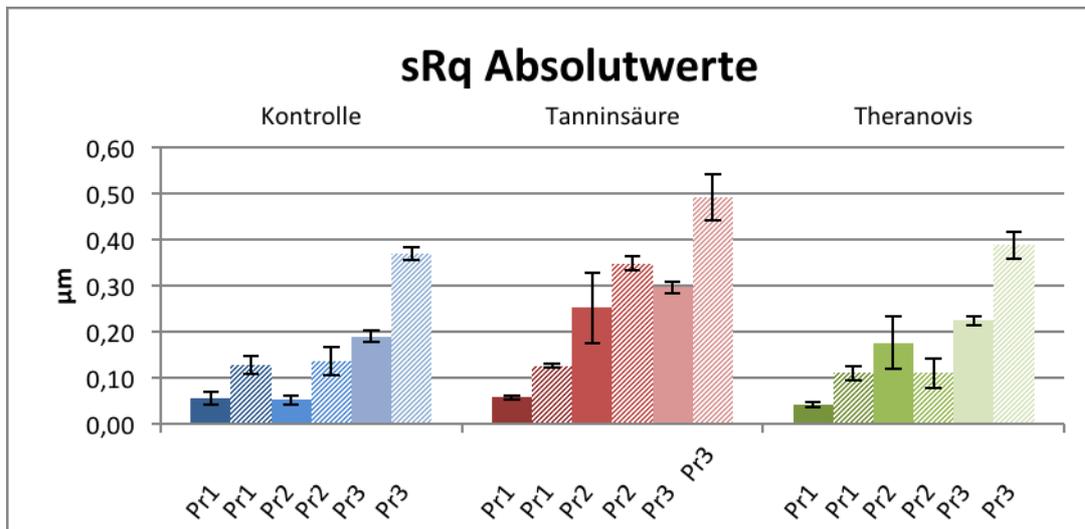


Abb. 5 Darstellung der Ergebnisse der sRq-Messungen der Vorversuche mit Pellikel. Eine Standardisierung der Dentinprüfkörper ist nicht erfolgt. Es sind jeweils die sRq-Absolutwerte bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und TheraNovis (grün) aller Probanden (Pr1, Pr2, Pr3) der *In-Situ*-Messungen dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Alle Werte sind mit Standardabweichungen angegeben. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung; nach weiteren 30 min und nach 1,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite und eine dritte Spülung für jeweils 30 s; nach zweistündiger intraoraler Exposition erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 5%-iger Zitronensäure.

#### b) Mikrohärtemessungen

Die Ausgangsmikrohärte der unerodierten Dentinprüfkörper (*in-situ*) betrug nach der Spülung mit Wasser 56,8 mit einer Standardabweichung von 9,07, die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper nach Spülung mit der Tanninsäurelösung betrug 48,1 mit einer Standardabweichung von 3,11 und die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper, die mit theranovis® gespült wurden, betrug 48,1 mit einer Standardabweichung von 1,34. Nach der Säureeinwirkung konnte, unabhängig davon mit welcher Spüllösung gespült wurde, bei fast jeder Messung eine Abnahme der Mikrohärte festgestellt werden. Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mikrohärtemessungen ohne und mit Säureätzung der einzelnen Probanden mit den Expositionszeiten von 30 min sowie 2 h sind in Abb. 6 und Abb. 7 dargestellt.

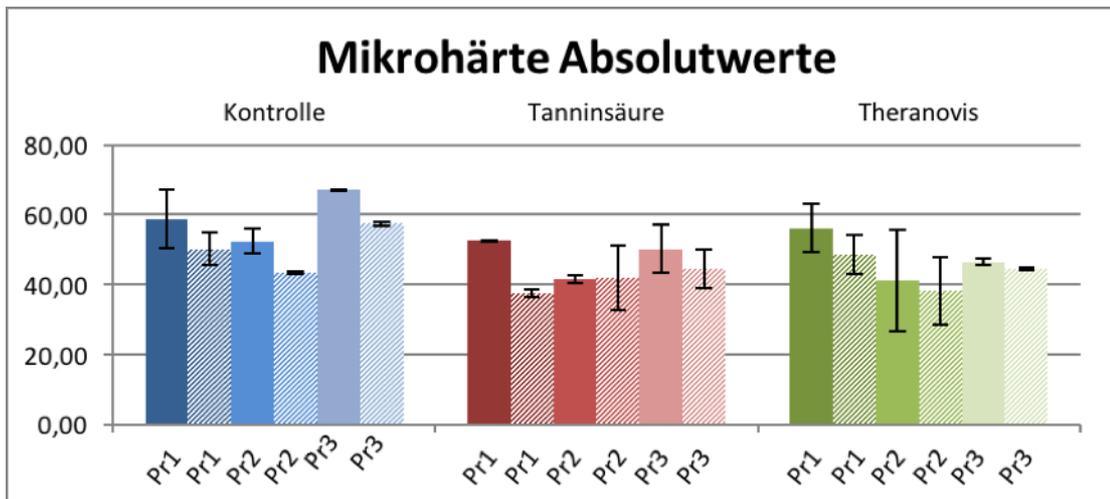


Abb. 6 Darstellung der Ergebnisse der Mikrohärtemessungen der Vorversuche mit Pellikel. Eine Standardisierung der Dentinprüfkörper ist nicht erfolgt. Es sind jeweils die Mikrohärte Absolutwerte bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) aller Probanden (Pr1, Pr2, Pr3) der *In-Situ*-Messungen dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Alle Werte sind mit Standardabweichungen angegeben. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung; nach weiteren 30 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite Spülung für jeweils 30 s mit der jeweiligen Spüllösung; nach Entnahme erfolgte die einminütige Ätzung mit 5%-iger Zitronensäure.

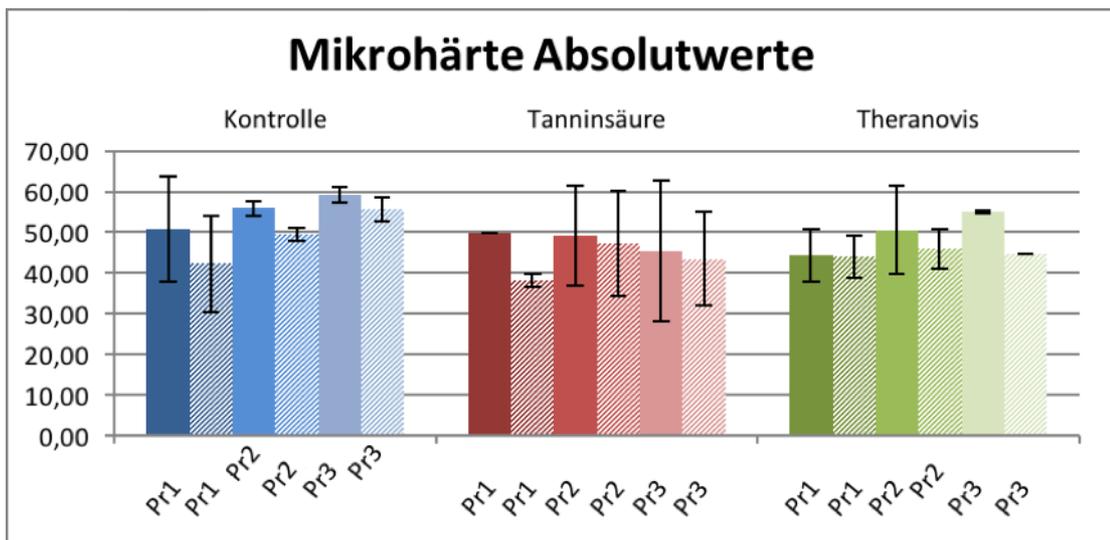


Abb. 7 Darstellung der Ergebnisse der Mikrohärtemessungen der Vorversuche mit Pellikel. Eine Standardisierung der Dentinprüfkörper ist nicht erfolgt. Es sind jeweils die Mikrohärte Absolutwerte bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) aller Probanden (Pr1, Pr2, Pr3) dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Alle Werte sind mit Standardabweichungen angegeben. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, nach weiteren 30 min und nach 1,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite und eine dritte Spülung für jeweils 30 s, nach zweistündiger intraoraler Exposition erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 5%-iger Zitronensäure.

## 4.1.2 Ergebnisse der Versuchsreihen mit und ohne Pellikel

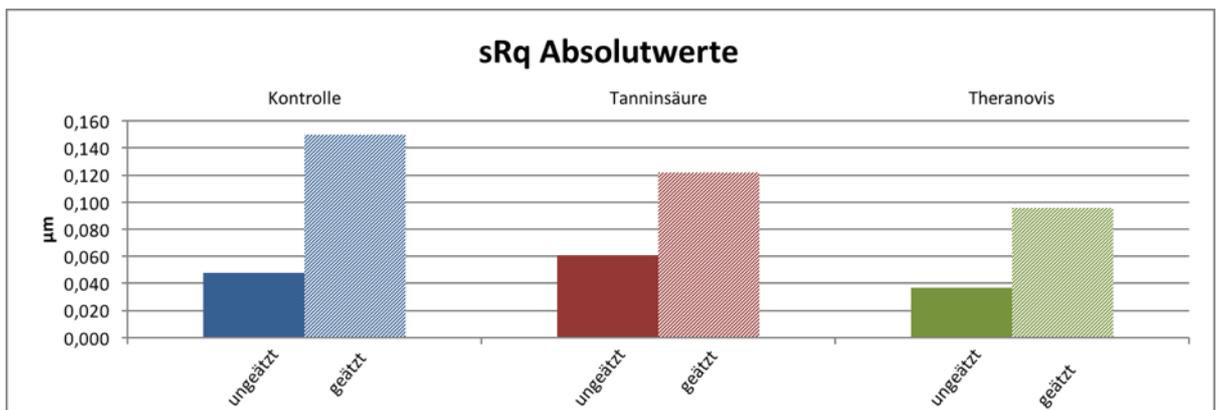
### a) FRT-Auswertungen

In dieser Versuchsreihe wurde die Pellikel bei der einen Hälfte der Prüfkörper fixiert, bei der anderen Hälfte der Prüfkörper entfernt. Dies ermöglicht einen direkten Vergleich der Prüfkörper mit und ohne Pellikel.

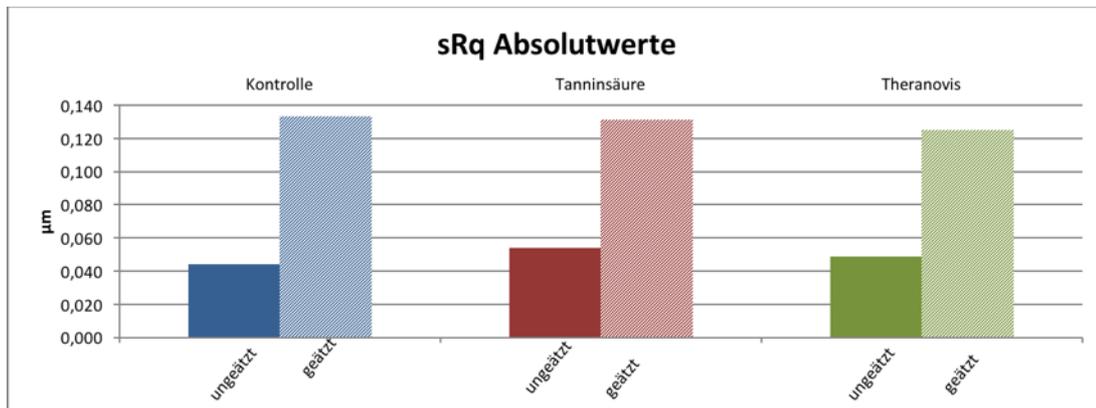
Die Ausgangsrauhigkeit der unerodierten Prüfkörper mit Pellikel (*in-situ*) nach Spülung mit der Kontrollspülung betrug  $sRq = 0,05 \mu\text{m}$ , nach Spülung mit Tanninsäurelösung betrug  $sRq = 0,06 \mu\text{m}$  und nach Spülung mit theranovis® betrug  $sRq = 0,04 \mu\text{m}$ . Nach der Säureeinwirkung konnte, unabhängig davon mit welcher Spüllösung gespült wurde, bei jeder Messung eine Zunahme der Oberflächenrauhigkeit festgestellt werden.

Die Ausgangsrauhigkeit der unerodierten Prüfkörper ohne Pellikel (*in-situ*) nach Spülung mit der Kontrollspülung betrug  $sRq = 0,04 \mu\text{m}$ , nach Spülung mit Tanninsäurelösung betrug  $sRq = 0,05 \mu\text{m}$  und nach Spülung mit theranovis® betrug  $sRq = 0,05 \mu\text{m}$ . Nach der Säureeinwirkung konnte, unabhängig davon mit welcher Spüllösung gespült wurde, bei jeder Messung eine Zunahme der Oberflächenrauhigkeit festgestellt werden. Im direkten Vergleich fällt auf, dass die Prüfkörper ohne Pellikel nach der Säureeinwirkung deutlich rauer sind.

Die Werte der Oberflächenmessungen ohne und mit Säureätzung der Probandenprüfkörper mit und ohne fixierter Pellikel sind in Abb. 8 und Abb. 9 dargestellt.



**Abb. 8** Darstellung der Ergebnisse der  $sRq$ -Messungen der Vorversuche mit Pellikel. Eine Standardisierung der Dentinprüfkörper ist nicht erfolgt. Es sind jeweils die  $sRq$  Absolutwerte bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) der *In-Situ*-Messungen dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, nach weiteren 30 min und nach 1,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite und eine dritte Spülung für jeweils 30 s, nach zweistündiger intraoraler Exposition erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 5%-iger Zitronensäure.



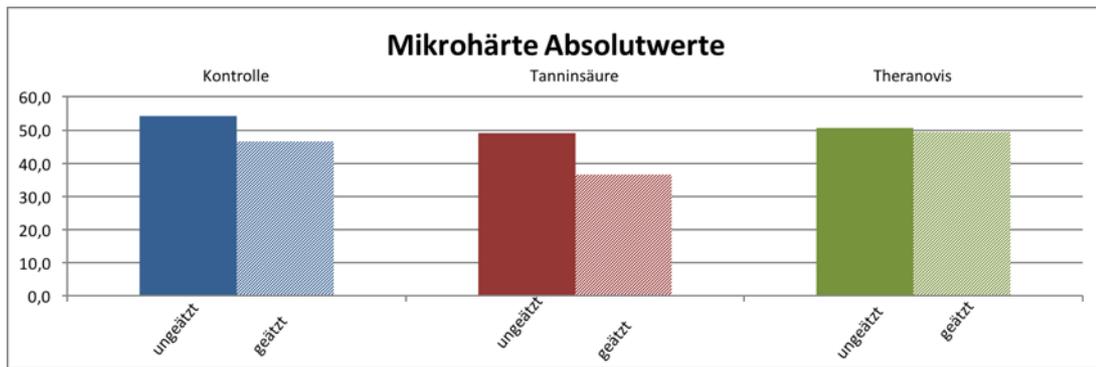
**Abb. 9** Darstellung der Ergebnisse der sRq-Messungen der Vorversuche ohne Pellikel. Eine Standardisierung der Dentinprüfkörper ist nicht erfolgt. Es sind jeweils die Absolutwerte bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und TheraNovis (grün) der *In-Situ*-Messungen dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, nach weiteren 30 min und nach 1,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite und eine dritte Spülung für jeweils 30 s, nach zweistündiger intraoraler Exposition erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 5%-iger Zitronensäure.

### b) Mikrohärtemessungen

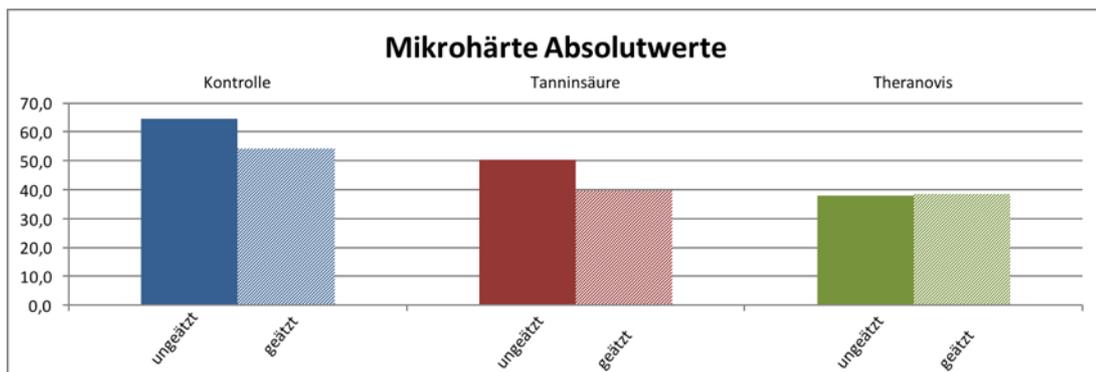
In dieser Versuchsreihe wurde die Pellikel bei der einen Hälfte der Prüfkörper fixiert, bei der anderen Hälfte der Prüfkörper entfernt. Dies ermöglicht einen direkten Vergleich der Prüfkörper mit und ohne Pellikel.

Die Ausgangsmikrohärte der unerodierten Dentinprüfkörper mit Pellikel (*in situ*) betrug nach der Spülung mit Wasser 54,2, die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper nach Spülung mit der Tanninsäurelösung betrug 49,1 und die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper, die mit theranovis® gespült wurden, betrug 50,7. Nach der Säureeinwirkung konnte, unabhängig davon mit welcher Spüllösung gespült wurde, bei fast jeder Messung eine Abnahme der Mikrohärte festgestellt werden unabhängig davon, ob die Pellikel abgelöst oder fixiert wurde.

Die Ausgangsmikrohärte der unerodierten Dentinprüfkörper ohne Pellikel (*in situ*) betrug nach der Spülung mit Wasser 64,5, die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper nach Spülung mit der Tanninsäurelösung betrug 50,5 und die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper, die mit theranovis® gespült wurden, betrug 37,9. Die Werte der Mikrohärtemessungen ohne und mit Säureätzung der Probandenprüfkörper mit und ohne fixierter Pellikel sind in Abb. 10 und Abb. 11 dargestellt.



**Abb. 10** Darstellung der Ergebnisse der Mikrohärtemessungen der Vorversuche mit Pellikel. Eine Standardisierung der Dentinprüfkörper ist nicht erfolgt. Es sind jeweils die bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) der *In-Situ*-Messungen dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, nach weiteren 30 min und nach 1,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite und eine dritte Spülung für jeweils 30 s, nach zweistündiger intraoraler Exposition erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 5%-iger Zitronensäure.



**Abb. 11** Darstellung der Ergebnisse der Mikrohärtemessungen der Vorversuche ohne Pellikel. Eine Standardisierung der Dentinprüfkörper ist nicht erfolgt. Es sind jeweils die Absolutwerte bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) der *In-Situ*-Messungen dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, nach weiteren 30 min und nach 1,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite und eine dritte Spülung für jeweils 30 s, nach zweistündiger intraoraler Exposition erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung 5%-iger Zitronensäure.

### 4.1.3 Ergebnisse der Versuchsreihen mit endgültigen Versuchsparametern sowie Standardisierung

#### a) FRT-Auswertungen

Die Ausgangsrauigkeit der unerodierten Prüfkörper (*in-situ*) nach Spülung mit der Kontrollspülung betrug  $sRq = 0,21 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,07 \mu\text{m}$ , nach Spülung mit Tanninsäurelösung betrug  $sRq = 0,24 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,05 \mu\text{m}$  und nach Spülung mit theranovis® betrug  $sRq = 0,18 \mu\text{m}$  mit einer

Standardabweichung von 0,04  $\mu\text{m}$ . Nach der Säureeinwirkung konnte, unabhängig davon mit welcher Spüllösung gespült wurde, bei fast jeder Messung eine Zunahme der Oberflächenrauigkeit festgestellt werden.

Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Oberflächenmessungen ohne und mit Säureätzung der Probandenprüfkörper sind in Abb. 12 dargestellt.

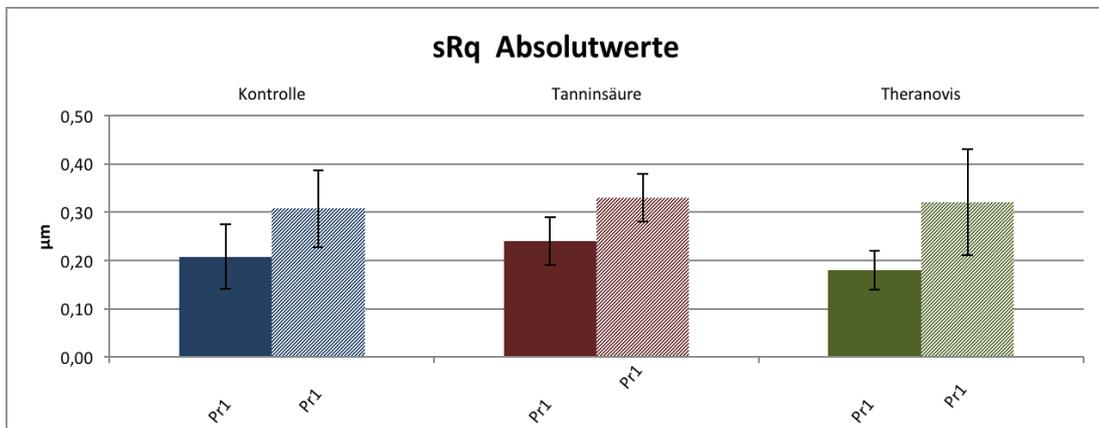
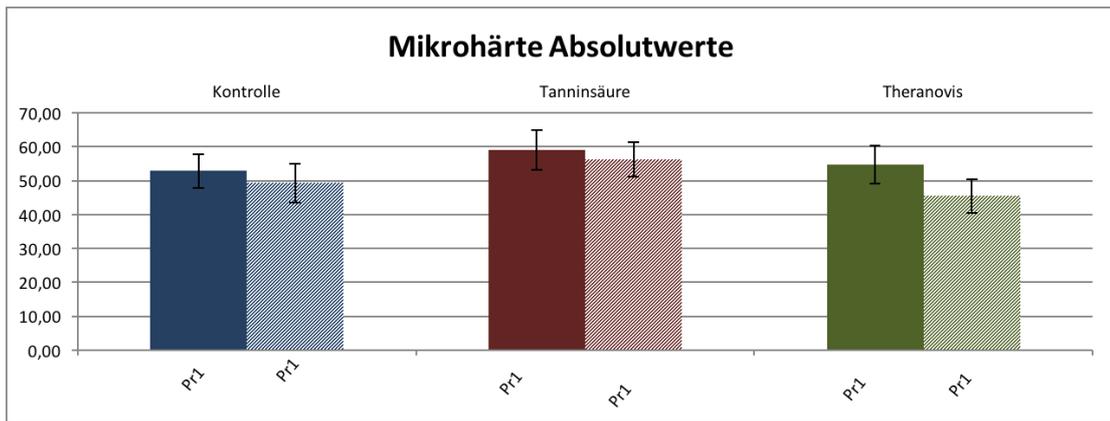


Abb. 12 Darstellung der Ergebnisse der sRq-Messungen der Vorversuche mit endgültigen Versuchsparametern und Standardisierung der Dentinprüfkörper. Es sind jeweils die Absolutwerte bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle ( blau), Tanninsäure ( rot) und Theranovis ( grün) dargestellt. Es wurden Prüfkörper eines Probanden (Pr 1 ) untersucht. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Alle Werte sind mit Standardabweichungen angegeben. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, nach weiteren 30 min und nach 1,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite und dritte Spülung für jeweils 30 s, nach zweistündiger intraoraler Exposition erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 5%-iger Zitronensäure; es erfolgte eine Standardisierung der Dentinprüfkörper.

### b) Mikrohärtemessungen

Die Ausgangsmikrohärte der unerodierten Dentinprüfkörper (*in situ*) betrug nach der Spülung mit Wasser 52,85 mit einer Standardabweichung von 5,05, die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper nach Spülung mit der Tanninsäurelösung betrug 59,05 mit einer Standardabweichung von 5,91 und die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper, die mit theranovis® gespült wurden, betrug 54,74 mit einer Standardabweichung von 5,61. Nach der Säureeinwirkung konnte, unabhängig davon mit welcher Spüllösung gespült wurde bei fast jeder Messung eine Abnahme der Mikrohärté festgestellt werden.

Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mikrohärtémessungen ohne und mit Säureätzung sind in Abb. 13 dargestellt.



**Abb. 13** Darstellung der Ergebnisse der Mikrohärtemessungen der Vorversuche mit endgültigen Versuchsparametern und Standardisierung der Dentinprüfkörper. Es sind jeweils die Absolutwerte bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen Kontrolle ( blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) dargestellt. Es wurden Prüfkörper eines Probanden (Pr 1) untersucht. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Alle Werte sind mit Standardabweichungen angegeben. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, nach weiteren 30 min und nach 1,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte eine zweite und eine dritte Spülung für jeweils 30 s, nach zweistündiger intraoraler Exposition erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 5%-iger Zitronensäure; es erfolgte eine Standardisierung der Dentinprüfkörper.

## 4.2 Ergebnisse der Versuche mit endgültigen Versuchsparametern

### 4.2.1 Ergebnisse der FRT- Auswertungen

Die Ausgangsrauhigkeit der unerodierten Prüfkörper (*in-situ*) nach Spülung mit der Kontrollspülung betrug  $sRq = 0,18 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,03 \mu\text{m}$ , nach Spülung mit Tanninsäurelösung betrug  $sRq = 0,22 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,04 \mu\text{m}$  und nach Spülung mit theranovis® betrug  $sRq = 0,18 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,01 \mu\text{m}$ . Die unerodierten *In-vitro*-Prüfkörper, die mit der Kontrollspülung behandelt wurden, hatten eine Ausgangsrauhigkeit von  $0,22 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,03 \mu\text{m}$ , die, die mit Tanninsäurelösung behandelt wurden, hatten eine Ausgangsrauhigkeit von  $0,25 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,02 \mu\text{m}$  und die mit theranovis® behandelten, hatten eine Ausgangsrauhigkeit von  $0,29 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,02 \mu\text{m}$ . Nach der Säureeinwirkung konnte, unabhängig davon mit welcher Spüllösung gespült wurde, sowohl bei den *In-situ*-Versuchen als auch bei den *In-vitro*-Versuchen, bei fast jeder Messung eine Zunahme der Oberflächenrauhigkeit festgestellt werden.

Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Oberflächenmessungen ohne und mit Säureätzung der Probandenprüfkörper sind in Abb. 14 dargestellt. Hier zeigt sich, dass die Prüfkörper der *In-vitro*-Reihe nach der Säureätzung deutlich rauer sind als die Prüfkörper der *In-situ*-Reihe.

## Ergebnisse

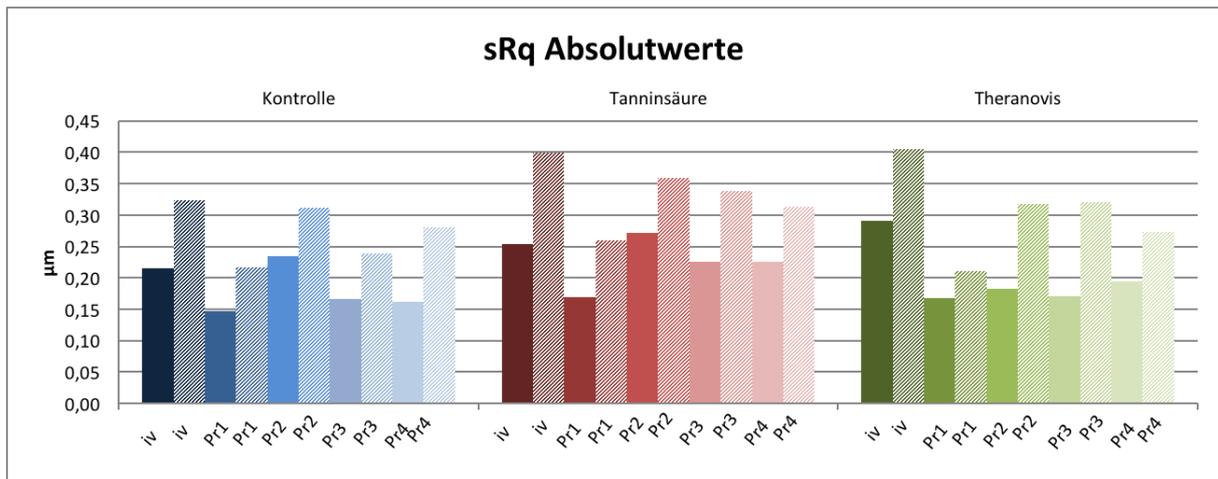


Abb. 14: Darstellung der Ergebnisse der sRq Messungen. Es sind jeweils die Absolutwerte der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) aller Probanden (Pr1, Pr2, Pr3, Pr 4) der *In-Situ*-Messungen, als auch für die *In-vitro*-Messungen (iv) dargestellt. Die unifarbene Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Alle Werte sind mit Standardabweichungen angegeben. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.

Die zugehörigen Medianwerte sind in Abb. 15 und Abb. 16 dargestellt.

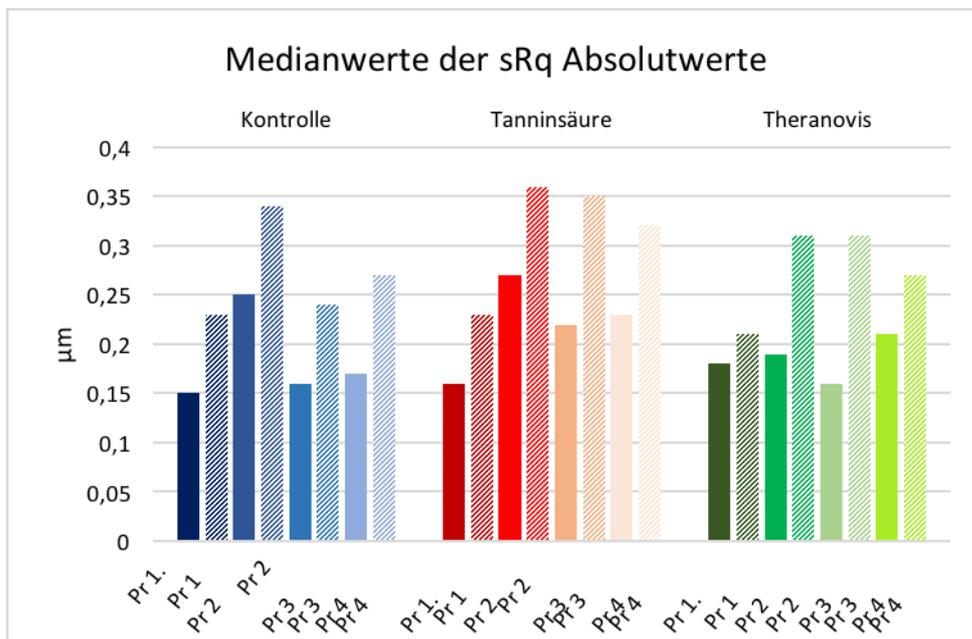


Abb. 15 Darstellung der Medianwerte, die aus den sRq Absolutwerten aller Probanden (Pr1, Pr2, Pr3, Pr4) bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen gebildet wurden. Es sind jeweils die Medianwerte der einzelnen Probanden für die einzelnen Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) dargestellt. Die unifarbene Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.

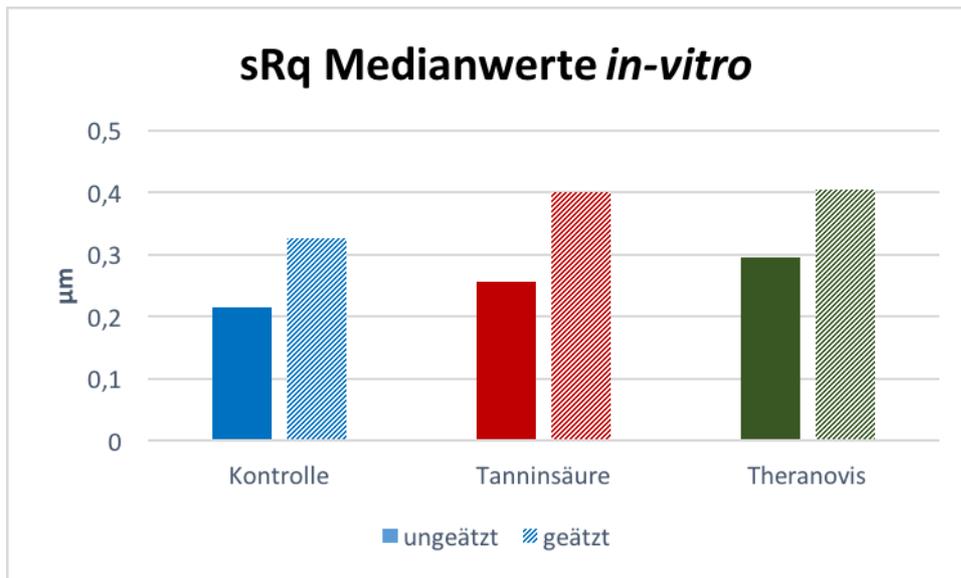


Abb. 16 Darstellung der Medianwerte, die aus den sRq-Absolutwerten bei *In-vitro*-Anwendung der Spüllösungen gebildet wurden. Es sind jeweils die Medianwerte der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) aus den Messungen der einzelnen Probanden dargestellt. Die unifarbene Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h Expositionsdauer erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus den Wellplatten und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.

In Abb. 17 und Abb. 18 sind die Mittelwerte der sRq-Werte der einzelnen Spüllösungen vor und nach der Säureexposition für die *In-situ*- und *In-vitro*-Versuche graphisch dargestellt. Hierzu wurden aus den Werten der einzelnen Prüfkörper (ungeätzt/geätzt) für jeden Probanden die *In-vitro*-Reihe Mittelwerte errechnet. Für jede Spüllösung wurde dann aus den jeweiligen Probandenmittelwerten erneut ein Mittelwert (ungeätzt/geätzt) errechnet und dazu die Standardabweichung erhoben.

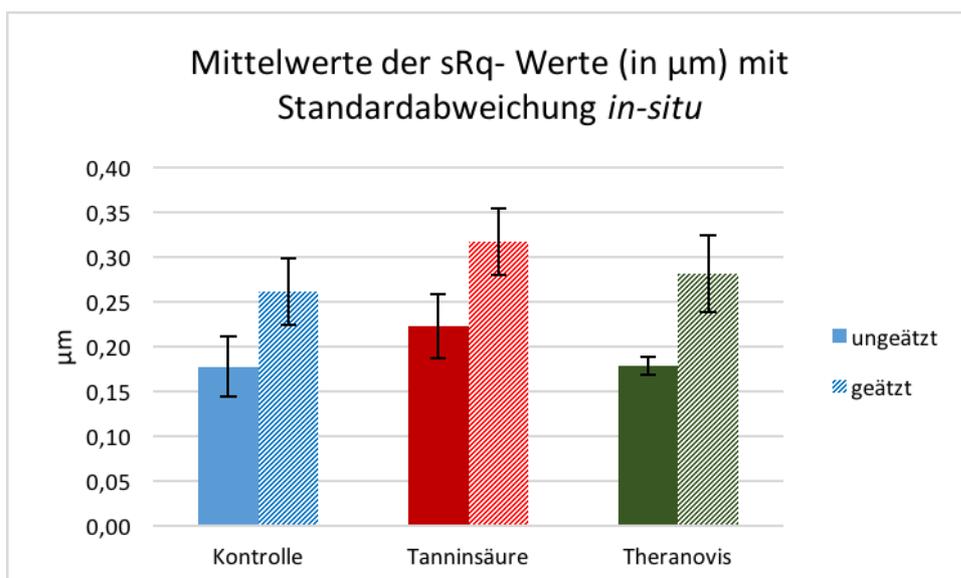
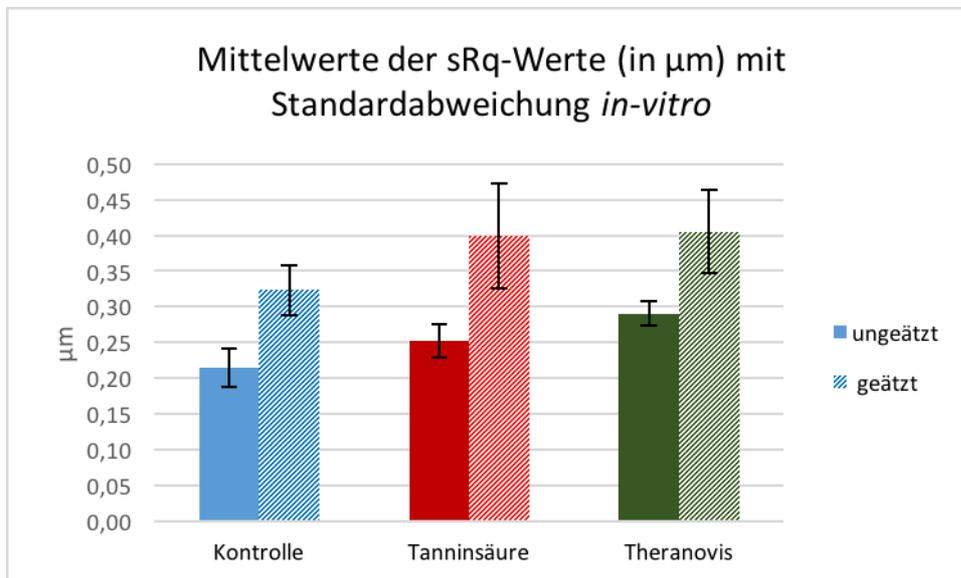


Abb. 17: Darstellung der Mittelwerte mit der jeweiligen Standardabweichung, die aus den sRq-Absolutwerten bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen gebildet wurden. Es sind jeweils die Medianwerte der

## Ergebnisse

Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) aus den Messungen der einzelnen Probanden dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.

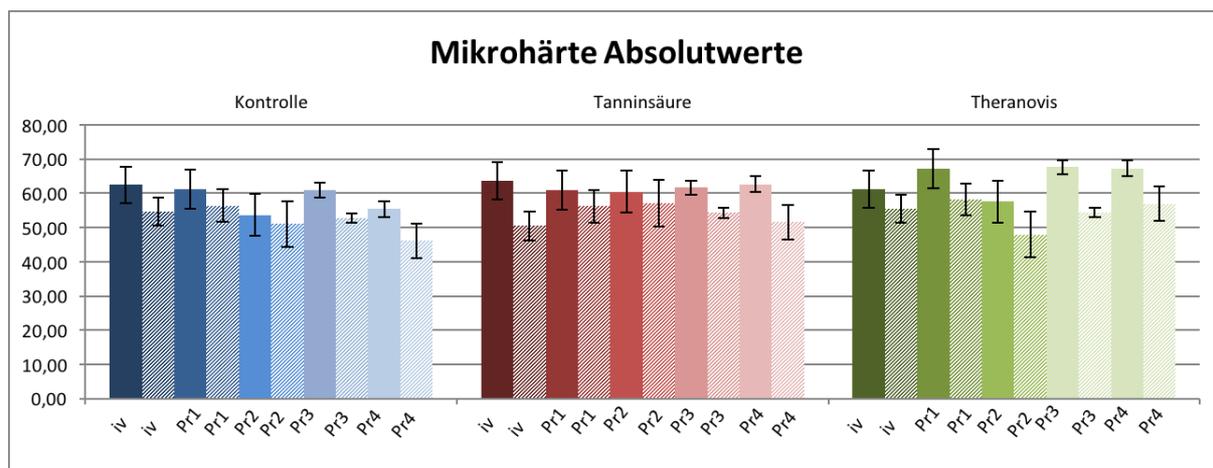


**Abb. 18:** Darstellung der Mittelwerte mit der jeweiligen Standardabweichung, die aus den sRq-Absolutwerten bei *In-vitro*-Anwendung der Spüllösungen gebildet wurden. Es sind jeweils die Medianwerte der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) aus den Messungen dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus den Wellplatten und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.

Die Ausgangsmikrohärte der unerodierten Dentinprüfkörper (*in situ*) betrug nach der Spülung mit Wasser 57,81 mit einer Standardabweichung von 3,33, die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper nach Spülung mit der Tanninsäurelösung betrug 61,45 mit einer Standardabweichung von 0,81 und die Ausgangsmikrohärte der Dentinprüfkörper, die mit theranovis® gespült wurden, betrug 64,91 mit einer Standardabweichung von 4,23. Bei den *In-vitro*-Versuchen betrug die Ausgangsmikrohärte der unerodierten Prüfkörper, die mit Wasser behandelt wurden, 62,46 mit einer Standardabweichung von 5,36, die Ausgangsmikrohärte der unerodierten Prüfkörper, die mit Tanninsäurelösung behandelt wurden, betrug 63,61 mit einer Standardabweichung von 3,55 und die der Prüfkörper, die mit theranovis® behandelt wurden, betrug 61,15 mit einer Standardabweichung von 1,99. Nach der Säureeinwirkung konnte, unabhängig davon mit welcher Spüllösung gespült wurde, sowohl bei den *In-vivo*-Versuchen, als auch bei den *In-vitro*-Versuchen bei fast jeder Messung eine Abnahme der Mikrohärte festgestellt werden.

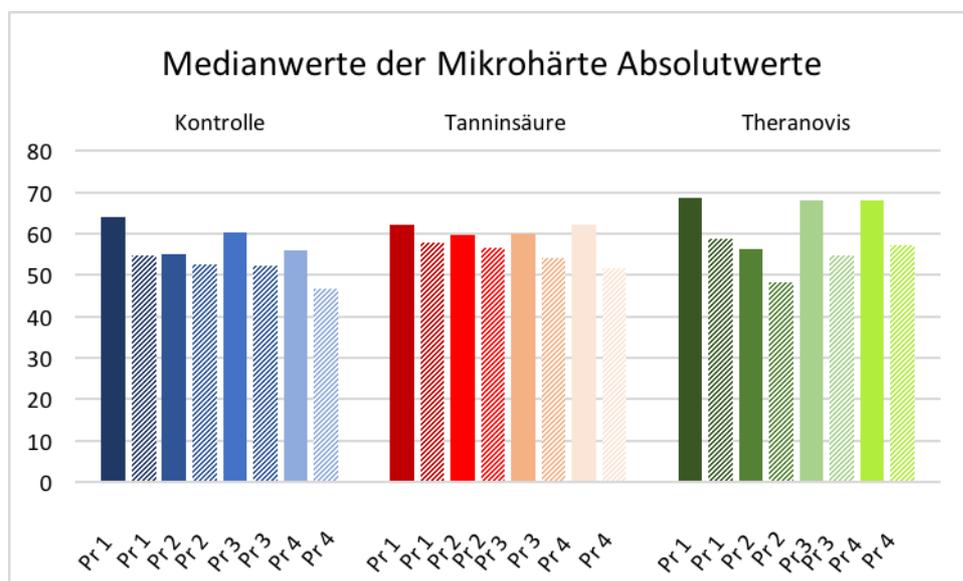
## Ergebnisse

Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mikrohärtmessungen ohne und mit Säureätzung der einzelnen Probanden sind in Abb. 19 dargestellt.



**Abb. 19:** Darstellung der Ergebnisse der Mikrohärtmessungen. Es sind jeweils die Absolutwerte der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und TheraNovis (grün) aller Probanden (Pr1, Pr2, Pr3, Pr4) bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen als auch bei *In-vitro*-Anwendung (iv) dargestellt. Die unifarbene Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Alle Werte sind mit Standardabweichung angegeben. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.

Die dazugehörigen Medianwerte sind in Abb. 20 und in Abb. 21 dargestellt.



**Abb. 20** Darstellung der Medianwerte, die aus den Mikrohärt Absolutwerten aller Probanden (Pr1, Pr2, Pr3, Pr4) bei *In-situ*-Anwendung der Spüllösungen gebildet wurden. Es sind jeweils die Medianwerte der einzelnen Probanden für die einzelnen Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und TheraNovis (grün) dargestellt. Die unifarbene Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.

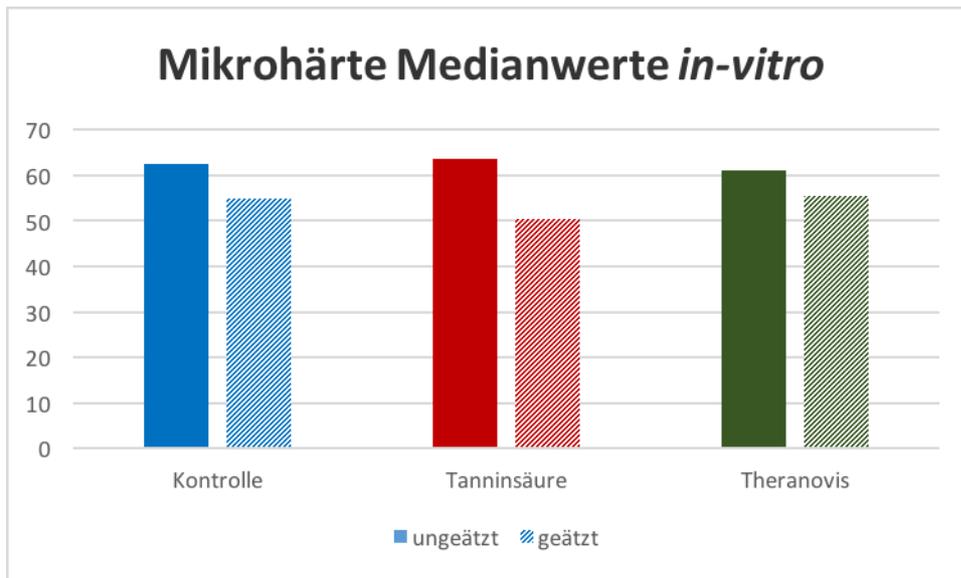
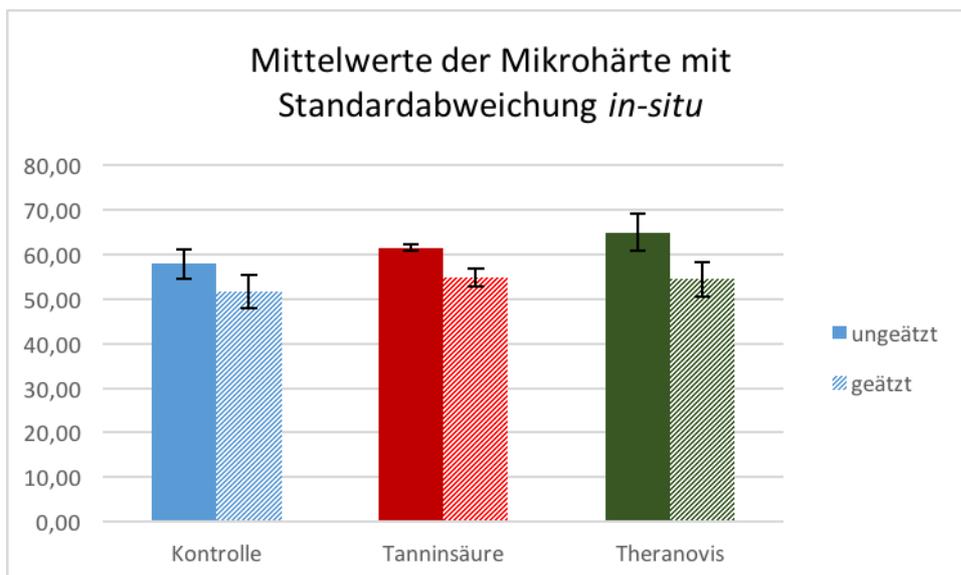


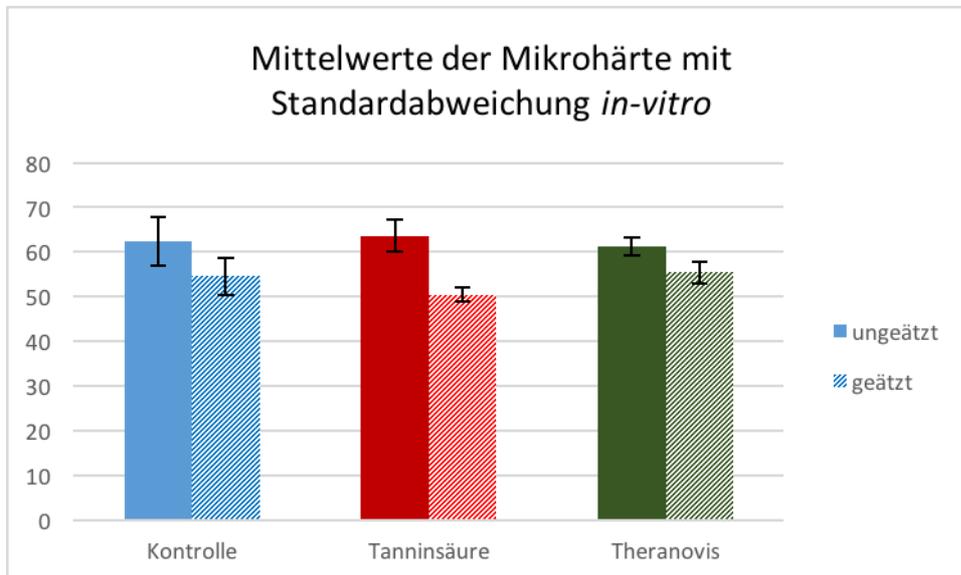
Abb. 21 Darstellung der Medianwerte, die aus den Mikrohärte Absolutwerten bei *In-vitro*-Anwendung der Spüllösungen, gebildet wurden. Es sind jeweils die Medianwerte der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) dargestellt. Die unifarbene Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus den Wellplatten und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.

In Abb. 22 und in Abb. 23 sind die Mittelwerte der Mikrohärtemessungen der einzelnen Spüllösungen vor und nach der Säureexposition für die *In-situ*- und *In-vitro*-Versuche graphisch dargestellt. Hierzu wurden aus den Werten der einzelnen Prüfkörper (ungeätzt/geätzt) für jeden Probanden die *In-vitro*-Reihe Mittelwerte errechnet. Für jede Spüllösung wurde dann aus den jeweiligen Probandenmittelwerten erneut ein Mittelwert (ungeätzt/geätzt) errechnet und dazu die Standardabweichung erhoben.



## Ergebnisse

**Abb. 22:** Darstellung der Mittelwerte mit der jeweiligen Standardabweichung, die aus den Mikrohärte Absolutwerten bei *In-vivo*-Anwendung der Spüllösungen gebildet wurden. Es sind jeweils die Medianwerte der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) aus den Messungen der einzelnen Probanden dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.



**Abb. 23:** Darstellung der Mittelwerte mit der jeweiligen Standardabweichung, die aus den Mikrohärte Absolutwerten bei *In-vitro*-Anwendung der Spüllösungen gebildet wurden. Es sind jeweils die Medianwerte der Spüllösungen Kontrolle (blau), Tanninsäure (rot) und Theranovis (grün) aus den Messungen dargestellt. Die unifarbenen Balken stellen die Messungen vor der Säureätzung im Vergleich zu den gestreiften Balken nach der Säureätzung dar. Nach 3 min Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus den Wellplatten und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure.

In den zwei folgenden Tabellen sind nun die Mittelwerte und Standardabweichungen der Mikrohärtemessungen und Rauheitsmessungen für die einzelnen Spüllösungen sowohl für die *In-situ*- als auch die *In-vitro*-Versuche zusammengefasst.

**Tab. 1** Übersicht über die Ergebnisse der sRq-Messungen: Aufgeführt sind die Mittelwerte der Messungen der einzelnen Probanden (Pr1, Pr2, Pr3, Pr4), die Mittelwerte der Messwerte der einzelnen *In-vitro*-Prüfkörper (PK1, PK2), sowie die Mittelwerte aus allen Probanden, die Mittelwerte aus allen *In-vitro*-Prüfkörpern und die dazugehörigen Standardabweichungen.

Mikrohärte Dentin		ungeätzt						geätzt					
in vivo	Spüllsg	Pr1	Pr2	Pr3	Pr4	MW alle Pr	Stabw	Pr1	Pr2	Pr3	Pr4	MW alle Pr	Stabw
	Kontrolle	61,17	53,70	60,99	55,36	57,80	3,33	56,43	51,04	52,70	46,11	51,57	3,71
	Tanninsre	61,03	60,51	61,64	62,67	61,46	0,80	56,16	57,14	54,28	51,54	54,78	2,13
	Theranovis	67,17	57,59	67,62	67,24	64,90	4,23	58,20	47,97	54,38	56,94	54,37	3,94
in vitro	Spüllsg.	PK1	PK2			MW beide P	Stabw	PK1	PK2			MW beide P	Stabw
	Kontrolle	67,82	57,1			62,46	5,36	58,82	50,5			54,66	4,16
	Tanninsre	67,16	60,06			63,61	3,55	52	48,94			50,47	1,53
	Theranovis	59,16	63,14			61,15	1,99	52,96	57,92			55,44	2,48

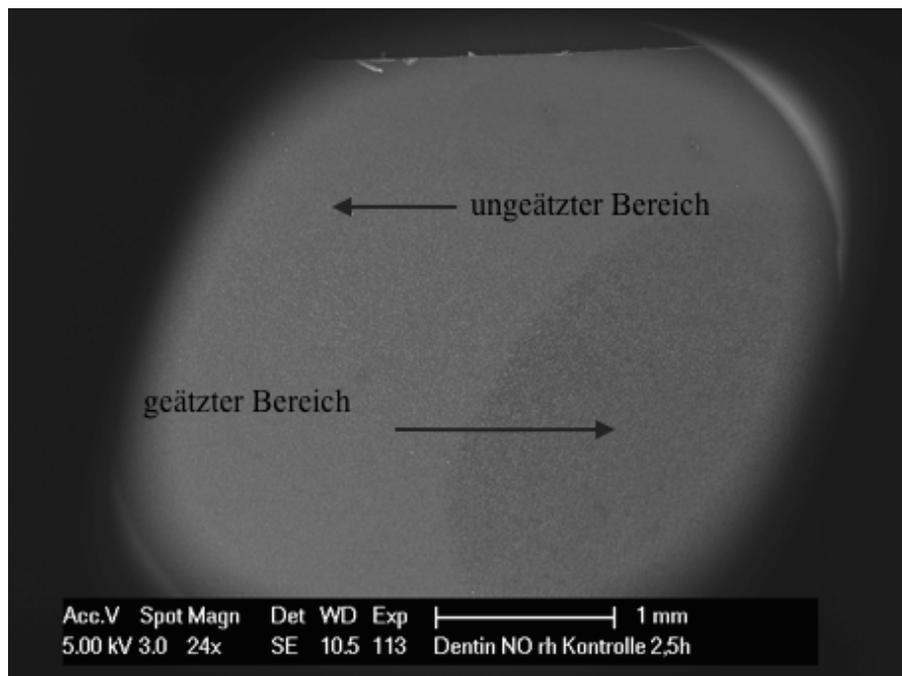
## Ergebnisse

**Tab. 2 Übersicht über die Ergebnisse der Mikrohärtemessungen: Aufgeführt sind die Mittelwerte der Messungen der einzelnen Probanden (Pr1, Pr2, Pr3, Pr4), die Mittelwerte der Messwerte der einzelnen *In-vitro*-Prüfkörper (PK1, PK2), sowie die Mittelwerte aus allen Probanden, die Mittelwerte aus allen *In-vitro*-Prüfkörpern und die dazugehörigen Standardabweichungen.**

Rauigkeit Dentin		ungeätzt						geätzt					
in vivo	Spüllsg	Pr1	Pr2	Pr3	Pr4	MW alle Pr	Stabw	Pr1	Pr2	Pr3	Pr4	MW alle Pr	Stabw
	Kontrolle	0,15	0,23	0,17	0,16	0,18	0,03	0,22	0,31	0,24	0,28	0,26	0,04
	Tanninsre	0,17	0,27	0,23	0,23	0,22	0,04	0,26	0,36	0,34	0,31	0,32	0,04
	Theranovis	0,17	0,18	0,17	0,19	0,18	0,01	0,21	0,32	0,32	0,27	0,28	0,04
in vitro	Spüllsg.	PK1	PK2			MW beide PK	Stabw	PK1	PK2			MW beide PK	Stabw
	Kontrolle	0,19	0,24			0,22	0,03	0,29	0,36			0,32	0,03
	Tanninsre	0,28	0,23			0,25	0,02	0,47	0,33			0,4	0,07
	Theranovis	0,27	0,31			0,29	0,02	0,35	0,46			0,41	0,06

### 4.2.2 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Dentinprüfkörper

Die Dentinprüfkörper wurden zuerst in einer Übersichtsaufnahme mit 24-facher Vergrößerung betrachtet. Schon in der Übersichtsaufnahme ist bei den meisten Prüfkörpern ein Ätzpunkt erkennbar, der dunkler und inhomogener erscheint (Abb. 24).



**Abb. 24 REM-Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 24-facher Vergrößerung; der Prüfkörper war für 2,5 h dem intraoralen Milieu ausgesetzt. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung, danach wurde alle 30 min für 30 s (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Es ist die Kontrollspülung mit sterilem Wasser abgebildet. Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen.**

Im Folgenden sollen die auffälligsten Merkmale, die beobachtet werden können, beschrieben werden. In Folgenden sind die Übersichtsaufnahmen (24-fache Vergrößerung) der verschiedenen Spüllösungen und der *In-situ*-Versuchen als auch der *In-vitro*-Versuchen einander gegenübergestellt. Die Abb. 25, Abb. 26, Abb. 27, Abb. 28, Abb. 29, Abb. 30, Abb. 31, Abb. 32 und Abb. 33 dokumentieren die strukturellen Veränderungen der Dentinprüfkörper durch die Säureexposition.

Die Übersichtsaufnahmen in Abb. 25, Abb. 26 und Abb. 27 zeigen die Oberfläche des Prüfkörpers. Auf der rechten Seite des Prüfkörpers ist die Säureätzung mit 1%-iger Zitronensäure zu erkennen. Diese stellt sich als dunkler, opaker gut abgrenzbarer Bereich dar. Die für das Dentin typischen Dentintubuli, die die Odontoblastenfortsätze enthalten, sind in dieser Vergrößerung nicht zu erkennen. Am deutlichsten sind die Säureerosionspunkte bei der *In-vitro*-Reihe zu erkennen. Das steht in Einklang mit den sRq-Werten der *In-vitro*-Versuche, die ebenfalls die höchste Rauigkeitszunahme verzeichnen. Bei den in *In-vitro*-Versuchen ist der Ätzpunkt am deutlichsten bei der Wasserspülung zu sehen. Dies deutet auf den stärksten Erosionseffekt hin. Dies scheint ebenso bei den Probanden Pr3 (hier ist fast der komplette Prüfkörper der Kontrollrunde mit Zitronensäure erodiert worden), Pr4 und Pr1 der Fall zu sein. Sonst lässt sich beim Vergleich der Übersichtsaufnahmen kein einheitliches Ergebnis feststellen.

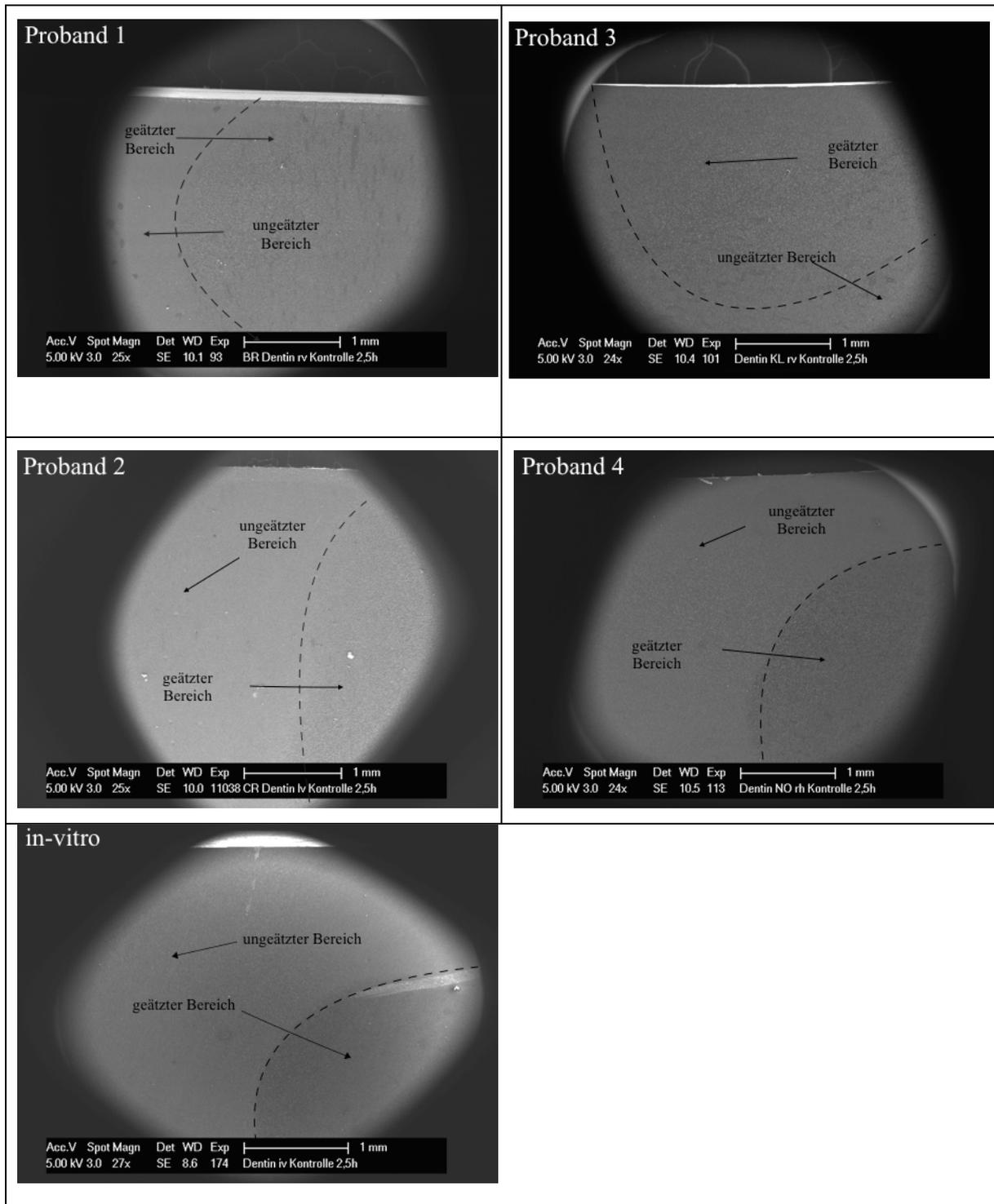


Abb. 25 REM-Aufnahmen der polierten Rinderdentinoberfläche mit 24-facher Vergrößerung. Der Prüfkörper war für 2,5 h dem intraoralen Milieu ausgesetzt. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit sterilem Wasser, danach wurde alle 30 min für 30 s mit sterilem Wasser gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus den intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Es sind alle Probanden, sowie *In-vitro*- Prüfkörper für die jeweiligen Spüllösungen im Vergleich dargestellt. Man erkennt sowohl die erodierten und die unerodierten Areale auf den Prüfkörpern.

## Ergebnisse

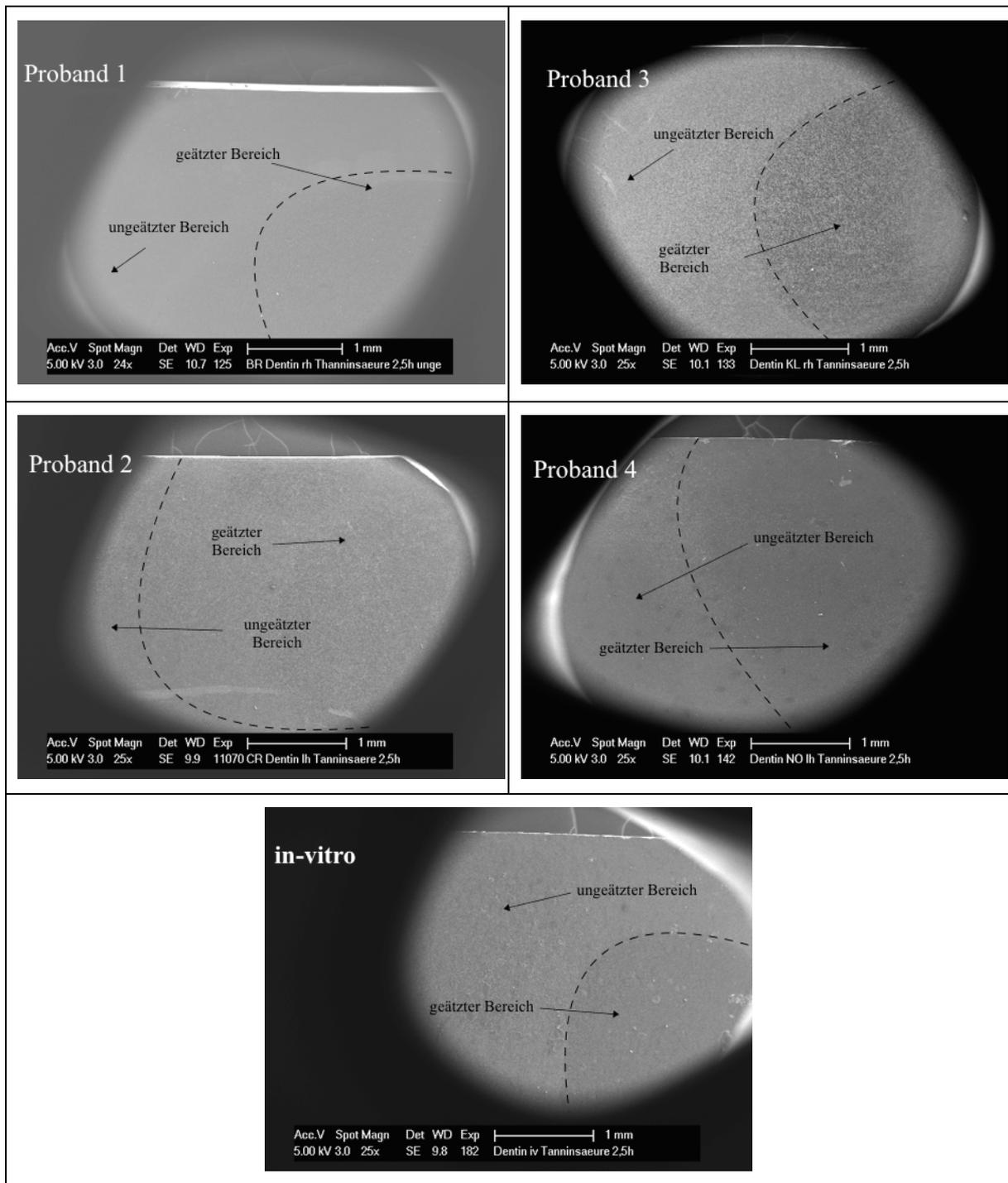


Abb. 26 REM-Aufnahmen der polierten Rinderdentinoberfläche mit 24-facher Vergrößerung. Der Prüfkörper war für 2,5 h dem intraoralen Milieu ausgesetzt. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit Tanninsäure, danach wurde alle 30 min für 30 s mit Tanninsäure gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Es sind alle Probanden, sowie *In-vitro*-Prüfkörper für die jeweiligen Spüllösungen im Vergleich dargestellt. Man erkennt sowohl die erodierten und die unerodierten Areale auf den Prüfkörpern.

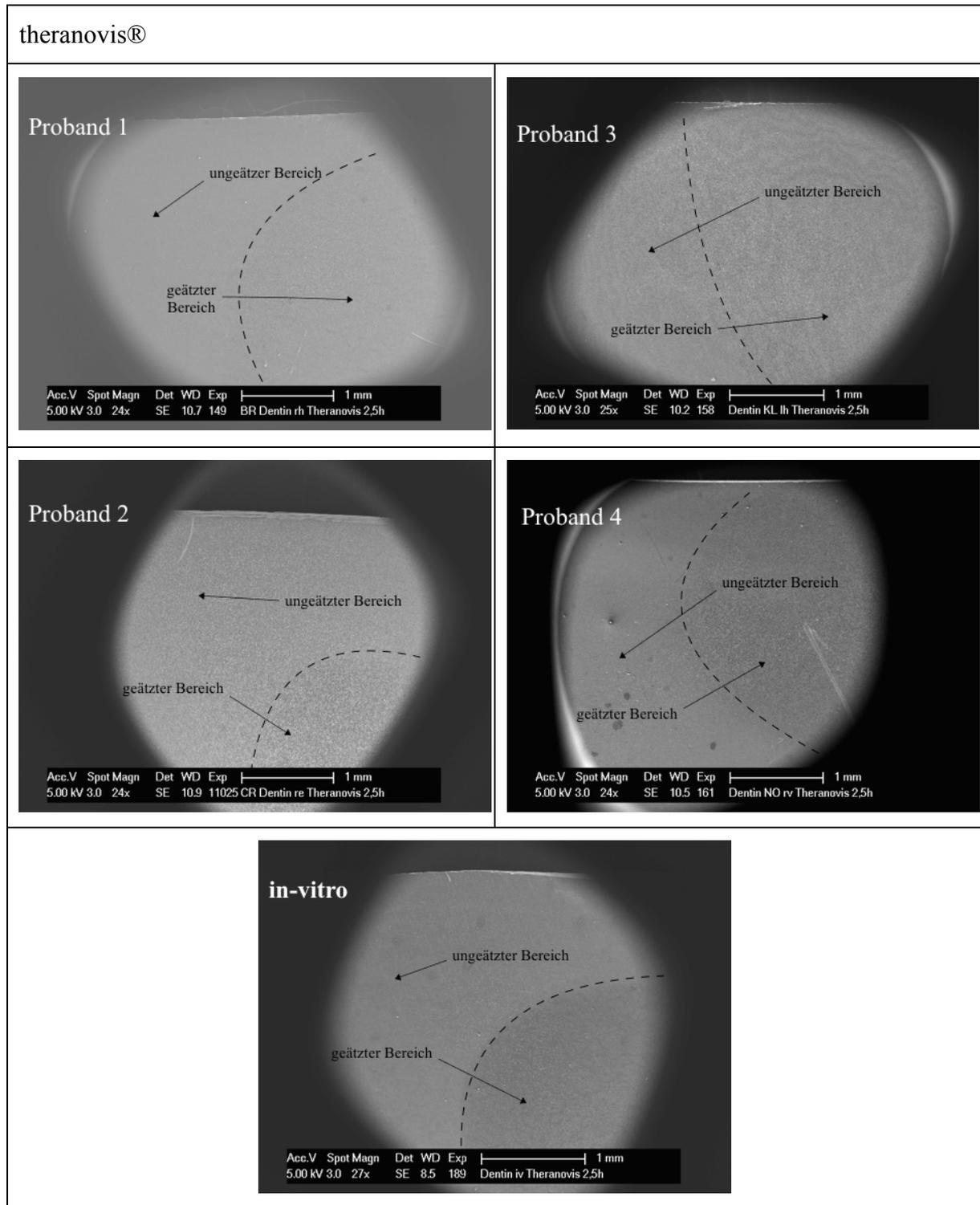
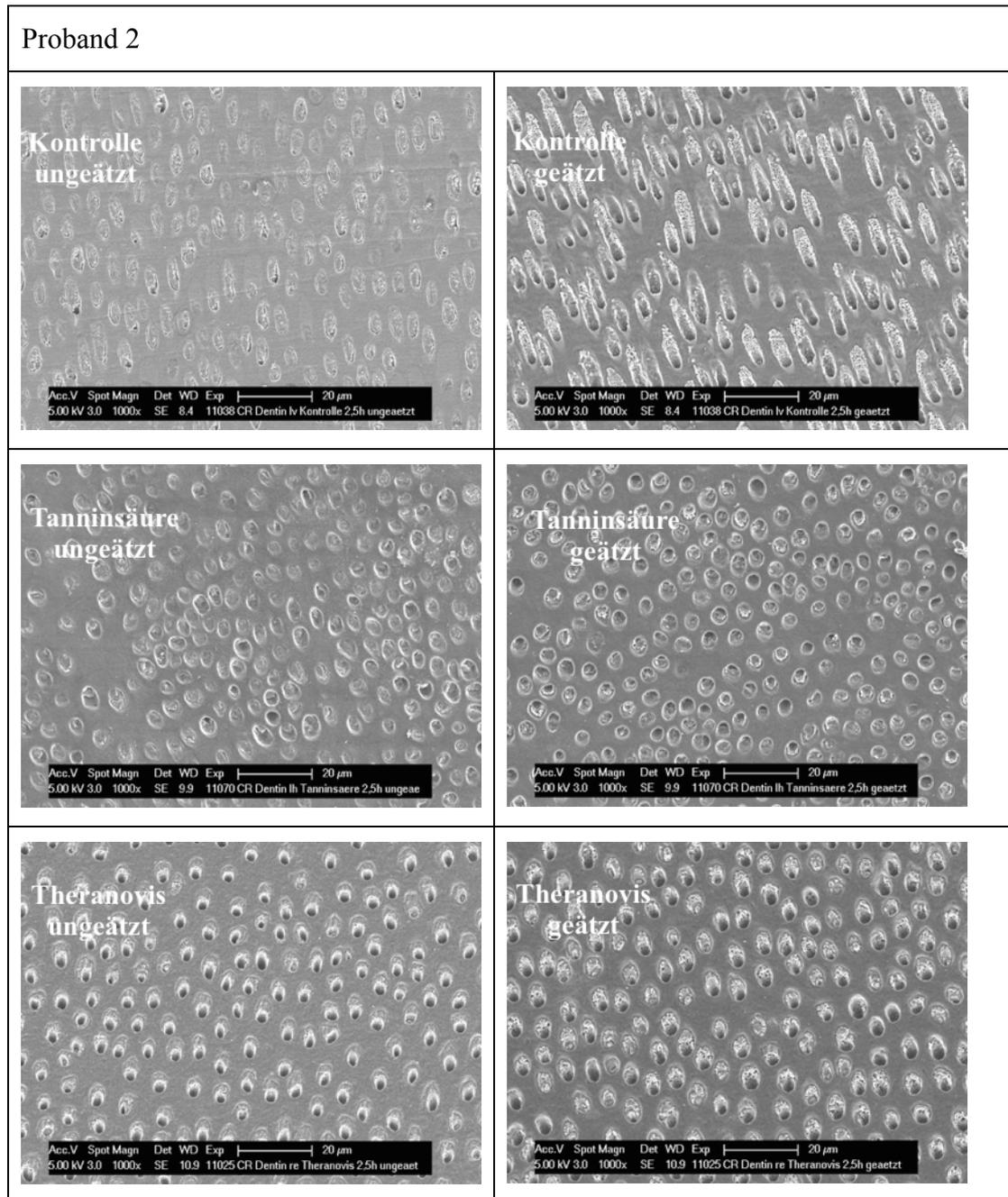


Abb. 27 REM-Aufnahmen der polierten Rinderdentinoberfläche mit 24-facher Vergrößerung. Der Prüfkörper war für 2,5 h dem intraoralen Milieu ausgesetzt. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit theranovis® gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Es sind alle Probanden, sowie *In-vitro*- Prüfkörper für die jeweiligen Spüllösungen im Vergleich dargestellt. Man erkennt sowohl die erodierten und die unerodierten Areale auf den Prüfkörpern.

Im folgenden Teil sind die REM-Aufnahmen für Proband 2 in den verschiedenen Vergrößerungen dargestellt. Die REM-Aufnahmen der anderen Probanden sind im direkten Vergleich im Anhang zu finden (siehe Abb. 34, Abb. 35, Abb. 36, Abb. 37, Abb. 38, Abb. 39, Abb. 40, Abb. 41, Abb. 42, Abb. 43, Abb. 44, Abb. 45, Abb. 46, Abb. 47, Abb. 48, Abb. 49, Abb. 50, Abb. 51, Abb. 52, Abb. 53).

Auf den REM-Aufnahmen in 1000-facher Vergrößerung ist die Tubulstruktur des Dentins deutlich zu erkennen. Eine Interpretation der Bilder wird durch das unterschiedliche Anschneiden der Tubuli erschwert. Nach der Ätzung mit der Säure scheinen die Dentintubuli jedoch in unterschiedlichem Ausmaß weiter geöffnet. Die Ränder der Tubuli erscheinen „ausgefrantzt“. Die Tubuli sind vermehrt geöffnet und nicht wie vor der Säureätzung geschlossen.

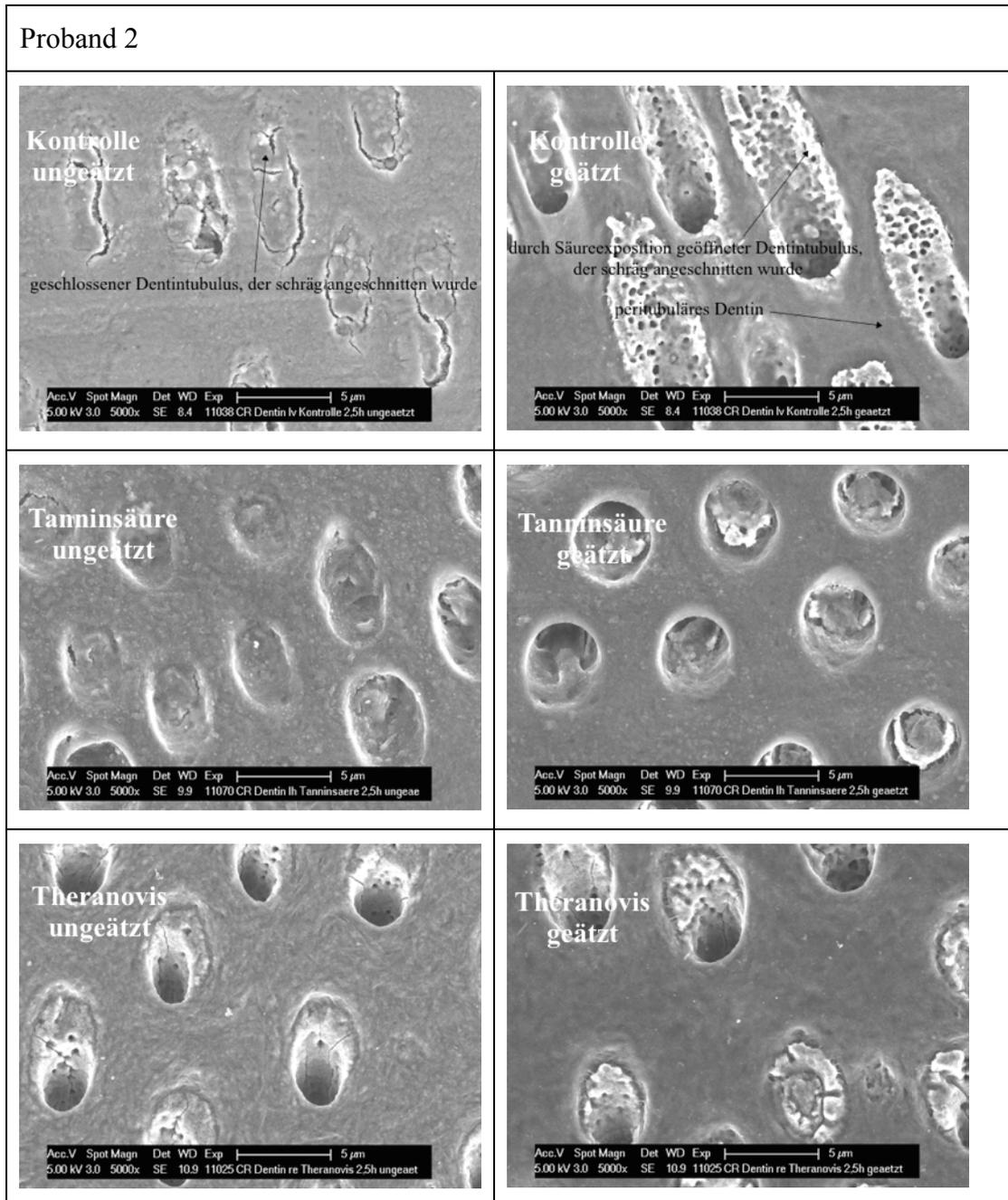
Bei den Probanden Pr 1 und Pr 2 scheint die Säureätzung bei der Spülung mit Wasser am stärksten ausgeprägt zu sein, da in beiden Fällen die Dentintubuli besonders „ausgefrantzt“ erscheinen und vermehrt geöffnete Dentintubuli zu erkennen sind. Sonst lässt sich jedoch kein einheitliches Ergebnis feststellen, da die Tubuli sehr unterschiedlich angeschnitten sind und dadurch kein eindeutig interpretierbares Bild entsteht. Ebenso erscheinen die Prüfkörper bereits vor der Säureätzung sehr unterschiedlich.



**Abb. 28** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 1000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen.

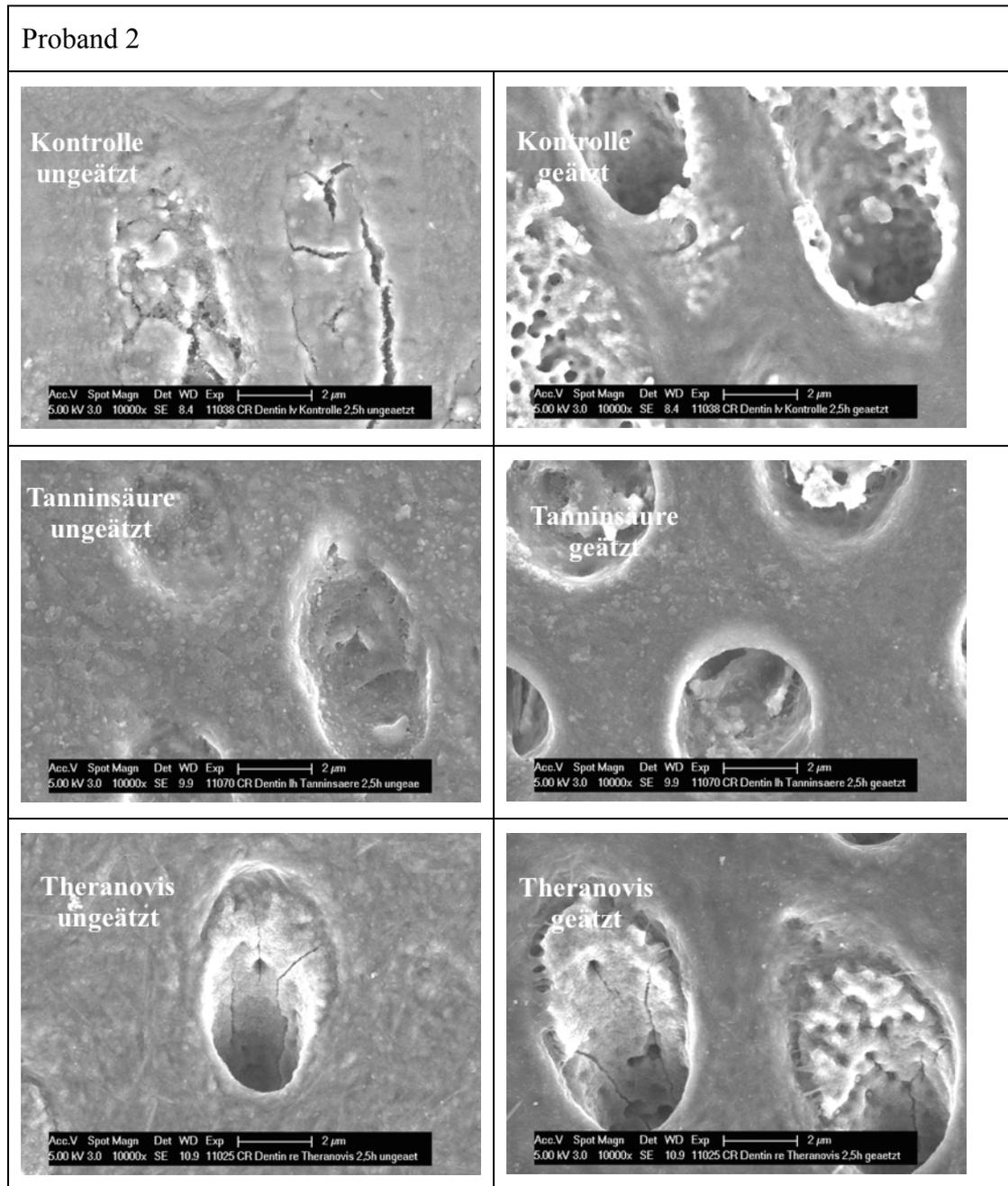
Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen in 5000-facher Vergrößerung zeigen deutlich die Öffnungen der Dentintubuli. Bei den Probanden Pr 1 und Pr 2 scheint die Säureätzung bei der Kontrollspülung am stärksten ausgeprägt zu sein, da in beiden Fällen die Dentintubuli besonders „ausgefranzt“ erscheinen und vermehrt geöffnete Dentintubuli zu erkennen sind.

Sonst lässt sich jedoch kein einheitliches Ergebnis feststellen, da die Tubuli sehr unterschiedlich angeschnitten sind und dadurch kein eindeutiges Bild entsteht. Ebenso weisen die Prüfkörper bereits vor der Säureätzung individuelle Unterschiede auf. Die Dentintubuli sind teilweise horizontal und teilweise schräg angeschnitten.



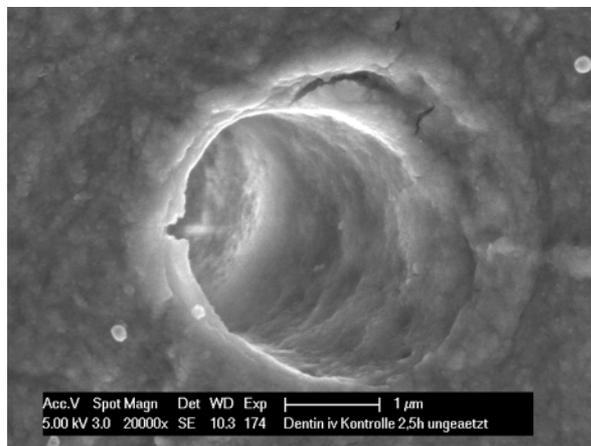
**Abb. 29** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 5000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen in 10000-facher Vergrößerung zeigen deutlich die Öffnungen der einzelnen Dentintubuli. Bei den Probanden Pr 1 und Pr 2 scheint die Säureätzung bei der Kontrollspülung erneut am stärksten ausgeprägt zu sein, da in beiden Fällen die Dentintubuli besonders „ausgefranzt“ erscheinen und vermehrt geöffnete Dentintubuli zu erkennen sind. Sonst lässt sich jedoch kein einheitliches Ergebnis feststellen, da die Tubuli sehr unterschiedlich angeschnitten sind und dadurch kein eindeutig vergleichbares Ergebnis ersichtlich wird. Auch in dieser Vergrößerung weisen die Prüfkörper bereits vor der Säureexposition große interindividuelle Unterschiede auf. Die Dentintubuli sind teilweise horizontal und teilweise schräg angeschnitten. Zum Teil sind die Dentintubuli bereits vor der Säureätzung teilweise oder vollständig geöffnet.

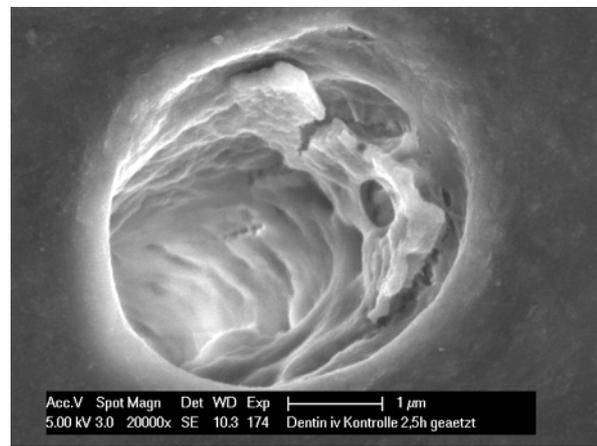


**Abb. 30** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 10000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen.

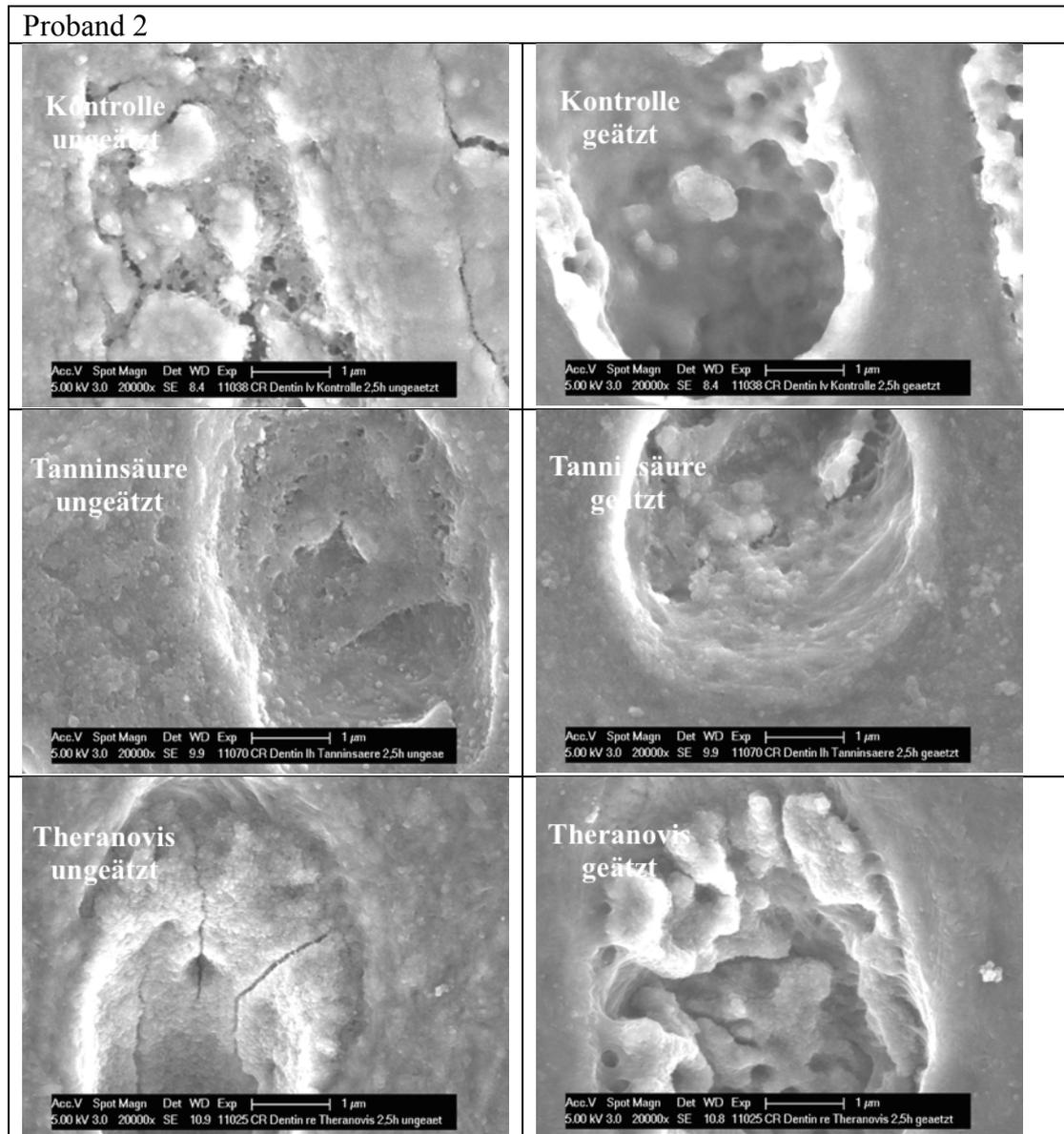
Betrachtet man einen einzelnen Dentintubulus in 20000-facher Vergrößerung erkennt man, dass der geätzte Tubulus, im Tubulus selbst, sehr viel inhomogener und „zerklüfteter“ erscheint als der ungeätzte Tubulus.



**Abb. 31:** REM Aufnahme der *In-vitro*-Versuchsreihe in 20000-facher Vergrößerung; nach 3 min intraoralen Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h intraoralen Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Hier sieht man einen Tubulus ohne Säureätzung, die Spülungen erfolgten hier mit sterilem Wasser.



**Abb. 32:** REM Aufnahme der *In-vitro*-Versuchsreihe in 20000-facher Vergrößerung; nach 3 min intraoralen Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung (insgesamt 5 Spülungen) gespült. Nach 2,5 h intraoralen Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Hier sieht man einen Tubulus mit Säureätzung, die Spülungen erfolgten hier mit sterilem Wasser.



**Abb. 33** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 20000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

# 5 Diskussion

## 5.1 Diskussion von Material und Methodik

### 5.1.1 Studiendesign und Fragestellung

Die Pellikel liegt als Proteinschicht schützend auf der Zahnoberfläche, sowohl auf der Schmelzoberfläche als auch auf freiliegendem Dentin (Hannig et al., 2004; Joiner et al., 2008; Wiegand et al., 2008a). Die Pellikel kann protektiv als Lubrikant (Berg et al., 2003; Hannig and Joiner, 2006; Lendenmann et al., 2000) sowie als Schutz gegen Erosionen wirken (Amaechi et al., 1999; Cheaib and Lussi, 2011; Cheung et al., 2005; Hannig et al., 2007; Hannig and Hannig, 2014; Hannig and Joiner, 2006; Hara et al., 2006; Lendenmann et al., 2000; Shellis and Addy, 2014; Vukosavljevic et al., 2014; Wiegand et al., 2008a). Es wurde aber auch gezeigt, dass die Pellikel den Schmelz besser vor Folgen des erosiven Angriffs, wie Calciumverlust, schützen kann als das Dentin (Hannig and Hannig, 2014). Vor dem Hintergrund, die protektiven Funktionen der Pellikel zu verbessern, wurde in der Vergangenheit bereits versucht, die Pellikel mit Pflanzenextrakten, Lipiden und Polyphenolen zu modifizieren (Hannig et al., 2012; Hertel et al., 2017; Kensche et al., 2013; Weber et al., 2015). Vor allem der Einfluss von Polyphenolen auf die Pellikel wurde in ellipsometrischen Studien getestet (Joiner et al., 2006; Joiner et al., 2004; Joiner et al., 2003) und es konnte ein positiver Effekt auf die Schutzfunktion der Pellikel gezeigt werden.

In der vorliegenden Studie sollen nun in weiteren Versuchsreihen, sowohl *in-vitro* als auch *in-situ*, die Ergebnisse der vergangenen Studien zu Polyphenolen (Adstringenzien) verifiziert werden, sowie auch eine Spüllösung aus ätherischen Ölen (theranovis®), welche als aktive Substanzen Etheröle, Fettsäuren und Polyphenole beinhaltet, im *In-vitro*-und *In-situ*-Versuch getestet werden.

In den vorangegangenen Studien dazu wurden die strukturellen Veränderungen der Pellikel auf Schmelz durch Adstringenzien untersucht (Hertel et al., 2017; Rehage et al., 2017). Nun soll die erosionsprotektive Wirkung von Tanninsäure und ätherischen Ölen direkt auf der Dentinoberfläche untersucht werden. Dazu wurden als Analyse- und Messverfahren Mikrohärtmessungen, Rauheitsmessungen und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen verwendet.

### 5.1.2 Art, Herstellung und Bearbeitung der Prüfkörper

Für die vorliegende Studie wurden Dentinprüfkörper verwendet, die aus bovinen Zähnen hergestellt wurden, da humane Zähne in der benötigten Menge schwer zu beschaffen sind. Die

Rinderfrontzähne bieten sich als Material aufgrund der Größe und der strukturellen Ähnlichkeit mit menschlichen Zähnen an, außerdem bieten sie den Vorteil der Kariesfreiheit und Homogenität, der durch die einheitliche Ernährung der Tiere zustande kommt. Dies führt auch zu einer vergleichbaren mineralischen Zusammensetzung der Rinderdentinprüfkörper. Bereits in der Vergangenheit wurde die Pellikelbildung auf Rinderzähnen untersucht (Hannig et al., 2004). Die Rinderzähne wurden in ihren Eigenschaften als kompatibel zu Menschenzähnen eingestuft (Nakamichi et al., 1983). Sie weisen eine ähnliche Röntgendichte wie die humanen Zähne auf (Fonseca et al., 2004) und bei Betrachtung unter dem Rasterelektronenmikroskop konnte gezeigt werden, dass sich die Anzahl der Rinderdentintubuli pro  $\text{mm}^2$  sowie deren Durchmesser nicht signifikant von den menschlichen Dentintubuli unterscheiden (Camargo et al., 2008; Schilke et al., 2000). In einer ähnlichen Studie wurden boviner Schmelz und bovines Dentin mit menschlichem Schmelz und menschlichem Dentin verglichen und die Autoren schlussfolgerten, dass der Rinderschmelz dem humanen Schmelz gleichzusetzen ist, jedoch nicht das Dentin (Turssi et al., 2010). Andere Autoren verglichen menschlichen Schmelz und menschliches Dentin mit Schmelzprüfkörpern und Dentinprüfkörpern, die von Kälbern und jungen Rindern gewonnen wurden. Sie stellten fest, dass sowohl die Schmelzprüfkörper als auch die Dentinprüfkörper, die von den jungen Rindern stammten, mit menschlicher Zahnhartsubstanz vergleichbar sind und somit für Erosionsstudien verwendet werden können (Wegehaupt et al., 2008). Es wurden auch bereits in anderen Erosionsstudien Dentinprüfkörpern aus Rinderzähnen verwendet (Hannig et al., 2007; Wiegand et al., 2008a). Ebenso wäre die Abmessung von 2 x 4 mm der Dentinprüfkörpern bei der Gewinnung aus menschlichen Zähnen kaum zu realisieren gewesen. Desweiteren wurden die Prüfkörper mit einer Korngröße von bis zu 4000 grit poliert und unter dem Auflichtmikroskop betrachtet, um Inhomogenitäten, Verunreinigungen und Mikrokratzer und Mikrorisse auf der Oberfläche auszuschließen, denn bei Untersuchungen mit dem Rasterelektronenmikroskop konnte festgestellt werden, dass die Oberflächenrauigkeit einen großen Einfluss auf die Biofilmbildung hat (Quirynen and Bollen, 1995). Da es sich bei den Dentinprüfkörpern um ein Naturprodukt handelt, weisen die Prüfkörper schon vor der Erosion mit Zitronensäure große interindividuelle Unterschiede bezüglich der Mikrohärtigkeit auf. Um eine Egalisierung und Standardisierung der Prüfkörper zu erreichen, wurde bereits vor den Versuchsreihen eine Vorauswahl der Prüfkörper getroffen. Es wurden Vickers-Mikrohärtemessungen vorgenommen und die Prüfkörper aussortiert, deren Härtewert nicht zwischen 40 und 60 lag.

### 5.1.3 Pellikelgewinnung und Pellikelentfernung

Da die Daten zur Pellikelbildung auf Dentin sehr rar sind, wird im Folgenden auch auf wissenschaftliche Veröffentlichungen verwiesen, welche die Pellikelbildung auf Schmelz oder anderen Festkörperoberflächen beschreiben.

Die *In-situ*-Pellikelbildung beginnt bereits nach Sekunden durch spontane Adsorption von Speichelproteinen auf Festkörperoberflächen, die dem oralem Milieu ausgesetzt sind (de Jong et al., 1984; Hannig, 1999; Vacca Smith and Bowen, 2000b). Nach einer Minute kann schon eine elektronendichte Pellikel von 10 - 20 nm Dicke detektiert werden (Hannig, 1999) und die Pellikel erreicht nach 2 - 3 Minuten eine initiale Dicke. Man geht davon aus, dass die Pellikeldicke in der ersten Stunde am stärksten zunimmt und dann die Rate der Pellikelbildung 1 bis 2 h nach Beginn der Bildung abflacht (Skjorland et al., 1995). In der vorliegenden Studie wurde eine minimale Pellikelbildungszeit von 3 min gewählt, um die Initialdicke der Pellikel abzuwarten, denn eine 3 Minuten alte Pellikel kann die Hartschmelzoberfläche bereits in ähnlichem Umfang vor erosiven Reagenzien schützen wie eine 2 Stunden Pellikel (Hannig et al., 2004). Danach wurden abermals Proben im Abstand von 30 min gewählt. Die maximale Bildungsdauer der Pellikel in diesem Versuch waren 150 min.

Zur *In-situ*-Pellikelbildung wurden die Prüfkörper auf herausnehmbaren Trageschienen montiert, die individuell für jeden Probanden hergestellt und angepasst und intraoral getragen wurden (Addy et al., 2002; Hannig, 1999; Hooper et al., 2003; Tinanoff et al., 1976). Das Trageschienensystem hat sich aufgrund seiner relativ leichten Herstellung, Trageweise und Wiederverwendbarkeit für die intraorale Speichelsexposition der Prüfkörper bewährt. Die Trageschienen wurden so gekürzt, dass sie den Gaumen nicht bedeckten, um die Speichelsekretion der palatinalen Speicheldrüsen nicht zu beeinflussen. Jedoch wurden durch die Schienen die Sulci gingivales im Bereich vom 1. Prämolaren bis zum 2. Molaren bedeckt, was in gewissem Maße die Sekretion des Sulcusfluids beeinflusst haben mag. Denn an der Pellikelbildung sind sowohl Speichelkomponenten, bakterielle Komponenten als auch das Sulcusfluid, das von den Saume-pithelzellen gebildet wird, beteiligt (Hannig and Joiner, 2006). Nichtsdestotrotz brauchen die Trageschienen eine gewisse Ausdehnung, damit die Prüfkörper auf der bukkalen Seite der Schienen mittels A - Silikon President light body befestigt werden konnten. Damit während der intraoralen Tragezeit keine Silikonbestandteile freigesetzt wurden, welche möglicherweise die Pellikelbildung beeinflussen, wurden die Schienen vor dem Tragen für 24 h in sterilem Wasser gelagert (Orstavik and Hensten-Pettersen, 1978). Ebenso durften die Probanden während der Tragedauer keine Getränke oder Nahrungsmittel zu sich nehmen, um die Pellikelbildung nicht zu beeinflussen (Cheaib and Lussi, 2011; Hannig et al., 2012). Die Befestigung erfolgte ohne

Kontamination der Prüfkörperoberfläche. Nach entsprechender Tragezeit konnten die Prüfkörper ebenso ohne Berührung und Kontamination der Oberfläche mittels einer Pinzette von den Schienen entfernt werden.

Um eine Entfernung der oberflächlichen Pellikel zu erreichen, damit direkte Aussagen über die Beschaffenheit der Dentinprüfkörper vor und nach der Erosion getroffen werden können, mussten die Prüfkörper vor der weiteren Analyse mittels der aufgeführten Messmethoden mit chemischen Reagenzien behandelt werden. Die erste Methode, die zur Entfernung einer *in vivo* gebildeten Pellikel verwendet wurde, war das mechanische Entfernen der Pellikelschicht mit Hilfe eines Scalers (Sonju and Rolla, 1973), welches wohl nicht ohne Beschädigung der Oberfläche durchzuführen war. Eisenburger entfernte die nach der Erosion noch vorhandene, übriggebliebenen Pellikelüberreste chemisch und ultraschallaktiviert, um eine mechanische Beschädigung der Schmelzoberfläche zu verhindern (Eisenburger et al., 2004). In anderen Studien wurde die übriggebliebene organische Pellikel mittels NaOCl entfernt (Meurman and Frank, 1991) oder aber eine Entfernung der restlichen organischen Strukturen mittels einer Kombination aus NaOCl und Ultraschallaktivierung erreicht (Hannig et al., 2005). Die Kombination aus chemischen und ultraschallaktivem Verfahren scheint die beste Methode zur Entfernung der Pellikel zu sein (Hannig et al., 2005). In der vorliegenden Studie wurde ein anderes Verfahren zur Entfernung der Pellikel gewählt, da im Rahmen der Vorversuche nach der Pellikelentfernung mittels NaOCl und Ultraschallaktivierung bei der Überprüfung durch das REM immer noch Pellikelüberreste detektiert werden konnten. Deshalb wurde eine Kombination aus Ultraschallaktivierung und den Pufferlösungen RIPA und Triton verwendet, die üblicherweise zur Isolierung und Analysierung von Proteinen benutzt werden.

### 5.1.4 Probandenselektion

An den *In-situ*-Versuchen nahmen 5 Probanden teil. Umso größer der Probandenpool ist, desto geringer sind die Einflüsse der Unterschiede zwischen den einzelnen Individuen. In Bezug auf die Proteinzusammensetzung konnte in einer Studie, in der 3 Probanden untersucht wurden, keine großen interindividuellen Unterschiede aufgezeigt werden (Siqueira et al., 2007b). In einer *In-vitro*-Studie konnten ebenso keine großen Unterschiede zwischen der Proteinadsorption auf den verschiedenen Oberflächen gezeigt werden (Lindh, 2002). Es konnte eine erhebliche Übereinstimmung der interindividuellen Zusammensetzung der *in-situ* gebildeten Pellikel gezeigt werden (Al-Hashimi and Levine, 1989; Rykke et al., 1990; Yao et al., 2001).

Vor Beginn der Studie mussten sich die Probanden einer allgemeinen und speziellen Anamnese unterziehen, um Allgemeinerkrankungen, Erkrankungen der Speicheldrüsen, Medikamenteneinnahme sowie kariöse Läsionen, Zahnfleischerkrankungen und Erkrankungen der Mundschleimhaut ausschließen zu können. So sollten alle Einflussfaktoren ausgeschaltet werden, die eine veränderte Pellikelbildung nach sich ziehen. So kann die Speichelmenge oder die Zusammensetzung durch Tumorleiden im Kopf-Hals-Bereich und damit verbundener Medikation oder Bestrahlung verändert werden, was eine veränderte Pellikelbildung bewirkt (Bergdahl and Bergdahl, 2000; Leal et al., 2010). Im Laufe der Studie wurde ein Proband aufgrund einer kariösen Läsion ausgeschlossen, da das kariöse Milieu zu einer Kontamination der Prüfkörper mit Bakterien führte und somit eine Auswertung der Prüfkörper unmöglich machte.

Während der Tragezeit durften keine Zigaretten, Nahrung oder Getränke konsumiert werden, da Inhaltsstoffe derselbigen eine Modifikation der Pellikel bewirken können. Die Zusammensetzung des Speichels ist nämlich stark abhängig von den individuellen Ernährungsgewohnheiten (Linkosalo and Markkanen, 1985; Linkosalo et al., 1985). Die Probanden sollten aber vor Beginn der Tragezeit und der vorgeschalteten Mundhygiene normal Nahrung zu sich nehmen, denn eine schwankende Pellikelzusammensetzung, eine sogenannte Hungerpellikel, die sich durch längere Nahrungsabstinenz bildet, sollte vermieden werden (Rykke and Sonju, 1991; Vacca Smith and Bowen, 2000a).

### 5.1.5 Spülung mit Spüllösungen

Die Spülung mit den Mundspüllösungen erfolgte in der vorliegenden Studie anfangs nach 3 Minuten intraoraler Expositionsdauer, danach mit 30 - minütiger Frequenz. Die Spülung dauerte jeweils 1 Minute. Im Vergleich zu vorherigen Studien bedeutete dies eine verkürzte einfache Einwirkungsdauer der Spüllösungen auf die Prüfkörper, aber dafür eine erhöhte Frequenz der Spülungen (Hannig et al., 2012; Hertel et al., 2017; Weber et al., 2015). So wirkten die Spüllösungen insgesamt 5 Minuten auf die Prüfkörper ein. Als der Effekt von Tanninsäure auf die Pellikel in einer vorangegangenen Studie untersucht wurde, erfolgte eine einmalige 10 - minütige Spülung mit Tanninsäure nach 1 - minütiger oraler Expositionszeit der Prüfkörper, bevor die Prüfkörper für 19 Minuten, 109 Minuten, 8 h in situ belassen wurden. In dieser Studie konnte ein wirksamer und nachhaltiger Effekt der Tanninsäure in Bezug auf den Schutz vor Karies und Erosionen nachgewiesen werden (Hertel et al., 2017). Der Einfluss von Pflanzenextrakten, die sehr polyphenolhaltig sind, auf die erosionsprotektive Wirkung der Pellikel wurde ebenso untersucht. Die Spülzeit der Prüfkörper mit den Pflanzenextrakten betrug einmalig 10 Minuten, nachdem die Prüfkörper für 1 Minute in der Mundhöhle getragen wurden, nach

der Spülung verblieben die Prüfkörper für 19 oder 28 Minuten im *Cavum oris*. Es konnten Hinweise auf einen vor Erosionen schützenden Charakter der Pflanzenextrakte festgestellt werden (Weber et al., 2015). Um die Möglichkeiten des Erosionsschutzes durch Distelöl zu untersuchen, wurde in einer Studie nach 1 - minütiger intraoraler Pellikelbildungszeit von den Probanden 10 Minuten mit dem Öl gespült, bevor die Prüfkörper für weitere 19 Minuten in der Mundhöhle verblieben. Es konnte eine Modifizierung der Pellikel durch das Öl nachgewiesen werden (Hannig et al., 2012). Allerdings entspricht die häufige Frequenz der Spülungen in der vorliegenden Studie nicht der konventionellen Nutzung von Mundspülungen, wie beispielsweise elmex KARIESSCHUTZ oder meridol med CHX, 0,2 %, welche einmalig für 30 s appliziert wurden (Hannig et al., 2013). Die Zielsetzung in der vorliegenden Studie war jedoch durch häufige Applikation der Spüllösungen einen erosionsprotektiven Effekt auf das Dentin nachzuweisen.

### 5.1.6 Künstliche Erosion der Prüfkörper

In der vorliegenden Studie wurde zur künstlichen Erosion der pellikelbedeckten und der pellikelfreien Prüfkörper 1%-ige Zitronensäure verwendet. Eine 1%-ige wässrige Lösung Zitronensäure besitzt einen pH-Wert von 2,3. Zum Vergleich hat Zitronensaft einen Gehalt von 5 - 7% Zitronensäure und einen pH-Wert von 2,4. Die Säure kommt natürlicherweise in Obst und Säften vor, wird aber auch unter der E-Nummer 330 als Zusatzstoff in der Lebensmittelindustrie angewendet. Bei Zitronensäure handelt es sich laut dem LCI (Lebensmittelchemischen Institut) des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e.V. (BDSI) um die mit Abstand am häufigsten verwendete Genuss säure zur Lebensmittelherstellung. Zitronensäure wird zur Herstellung von alkoholfreien Erfrischungsgetränken, Fruchtsäften und Nektaren, Konfitüren und Süßwaren verwendet. Sie dient als Säuerungsmittel, als Säureregulator zur pH-Wert- Einstellung und zur Geschmackgebung.

Die in der Studie verwendete 1%-ige Zitronensäurekonzentration und deren pH-Wert von 2,3 soll für die heutzutage konsumierten Fruchstaf- und Erfrischungsgetränke beispielhaft stehen, deren pH-Werte sich im gleichen Rahmen bewegen (Grando et al., 1996; Grobler et al., 1989; Lussi et al., 1995). Die Einwirkzeit der Zitronensäure von 1 Minute wurde bereits in mehreren Untersuchungen verwendet und soll die Verweildauer der erosiven Reagenzien bei dem Konsum von sauren Säften oder Nahrungsmitteln widerspiegeln (Echterhoff, 2008; Hannig and Balz, 1999; Hannig et al., 2003; Nekrashevych and Stosser, 2003). Wurde die Einwirkzeit des erosiven Reagenz verlängert, musste mit vermehrten und verstärkten erosiven Effekten gerechnet werden (Meurman and Frank, 1991; Wetton et al., 2006).

Die Erosion der Prüfkörper erfolgte statisch *ex-situ*. Diese Methode unterscheidet sich mehr von dem natürlichen Vorgang der Nahrungs- und Getränkeaufnahme als eine Erosion unter Bewegung. In einer anderen Studie wurden die Proben nicht nur statisch, sondern zusätzlich unter ständiger Bewegung der Proben mit dem erosiven Reagenz behandelt, um den Spüleffekt zu simulieren, der bei Nahrungs- und Getränkeaufnahme in der Mundhöhle entsteht. Es wurde festgestellt, dass unter statischen Bedingungen die erosiven Einflüsse schwerwiegender sind als unter Agitation der Proben (Maupome et al., 1999). Auf der anderen Seite konnte gezeigt werden, dass Trinkgewohnheiten, wie zum Beispiel das Trinken durch einen Strohhalm, die zu einer verstärkten Agitation führen, zu einer Verstärkung des Erosionseinflusses führen (Eisenburger and Addy, 2003). Andere Autoren zeigten, dass sich der erosive Effekt von sauren Reagenzien durch Erhöhung der Säurefließraten sowie durch Erhöhung der Dauer des erosiven Angriffes verstärkt (Wiegand et al., 2007). Bei dem Vergleich von *In-situ*- und *In-vitro*-Versuchen stellte man fest, dass der erosive Mikohärteverlust auf Schmelz im *In-vitro*-Versuch im Vergleich zum *In-situ*-Versuch erhöht ist (Hughes et al., 1999). Auf den Schweregrad der Erosionen haben jedoch auch chemische, biologische und verhaltensabhängige Faktoren Einfluss. Einflussfaktoren, wie der Speichel, können das Ausmaß der Erosionen beeinflussen und vermindern (Lussi et al., 2004). Denn der Speichel besitzt Pufferkapazitäten, Verdünnungskapazitäten und Remineralisationskapazitäten, die das Ausmaß der Erosionen inhibieren und reduzieren können (Sreebny, 2000). Ebenso ermöglicht der Speichel die Ausbildung der Pellikel auf den Zahnoberflächen (Lendenmann et al., 2000). Da die künstliche Erosion jedoch unter Laborbedingungen und nicht *in-situ* erfolgte, blieben diese physiologischen Schutzmechanismen des Speichels und auch andere Einflussfaktoren wie die Scherkräfte der Zunge und die Weichteilbewegungen unberücksichtigt.

### 5.1.7 Mess- und Analysemethoden

Für eine aussagekräftige Untersuchung des unterschiedlichen Ausmaßes des erosiven Potentials der 1%-igen Zitronensäure auf die Dentinoberfläche nach Behandlung mit den unterschiedlichen Spüllösungen müssen sowohl qualitative als auch quantitative Mess- und Untersuchungsmethoden angewendet werden (Grenby, 1996). In dieser Studie wurden als quantitative Methoden die Mikrohärtemessung und die Oberflächenmessung mittels Profilometrie vorgenommen und als qualitative Methode wurden die REM-Aufnahmen der Oberfläche herangezogen.

Die Oberflächenmessung wurde mit Hilfe eines optischen Sensors (FRT MicroProf) durchgeführt. Diese Art der Oberflächenmessung ermöglicht eine berührungsfreie Messung der Oberfläche (Visscher and Struik, 1994). Die Proben werden somit nicht beschädigt und können nach

den Oberflächenmessungen weiteren Analyseverfahren unterzogen werden. Der optische Sensor FRT MicroProf wurde bereits in Abrasionsversuchen für Rauheitsmessungen verwendet (Al Khuraif, 2014; Heintze and Forjanic, 2005). Allgemein wird die profilometrische Oberflächenmessung in verschiedenen Studien zum Abrasionsverhalten und des damit verbundenen Abtrages des Dentins (Moore and Addy, 2005; Philpotts et al., 2005), aber auch des Oberflächenverhaltens von Dentin in Bezug auf Erosionen, verwendet (Ganss et al., 2000; Hooper et al., 2003).

Die durchschnittliche Mikrohärtigkeit von sklerotischem Rinderdentin ist geringer als die von sklerotischem menschlichen Dentin (Castanho et al., 2011). Ebenso konnte festgestellt werden, dass humanes Wurzel dentin härter als das Wurzel dentin von Rindern ist (Turssi et al., 2010). Dies muss bei der vorliegenden Studie bedacht werden. Andere Autoren konnten zeigen, dass bezüglich der Mikrohärtigkeit kein signifikanter Unterschied zwischen Rinderzähnen und humanen Zähnen besteht (Tiago et al., 2007). Bei der Erosion von Schmelzprüfkörpern kommt es aufgrund der Demineralisation zu einer Erweichung der Schmelzoberfläche (Hannig and Balz, 1999; Hannig and Balz, 2001), diese Erweichung lässt sich mittels des Vickers-Härteprüfverfahren erfassen (Oliver and Pharr, 1992). Das Rinderdentin ist von der Homogenität des Werkstoffes mit dem Rinderzahnschmelz vergleichbar (Tiago et al., 2007). Das Vickers-Härteprüfverfahren bietet eine leichte Ablesbarkeit des Indentationsabdruckes aufgrund der isometrischen Pyramidenform des Indentationskörpers (Nekrashevych, (2001) ), weshalb es in dieser Studie dem Härteprüfverfahren nach Knoop vorgezogen wird. Das Knoop-Verfahren unterscheidet sich von dem Vickers-Prüfverfahren durch den anders geformten Indentationskörper (Al Khuraif, 2014; Kappert and Eichner, (2005) ). Da sich die Indentationskörper von der Geometrie der beiden verschiedenen Verfahren unterscheiden, ist ein Vergleich der beiden Verfahren nur orientierend möglich (Blumenauer, (1989) ). Bei den Dentinprüfkörpern handelt es sich um ein Naturprodukt. Das Vickers-Härtemessverfahren ist sensibel bezüglich der Oberflächenbeschaffenheit des zu prüfenden Werkstoffes. Die Messunsicherheiten sind umso höher, je rauer die Oberfläche der Probe ist (Normung, 2006). Um diesen Fehler bei den Messungen zu minimieren, wurden pro Prüfkörper 5 Messungen durchgeführt und gemittelt und es erfolgte vor den Versuchen die Politur der Prüfkörper mittels Silikonkarborundpapier.

Die Pellikelschicht ist grundsätzlich mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskopes darstellbar (Lie, 1977; Meurman and Frank, 1991), jedoch kann es aufgrund der Vorbereitung der Proben für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zu Schrumpfungartefakten kommen. Die Pellikelstruktur kann folglich nicht eindeutig und aussagekräftig dargestellt werden (Nekrashevych, (2001) ). Die rasterelektronenmikroskopische Analyse ist ein Verfahren, um

die Beschaffenheit einer Probenoberfläche zu betrachten. Beispielsweise wurde die Untersuchungsmethode mittels Rasterelektronenmikroskop in verschiedenen Studien zur Abrasionsbeständigkeit von dentalen Werkstoffen verwendet (Frankenberger et al., 2005; Krejci et al., 1999). Um nun bei Untersuchungen, bei denen Prüfkörper dem intraoralen Milieu ausgesetzt wurden, die Prüfkörperoberfläche direkt unter dem Rasterelektronenmikroskop untersuchen zu können, muss zuerst die Pellikel entfernt werden (Hannig and Balz, 1999). So kann mittels rasterelektronenmikroskopischer Analyse der erosionsprotektive Effekt der modifizierten Pellikel auf dentale Oberfläche abgeleitet werden. Nach einer erosiven Periode können so offene Dentintubuli in unterschiedlicher Ausprägung visualisiert werden (Lussi and Carvalho, 2014).

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

### 5.2.1 FRT- Scan

Bereits andere Autoren wendeten zur Bestimmung der Tiefe des erosiven Abtrages profilometrische Messverfahren an. Dabei konnte in *In-vitro*-Experimenten festgestellt werden, dass keine Korrelation in der Erosionstiefe zwischen menschlichem Schmelz und menschlichem Dentin besteht (Ganss et al., 2000). Ebenso konnte in Bezug auf bovine Schmelzprüfkörper im *In-vitro*-Versuch eine limitierte säureprotektive Wirkung der experimentell hergestellten Pellikel auf die Schmelzoberfläche mittels Profilometrie nachgewiesen werden (Nekrashevych et al., 2004). Meurman zeigte nach Säureätzungen eine erhöhte Oberflächenrauheit und Porositäten vor allem im intertubularen Bereich des Dentins (Meurman et al., 1991). In der vorliegenden Studie wurde vor allem deutlich, dass die Prüfkörper der *In-vitro*-Reihe eine erhöhte Zunahme der Oberflächenrauheit nach der Säureerosion im Vergleich zur *In-situ*-Reihe aufwiesen. Dieses Ergebnis stimmt mit den Ergebnissen anderer Studien überein, die der *in-situ* gebildeten Pellikel einen Schutzeffekt gegenüber Säureerosion zusprechen (Hannig et al., 2004; Hannig and Joiner, 2006; Hertel et al., 2017; Meurman and Frank, 1991). Die relativ großen Unterschiede der Standardabweichungen der sRq-Werte der einzelnen Probanden und auch die großen Abweichungen zwischen den Medianwerten der einzelnen Probanden sprechen für interindividuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Prüfkörpern, erschwerten die Vergleichbarkeit der einzelnen Messungen, sprechen für die Sensibilität der Messungen und erschwerten somit auch eine reproduzierbare Aussage bezüglich der Rauheitszunahme der Oberflächen. Es konnte keine eindeutige Schutzfunktion der Tanninsäure und des theranovis® gegenüber der Kontrollspülung in Bezug auf die Zunahme der Rauheit bewiesen werden.

### 5.2.2 Mikrohärtmessung

Mikrohärtmessungen an menschlichen Zähnen zeigten, dass Dentin eine um den Faktor 3,6 - 5,7 geringere Härte aufweist als Schmelz (Behrendt, 2015). In einer Studie, in der sklerotisches, menschliches Dentin mit sklerotischem bovinen Dentin mittels Vickers-Härtmessungen verglichen wurde, zeigte sich, dass das Rinderdentin weicher als das menschliche Dentin ist (Castanho et al., 2011). Obwohl das Rinderdentin tatsächlich niedrigere Mikrohärtmesswerte als das menschliche Gegenstück zeigte, ist es als akzeptable Alternative für Erosionsversuche anzusehen (Hara et al., 2003; Wegehaupt et al., 2008).

Nach der Säureeinwirkung konnte unabhängig davon, mit welcher Spüllösung gespült wurde, sowohl bei den *In-situ*-Versuchen als auch bei den *In-vitro*-Versuchen bei jeder Messung eine Abnahme der Mikrohärt festgestellt werden. Jedoch ist den Mikrohärtmessungen der einzelnen Probanden der *In-situ*-Versuche und der Mikrohärtmessungen der *In-vitro*-Versuchsreihe bezüglich der Schutzwirkung auf den Mikrohärtverlust nach der Säureexposition kein eindeutiger Effekt zu entnehmen.

Die Spüllösungen theranovis® und Tanninsäure zeigen gegenüber der Kontrollreihe keinen nachweisbaren Schutzeffekt. Die unterschiedlichen Medianwerte der Mikrohärt der einzelnen Probanden sprechen bereits vor der Säureexposition für relativ große interindividuelle Unterschiede. Hertel et al. (2017) konnten auf bovinen Schmelzprüfkörpern einen erosionsprotektiven Effekt von Tanninsäure auf die Pellikel nachweisen, allerdings wurde dies mittels photometrischer Messungen der Kalzium- und Phosphatfreisetzung und transmissionselektronenmikroskopischer Aufnahmen untersucht. Bezüglich des erosionsprotektiven Potentials natürlicher Reagenzien konnten desweiteren Teeauszüge und Pflanzenextrakte einen positiven Effekt aufweisen. Jedoch wurde in diesen Untersuchungen eine andere Methodik angewendet und überwiegend das Transmissionselektronenmikroskop und photometrische Messungen der Kalzium- und Phosphatmessungen vorgenommen (Hannig et al., 2008; Hannig et al., 2012; Weber et al., 2015). Polyphenole scheinen jedoch im *In-vitro*-Versuch keine Einwirkung auf die Re- und Demineralisationsvorgänge, zumindest auf menschlichen Schmelz, zu haben (Li et al., 2004) und somit keinen Einfluss auf die Härte der Proben zu haben.

### 5.2.3 Rasterelektronenmikroskop

Bei den beiden vorherigen quantitativen Methoden konnte nicht eindeutig gezeigt werden, dass die Spüllösungen Tanninsäure oder theranovis® das Rinderdentin vor Mikrohärtverlusten oder einer erhöhten Rauigkeit durch Säureexposition schützen können. Die folgende Auswertung der REM-Aufnahmen lässt mehr Interpretationsfreiraum, da es sich um eine qualitative

Untersuchung handelt. Die Prüfkörper weisen allerdings große Unterschiede zwischen und auch innerhalb der einzelnen Probanden auf, sodass ein objektiver Vergleich der Prüfkörper erschwert wird. Es konnte jedoch bei der Betrachtung der erodierten Dentinprüfkörper mittels REM eine unterschiedlich ausgeprägte Alteration der Oberfläche festgestellt werden. Die in den *In-situ*-Versuchen vorhandene Pellikelschicht konnte die erosive Wirkung der Zitronensäure gegenüber den pellikelfreien Prüfkörper der *In-vitro*-Versuche reduzieren. Dies stimmt mit der wissenschaftlichen Literatur überein, welche sich jedoch überwiegend mit bovinen Schmelzprüfkörpern beschäftigt (Amaechi et al., 1999; Cheung et al., 2005; Hannig et al., 2004; Hannig et al., 2003; Hara et al., 2006; Meurman and Frank, 1991; Nekrashevych et al., 2004). Die wissenschaftlichen Veröffentlichungen, die sich mit dem Erosionsschutz auf bovinem Dentin beschäftigen, sind rar. Eine chinesische Studie konnte den positiven Einfluss von Galla Chinensis Extrakt und Natriumfluorid auf die Oberflächenbeschaffenheit von Rinderdentin im *In-vitro*-Versuch mittels REM aufzeigen (Deng et al., 2013).

Wiegand et al. (2009) untersuchten in einer *In-vitro*-Studie den erosionsreduzierenden Einfluss von Titanium Tetrafluoriden und Natriumfluoriden auf bovine Dentinprüfkörper. Dabei konnten mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops globuläre Oberflächenauflagerungen aufgenommen werden, die die Dentintubuli bedeckten und somit den erosiven Einfluss reduzieren könnten (Wiegand et al., 2009). In Kombination mit einer pellikelbedeckten Oberfläche scheint das Titanium Tetrafluorid eine noch bessere Schutzwirkung zu entfalten (Wiegand et al., 2008b). Dies steht im Einklang mit den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der vorliegenden Studie, die einen verstärkten Säureeinfluss auf die pellikelfreien Dentinprüfkörper der *in-vitro*-Reihe darstellen

### 5.3 Schlussfolgerung

Abschließend lässt sich sagen, dass die Pellikel einen Schutzeffekt gegenüber Erosion aufweist. Die Spüllungen mit Tanninsäure und theranovis® zeigen vereinzelt einen erosionsprotektiven Effekt gegenüber der Kontrollspülung, jedoch kann die erosive Wirkung nicht vollständig verhindert werden. Außerdem zeigen sich keine einheitlichen Ergebnisse.

Um genauere Ergebnisse zu erzielen, sind weitere Studien notwendig.

### 6 Literaturverzeichnis

1. Abbas DK, Skjorland KK, Gjermo P, Sonju T (1985) Chemical and morphological studies of the acquired pellicle formed subgingivally on dentin in vivo. *Acta odontologica Scandinavica* 43:31-37
2. Addy M, Hughes J, Pickles MJ, Joiner A, Huntington E (2002) Development of a method in situ to study toothpaste abrasion of dentine. Comparison of 2 products. *Journal of clinical periodontology* 29:896-900
3. Aguerre MJ, Capozzolo MC, Lencioni P, Cabral C, Wattiaux MA (2016) Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. *Journal of dairy science* 99:4476-4486
4. Aguirre A, Mendoza B, Levine MJ, Hatton MN, Douglas WH (1989) In vitro characterization of human salivary lubrication. *Archives of oral biology* 34:675-677
5. Al Khuraif AA (2014) An in vitro evaluation of wear and surface roughness of particulate filler composite resin after tooth brushing. *Acta odontologica Scandinavica* 72:977-983
6. Al-Hashimi I, Levine MJ (1989) Characterization of in vivo salivary-derived enamel pellicle. *Archives of oral biology* 34:289-295
7. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A (1999) Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *Journal of dental research* 78:1821-1828
8. Asher C, Read MJ (1987) Early enamel erosion in children associated with the excessive consumption of citric acid. *British dental journal* 162:384-387
9. Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC, Addy M (2008) Inhibition of hydroxyapatite dissolution by whole casein: the effects of pH, protein concentration, calcium, and ionic strength. *European journal of oral sciences* 116:473-478
10. Bee G, Silacci P, Ampuero-Kragten S, Candek-Potokar M, Wealleans AL, Litten-Brown J, et al. (2016) Hydrolysable tannin-based diet rich in gallotannins has a minimal impact on pig performance but significantly reduces salivary and bulbourethral gland size. *Animal : an international journal of animal bioscience*:1-9
11. Behrendt A (2015) Zum Einfluss von Pellikel und Schwarztee auf die Zahnpastenabrasion von Schmelz und Dentin. Med Diss, Homburg, Universität des Saarlandes,

12. Berg IC, Rutland MW, Arnebrant T (2003) Lubricating properties of the initial salivary pellicle--an AFM study. *Biofouling* 19:365-369
13. Bergdahl M, Bergdahl J (2000) Low unstimulated salivary flow and subjective oral dryness: association with medication, anxiety, depression, and stress. *Journal of dental research* 79:1652-1658
14. Bilic-Sobot D, Kubale V, Skrlep M, Candek-Potokar M, Prevolnik Povse M, Fazarinc G, et al. (2016) Effect of hydrolysable tannins on intestinal morphology, proliferation and apoptosis in entire male pigs. *Archives of animal nutrition* 70:378-388
15. Blumenauer H(1989) *Werkstoffprüfung* ILeipzig Dt. Verl. für Grundstoffindustrie
16. Camargo MA, Marques MM, de Cara AA (2008) Morphological analysis of human and bovine dentine by scanning electron microscope investigation. *Archives of oral biology* 53:105-108
17. Candek-Potokar M, Skrlep M, Batorek Lukac N, Zamaratskaia G, Prevolnik Povse M, Velikonja Bolta S, et al. (2015) Hydrolysable tannin fed to entire male pigs affects intestinal production, tissue deposition and hepatic clearance of skatole. *Veterinary journal (London, England : 1997)* 204:162-167
18. Caruana M, Cauchi R, Vassallo N (2016) Putative Role of Red Wine Polyphenols against Brain Pathology in Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Frontiers in nutrition* 3:31
19. Castanho GM, Marques MM, Marques JB, Camargo MA, Cara AAD (2011) Micromorphological and hardness analyses of human and bovine sclerotic dentin: a comparative study. *Brazilian Oral Research* 25:274-279
20. Chang CH, Chiu HF, Han YC, Chen IH, Shen YC, Venkatakrishnan K, et al. (2017) Photoprotective effects of cranberry juice and its various fractions against blue light-induced impairment in human retinal pigment epithelial cells. *Pharmaceutical biology* 55:571-580
21. Cheaib Z, Lussi A (2011) Impact of acquired enamel pellicle modification on initial dental erosion. *Caries research* 45:107-112
22. Cheung A, Zid Z, Hunt D, McIntyre J (2005) The potential for dental plaque to protect against erosion using an in vivo-in vitro model--a pilot study. *Australian dental journal* 50:228-234
23. Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y (1998) Tannins and human health: a review. *Critical reviews in food science and nutrition* 38:421-464

24. de Jong HP, de Boer P, Busscher HJ, van Pelt AW, Arends J (1984) Surface free energy changes of human enamel during pellicle formation. An in vivo study. *Caries research* 18:408-415
25. de Morais Cardoso L, Pinheiro SS, Martino HS, Pinheiro-Sant'Ana HM (2017) Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. *Critical reviews in food science and nutrition* 57:372-390
26. Deng M, Li H, Dong XL, Shi JH (2013) [Effect of *Galla chinensis* on the surface strengthening of bovine dentine in vitro]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 22:164-168
27. Echterhoff B (2008) Vergleichende Untersuchung des säureprotektiven Potentials einer innerhalb von zwei, sechs, zwölf und 24 Stunden in situ gebildeten Pellikel. Med Diss, Homburg, Universität des Saarlandes,
28. Ehlen LA, Marshall TA, Qian F, Wefel JS, Warren JJ (2008) Acidic beverages increase the risk of in vitro tooth erosion. *Nutrition research (New York, NY)* 28:299-303
29. Eisenburger M, Addy M (2003) Influence of liquid temperature and flow rate on enamel erosion and surface softening. *Journal of oral rehabilitation* 30:1076-1080
30. Eisenburger M, Shellis RP, Addy M (2004) Scanning electron microscopy of softened enamel. *Caries research* 38:67-74
31. Fonseca RB, Haiter-Neto F, Fernandes-Neto AJ, Barbosa GA, Soares CJ (2004) Radiodensity of enamel and dentin of human, bovine and swine teeth. *Archives of oral biology* 49:919-922
32. Frankenberger R, Garcia-Godoy F, Lohbauer U, Petschelt A, Kramer N (2005) Evaluation of resin composite materials. Part I: in vitro investigations. *American journal of dentistry* 18:23-27
33. Ganss C, Klimek J, Schwarz N (2000) A comparative profilometric in vitro study of the susceptibility of polished and natural human enamel and dentine surfaces to erosive demineralization. *Archives of oral biology* 45:897-902
34. Grando LJ, Tames DR, Cardoso AC, Gabilan NH (1996) In vitro study of enamel erosion caused by soft drinks and lemon juice in deciduous teeth analysed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy. *Caries research* 30:373-378
35. Grenby TH (1996) Methods of assessing erosion and erosive potential. *European journal of oral sciences* 104:207-214

36. Grobler SR, Senekal PJ, Kotze TJ (1989) The degree of enamel erosion by five different kinds of fruit. *Clinical preventive dentistry* 11:23-28
37. Hall AF, Buchanan CA, Millett DT, Creanor SL, Strang R, Foye RH (1999) The effect of saliva on enamel and dentine erosion. *Journal of dentistry* 27:333-339
38. Hannig C, Becker K, Hausler N, Hoth-Hannig W, Attin T, Hannig M (2007) Protective effect of the in situ pellicle on dentin erosion - an ex vivo pilot study. *Archives of oral biology* 52:444-449
39. Hannig C, Gaeding A, Basche S, Richter G, Helbig R, Hannig M (2013) Effect of conventional mouthrinses on initial bioadhesion to enamel and dentin in situ. *Caries research* 47:150-161
40. Hannig C, Sorg J, Spitzmuller B, Hannig M, Al-Ahmad A (2009) Polyphenolic beverages reduce initial bacterial adherence to enamel in situ. *Journal of dentistry* 37:560-566
41. Hannig C, Spitzmuller B, Al-Ahmad A, Hannig M (2008) Effects of Cistus-tea on bacterial colonization and enzyme activities of the in situ pellicle. *Journal of dentistry* 36:540-545
42. Hannig C, Wagenschwanz C, Potschke S, Kummerer K, Kensche A, Hoth-Hannig W, et al. (2012) Effect of safflower oil on the protective properties of the in situ formed salivary pellicle. *Caries research* 46:496-506
43. Hannig M (2002) The protective nature of the salivary pellicle. *International Dental Journal* 52:417-423
44. Hannig M (1997) Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials. *European journal of oral sciences* 105:422-433
45. Hannig M (1999) Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. *Clinical oral investigations* 3:88-95
46. Hannig M, Balz M (1999) Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries research* 33:372-379
47. Hannig M, Balz M (2001) Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel erosion. *Caries research* 35:142-148
48. Hannig M, Fiebiger M, Guntzer M, Dobert A, Zimehl R, Nekrashevych Y (2004) Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Archives of oral biology* 49:903-910

49. Hannig M, Hannig C (2007) Der initiale orale Biofilm - pathogen oder protektiv. *Oralprophylaxe & Kinderzahnheilkunde* 29:73-82
50. Hannig M, Hannig C (2014) The pellicle and erosion. *Monographs in oral science* 25:206-214
51. Hannig M, Hess NJ, Hoth-Hannig W, De Vrese M (2003) Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization--an in situ pilot study. *Clinical oral investigations* 7:158-161
52. Hannig M, Joiner A (2006) The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monographs in oral science* 19:29-64
53. Hannig M, Khanafer AK, Hoth-Hannig W, Al-Marrawi F, Acil Y (2005) Transmission electron microscopy comparison of methods for collecting in situ formed enamel pellicle. *Clinical oral investigations* 9:30-37
54. Hara AT, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT (2006) Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *Journal of dental research* 85:612-616
55. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA (2003) Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries research* 37:339-344
56. Heintze SD, Forjanic M (2005) Surface roughness of different dental materials before and after simulated toothbrushing in vitro. *Operative dentistry* 30:617-626
57. Hellwig E, Klimek J, Attin T (2009) Einführung in die Zahnerhaltung. Dt. Zahnärzte-Verlag 9783769133714
58. Hemingway CA, White AJ, Shellis RP, Addy M, Parker DM, Barbour ME (2010) Enamel erosion in dietary acids: inhibition by food proteins in vitro. *Caries research* 44:525-530
59. Henke A, Dickhoefer U, Westreicher-Kristen E, Knappstein K, Molkenin J, Hasler M, et al. (2017) Effect of dietary Quebracho tannin extract on feed intake, digestibility, excretion of urinary purine derivatives and milk production in dairy cows. *Archives of animal nutrition* 71:37-53
60. Hertel S, Potschke S, Basche S, Delius J, Hoth-Hannig W, Hannig M, et al. (2017) Effect of Tannic Acid on the Protective Properties of the in situ Formed Pellicle. *Caries research* 51:34-45

61. Hooper S, West NX, Pickles MJ, Joiner A, Newcombe RG, Addy M (2003) Investigation of erosion and abrasion on enamel and dentine: a model in situ using toothpastes of different abrasivity. *Journal of clinical periodontology* 30:802-808
62. Hughes JA, West NX, Parker DM, Newcombe RG, Addy M (1999) Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink in vitro and in situ. 1. Comparison with orange juice. *Journal of dentistry* 27:285-289
63. Jaeggi T, Lussi A (2014) Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monographs in oral science* 25:55-73
64. Jarvinen VK, Rytomaa, II, Heinonen OP (1991) Risk factors in dental erosion. *Journal of dental research* 70:942-947
65. Joiner A, Elofsson UM, Arnebrant T (2006) Adsorption of chlorhexidine and black tea onto in vitro salivary pellicles, as studied by ellipsometry. *European journal of oral sciences* 114:337-342
66. Joiner A, Muller D, Elofsson UM, Arnebrant T (2004) Ellipsometry analysis of the in vitro adsorption of tea polyphenols onto salivary pellicles. *European journal of oral sciences* 112:510-515
67. Joiner A, Muller D, Elofsson UM, Malmsten M, Arnebrant T (2003) Adsorption from black tea and red wine onto in vitro salivary pellicles studied by ellipsometry. *European journal of oral sciences* 111:417-422
68. Joiner A, Schwarz A, Philpotts CJ, Cox TF, Huber K, Hannig M (2008) The protective nature of pellicle towards toothpaste abrasion on enamel and dentine. *Journal of dentistry* 36:360-368
69. Kappert HF, Eichner K (2005) *Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung*. 1. Grundlagen und Verarbeitung I Thieme
70. Kensche A, Reich M, Kummerer K, Hannig M, Hannig C (2013) Lipids in preventive dentistry. *Clinical oral investigations* 17:669-685
71. Krejci I, Albert P, Lutz F (1999) The influence of antagonist standardization on wear. *Journal of dental research* 78:713-719
72. Leal SC, Bittar J, Portugal A, Falcao DP, Faber J, Zanotta P (2010) Medication in elderly people: its influence on salivary pattern, signs and symptoms of dry mouth. *Gerodontology* 27:129-133

73. Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG (2000) Saliva and dental pellicle--a review. *Advances in dental research* 14:22-28
74. Li JY, Zhan L, Barlow J, Lynch RJ, Zhou XD, Liu TJ (2004) [Effect of tea polyphenol on the demineralization and remineralization of enamel in vitro]. *Sichuan da xue xue bao Yi xue ban = Journal of Sichuan University Medical science edition* 35:364-366
75. Lie T (1977) Scanning and transmission electron microscope study of pellicle morphogenesis. *Scandinavian journal of dental research* 85:217-231
76. Lindh L (2002) On the adsorption behaviour of saliva and purified salivary proteins at solid/liquid interfaces. *Swedish dental journal Supplement*:1-57
77. Linkosalo E, Markkanen H (1985) Dental erosions in relation to lactovegetarian diet. *Scandinavian journal of dental research* 93:436-441
78. Linkosalo E, Markkanen H, Syrjanen S (1985) Effects of a lacto-ovo-vegetarian diet on the free amino acid composition of wax-stimulated whole human saliva. *The Journal of nutrition* 115:588-592
79. Lussi A, Carvalho TS (2014) Erosive tooth wear: a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monographs in oral science* 25:1-15
80. Lussi A, Jaeggi T, Jaeggi-Scharer S (1995) Prediction of the erosive potential of some beverages. *Caries research* 29:349-354
81. Lussi A, Jaeggi T, Schaffner M (2002) Diet and dental erosion. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)* 18:780-781
82. Lussi A, Jaeggi T, Zero D (2004) The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries research* 38 Suppl 1:34-44
83. Lussi A, Schaffner M (2000) Progression of and risk factors for dental erosion and wedge-shaped defects over a 6-year period. *Caries research* 34:182-187
84. Magalhaes AC, Wiegand A, Rios D, Hannas A, Attin T, Buzalaf MA (2009) Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. *Journal of dentistry* 37:994-998
85. Maupome G, Aguilar-Avila M, Medrano-Ugalde H, Borges-Yanez A (1999) In vitro quantitative microhardness assessment of enamel with early salivary pellicles after exposure to an eroding cola drink. *Caries research* 33:140-147

86. Meurman JH, Drysdale T, Frank RM (1991) Experimental erosion of dentin. Scandinavian journal of dental research 99:457-462
87. Meurman JH, Frank RM (1991) Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion. Caries research 25:1-6
88. Milosevic A, Lennon MA, Fear SC (1997) Risk factors associated with tooth wear in teenagers: a case control study. Community dental health 14:143-147
89. Minieri S, Buccioni A, Serra A, Galigani I, Pezzati A, Rapaccini S, et al. (2016) Nutritional characteristics and quality of eggs from laying hens fed on a diet supplemented with chestnut tannin extract (*Castanea sativa* Miller). British poultry science 57:824-832
90. Moazzez R, Bartlett D (2014) Intrinsic causes of erosion. Monographs in oral science 25:180-196
91. Moore C, Addy M (2005) Wear of dentine in vitro by toothpaste abrasives and detergents alone and combined. Journal of clinical periodontology 32:1242-1246
92. Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T (1983) Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. Journal of dental research 62:1076-1081
93. Nekrashevych Y (2001) Quantitative analytische und mikromorphologische Bewertung der Erosion des Zahnschmelzes und der protektiven Wirkung der Pellicel : eine In-vitro-Studie. . Med,
94. Nekrashevych Y, Hannig M, Stosser L (2004) Assessment of enamel erosion and protective effect of salivary pellicle by surface roughness analysis and scanning electron microscopy. Oral health & preventive dentistry 2:5-11
95. Nekrashevych Y, Stosser L (2003) Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. Caries research 37:225-231
96. Normung If2006BS EN ISO 6507-1:2005 Metallic materials. Vickers hardness test. Test methodIBSI Standards Limited058047674X
97. Oliver WC, Pharr GM (1992) An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. Journal of Material Research 7:1564-1583
98. Orstavik D, Hensten-Pettersen A (1978) Antibacterial activity of tooth-colored dental restorative materials. Journal of dental research 57:171-174

99. Otake S, Makimura M, Kuroki T, Nishihara Y, Hirasawa M (1991) Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. *Caries research* 25:438-443
100. Philpotts CJ, Weader E, Joiner A (2005) The measurement in vitro of enamel and dentine wear by toothpastes of different abrasivity. *Int Dent J* 55:183-187
101. Quirynen M, Bollen CM (1995) The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *Journal of clinical periodontology* 22:1-14
102. Rasheed A, Haider M (1998) Antibacterial activity of *Camellia sinensis* extracts against dental caries. *Archives of pharmacal research* 21:348-352
103. Rehage M, Delius J, Hofmann T, Hannig M (2017) Oral astringent stimuli alter the enamel pellicle's ultrastructure as revealed by electron microscopy. *Journal of dentistry*
104. Rykke M, Sonju T (1991) Amino acid composition of acquired enamel pellicle collected in vivo after 2 hours and after 24 hours. *Scandinavian journal of dental research* 99:463-469
105. Rykke M, Sonju T, Rolla G (1990) Interindividual and longitudinal studies of amino acid composition of pellicle collected in vivo. *Scandinavian journal of dental research* 98:129-134
106. Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W (2000) Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Archives of oral biology* 45:355-361
107. Shellis RP, Addy M (2014) The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monographs in oral science* 25:32-45
108. Siqueira WL, Helmerhorst EJ, Zhang W, Salih E, Oppenheim FG (2007a) Acquired enamel pellicle and its potential role in oral diagnostics. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1098:504-509
109. Siqueira WL, Zhang W, Helmerhorst EJ, Gygi SP, Oppenheim FG (2007b) Identification of protein components in in vivo human acquired enamel pellicle using LC-ESI-MS/MS. *Journal of proteome research* 6:2152-2160
110. Skjorland KK, Rykke M, Sonju T (1995) Rate of pellicle formation in vivo. *Acta odontologica Scandinavica* 53:358-362

111. Sonju T, Rolla G (1973) Chemical analysis of the acquired pellicle formed in two hours on cleaned human teeth in vivo. Rate of formation and amino acid analysis. *Caries research* 7:30-38
112. Sreebny LM (2000) Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int Dent J* 50:140-161
113. ten Cate JM, Imfeld T (1996) Dental erosion, summary. *European journal of oral sciences* 104:241-244
114. Tiago AD, Romano AR, Demarco FF, A.Della-Bona (2007) Surface microhardness evaluation of enamel and dentin in bovine and human teeth (permanent and deciduous). *Revista Odonto Cienca, Journal of Dental Science* Vol 22, No 58
115. Tinanoff N, Glick PL, Weber DF (1976) Ultrastructure of organic films on the enamel surface. *Caries research* 10:19-32
116. Turssi CP, Messias DF, Corona SM, Serra MC (2010) Viability of using enamel and dentin from bovine origin as a substitute for human counterparts in an intraoral erosion model. *Brazilian dental journal* 21:332-336
117. Vacca Smith AM, Bowen WH (2000a) The effects of milk and kappa-casein on salivary pellicle formed on hydroxyapatite discs in situ. *Caries research* 34:88-93
118. Vacca Smith AM, Bowen WH (2000b) In situ studies of pellicle formation on hydroxyapatite discs. *Archives of oral biology* 45:277-291
119. van der Mei HC, White DJ, Kamminga-Rasker HJ, Knight J, Baig AA, Smit J, et al. (2002) Influence of dentifrices and dietary components in saliva on wettability of pellicle-coated enamel in vitro and in vivo. *European journal of oral sciences* 110:434-438
120. Villalba JJ, Spackman C, Goff BM, Klotz JL, Griggs T, MacAdam JW (2016) Interaction between a tannin-containing legume and endophyte-infected tall fescue seed on lambs' feeding behavior and physiology. *Journal of animal science* 94:845-857
121. Visscher M, Struik K (1994) Optical profilometry and its application to mechanically inaccessible surfaces Part I: Principles of focus error detection. *Precision Engineering* 16:192-198
122. Vitkov L, Hannig M, Nekrashevych Y, Krautgartner WD (2004) Supramolecular pellicle precursors. *European journal of oral sciences* 112:320-325

123. Vukosavljevic D, Custodio W, Buzalaf MA, Hara AT, Siqueira WL (2014) Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. *Archives of oral biology* 59:631-638
124. Weber M-T, Hannig M, Pötschke S, Höhne F, Hannig C (2015) Application of Plant Extracts for the Prevention of Dental Erosion: An in situ/in vitro Study. *Caries research* 49:477-487
125. Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A, Attin T (2008) Is bovine dentine an appropriate substitute for human dentine in erosion/abrasion tests? *Journal of oral rehabilitation* 35:390-394
126. Wetton S, Hughes J, West N, Addy M (2006) Exposure time of enamel and dentine to saliva for protection against erosion: a study in vitro. *Caries research* 40:213-217
127. White AJ, Gracia LH, Barbour ME (2011) Inhibition of dental erosion by casein and casein-derived proteins. *Caries research* 45:13-20
128. Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhaes AC, Sener B, Attin T (2008a) Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. *Acta odontologica Scandinavica* 66:225-230
129. Wiegand A, Magalhães AC, Sener B, Waldheim E, Attin T (2009) TiF<sub>4</sub> and NaF at pH 1.2 but not at pH 3.5 are able to reduce dentin erosion. *Archives of oral biology* 54:790-795
130. Wiegand A, Meier W, Sutter E, Magalhaes AC, Becker K, Roos M, et al. (2008b) Protective effect of different tetrafluorides on erosion of pellicle-free and pellicle-covered enamel and dentine. *Caries research* 42:247-254
131. Wiegand A, Stock A, Attin R, Werner C, Attin T (2007) Impact of the acid flow rate on dentin erosion. *Journal of dentistry* 35:21-27
132. Yao Y, Grogan J, Zehnder M, Lendenmann U, Nam B, Wu Z, et al. (2001) Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spectrometry. *Archives of oral biology* 46:293-303
133. Young A, Rykke M, Rolla G (1999) Quantitative and qualitative analyses of human salivary micelle-like globules. *Acta odontologica Scandinavica* 57:105-110
134. Zahradnik RT (1979) Modification by salivary pellicles of in vitro enamel remineralization. *Journal of dental research* 58:2066-2073
135. Zahradnik RT, Moreno EC, Burke EJ (1976) Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. *Journal of dental research* 55:664-670

136. Zero DT (1996) Etiology of dental erosion--extrinsic factors. European journal of oral sciences 104:162-177

## 7 Danksagung

Ich danke in erster Linie meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Matthias Hannig für die Bereitstellung des Themas, der Betreuung und der Korrekturlesung mit Anmerkungen und den zahlreichen Ideen zur Verbesserung.

Ein besonderer Dank geht an Frau Dr. rer. nat. Natalia Umanskaya, die mir im experimentellen Teil der Arbeit stets mit Rat und Tat geduldig zur Seite gestanden hat.

Außerdem möchte ich mich ebenso bei Frau Nazife Yazdani bedanken, die immer ein offenes Ohr für mich hatte und sowohl während des experimentellen Teils der Arbeit als auch bei der Verschriftlichung der Ergebnisse mich stets unterstützt hat.

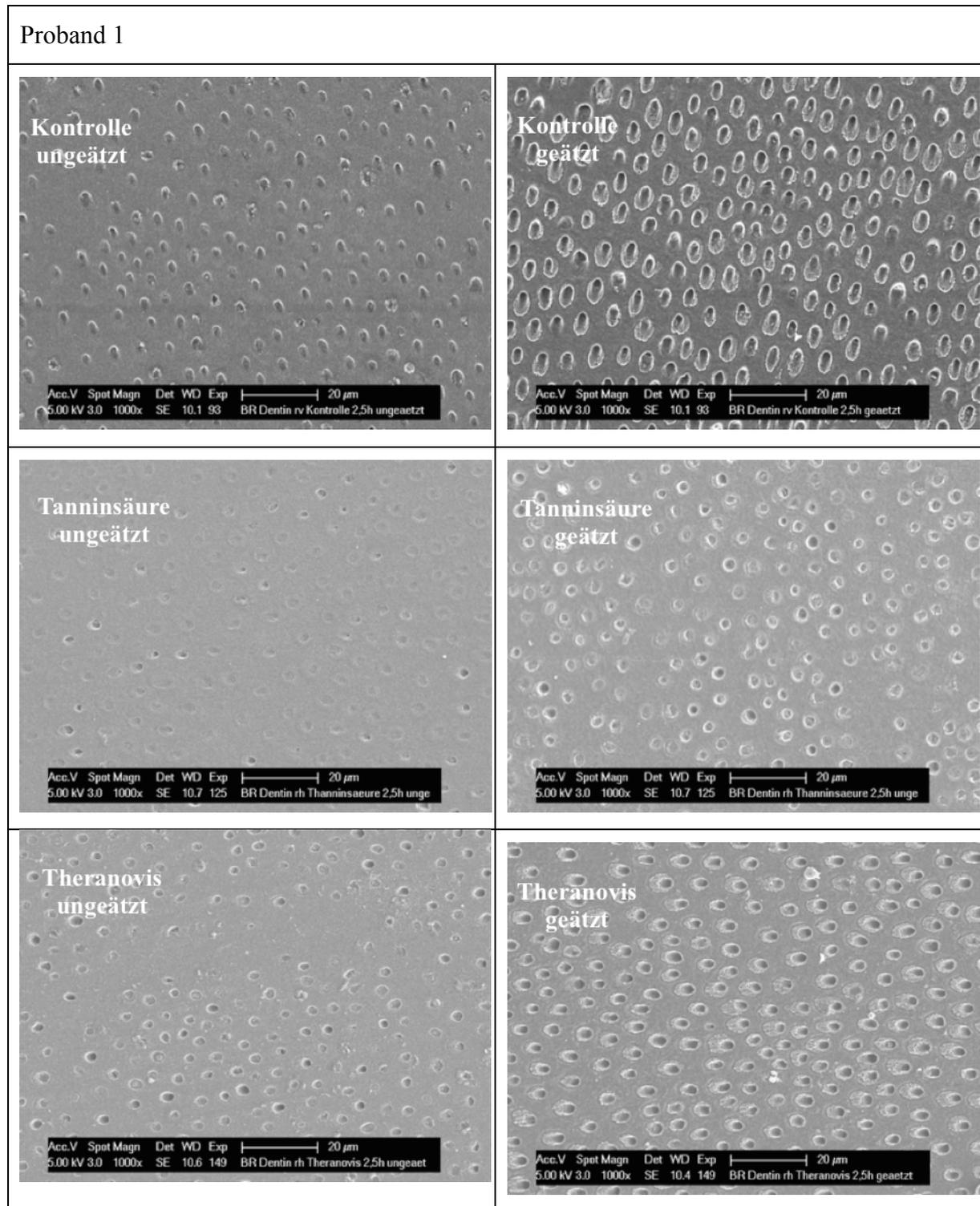
Des Weiteren bin ich Norbert Pütz zu Dank verpflichtet, der mir mit äußerster Geduld bei der Anfertigung der REM geholfen hat und damit zum Erfolg der Dissertation beigetragen hat.

Ebenso möchte ich mich ganz besonders bei Herrn Philipp Haas bedanken, der mir stets mit Rat und Tat bei technischen Problemen zur Seite stand.

Zu guter Letzt danke ich meiner Familie und auch Frau Jana Carneim für Ihren stetigen Zuspruch.

Die Untersuchungen erfolgten mit finanzieller Unterstützung durch die DFG (Sonderforschungsbereich 1027).

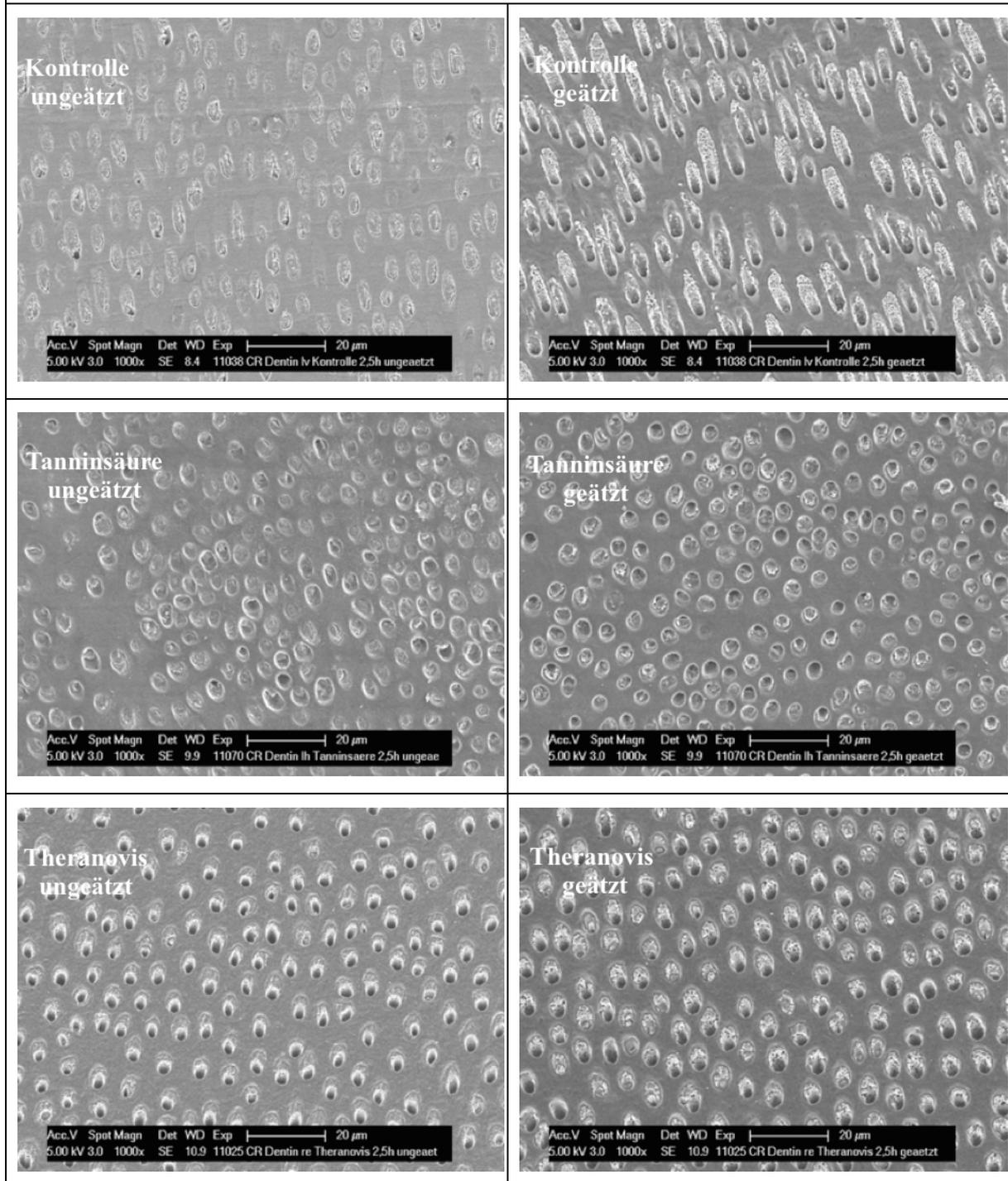
## 8 Anhang



**Abb. 34** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 1000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen

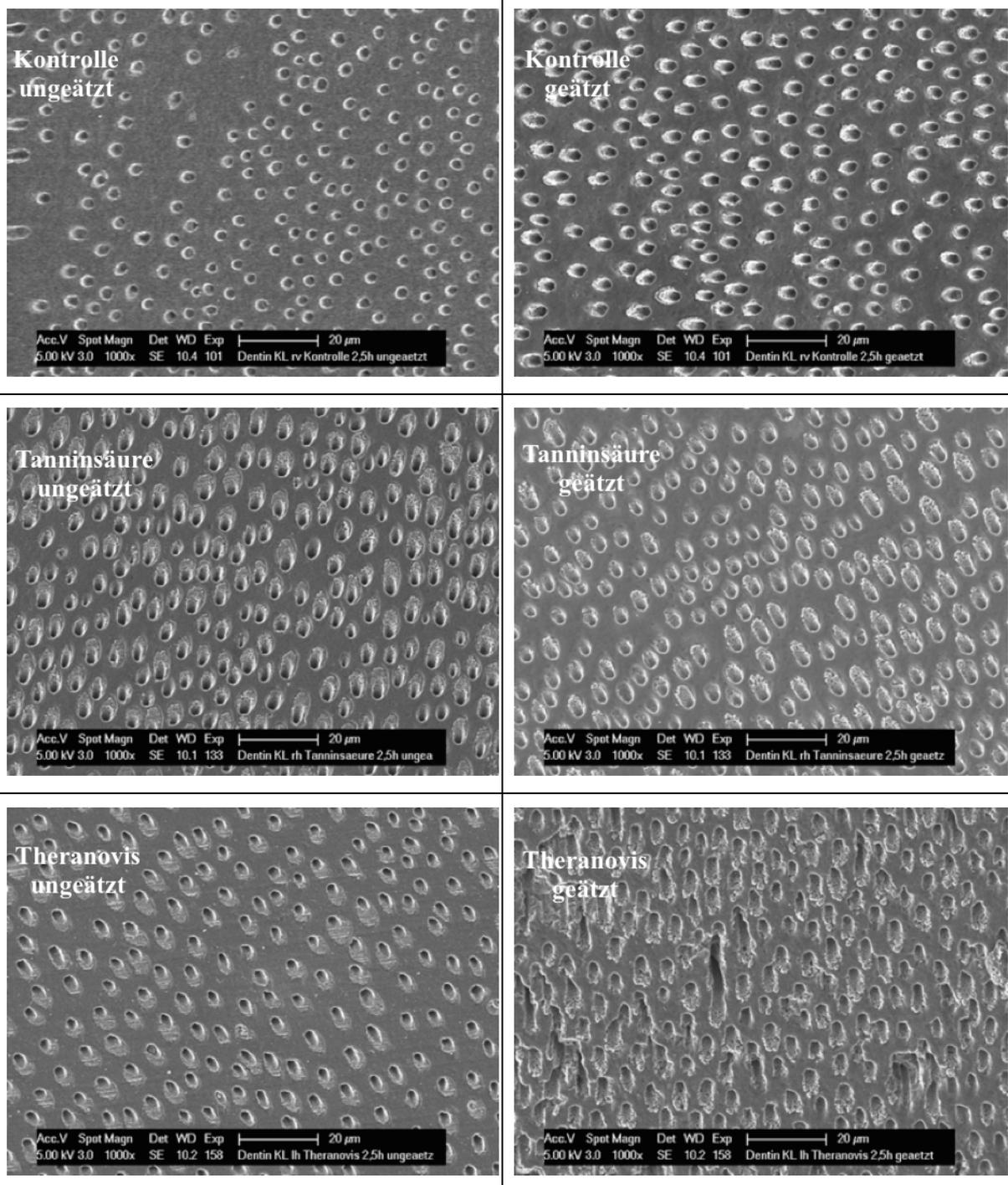
**Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.**

## Proband 2

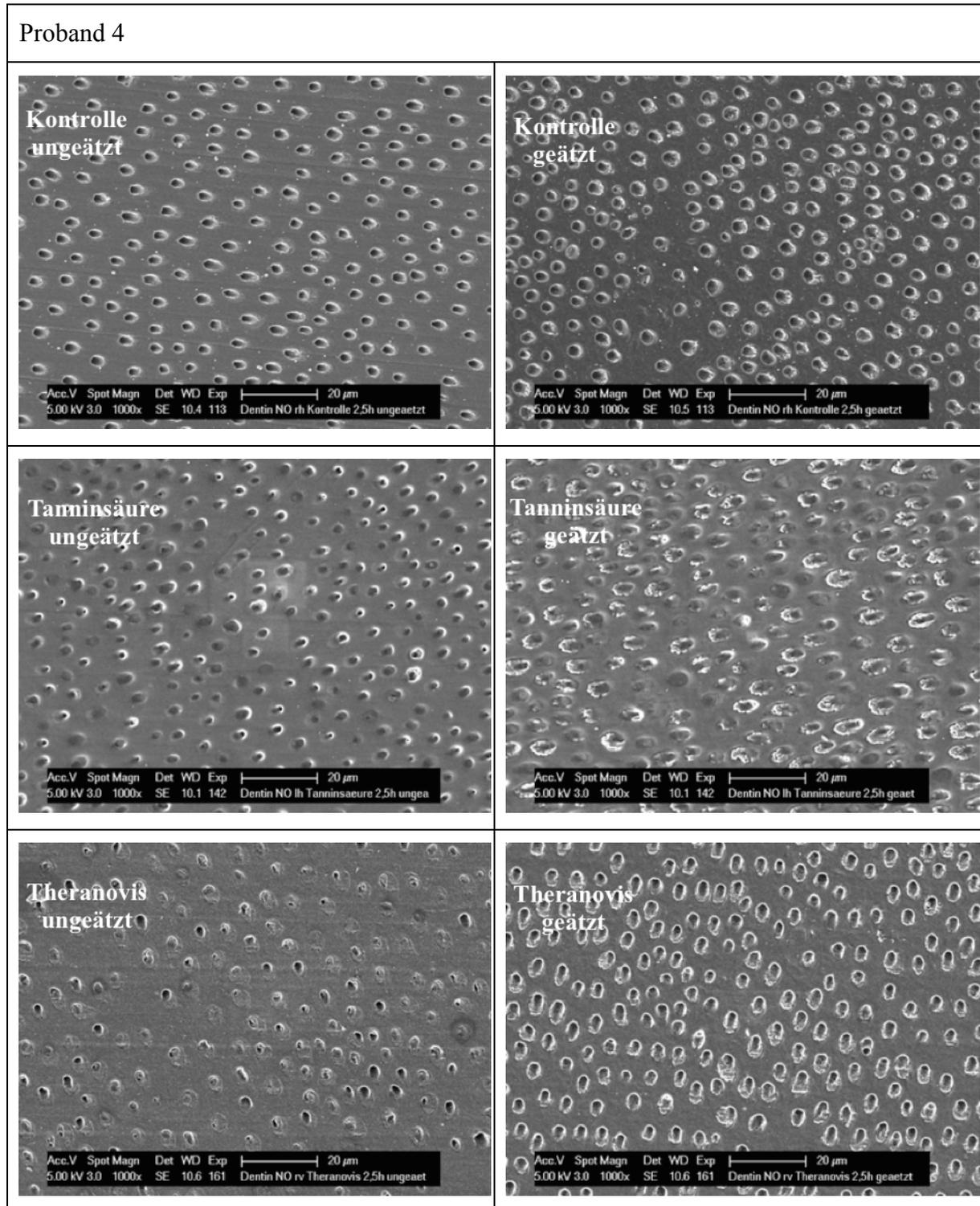


**Abb. 35** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 1000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellicelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellicelstrukturen verblieben.

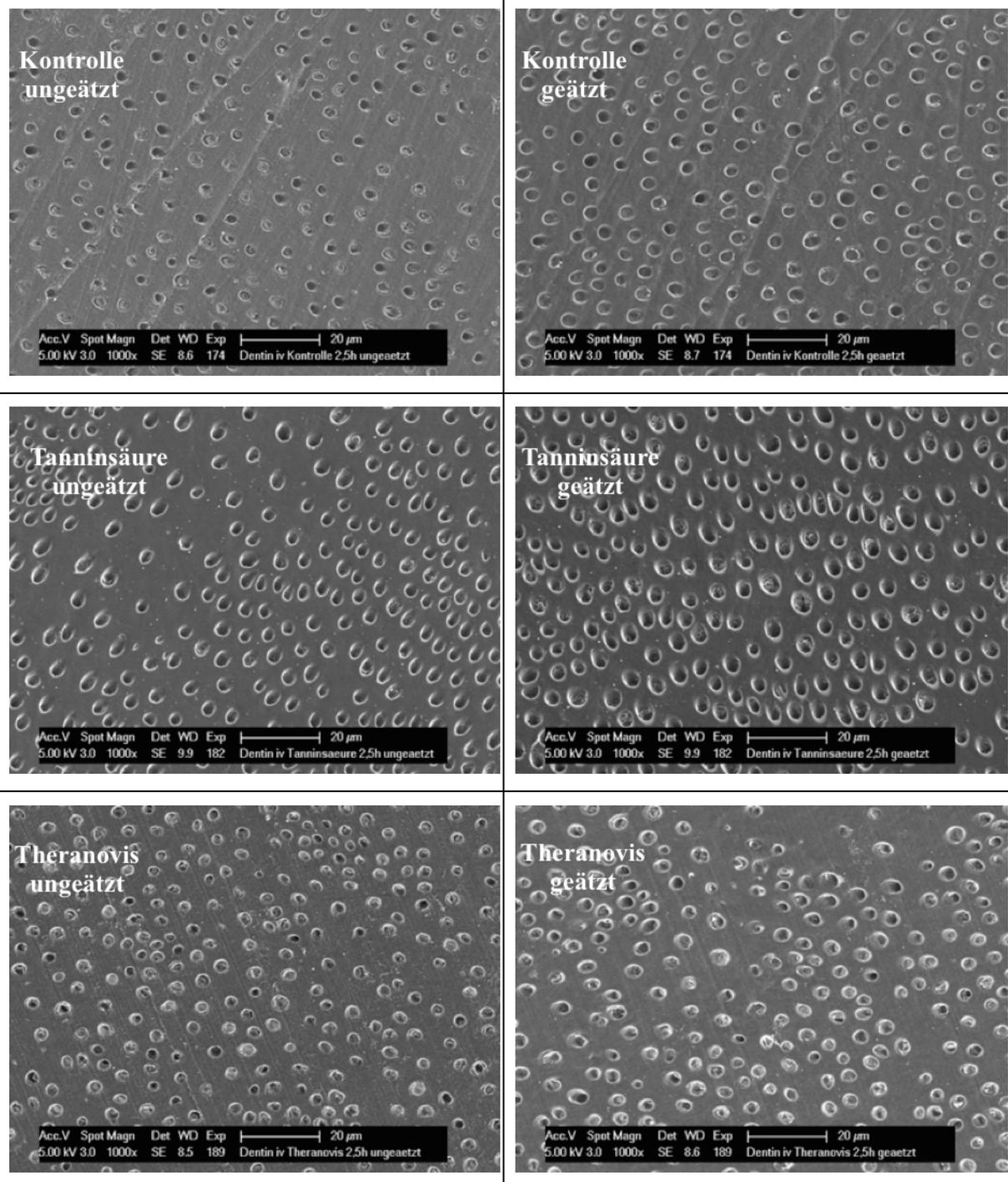
## Proband 3



**Abb. 36** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 1000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.



**Abb. 37** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 1000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

*in-vitro*

**Abb. 38** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 1000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus den Wellplatten und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Die Entfernung der Pellikel entfällt bei den *In-vitro*-Versuchen.

Proband 1

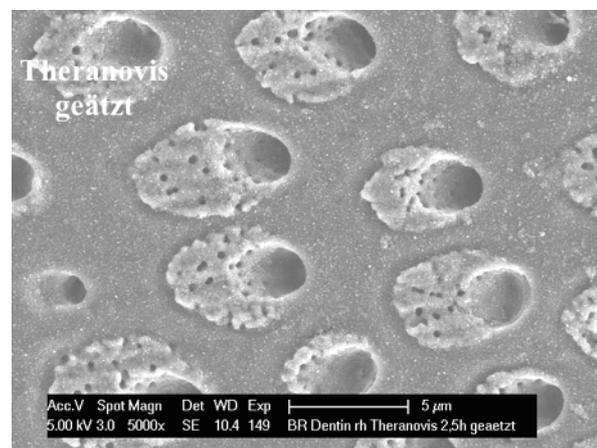
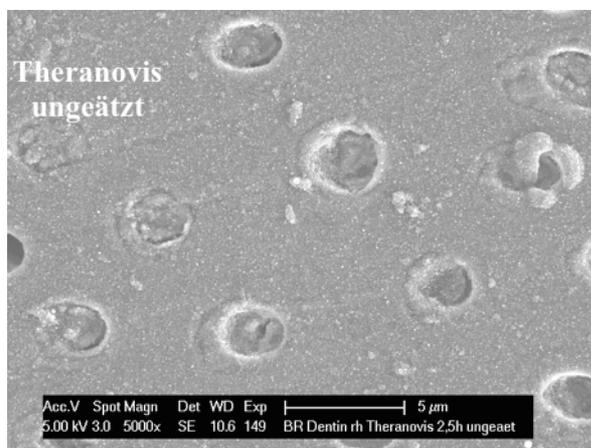
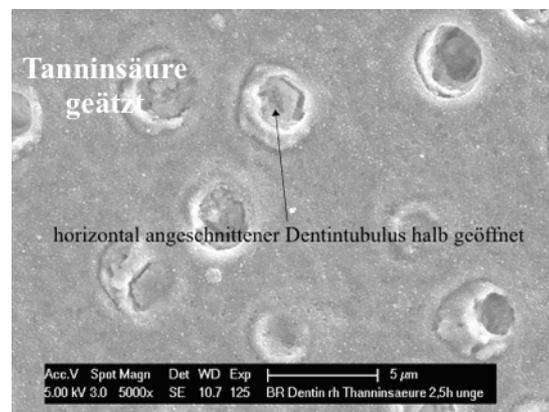
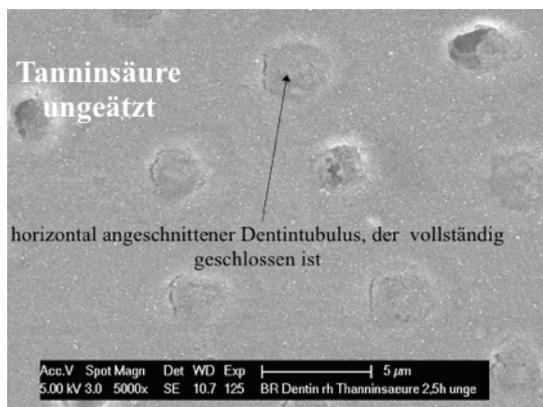
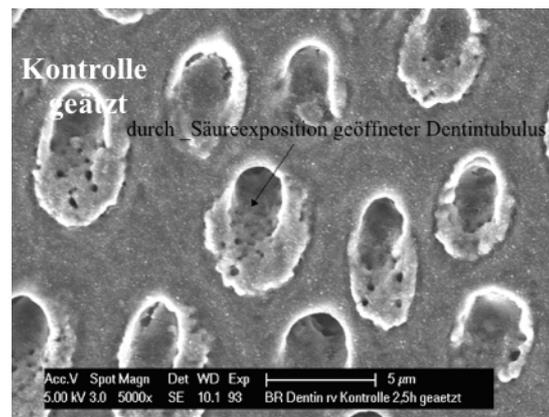
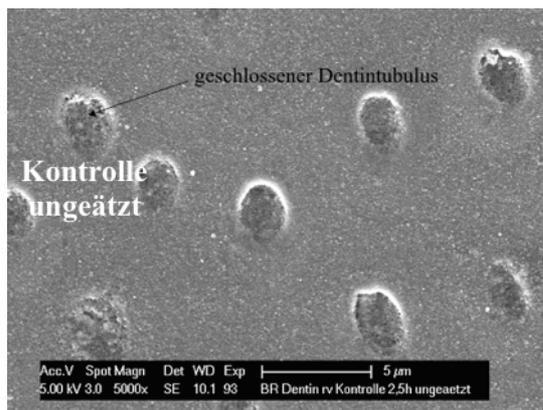
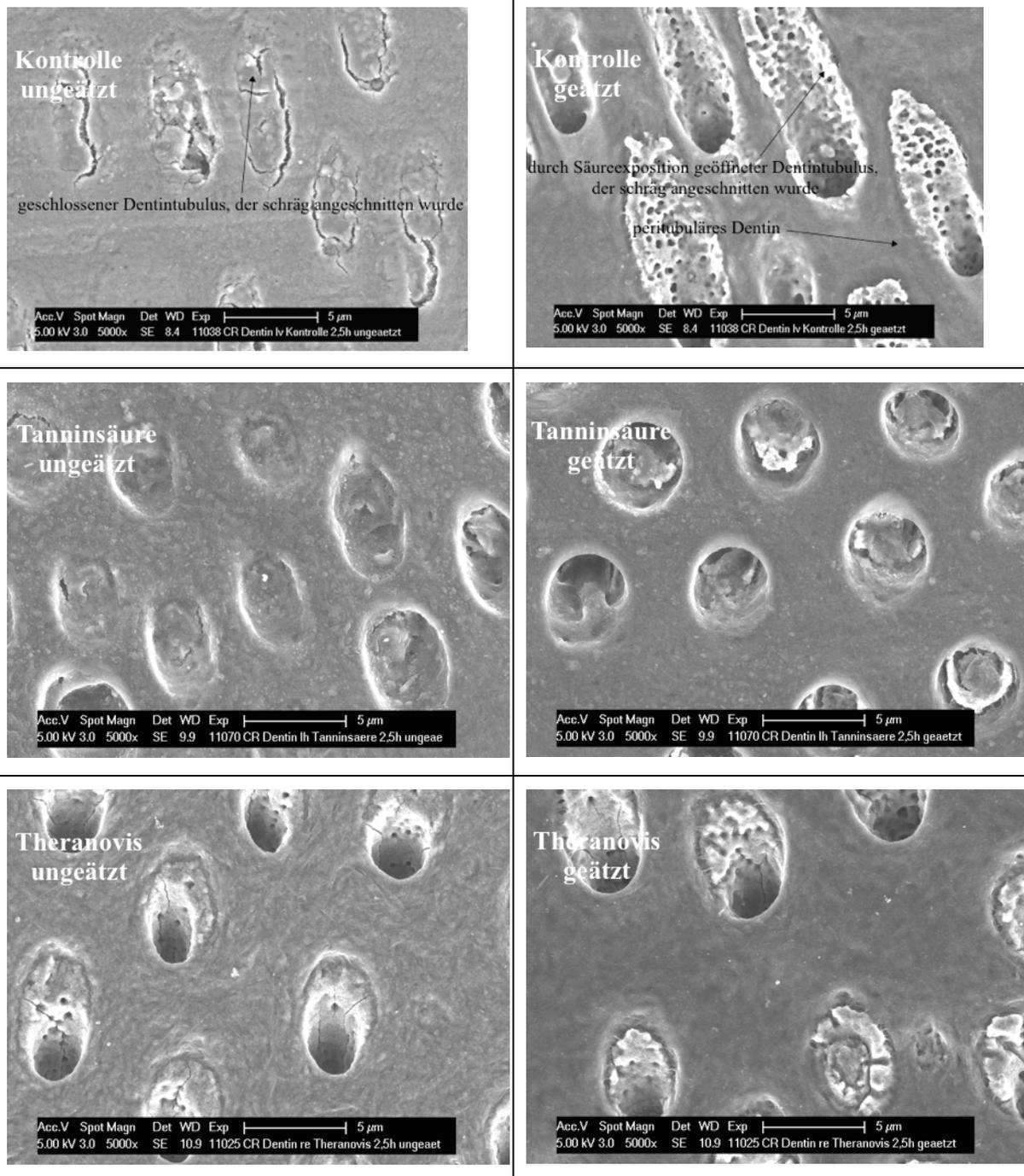


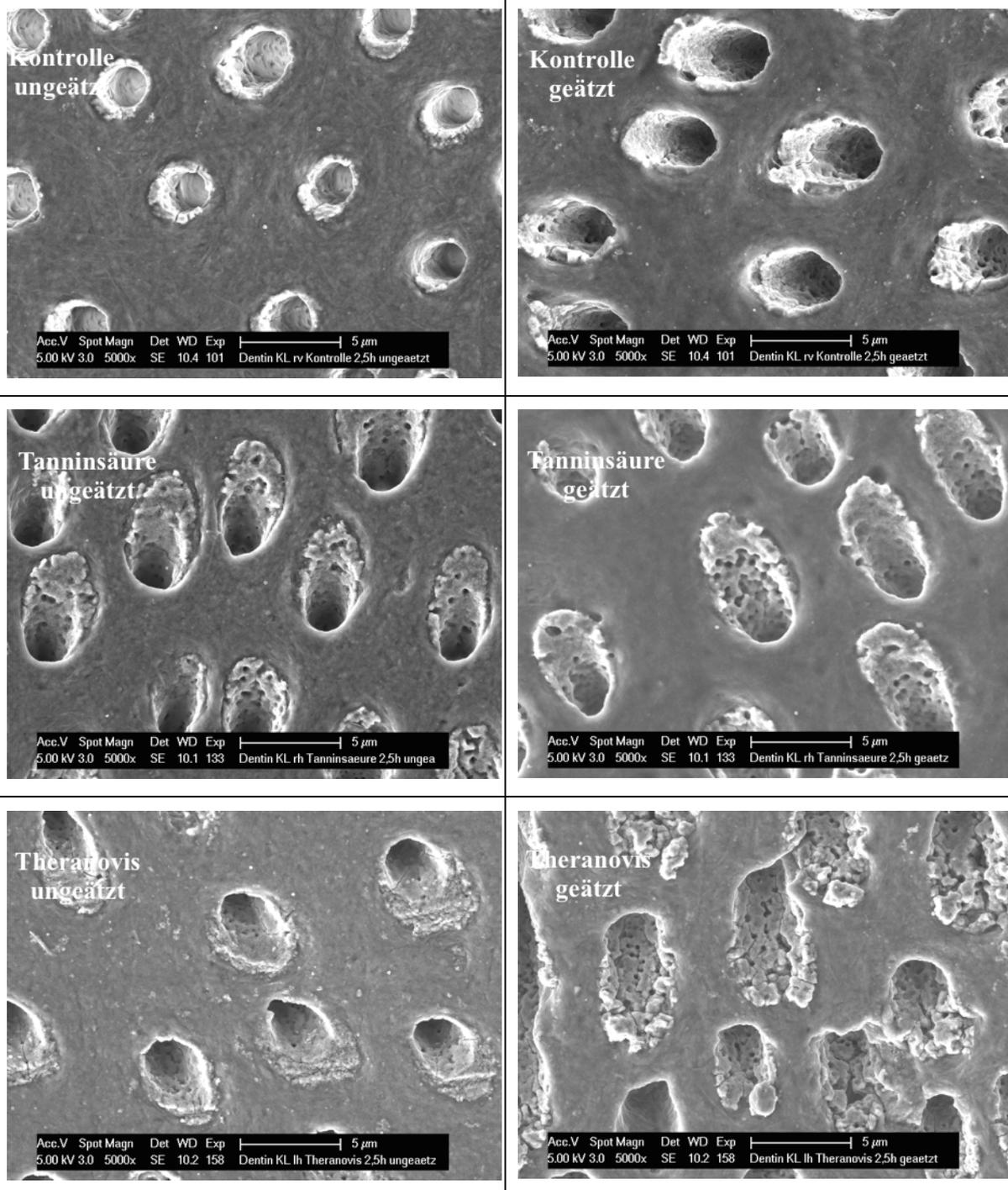
Abb. 39 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 5000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

Proband 2



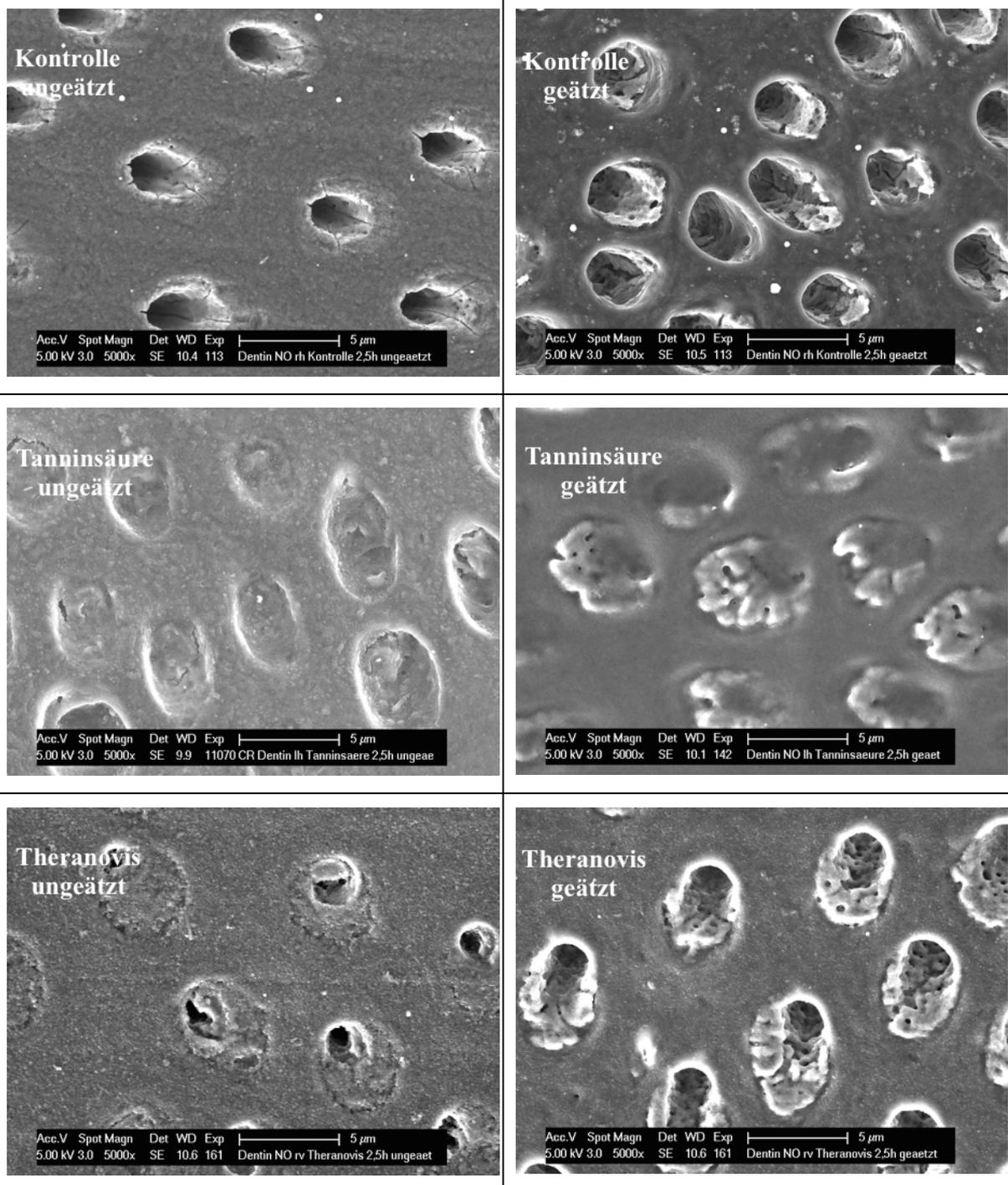
**Abb. 40** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 5000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

## Proband 3

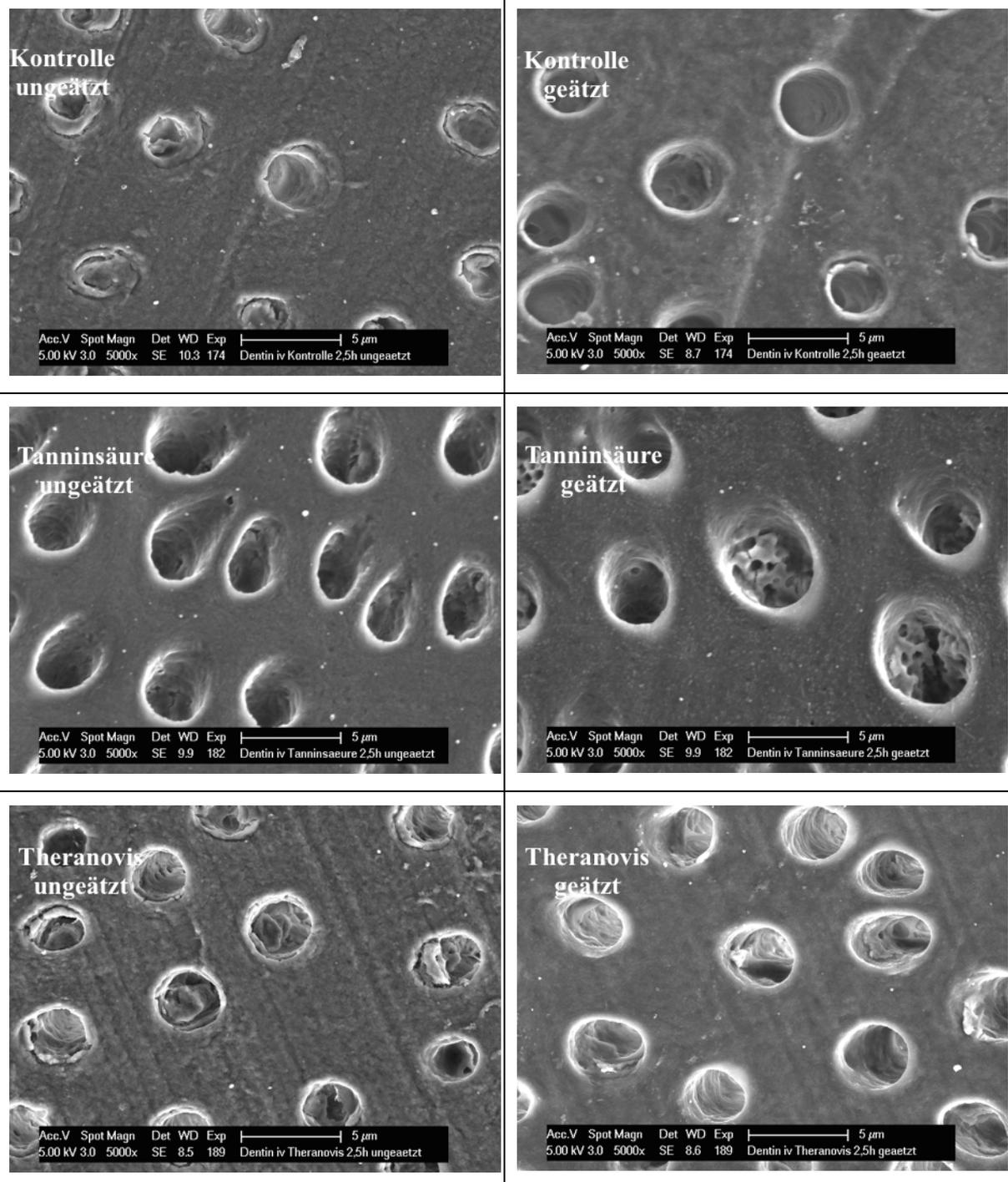


**Abb. 41** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 5000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

## Proband 4

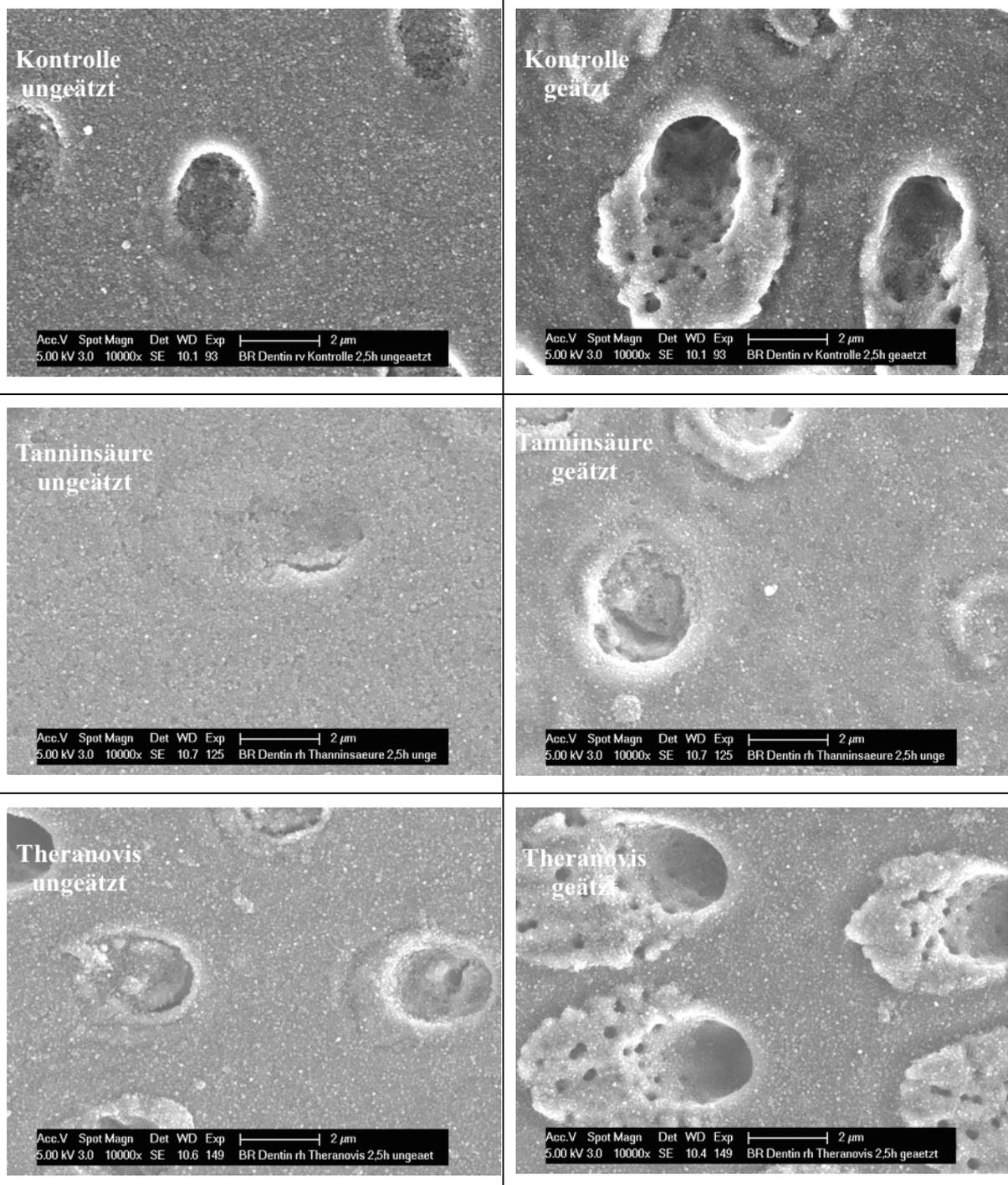


**Abb. 42** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 5000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

*in-vitro*

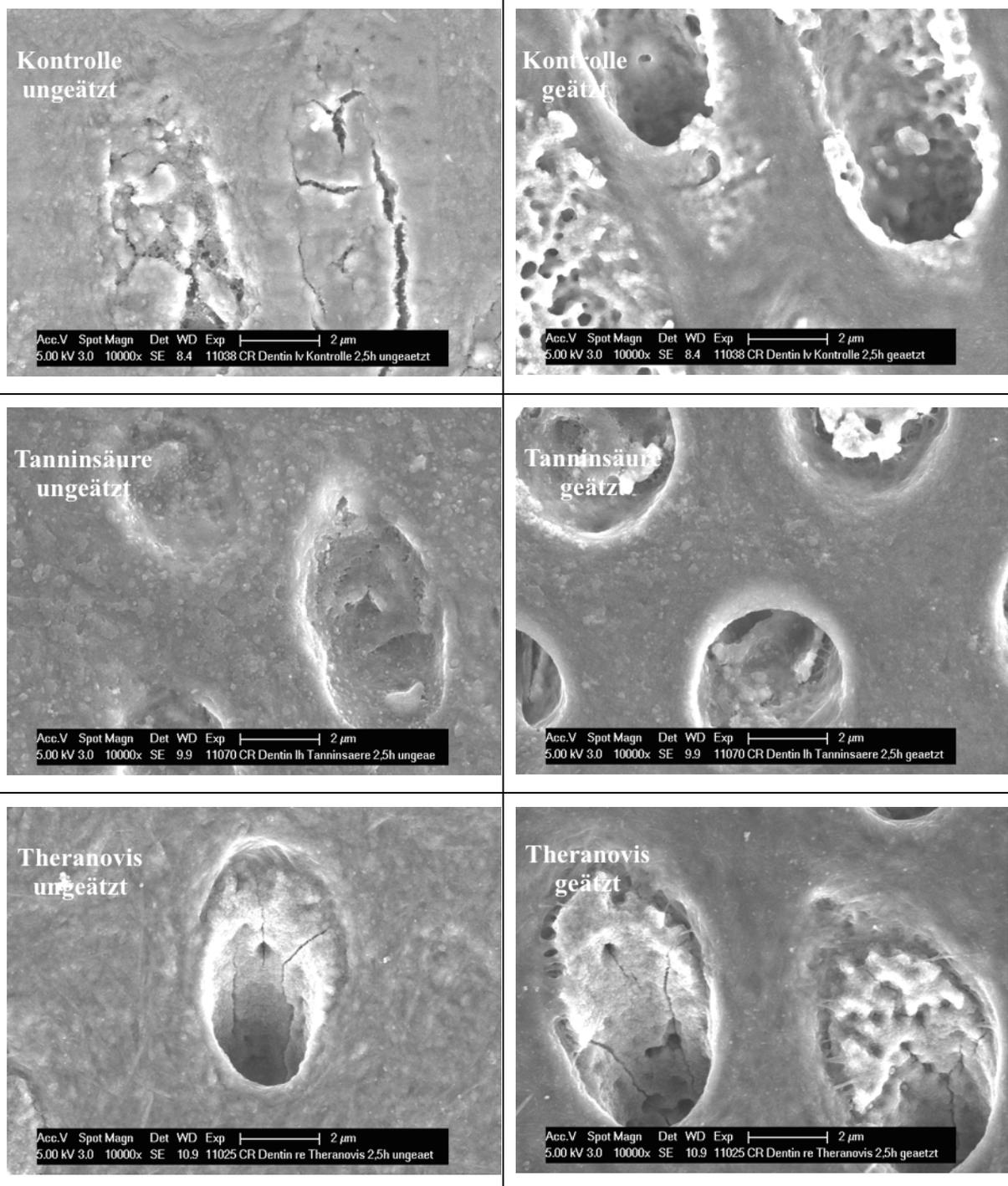
**Abb. 43** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 5000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus den Wellplatten und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Die Entfernung der Pellikel entfällt bei den *In-vitro*-Versuchen.

## Proband 1



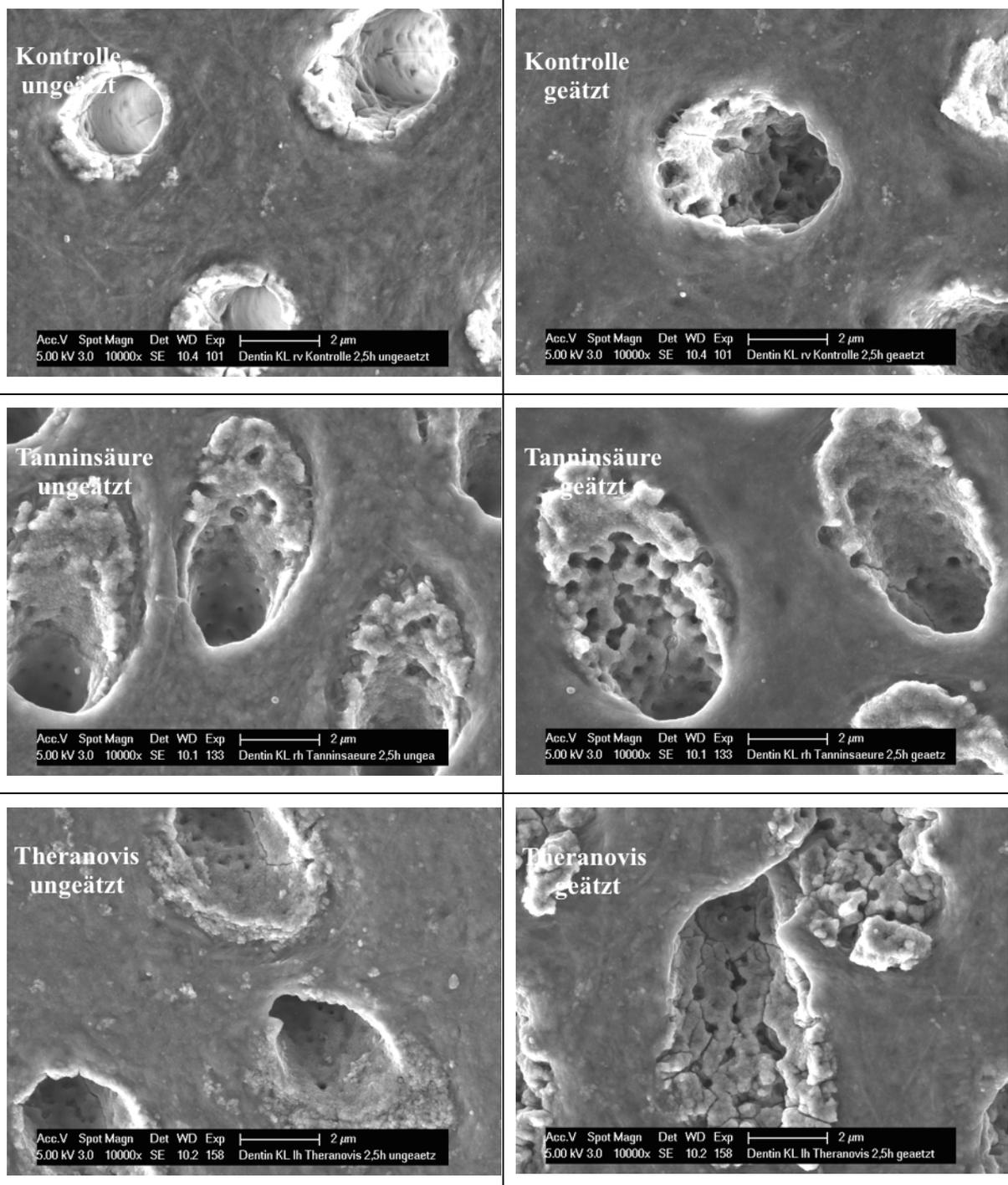
**Abb. 44** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 10000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellicelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellicelstrukturen verblieben.

## Proband 2



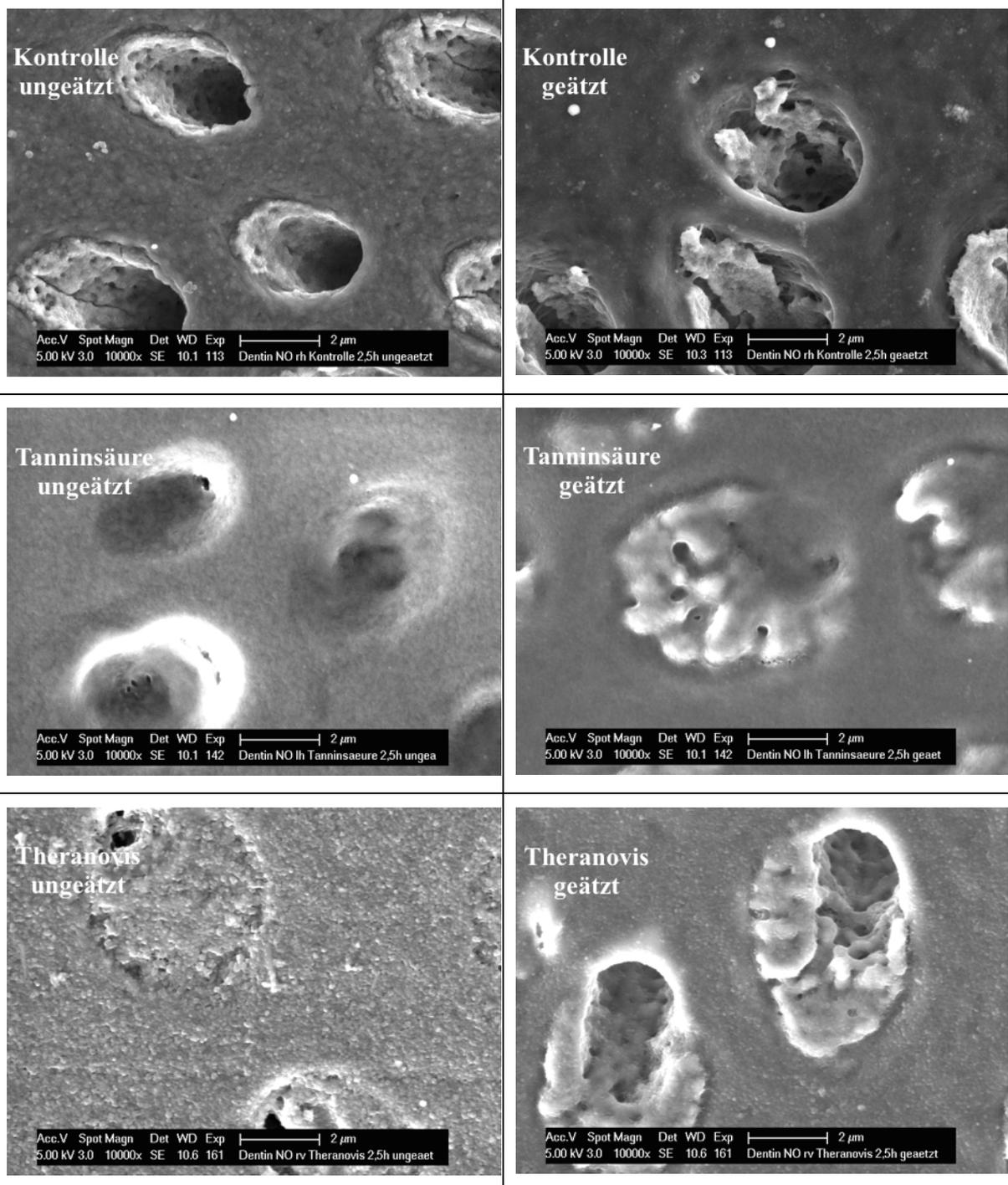
**Abb. 45** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 10000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

## Proband 3

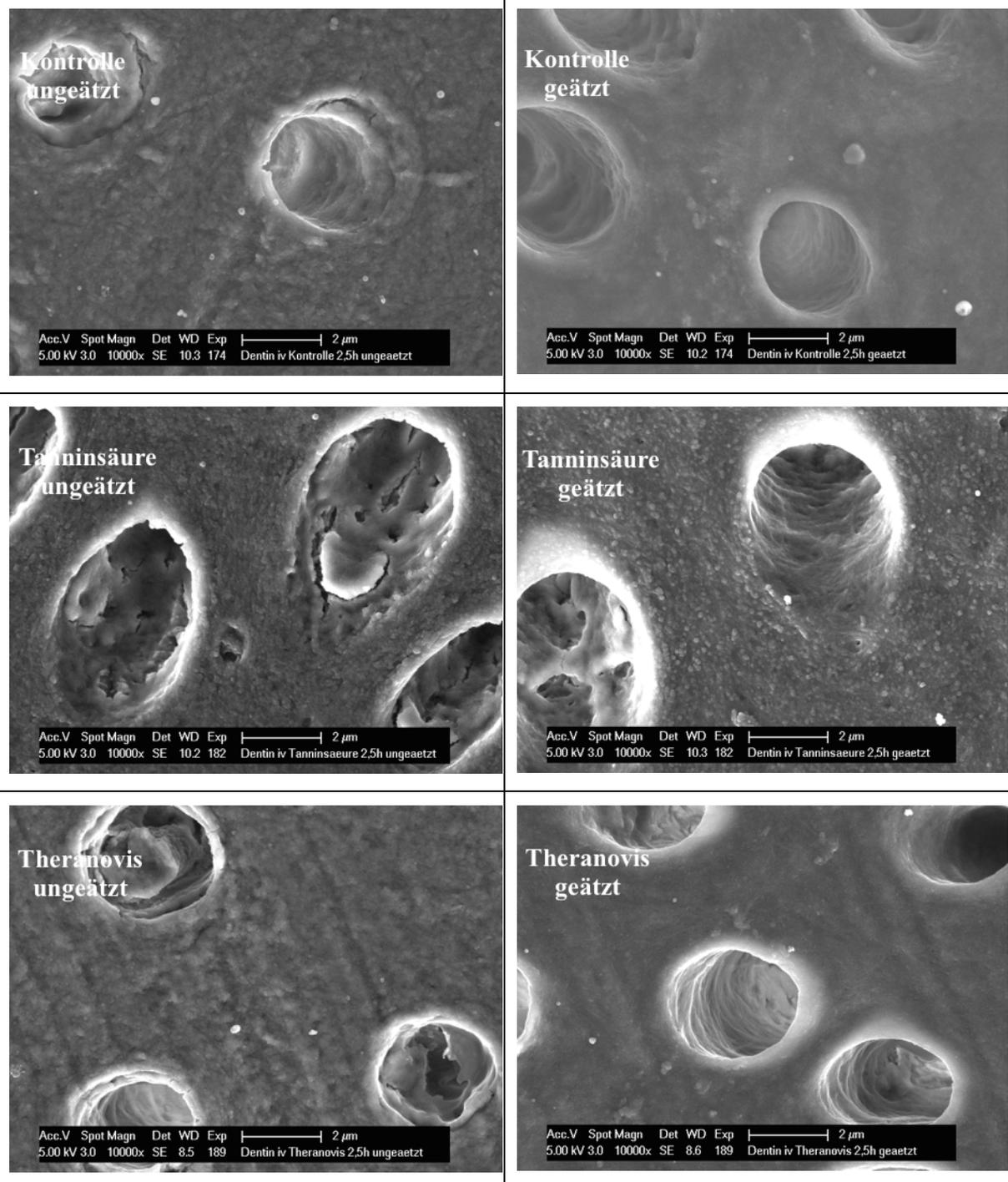


**Abb. 46** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 10000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellicelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellicelstrukturen verblieben.

## Proband 4

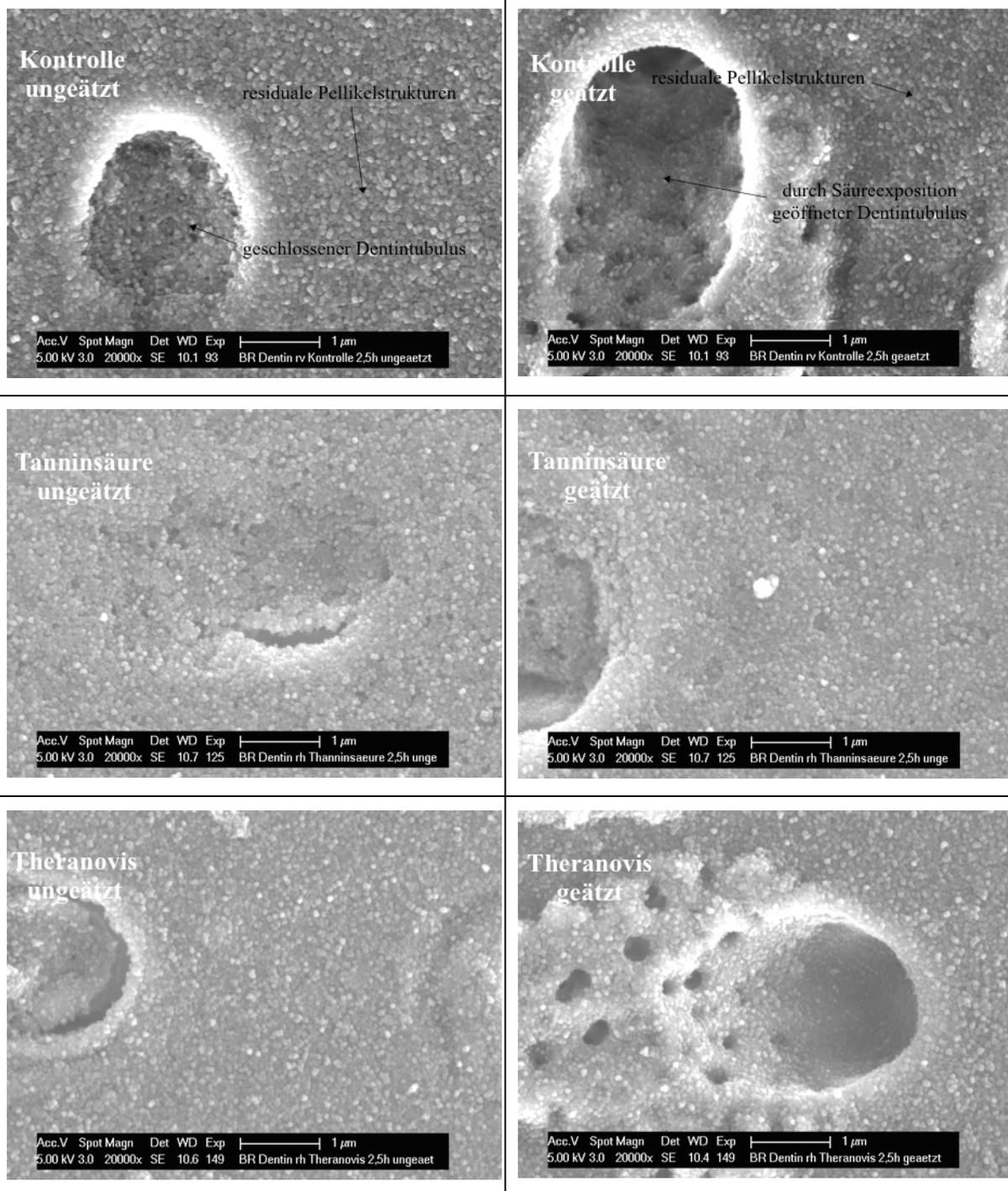


**Abb. 47** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 10000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

*in-vitro*

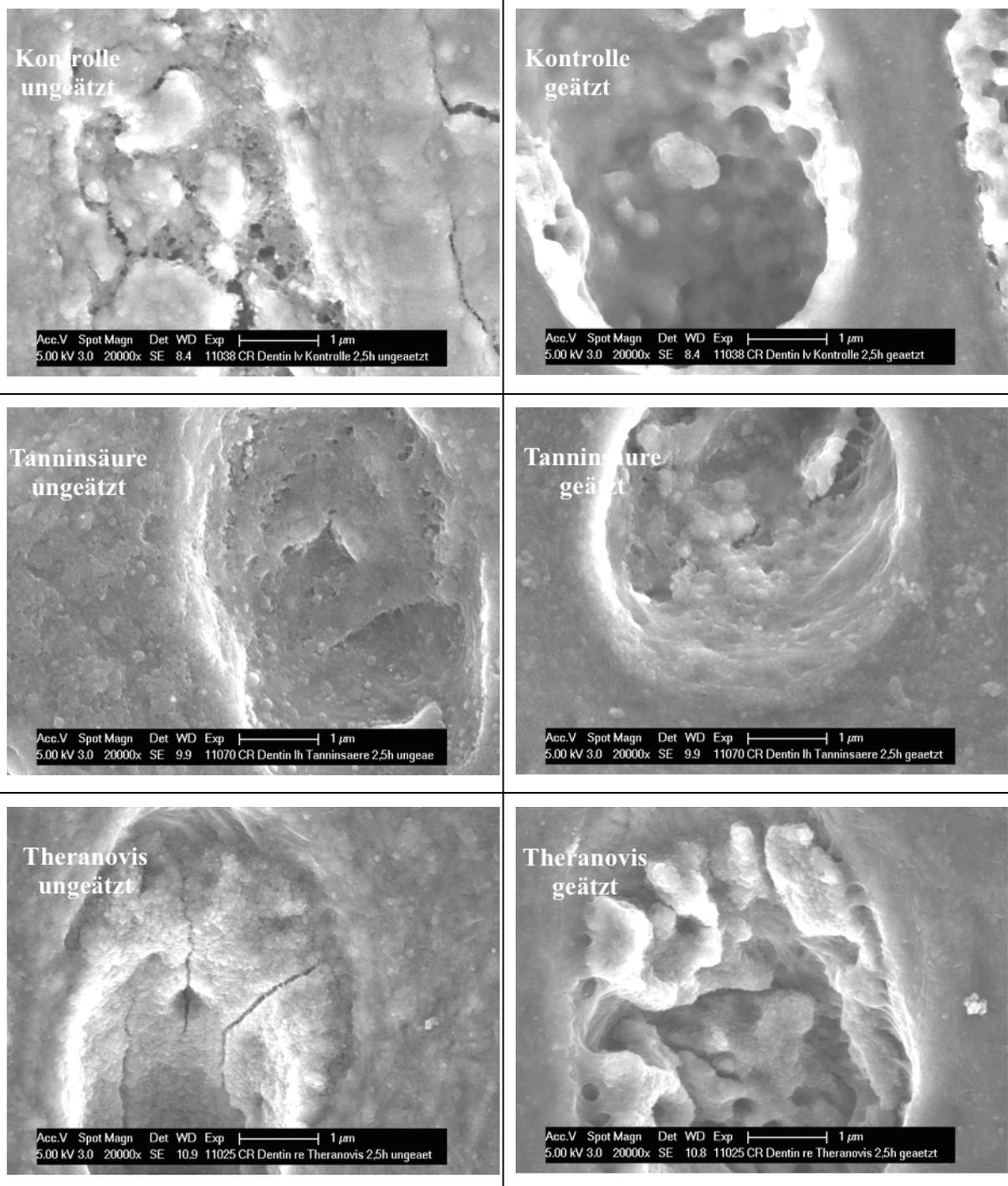
**Abb. 48** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 10000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus den Wellplatten und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Die Entfernung der Pellikel entfällt bei den *In-vitro*-Versuchen.

Proband 1



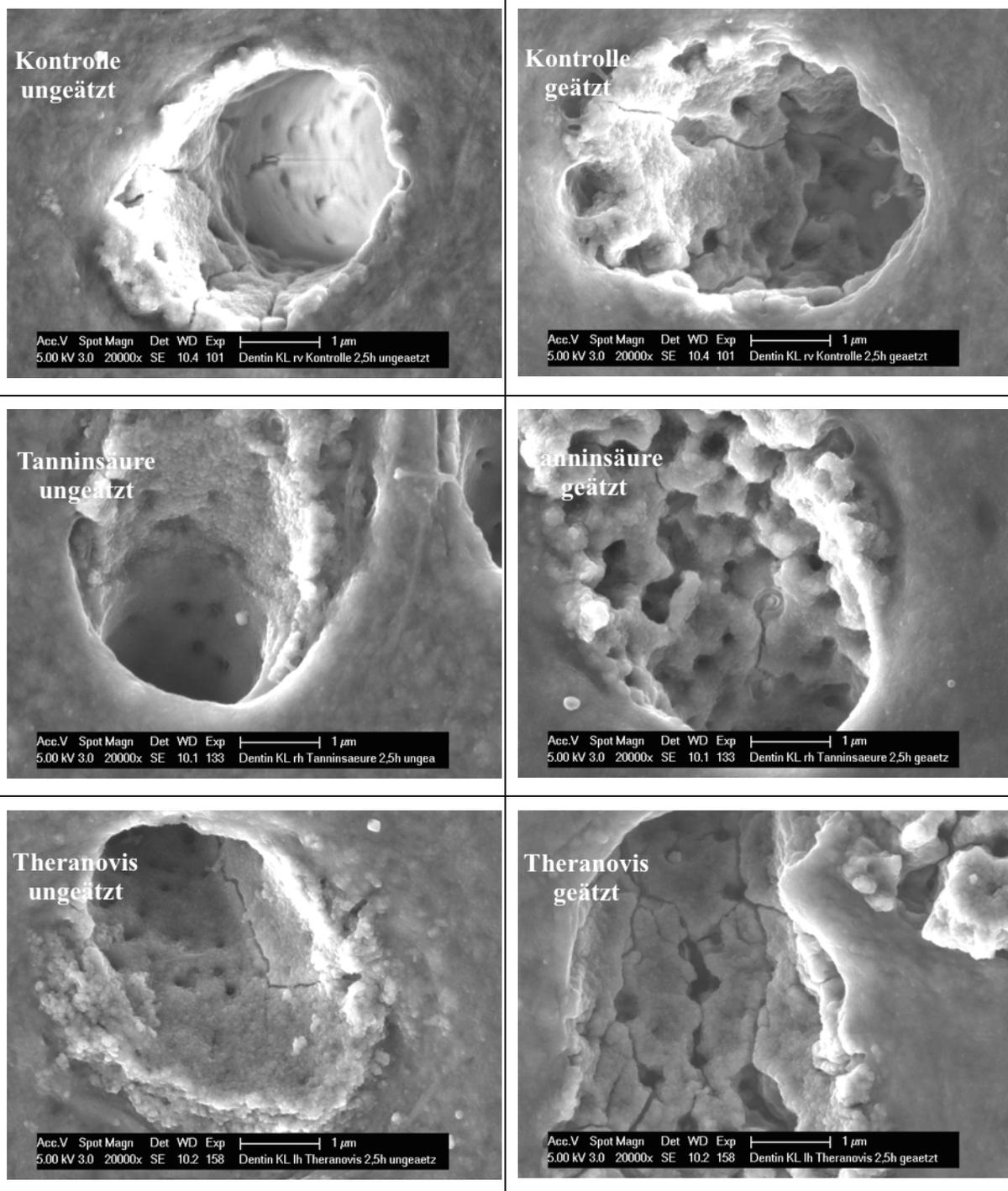
**Abb. 49** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 20000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

Proband 2



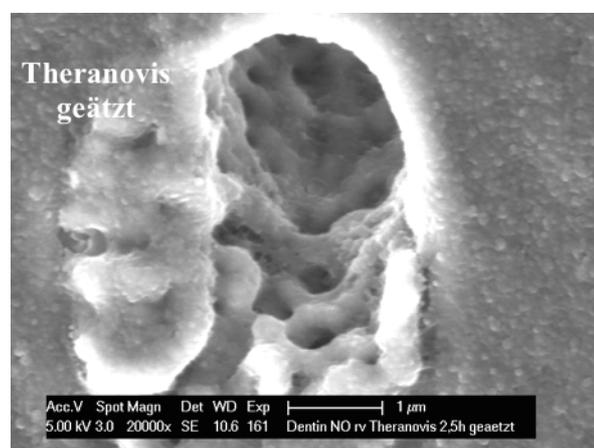
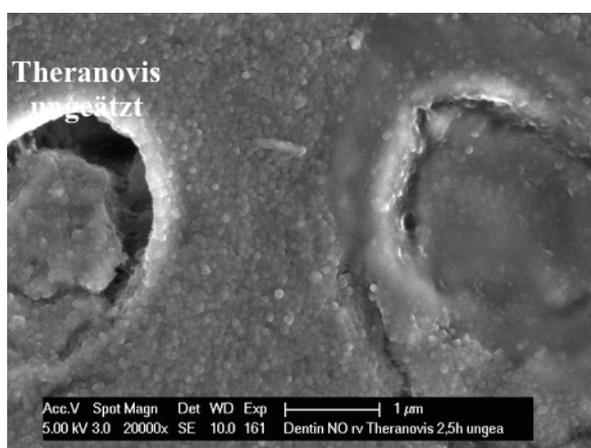
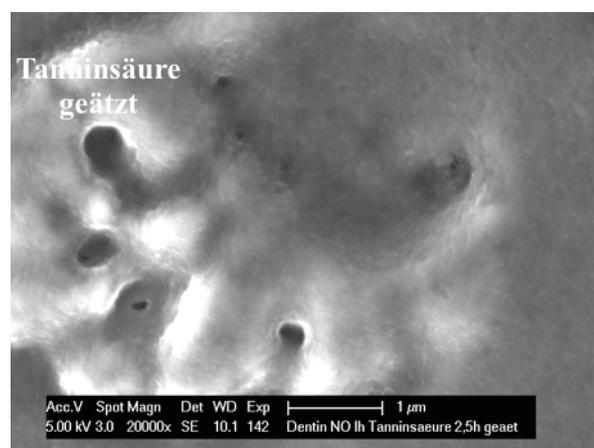
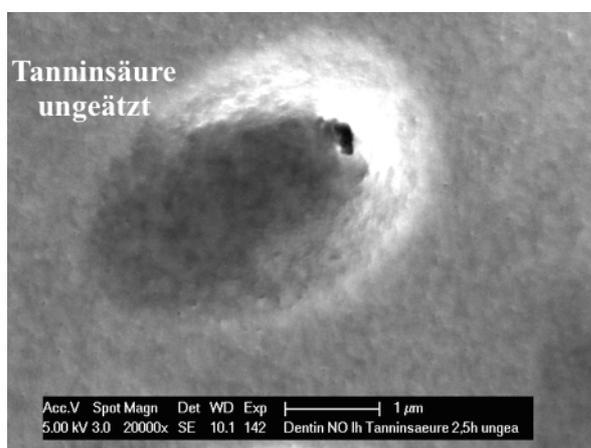
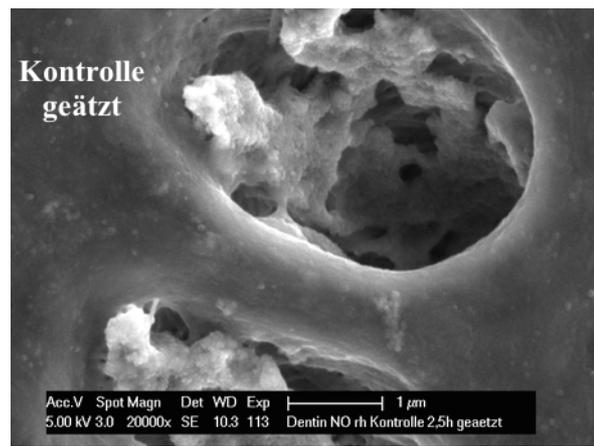
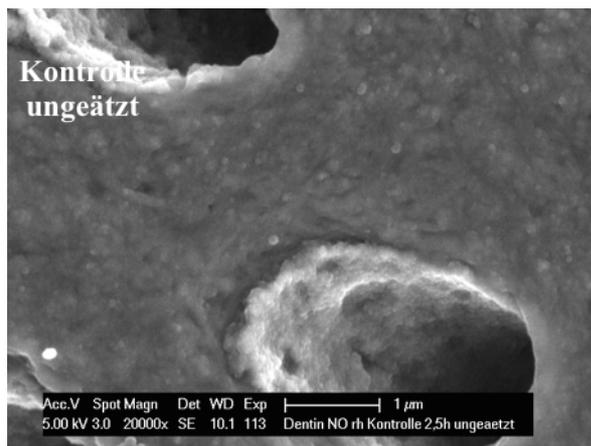
**Abb. 50** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 20000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

Proband 3

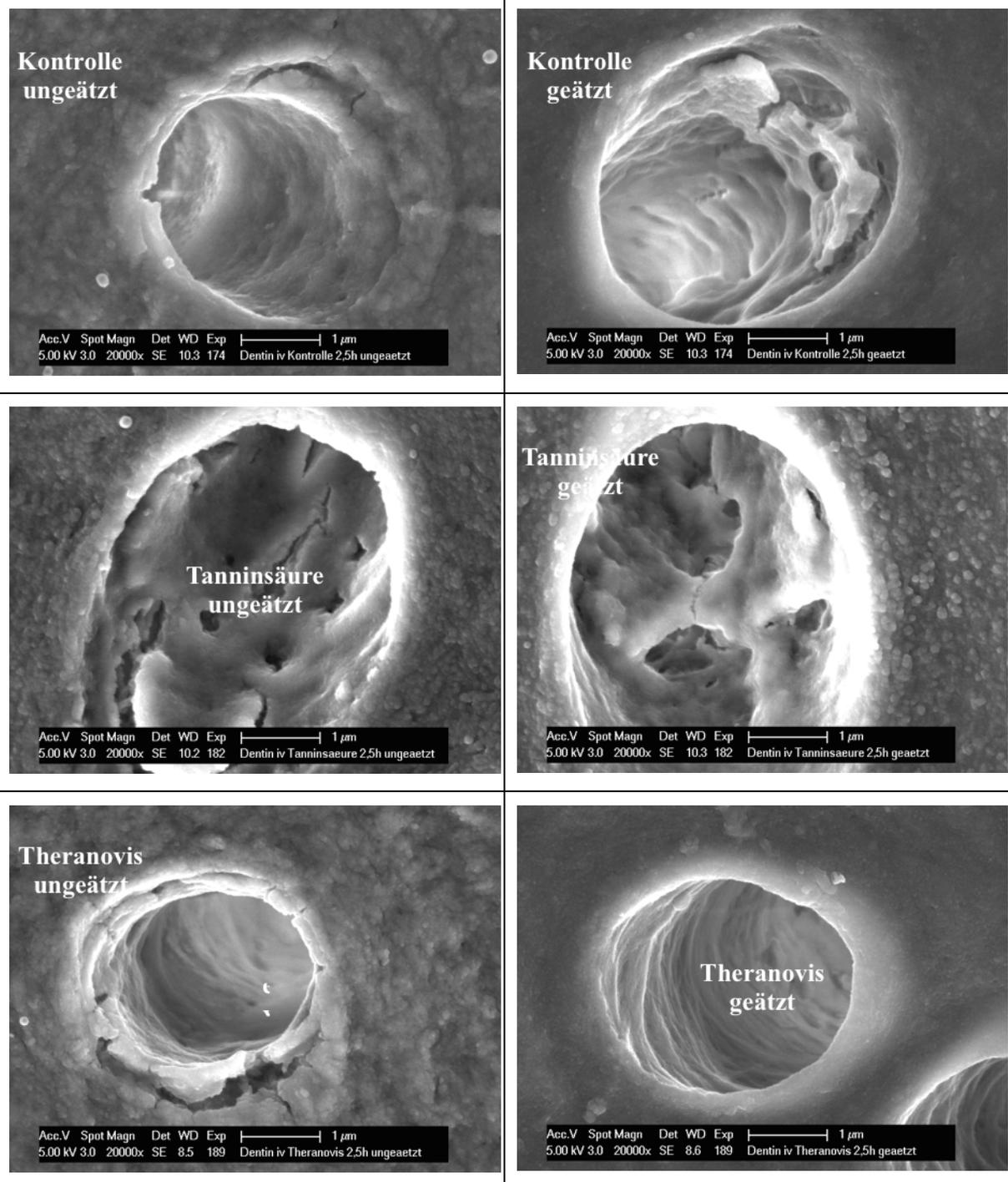


**Abb. 51 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentinoberfläche mit 20000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.**

Proband 4



**Abb. 52** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 20000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min intraoraler Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h intraoraler Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus dem intraoralen Milieu und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Danach erfolgte die Entfernung der residualen Pellikelstrukturen. Auf manchen Exponaten sind noch Pellikelstrukturen verblieben.

*in-vitro*

**Abb. 53** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polierten Rinderdentin Oberfläche mit 20000-facher Vergrößerung: Auf der linken Seite ist der Zustand vor der Säureätzung abgebildet, auf der rechten Seite ist der Zustand nach der Säureätzung abgebildet. Nach 3 min Expositionszeit erfolgte eine erste Spülung für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung Kontrolle, Tanninsäurelösung, theranovis®, danach wurde alle 30 min für 30 s mit der jeweiligen Spüllösung gespült (insgesamt 5 Spülungen). Nach 2,5 h Expositionszeit erfolgte die Entnahme der Dentinprüfkörper aus den Wellplatten und die einminütige Ätzung mit 1%-iger Zitronensäure. Die Entfernung der Pellikel entfällt bei den *In-vitro*-Versuchen.