

Aus der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde,

Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof. Dr. M. Hannig

**Die erosionsprotektive Wirkung
apatithaltiger Suspensionen auf bovinen
Zahnschmelz im *in-situ-/in-vitro*-Versuch**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2022

vorgelegt von:

Carina Natalie Ruhm

geb. am: 20.10.1988 in Füssen

Tag der Promotion: 23.06.2022

Dekan: Prof. Dr. M. D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Hannig

2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Karl

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	ZUSAMMENFASSUNG	1
1.1	Deutsche Zusammenfassung	1
1.2	Abstract.....	2
2	EINLEITUNG	3
2.1	Literaturübersicht.....	4
2.1.1	Erosion	4
2.1.2	Zahnschmelz	7
2.1.3	Pellikel	8
2.1.4	Apatite zur Schmelzregeneration.....	9
2.1.5	Adstringenzien (Tanninsäure).....	11
2.2	Fragestellung.....	13
3	MATERIAL UND METHODE	14
3.1	Übersicht über den Versuchsablauf	14
3.2	Vorbereitung der Schmelzprüfkörper, Trägerschienen und Suspensionen/Mundspüllösungen.....	14
3.2.1	Vorbereitung der Schmelzprüfkörper	14
3.2.2	Standardisierung der Schmelzprüfkörper	15
3.2.3	Reinigung der Schmelzprüfkörper.....	15
3.2.4	Herstellung der Trägerschienen	16
3.2.5	Herstellung der Suspensionen/Mundspüllösungen	17
3.3	Gewinnung der <i>in-situ</i> -Prüfkörper.....	17
3.3.1	Probanden	17

3.3.2	Ablauf des <i>in-situ</i> -Versuchs.....	18
3.3.3	<i>In-vitro</i> -Erosion der <i>in-situ</i> -Prüfkörper.....	18
3.3.4	Ablösen der Pellikel.....	19
3.4	<i>In-vitro</i> -Prüfkörper	19
3.5	Untersuchungsmethoden.....	20
3.5.1	Messung der Rauheit.....	20
3.5.2	Messung der Mikrohärtigkeit	21
3.5.3	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung.....	21
3.6	Vorversuche.....	22
3.6.1	Erste Vorversuchsreihe	22
3.6.2	Zweite Vorversuchsreihe	22
3.6.3	Dritte Vorversuchsreihe	23
3.6.4	Vierte Vorversuchsreihe	23
4	ERGEBNISSE	24
4.1	Ergebnisse der Vorversuche	24
4.1.1	Ergebnisse der Messung der Rauheit.....	24
4.1.2	Ergebnisse der Messung der Mikrohärtigkeit	27
4.1.3	Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung	30
4.2	Ergebnisse der endgültigen Versuche.....	32
4.2.1	Ergebnisse der Messung der Rauheit.....	32
4.2.2	Ergebnisse der Messung der Mikrohärtigkeit	34
4.2.3	Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung	36
5	DISKUSSION.....	50
5.1	Kritische Betrachtung von Material und Methode	50

5.1.1	Fragestellung.....	50
5.1.2	Vorbereitung der Schmelzprüfkörper und Trägerschienen.....	51
5.1.3	Gewinnung der <i>in-situ</i> Prüfkörper	53
5.1.4	<i>In-vitro</i> -Prüfkörper.....	54
5.1.5	Untersuchungsmethoden.....	54
5.2	Diskussion der Ergebnisse.....	55
5.2.1	Messung der Rauheit.....	55
5.2.2	Messung der Mikrohärtigkeit	56
5.2.3	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung.....	57
5.3	Schlussfolgerungen.....	58
6	LITERATURVERZEICHNIS	59
7	DANKSAGUNG.....	67
8	LEBENS LAUF	68
9	ANHANG.....	69
9.1	Verwendete Chemikalien, Materialien und Geräte	69
9.2	REM-Bilder aller Probanden	73

1 Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Studie war die erosionsprotektive Wirkung apatithaltiger Suspensionen auf bovinen Zahnschmelz zu untersuchen und zu beurteilen.

Dafür wurden permanente, obere Schneidezähne von Rindern zur Herstellung von insgesamt 54 Schmelzprüfkörpern verwendet. Um sie vergleichbar zu machen, wurde ein Verfahren zur Standardisierung durchgeführt, bei dem die Mikrohärtigkeit der Schmelzprüfkörper gemessen und ungeeignete Schmelzprüfkörper ausgemustert wurden. Danach erfolgten die Reinigung der Prüfkörper und das Aufbringen auf individuellen Trägerschienen, die die Probanden im Oberkiefer trugen. Vier gesunde Probanden trugen diese vorbereiteten Prüfkörperschienen während der *in-situ*-Versuche über einen Zeitraum von 2,5 h und spülten währenddessen fünf Mal für 30 s mit der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung. Danach erfolgte die Schmelzätzung für 3 min anhand von 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die gebildete Pellikel wurde entfernt, um die Auswirkungen auf die Schmelzoberfläche beurteilen zu können. Das gleiche Verfahren wurde für die *in-vitro*-Versuche durchgeführt, allerdings ohne die Pellikelentfernung, da sich *in-vitro* keine Pellikel bilden konnte. Sowohl bei den *in-situ*- als auch bei den *in-vitro*-Versuchen wurden die Oberflächenrauheit und die Mikrohärtigkeit der Prüfkörper im ungeätzten sowie im geätzten Bereich gemessen und die Oberfläche mit dem Rasterelektronenmikroskop untersucht und beurteilt.

Eine erosionsprotektive Wirkung apatithaltiger Suspensionen auf bovinen Zahnschmelz konnte in dieser Studie nicht eindeutig festgestellt werden. Die Modifikation der Pellikel durch Spülungen mit hydroxylapatithaltigen Suspensionen zeigt keinen klaren erosionsprotektiven Effekt gegenüber der Kontrollspüllösung (Wasser), außerdem zeigen sich keine einheitlichen Ergebnisse der Rauheit und Mikrohärtigkeit.

Um genauere Ergebnisse zu erzielen, sollten noch weitere Studien mit Adaptation der Untersuchungsmethoden erfolgen.

1.2 Abstract

The aim of the present study was to investigate and evaluate the erosion-protective effect of apatite-containing suspensions on bovine enamel.

For this purpose, bovine permanent upper incisors were used to produce enamel specimens. To make them comparable, a standardization procedure was carried out in which the microhardness of the specimens was measured and unsuitable ones were discarded. Afterwards, the specimens were cleaned and applied to individual splints on the upper jaw. Four healthy subjects wore these prepared splints during the *in-situ* tests for a period of 2.5 h and rinsed five times for 30 s with the respective suspension/mouth rinse. This was followed by etching the enamel specimens for 3 min using 1 µl of 1% citric acid. The acquired pellicle was removed to evaluate the effects on the enamel surface. The same procedure was performed for the *in-vitro* experiments, but without pellicle removal since there was no acquired pellicle *in-vitro*. For the *in-situ* and *in-vitro* tests surface roughness and microhardness of the specimens were measured in both unetched and etched regions and the surface was examined and evaluated using a scanning electron microscope.

An erosion-protective effect of suspensions containing apatite on bovine enamel could not be clearly established in this study. The modification of pellicle by rinsing with suspensions containing hydroxyapatite does not show a clear erosion-protective effect compared to the control rinse (water). Furthermore, no consistent results of roughness and microhardness are shown.

In order to obtain more precise results further studies with adaptation of the methods should be carried out.

2 Einleitung

Der Verlust von Zahnschubstanz kann durch Karies, Abrasion, Attrition und Erosion verursacht werden.

Karies ist die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanzen, die durch das komplexe Zusammenwirken von Zahn, bakteriellem Zahnbelag und der Zufuhr kariogener Substrate entsteht. Es wird über längere Zeiträume ein niedriger pH-Wert im Mund verursacht, was zu einer Entmineralisierung führt (Hellwig et al., 2013; Kutsch, 2014; Lehmann et al., 2012).

Abrasionen entstehen durch die Einwirkung von Fremdkörpern, die an den Zähnen reiben. Sie treten häufig bei Menschen auf, die abrasive Zahnpasten oder Zahnbürsten verwenden oder bestimmte Gewohnheiten haben (Dawes, 2008; Lehmann et al., 2012). Da die meisten Lebensmittel, die wir essen nicht abrasiv sind, spielen Lebensmittel nur eine untergeordnete Rolle für abrasiven Zahnhartsubstanzverlust (Dawes, 2008).

Attrition beschreibt die physiologische Abnutzung der Zähne durch den wiederholten Kontakt antagonistischer oder benachbarter Zähne und ist ein natürliches Merkmal des Alterns. Allerdings können Attritionen auch ausgeprägt bei Menschen mit Bruxismus oder Parafunktionen auftreten, die häufig einer Behandlung bedürfen (Dawes, 2008; Lehmann et al., 2012).

Erosion ist der Verlust von Zahnhartsubstanz durch Säureauflösung ohne Beteiligung von Bakterien. Die Säuren können intrinsisch, z. B. regurgitierte Magensäure, oder extrinsisch, wie z. B. saure Industriedämpfe oder Nahrungsbestandteile wie Softdrinks, Essiggurken, saure Früchte, usw. sein (Addy and Shellis, 2006).

Sowohl klinische als auch experimentelle Untersuchungen zeigen, dass einzelne Abnutzungsmechanismen miteinander interagieren und nur selten allein wirken. Die wichtigste Wechselwirkung ist die Potenzierung der Abrasion durch erosive Schäden an der Zahnhartsubstanz (Addy and Shellis, 2006).

In den letzten Jahren ist die Häufigkeit dentaler Erosion signifikant angestiegen und betrifft zwischen 4-82 % der Erwachsenen und 6-50 % der Kinder (Vukosavljevic et al., 2014). So gehen beispielsweise Ernährungsgewohnheiten mit häufigem Verzehr von säurehaltigen Lebensmitteln und Getränken, berufliche Säureexposition sowie bestimmte Medikamente oder Krankheiten, die den Speichelfluss beeinträchtigen, mit einem erhöhten Risiko für erosive Zahnhartsubstanzdefekte einher (Kanzow et al., 2016). Gastroösophagealer Reflux ist eine

häufige Erkrankung, von der bis zu 65 % der westlichen Bevölkerung im Laufe ihres Lebens betroffen sind (Moazzez and Bartlett, 2014). Auch direktes oder generell exzessives Zähneputzen nach Säureexposition, ob extrinsisch oder intrinsisch, sollte vermieden werden, um den Abrieb durch die Zahnbürste zu verhindern (Hellwig et al., 2013; Sagar et al., 2020). Die Entwicklung eines effektiven Managements und präventiver Ansätze zur Vermeidung der Erweichung der Zähne wird somit immer wichtiger (Vukosavljevic et al., 2014).

Folglich hat das zunehmende Interesse an dentaler Erosion als klinisches und wissenschaftliches Phänomen zu konzentrierten Bemühungen geführt, Wirkstoffe zu identifizieren, die vor Erosion schützen könnten (Abdullah et al., 2012).

Die Pellikel hat aufgrund zahlreicher protektiver und pathophysiologischer Funktionen eine entscheidende Rolle als Mediator zwischen Zahnhartsubstanzen und den Mundflüssigkeiten (Hannig and Hannig, 2007). Deshalb ist die Modifikation der Pellikel ein möglicher Ansatz zum Schutz vor Erosion.

In verschiedenen Studien wurde bereits festgestellt, dass Polyphenole wie Tanninsäure antioxidativ und antibakteriell sind, einen großen Einfluss auf die Pellikel haben und protektiv gegen Erosion wirken (Hannig et al., 2009; Hannig et al., 2008; Hertel et al., 2017; Rehage et al., 2017; Schestakow and Hannig, 2020; Weber et al., 2015; Yang et al., 2017). Auch Apatite als Lösungsansatz beim Problem der Erosion wurden schon mehrfach untersucht (Ebadifar et al., 2017; Huang et al., 2011; Huang et al., 2009; Lelli et al., 2014; Min et al., 2015; Poggio et al., 2017).

In dieser Studie wird die erosionsprotektive Wirkung apatithaltiger Suspensionen auf bovinen Zahnschmelz im *in-situ*- und *in-vitro*-Versuch untersucht. Eine Suspension ist apatithaltig, eine andere ist eine Kombination aus Apatiten und Polyphenolen.

2.1 Literaturübersicht

2.1.1 Erosion

Erosion wird beschrieben als Zahnhartsubstanzverlust durch Auflösung und chemische Ätzung durch Säuren nicht-bakterieller Quelle. Bei dentaler Erosion werden Zahnminerale aufgelöst, was zur Erweichung der Oberfläche und folglich zum irreversiblen Zahnhartsubstanzverlust führt (Baumann et al., 2016; Eccles, 1982; Imfeld, 1996; Vukosavljevic et al., 2014).

Die Pathophysiologie von Erosion wird beeinflusst von multiplen Faktoren (Baumann et al., 2016; Vukosavljevic et al., 2014). Diese Faktoren sind chemischer Natur (pKa-Werte, Adhäsions- und Chelatbildungseigenschaften, Kalzium-, Phosphat- und Fluoridgehalt), verhaltensbedingt (Ess- und Trinkgewohnheiten, Lebensstil, übermäßiger Konsum von säurehaltigen Lebensmitteln) und biologische Faktoren (Fließgeschwindigkeit, Pufferkapazität, Zusammensetzung des Speichels, Pellikelbildung, Zusammensetzung und Qualität der Zahnhartsubstanz, Zahn- und Weichgewebeanatomie) (Lussi et al., 2004). Die Betrachtung der chemischen, biologischen und verhaltensbezogenen Faktoren und das Verstehen des Mechanismus von Erosion sind deshalb fundamental für präventive Maßnahmen und die folglich mögliche Therapie der Patienten (Buzalaf et al., 2012; Featherstone and Lussi, 2006).

Menschliche Zähne sind ständig physikalischen und chemischen Angriffen ausgesetzt, die zu einer Abnutzung der Zahnhartsubstanz im Laufe des Lebens führen. Wenn die Abnutzung allerdings auf ein klinisch relevantes Level ansteigt, gipfelt es in einer ernsthaften Zerstörung der Zähne mit dem Verlust ihrer Funktion. Die Auswirkungen des Substanzverlusts auf die Mundgesundheit, die Empfindlichkeit oder das Erscheinungsbild der Zähne sind groß (Sagar et al., 2020). Wenn Säuren mit der Zahnhartsubstanz in Kontakt kommen, beginnt die Auflösung des Zahnschmelzes in einem Prozess, der als oberflächennahe Demineralisation beschrieben wird, wobei die Säure Mineralionen aus dem Zahn entfernt und eine aufgeweichte Oberfläche hinterlässt. Bei der Erosion interagieren die Wirkstoffe mit der Oberfläche der Mineralkristalle, aber erst nach der Diffusion durch Plaque, Pellikel und die Protein-/Lipidschicht auf den einzelnen Kristallen (Featherstone and Lussi, 2006). Menschliche Speichelproteine können das erosive Potenzial während der Säureeinwirkung reduzieren (Jensdottir et al., 2006). Das Ergebnis bei Säureangriff hängt von der Balance zwischen Häufigkeit und Schwere des Erosionsgeschehens und den schützenden Effekten des Speichels ab (Carpenter et al., 2014; Featherstone and Lussi, 2006). Biologische Faktoren wie Speichel, erworbene Pellikel, Zahnstruktur und -position stehen also ebenfalls in Zusammenhang mit der Pathogenese der Zahnerosion.

Im Mund sind wir meistens mit schwachen Säuren, wie Zitronen- oder Essigsäure konfrontiert (Featherstone and Lussi, 2006). Säuren als Hauptursache für die erosive Zahnabnutzung sind jedoch weitgehend in sämtlichen Nahrungsmitteln vorhanden (Carvalho et al., 2017). Physikalische und chemische Parameter, die das erosive Potential von Getränken oder Lebensmitteln beeinflussen, sind pH-Wert, Puffer, titrierbare Säure, Mineralgehalt, Abstand zur Zahnoberfläche und von den Kalzium-Chelat-Eigenschaften (Lussi and Jaeggi, 2008). Der

pH-Wert ist wohl der wichtigste Einzelparameter bei der Bestimmung der Geschwindigkeit der erosiven Gewebeauflösung, während eine höhere Kalziumkonzentration einen Schutzfaktor darstellt (Barbour and Lussi, 2014; Carvalho et al., 2017).

Darüber hinaus sind Verhaltensfaktoren wie Ess- und Trinkgewohnheiten, regelmäßiger Sport mit Dehydrierung und Abnahme des Speichelflusses oder übermäßige Mundhygiene prädisponierende Faktoren für die Erosion (Lussi and Jaeggi, 2008). Ernährungsfaktoren spielen eine große Rolle in der Entwicklung erosiver Zahnabnutzung. Ein exzessiver Konsum von säurehaltigen Lebensmitteln und Getränken ist folglich mit erosiver Demineralisation im Milch- und bleibenden Gebiss verbunden (Carvalho et al., 2017; Wang and Lussi, 2012). Ein erhöhter Konsum von Softdrinks ist nach wie vor eine der Hauptursachen für Zahnerosion (Parry et al., 2001; Rajeev et al., 2020). So wirkt sich eine Vielzahl von Getränken, Lebensmitteln und Medikamenten, wie z. B. Softdrinks, Sportgetränke, Säfte, Salatdressings, Süßigkeiten, Kräutertees, alkoholische Getränke, Essig, Vitamin-C-Tabletten usw., auf die Zunahme der Erosion aus (Lussi et al., 2012; Noble et al., 2011). Der Verzehr von potenziell erosiven Nahrungsmitteln und Getränken nimmt aus vielen Gründen zu, unter anderem aufgrund von Ernährungsempfehlungen verschiedener besonders gesundheitsbewusster Gruppen. In der Regel sind dieselben Personengruppen auch gut in Mundhygienemaßnahmen instruiert und setzen diese exzessiv um, was die Schmelzschädigung verstärken kann. Aufgrund ihres reduzierten Mineralgehaltes hat die erodierte Schicht eine geringere physikalische Beständigkeit und kann leicht durch mechanische Kräfte entfernt werden (Attin et al., 1999; Eisenburger et al., 2004; Jaeggi and Lussi, 1999; Schweizer-Hirt et al., 1978). Der Schmelzverlust durch anschließende Zahnbürstenabrasion bei aufgeweichtem, menschlichem Schmelz ist bis zu 10-mal höher als bei Schmelz ohne erosive Vorschädigung (Lussi et al., 2004).

Es können allerdings nicht nur extrinsische Säuren Erosion verursachen, sondern auch Magensäure, die in die Mundhöhle gelangt. Intrinsische Ursachen, die mit häufigem Erbrechen des sauren Mageninhalts einhergehen, sind verschiedenen Krankheiten, wie z. B. Bulimie oder Refluxerkrankungen, Schwangerschaft oder chronischer Alkoholismus (Guare et al., 2012; Lehmann et al., 2012). Es wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen Erosion und diagnostizierter Refluxkrankheit festgestellt (Holbrook et al., 2009). Bei der gastroösophagealen Refluxkrankheit (GERD) passiert Magensaft unwillkürlich den Verdauungstrakt gegen die normale Flussrichtung (Guare et al., 2012). Schlafbezogene GERD ist besonders heimtückisch, da die Rückenlage die proximale Migration von Mageninhalt fördert und die normale Speichelproduktion stark reduziert ist. Die Magensäure verdrängt den Speichel leicht

von den Zahnoberflächen, und das proteolytische Pepsin entfernt die schützende Zahnpellikel. Endogene Säure hat einen pH-Wert von etwa 1,2, der weit unter dem kritischen pH-Wert für die Auflösung von Hydroxylapatit und Fluorapatit liegt (Ranjitkar et al., 2012). Der kritische pH-Wert des Zahnschmelzes liegt bei etwa 5,5. Jede Lösung mit einem niedrigeren pH-Wert kann zu Erosion führen, insbesondere wenn der Angriff von langer Dauer ist und im Laufe der Zeit wiederholt wird (Meurman and ten Cate, 1996).

2.1.2 Zahnschmelz

Der Zahnschmelz bedeckt die Zahnkrone und ist die härteste, abrasionsfesteste Zahnhartsubstanz. Die Brinellhärte beträgt 300-350 (Lehmann et al., 2012). Der Schmelz wird von Ameloblasten gebildet, die eine Schmelzmatrix ausscheiden, die daraufhin mineralisiert und ausreift. Die präeruptive Schmelzreifung bezeichnet die Kristallisation von Kalzium-Phosphat-Verbindungen und das anschließende Wachstum der Kristalle. Verbleibende Porositäten in der Gitterstruktur der Kristalle werden während der posteruptiven Schmelzreifung durch Aufnahme von Mineralien, v.a. Kalzium und Phosphat, ausgeglichen. Nach seiner Bildung kann Zahnschmelz nicht mehr zellulär repariert werden (Hellwig et al., 2013). Zahnschmelz setzt sich also zusammen aus Millionen kleinster Kristalle in einer Wasser-/organischen Matrix.

Zahnschmelz besteht zu ca. 95 Gew.-% aus anorganischer Substanz, zu 4 Gew.-% aus Wasser und zu 1 Gew.-% aus organischen Verbindungen wie Proteinen und Lipiden. Die anorganische Substanz sind Apatitkristalle, die in einer Mischform aus Hydroxylapatit (HA) $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}]$, Fluorapatit $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}]$ und Karbonatapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3]$ vorliegen. Je mehr Fluorapatit im Schmelz enthalten ist, umso widerstandsfähiger ist er gegen Entmineralisierung durch Säuren, da es eine stabilere Kristallgitterstruktur aufweist als HA. Die Substitution mit Karbon hingegen stört die Struktur, weshalb Karbonatapatit weniger resistent gegenüber einem Säureangriff ist. Die Apatitkristalle sind Stäbchen, die im Querschnitt hexagonal sind. Sie strukturieren sich und bilden zusammen die Schmelzprismen, die ohne Unterbrechung von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Schmelzoberfläche verlaufen und einen Durchmesser von ca. 4-5 μm haben. Die Zwischenräume werden durch interprismatische Substanz aufgefüllt, welche ebenfalls aus Kristallen besteht, die im Winkel von ca. 90° zu den Schmelzprismen liegen (Hellwig et al., 2013; Lehmann et al., 2012).

Aber wenn die Bestandteile des Zahnschmelzes in Volumenprozent berechnet werden, ist es offensichtlich, dass die organischen und Wasserkomponenten eine wichtige Rolle spielen. HA

hat einen Anteil von 85 Vol.-%, Wasser von 12 Vol.-% und Proteine und Lipide von 3 Vol.-%. Moleküle diffundieren durch die Wasser-/Protein-/Lipid-Matrix, die die mineralischen Kristalle umschließt. So können beispielsweise Säuren und andere Bestandteile in den Zahn und Mineralien (Kalzium und Phosphat) während des Erosionsprozesses aus dem Zahn diffundieren (Featherstone and Lussi, 2006; Hellwig et al., 2013; Lehmann et al., 2012).

2.1.3 Pellikel

Die erworbene Pellikel ist eine Proteinschicht, die frei von Bakterien ist und das orale Hart- und Weichgewebe bedeckt (Hannig and Hannig, 2007; Siqueira et al., 2007). Die Pellikel besteht aus adsorbierten Proteinen und anderen Makromolekülen aus der oralen Umgebung (Speichel, Sulkusflüssigkeiten) und ist klar vom mikrobiellen Biofilm (Plaque) zu unterscheiden (Hannig and Joiner, 2006).

Die Bildung der erworbenen Pellikel ist ein hochselektiver Prozess, da nur ein Bruchteil der im Speichel vorhandenen Proteine in der Pellikel zu finden ist. Die erste Phase der Pellikelbildung ist durch eine nahezu augenblickliche Adsorption von Speichelproteinen an die Schmelzoberfläche gekennzeichnet. Das erste Stadium der Pellikelbildung bildet innerhalb eines Zeitraums von 30 s bis 3 min eine Dicke von 10-20 nm aus. Bei Kontakt mit der wässrigen Speichellösung haben Kalzium-Ionen der Schmelzkristalle eine größere Tendenz sich im Speichel zu lösen als Phosphat-Ionen. Die verbleibenden Phosphat-Ionen geben der Schmelzoberfläche eine negative Ladung. Diese wird von einer positiv geladenen Schicht von Kalzium-Gegenionen bedeckt und bildet damit eine ionische Doppelschicht. Das Stadium wird bestimmt durch ionische Wechselbeziehungen, Van-der-Waals-Kräfte und hydrophobe Wechselwirkungen. Pellikelvorläuferproteine mit hoher Affinität zu Hydroxylapatit wie Statherine, Histatine und prolinreiche Proteine heften sich selektiv an die Oberfläche (Hannig and Joiner, 2006; Hay, 1973). Mehr als zehn verschiedene Proteine wurden in der initial gebildeten Pellikel entdeckt wie Mucin-Glycoprotein I und II, Amylase, verschiedene Isoformen von Cystatin, Lysozym, Laktoferrin, Carbo-Anhydrase I und II und Glykosyltransferase. Das zweite Stadium der Pellikelbildung ist eine vergleichsweise langsamere Phase der Proteinadsorption mit Protein-Protein-Interaktionen und Anlagerung von Protein-Aggregaten. Die Pellikel erreicht in 2-3 min die initiale Dicke und bleibt so für ca. 30 min. Danach erhöht sich die Dicke der Pellikel ca. um das Dreifache auf 100-1000 nm und erreicht ihr Plateau nach 30-90 min (Hannig and Joiner, 2006).

Es wird angenommen, dass die Pellikel als permselektive Membran auf der Schmelzoberfläche fungiert und als Diffusionsbarriere einen Schutz gegen die Demineralisierung durch mikrobielle Säuren und gegen erosive Herausforderungen bietet (Carpenter et al., 2014; Featherstone and Lussi, 2006; Hannig and Balz, 1999; Hara and Zero, 2014).

Die Pellikel verhindert den direkten Kontakt zwischen den Säuren und der Zahnoberfläche und reduziert dadurch die Auflösungsrate von HA (Lussi and Jaeggi, 2008). Verschiedene Komponenten des Speichels haben unterschiedliche Effekte auf die protektiven Eigenschaften der Pellikel und somit ist die richtige Zusammensetzung der Komponenten wichtig zur Bildung einer protektiven Pellikel (Baumann et al., 2016). In einer Studie wurde festgestellt, dass bei Erosionspatienten die Menge an Proteinen innerhalb der erworbenen Pellikel um die Hälfte geringer war als bei den gesunden Kontrollen. Insbesondere Statherin, ein kalziumbindendes Protein, war 35% weniger häufig vorhanden und auch die Kalziumkonzentration innerhalb der erworbenen Pellikel war bei Erosionspatienten um 50% reduziert. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Bildung neuer erworbener Pellikel auf Oberflächen bei Erosionspatienten reduziert war, was ihre größere Anfälligkeit für Säureerosion der Zähne erklären könnte (Carpenter et al., 2014). Somit erscheint es logisch die Pellikel zu modifizieren, um ihre schützenden Eigenschaften zu verstärken. Es wurde bereits nachgewiesen, dass verschiedene Substanzen in die Pellikel eingelagert oder der HA-Oberfläche aufgelagert werden können, um die protektive Wirkung zu verbessern. Beispielsweise Kasein oder eine Mischung aus Kasein und Mucin verringerte die Auflösungsgeschwindigkeit von Hydroxylapatit erheblich, wenn das HA mit einer Speichelpellikel beschichtet war (Barbour et al., 2008; Cheaib and Lussi, 2011; White et al., 2011). Auch Polyphenole wie Tannine binden an die Speichelproteine und erhöhen somit die Pellikeldicke und den erosionprotektiven Effekt der Pellikel (Hertel et al., 2017; Joiner et al., 2003).

2.1.4 Apatite zur Schmelzregeneration

Es können bereits anorganische intelligente Materialien entworfen und synthetisiert werden, die mit biologischem Gewebe reaktiv sind, indem die Natur imitiert wird. Diese intelligenten Materialien können für die Entwicklung innovativer Biomaterialien genutzt werden, die nicht nur ihre Interaktion mit biologischem Gewebe und der Umwelt optimieren, sondern auch biogene Materialien in ihren Funktionen nachahmen können. Die Biomimetik synthetischer Materialien kann auf verschiedenen Ebenen erfolgen, je nach Zusammensetzung, Struktur, Mor-

phologie und den chemisch-physikalischen Eigenschaften der synthetischen Materialien. Synthetische Biomaterialien sollten alle Eigenschaften von biologischem Gewebe nachahmen, um ihre Wechselwirkungen zu optimieren und biogene Materialien in ihren Funktionalitäten nachzuahmen (Roveri and Iafisco, 2010).

HA, im Schmelz und im Knochen, ist für das mechanische Verhalten der kalzifizierten Gewebe verantwortlich (Lelli et al., 2014). HA $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ist eine der stabilsten Formen der Kalziumphosphate und der wichtigste anorganische Bestandteil von Knochen und Zähnen bei Säugetieren. HA wird in zahlreichen interdisziplinären Bereichen ausgiebig untersucht, vom besseren Verständnis der Bildungsmechanismen in natürlichen Mineralisierungsprozessen bis hin zur Anwendbarkeit als biomedizinisches oder industrielles Material. Der aktuelle Trend in der Biomaterialforschung geht dahin, die Beschränkungen von Kalziumphosphaten und HA-Keramiken, die eine geringe Bioresorbierbarkeit, Oberfläche und Bioreaktivität haben, zu überwinden und fokussiert sich auf die Verbesserung ihrer biologischen Eigenschaften durch die Erforschung der Vorteile, die die Nanotechnologie bietet. Mit ihrer Hilfe ist es möglich, anorganische Kristalle mit nanometrischen Abmessungen herzustellen, die sich durch eine hohe Bioresorbierbarkeit, eine große Oberfläche und strukturelle Unordnung an der Oberfläche auszeichnen, was die Bioreaktivität der Kristalle erhöht (Roveri and Iafisco, 2010).

Gegenwärtig erlebt die Nanotechnologie ein schnelles Wachstum mit vielen potenziellen Anwendungen in der Zahnmedizin. Die Nanotechnologie hat zur Nachahmung der nanostrukturellen Merkmale des natürlichen menschlichen Zahnschmelzes und zur Entwicklung bioinspirierter Strategien zur Remineralisierung bzw. Kariestherapie angeregt (Hannig and Hannig, 2012). In den letzten Jahren wurden biomimetische Ansätze genutzt, um Nanomaterialien zu entwickeln, die in einer Vielzahl von Produkten zur Mundgesundheitspflege enthalten sind. Beispiele sind Flüssigkeiten und Pasten, die Nano-Apatite für das Biofilm-Management an der Zahnoberfläche enthalten, und Produkte, die Nanomaterialien für die Remineralisierung von frühen submikrometergroßen Schmelzläsionen enthalten. Mundpflegeprodukte auf Basis von bioinspirierten Nanomaterialien haben bereits den Weg vom Labor in die tägliche Anwendung zur Biofilmkontrolle und Remineralisierung von submikrometergroßen Schmelzläsionen als Ergänzung zu konventionellen Ansätzen gefunden (Hannig and Hannig, 2010).

Offensichtlich hat nano-HA Potenzial als effektives Reparaturmaterial und Antikariesmittel. Ergebnisse einer Studie deuten auch darauf hin, dass sowohl die partikel- als auch die ionenvermittelten Remineralisierungswege in nano-HA zur Reparatur von demineralisiertem

Schmelz beitragen können. Die *in-vitro*-Studie zeigte, dass gut dimensionierte Nano-Apatit-Partikel im Vergleich zu herkömmlichen HA-Kristallen, die Hunderte von Nanometern groß sind, erste erosive Läsionen im Zahnschmelz gleichzeitig reparieren und verhindern können (Huang et al., 2011). Es zeigte sich, dass sich Nano-HA-Partikel regelmäßig auf der zellulären Struktur der demineralisierten Schmelzoberfläche ablagerten, wodurch neue Oberflächenschichten zu entstehen schienen. Auch daraus wurde geschlossen, dass Nano-Hydroxylapatit das Potenzial hat, erste Schmelzläsionen zu remineralisieren (Huang et al., 2009; Tschoppe et al., 2011). Auch die Mikrohärtigkeit stieg bei Proben, die zuerst Säure ausgesetzt war, bei darauffolgendem Putzen mit nano-HA-haltigen Zahnpasten an (Ebadifar et al., 2017). Eine weitere Studie zeigte, dass Zahnpasta, die nanostrukturierte Zn-Carbonat-HA-Mikrokristalle enthält, die oberflächliche Reparatur des Zahnschmelzes durch die Bildung einer schützenden biometrischen Carbonat-HA-Beschichtung fördern kann (Lelli et al., 2014). Eine weitere Zahnpasta mit Zn-HA führte zu einer signifikanten Remineralisierung des erosiv angegriffenen Schmelzes, was darauf hindeutet, dass diese Zahnpasten einen relevanten Nutzen für die Zahngesundheit haben könnten (Poggio et al., 2017). Eine weitere *in-situ*-Studie untersuchte das zahnerosive Potenzial eines Sportgetränks, das nano-HA, ein Material aus Kalzium und Phosphat, enthielt. Die dentale Erosion wurde durch den Zusatz von nano-HA zum Sportgetränk effektiv gehemmt (Min et al., 2015).

2.1.5 Adstringenzen (Tanninsäure)

Polyphenole gelten als die in der Ernährung am häufigsten vorkommenden Antioxidantien, die freie Radikale auffangen können (Singh et al., 2008). Natürlich vorkommende Polyphenole haben sich in *in-vitro*- und *in-vivo*-Studien als gute Antioxidantien erwiesen (Yoshida et al., 2000). Obst, Gemüse, Getränke (Tee, Wein, Säfte), Pflanzen und einige Kräuter sind reich an starken antioxidativen Polyphenolen (Singh et al., 2008). Tanninsäure (TA) ist eine Art von natürlichem Polyphenol, das in Tee und Wein weit verbreitet ist. Aufgrund ihrer polyphenolischen Struktur hat sie interessante Funktionen wie Antioxidation und antibakterielle Eigenschaften (Smullen et al., 2007; Yang et al., 2017; Yoshida et al., 2000).

Die antiadhärente und antibakterielle Wirkung bestimmter Pflanzenextrakte hat sich in der präventiven Zahnmedizin als vorteilhaft erwiesen. Die Kombination bestimmter polyphenolhaltiger Pflanzenextrakte bietet einen neuartigen Ansatz zur ergänzenden Prävention von Zahnerosion (Weber et al., 2015).

Polyphenole weisen eine große Vielfalt an Strukturen und Eigenschaften auf (Sarni-Manchado et al., 2008). TA hat reichlich Polyphenolgruppen, die Kalzium im Speichel erfassen können, um die Regeneration von HA-Kristallen zu induzieren (Yang et al., 2017). In früheren Studien wurden bereits starke antibakterielle und antiadhärente Sofort- und Langzeiteffekte von Tanninsäure nachgewiesen (Schestakow and Hannig, 2020). Eine deutliche Verringerung der anhaftenden Bakterien bei Spülung mit verschiedenen polyphenolhaltigen Getränken wurde festgestellt (Hannig et al., 2009) und ebenfalls die Menge der im 120-minütigen Biofilm nachgewiesenen Bakterien war deutlich reduziert (Hannig et al., 2008). TA verbesserte außerdem pH-abhängig signifikant die erosionsprotektiven Eigenschaften der Pellikel. Die bakterielle Adhärenz auf Schmelz und auch auf Dentin war nach der Spülung mit TA deutlich reduziert und führte zu einer nachhaltigen Veränderung der Pellikel, die danach deutlich elektronendichter war (Hertel et al., 2017; Rehage et al., 2017; Schestakow et al., 2021). Es hat sich gezeigt, dass die Bestandteile von schwarzem Tee und Rotwein die *in-vitro*-Reifung der Pellikel stark beeinflussen, so dass sich verdickte Schichten von gefärbtem Material bilden, die sich nicht ohne weiteres entfernen lassen. Der Anstieg der adsorbierten Mengen war deutlich stärker bei Kontakt der Pellikel mit Rotwein anstelle von schwarzem Tee. Es wurde mehr als die zehnfache Menge der ursprünglichen Pellikel adsorbiert. Es findet eine Art Vernetzung zwischen der pellikelartigen Proteinschicht und den Rotweinbestandteilen statt (Joiner et al., 2003).

Das Spülen mit TA kann also die *in-situ* Biofilmbildung effektiv inhibieren, die Zunahme der Elektronendichte und -dicke der Pellikel fördern, somit die Ultrastruktur von Biofilmen auf Schmelz- und Dentinoberflächen modifizieren und die bakterielle Lebensfähigkeit von Biofilmen auf Schmelzoberflächen signifikant reduzieren (Xi et al., 2020). Spülungen mit bestimmten polyphenolhaltigen Getränken können zur Vorbeugung von durch Biofilm verursachten Krankheiten in der Mundhöhle beitragen (Hannig et al., 2009). Adstringenzien könnten die Schutzeigenschaften der Pellikel gegen Zahnerosion, Abnutzung und bakterielle Adhäsion verändern und auf diese Weise die Zahngesundheit beeinflussen, was für die präventive Zahnmedizin von besonderer Bedeutung sein kann (Rehage et al., 2017).

2.2 Fragestellung

Da in den letzten Jahren die Häufigkeit dentaler Erosion signifikant angestiegen ist, wurde die Entwicklung eines effektiven Managements und präventiver Ansätze zur Vermeidung der Erweichung der Zähne immer wichtiger und hat zu konzentrierten Bemühungen geführt, Wirkstoffe zu identifizieren, die vor Erosion schützen könnten (Abdullah et al., 2012; Vukosavljevic et al., 2014).

Ein möglicher präventiver Ansatz könnte die Spülung mit apatithaltigen Suspensionen sein, um die schützenden Eigenschaften der Pellikelschicht zu verbessern. Mundpflegeprodukte auf Basis von bioinspirierten Nanomaterialien stehen bereits zur täglichen Anwendung zur Biofilmkontrolle und Remineralisierung von submikrometergroßen Schmelzläsionen zur Verfügung (Hannig and Hannig, 2010). Apatite als Lösungsansatz beim Problem der Erosion wurden schon mehrfach untersucht und zeigten einen positiven Effekt (Ebadifar et al., 2017; Huang et al., 2011; Huang et al., 2009; Lelli et al., 2014; Min et al., 2015; Poggio et al., 2017).

Auch eine Kombination mit Polyphenolen erscheint sinnvoll, da in verschiedenen Studien bereits festgestellt wurde, dass Polyphenole einen großen Einfluss auf die Pellikel haben und dadurch protektiv gegen Erosion wirken (Hannig et al., 2009; Hannig et al., 2008; Hertel et al., 2017; Rehage et al., 2017; Schestakow and Hannig, 2020; Weber et al., 2015; Yang et al., 2017).

Allerdings sind weitere Untersuchungen zur Überprüfung von Apatiten und Polyphenolen auf ihre erosionsprotektiven Eigenschaften nötig.

In dieser Studie soll untersucht werden, ob die vorbeugende Anwendung apatithaltiger Suspensionen, auch in Kombination mit Polyphenolen, den Erosionseffekt von Säuren auf Schmelz vermindern kann. Mittels Mikrohärtemessungen, Untersuchungen der Rauheit und Auswertung von rasterelektronenmikroskopischen Bildern boviner Schmelzkörper soll diese Frage sowohl *in-situ* als auch *in-vitro* untersucht werden, um einen etwaigen Effekt auf die Schmelzoberfläche darzustellen.

3 Material und Methode

3.1 Übersicht über den Versuchsablauf

In Abb. 3-1 ist der Versuchsablauf grafisch dargestellt.

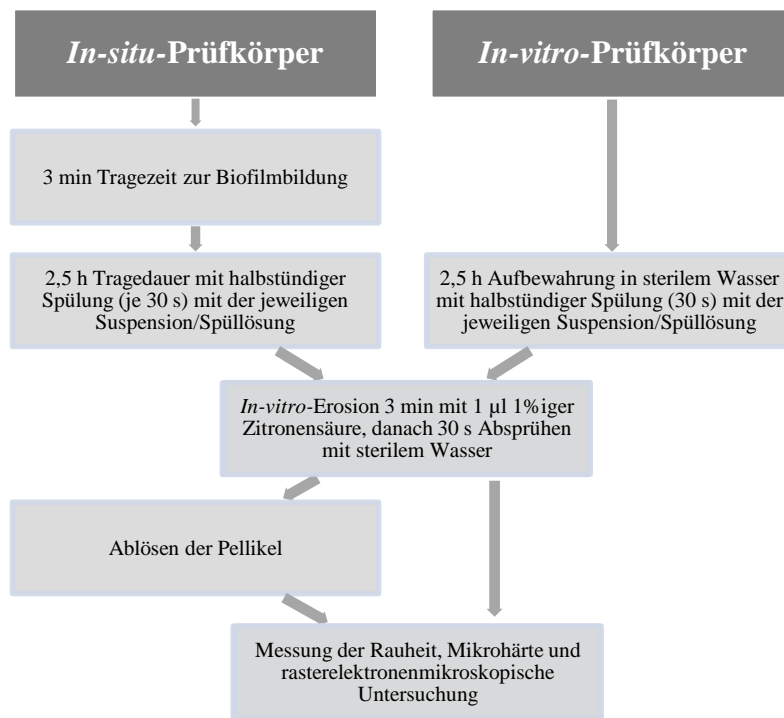


Abb. 3-1 Grafische Darstellung des Versuchsablaufs

3.2 Vorbereitung der Schmelzprüfkörper, Trägerschienen und Suspensionen/Mundspüllösungen

3.2.1 Vorbereitung der Schmelzprüfkörper

Es wurden permanente, obere Schneidezähne von Rindern (Schlachthof Färber Zweibrücken) zur Prüfkörperherstellung verwendet. Nach der Extraktion lagerten der Zähne in 0,1%iger Thymollösung bei 4 °C. Schmelzprüfkörper (SPK) der Größe von maximal 6 x 4 mm und einer Dicke von 1-2 mm wurden aus der Labialfläche hergestellt. Dazu wurden mit einer wassergekühlten Schleiftrennmaschine zuerst die Wurzeln, die Palatinalflächen und dann die Inzisal- und Approximalflächen abgetrennt, um aus der verbleibenden Labialfläche mehrere ähnlich große Stücke zu produzieren. Mithilfe von Siliziumkarbid-Nassschleifpapier der Körnung 400 Grit wurde am Nassschleifgerät Phoenix 3000 ein paralleler Prüfkörper mit einem

Schmelz-Dentin-Verhältnis von 2:1 angestrebt. Die Außenseiten wurden dazu rechtwinklig geschliffen. Zur einfacheren Handhabung wurde die Dentinseite mit einem Bleistiftkreuz markiert. Die Politur der Schmelzoberflächen der SPK erfolgte daraufhin unter permanenter Wasserkühlung mit Körnungen von 600, 800, 1200, 2500 und 4000 Grit bei 300-600 U/min, um eventuelle Unebenheiten oder Schmelzrisse zu entfernen und eine glatte Oberfläche zu erreichen. Dies wurde unter einem Lichtmikroskop (Zoom-Stereomikroskop, 12-fache Vergrößerung) kontrolliert. Vor und zwischen diesen Arbeitsschritten erfolgte eine Lagerung in 0,1% Thymol. Die Aufbewahrung der SPK erfolgte nach der Politur mit 4000 Grit in 30% Ethanol, um eine erneute Benetzung mit Thymol zu verhindern.

3.2.2 Standardisierung der Schmelzprüfkörper

Um die SPK vergleichbar zu machen, wurden sie standardisiert. Dazu erfolgten Mikrohärtmessungen mit dem Gerät Duramin 5 (Struers, Rødovre, Denmark). Die SPK wurden auf einen Objektträger gelegt und mit einem pyramidal geformten Diamanten mit dem Öffnungswinkel von 136° und einer definierten Last von $F = 100$ Pound für 10 s imprimiert. Die dadurch entstandenen Linien der Impression waren kreuzförmig und gaben mit ihrer Ausdehnung die Eindringtiefe des Diamanten an. Die Endpunkte der Linien wurden im Lichtmikroskop festgelegt und das dadurch entstandene Viereck vermessen. Die Berechnung der Mikrohärt erfolgte über die Ausdehnung der Impressionen. Die Kraft ist direkt proportional zu dieser Fläche (A), die Vickers-Härte (HV) berechnete sich automatisch durch das Computerprogramm gemäß der mathematischen Formel $HV = 0,102 F/A$. Pro SPK fanden Messungen an fünf unterschiedlichen Stellen statt. SPK mit einem gleichmäßigen Ergebnis für die verschiedenen Messpunkte und mit durchschnittlichen Härtewerten zwischen 300 HV und 400 HV wurden als geeignet angesehen, in 2 ml Safe Lock Tubes (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) mit 1 ml 30%igem Ethanol aufbewahrt und nummeriert.

3.2.3 Reinigung der Schmelzprüfkörper

Danach fand die Reinigung der SPK statt. Dazu wurden sie 3 min in eine Well-Platte mit 3% Natriumhypochlorit (NaOCl) eingebracht, daraufhin in einem Sieb mit fließendem VE-Wasser abgespült bis die SPK geruchlos waren. Weiterhin blieben die SPK 5 min in Safe Lock Tubes im Ultraschallbad in VE-Wasser und danach 15 min in einer Well-Platte in 70% Isopropylalkohol. Nach zweimaligem Spülen mit sterilem Wasser lagerten die SPK mindes-

tens 6 h und maximal 3 d vor Verwendung in der Mundhöhle in 2 ml Safe Lock Tubes in 1 ml sterilem Wasser zur Rehydratation bei 4 °C.

3.2.4 Herstellung der Trägerschienen

Für jeden Probanden erfolgte die Herstellung zweier individueller Schienen-Paare für den Oberkiefer. Dazu wurden die Probanden im Oberkiefer mit Algilock-Löffeln und Alginat abgeformt und Modelle aus Superhartgips hergestellt. Aus 1,5 mm dicken Methacrylat-Folien wurden die Schienen von der Zahntechnikerin der Klinik für Zahnerhaltung (Universität des Saarlandes, Homburg, Saar) in doppelter Ausführung je links und rechts im Oberkiefer mit Ausdehnung vom ersten Prämolaren zum zweiten Molaren tiefgezogen und mit kreisförmigen (Durchmesser ca. 4 mm) Aussparungen zur verbesserten Retention versehen. Nach Anprobe, Überprüfung und eventuellem Anpassen des Sitzes konnten die Schienen für die Versuche verwendet werden. Vor jeder Tragerunde wurden die Schienen mithilfe einer Zahnbürste von groben Verschmutzungen befreit, danach 10 min in 70% Isopropylalkohol im Ultraschallbad gereinigt und anschließend getrocknet. Die SPK wurden aus den 2 ml Safe Lock Tubes mit sterilem Wasser genommen und an der Luft auf fusselfreiem Papier getrocknet. Die SPK wurden links und rechts bukkal im Bereich der zweiten Prämolaren und ersten und zweiten Molaren mithilfe einer Pinzette, eines Zahnstochers und einer kleinen Menge Polyvinylsiloxan (President Light Body, Coltène/Whaledent, Altstätten, Switzerland) befestigt. Es war wichtig, dass ausschließlich die Schmelzfläche frei lag und die Seitenflächen komplett ohne überstehendes Befestigungsmaterial gefasst waren. Eine auf diese Art vorbereitete Trägerschiene ist in Abb. 3-2 zu sehen. Nach Aushärten des Befestigungsmaterials lagerten die Schienen bis zum Tragen in einem Falcon mit sterilem Wasser.



Abb. 3-2 Vorbereitete Prüfkörperträgerschiene. Vier SPK sind je Seite mit Polyvinylsiloxan so auf individuellen tiefgezogenen Schienen befestigt, dass die Schmelzfläche frei liegt und die Seitenflächen ohne überstehendes Befestigungsmaterial gefasst sind

3.2.5 Herstellung der Suspensionen/Mundspüllösungen

Für die experimentellen Versuche in dieser Studie wurden drei verschiedene Suspensionen/Mundsspüllösungen hergestellt.

Die Suspensionen/Mundspüllösungen waren eine 5%ige Suspension mit Kalziumhydroxylapatiten einer Größe unter 100 nm (Kalident nano), eine Suspension aus 5% Kalident nano und 1% Tanninsäure (Kombination) und steriles Wasser (Kontrolle). Für Kalident nano wurden 0,5 g Kalident nano in Pulverform auf einer Präzisionswaage in einen Falcon abgewogen und 9,5 ml steriles Wasser mithilfe einer sterilen Pipette hinzugefügt. Das Mischen der beiden Bestandteile erfolgte auf dem Vortexgerät. Für die Kombination erfolgte die Herstellung, indem 0,1 g Tanninsäure und 0,5 g Kalident nano ebenfalls auf der Präzisionswaage in einen Falcon abgewogen und 9,4 ml steriles Wasser mit einer sterilen Pipette beigegeben wurde. Auch diese Suspension wurde auf dem Vortexgerät gemischt. Die Kontrolle bestand je Spülung aus 10 ml sterilem Wasser. Die Suspensionen/Mundspüllösungen wurden aufgrund der Versuchsbedingungen jeweils in 5-facher Ausführung pro Tragerunde hergestellt.

3.3 Gewinnung der *in-situ*-Prüfkörper

3.3.1 Probanden

Fünf freiwillige Probanden nahmen an dieser Studie teil. Alle waren Mitarbeiter/innen des Laborteams oder Studenten/innen der Zahnmedizin im Alter von 23-35 Jahren. Vier von

ihnen waren weiblich, einer männlich. Den Probanden wurde der Ablauf und das Ziel der Studie erläutert, woraufhin alle zu ihrer Mitarbeit einwilligten. Über das Ess-/Trink- sowie das Mundhygieneverhalten wurden alle Probanden vor Versuchsbeginn aufgeklärt. Alle waren Nichtraucher und nahmen keine Medikamente ein. Bei einem Zahnarzt fand die Überprüfung der Mundgesundheit aller Probanden statt, woraufhin eine weibliche Probandin aufgrund von Kariesaktivität von der Studie ausgeschlossen wurde. Bei den restlichen Probanden zeigten sich keine Anzeichen von Karies, Gingivitis oder Parodontalerkrankungen, sodass letztendlich vier Probanden zur Studie zugelassen waren. Das positive Votum der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes für die Durchführung der vorliegenden Studie lag bereits vor Versuchsbeginn vor (Kenn.-Nr. 238/03, 2012).

3.3.2 Ablauf des *in-situ*-Versuchs

Die Durchführung der Tragerunden mit den verschiedenen Suspensionen/Mundspüllösungen fand an unterschiedlichen Tagen im Abstand von mindestens 24 h statt. Die Probanden putzten morgens die Zähne mit ihren gewöhnlich verwendeten Zahnpasten. Vor dem Tragen der Schienen und frühestens 1 h nach dem morgendlichen Zähneputzen erfolgte eine erneute Reinigung der Zähne mit Leitungswasser, um mögliche Zahnpastarückstände komplett zu entfernen. Nach einer halben Stunde wurden die vorbereiteten Prüfkörperträgerschienen aus dem Falkon genommen und ohne Berührung der SPK eingesetzt. Nach 3 min Tragezeit zur initialen Biofilmbildung spülten die Probanden 30 s mit je einer der Suspensionen/Mundspüllösungen. Nach jeweils einer halben Stunde wurde erneut mit der gleichen Suspension/Mundspüllösung gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen während einer Zeit von 2,5 h erfolgten (3 min nach Biofilmbildung, nach 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Vor jeder Spülung wurde der jeweilige Falkon nochmals geschüttelt. Nach 2,5 h wurden die Schienen wieder ohne Berührung der SPK entfernt.

3.3.3 *In-vitro*-Erosion der *in-situ*-Prüfkörper

Nach Ende der Tragezeit wurden die SPK umgehend mit einer Pinzette von den Schienen entfernt und für 5 s mit sterilem Wasser abgespült, um nicht adsorbierte Speichelbestandteile zu entfernen. Nach Lufttrocknung auf fusselfreiem Papier wurde 3 min lang halbseitig 1 µl 1%ige Zitronensäure mit einer Pipette appliziert und überprüft, dass sich der Tropfen nicht weiter über den SPK ausbreitete. Anschließend wurde die Zitronensäure 30 s mit sterilem

Wasser aus einem Drucksprüher mit geringem Druck abgespült. Die ungeätzte Seite diene als Vergleich zur erodierten Seite.

3.3.4 Ablösen der Pellikel

Damit die reine Schmelzoberfläche beurteilt werden konnte, erfolgte das Ablösen der Pellikel von den SPK. Hierzu wurde eine Methode angewendet, die zwei Pufferlösungen zu Hilfe nahm. Zum einen wurden für jeden SPK 500 µl einer Triton-X-100-Pufferlösung aus 50 µl Tris-HCl-NaCl-Puffer, 5 µl Triton X-100 und 445 µl dH₂O hergestellt. Zum anderen wurden 500 µl RIPA-Pufferlösung je SPK aus 50 µl RIPA-Puffer und 450 µl dH₂O vorbereitet. Nach der Mischung des SPK für 5 s auf dem Vortexgerät in einem 2 ml Safe Lock Tube gefüllt mit der Triton-X-100-Pufferlösung lagerte das 2 ml Safe Lock Tube für 5 min auf Eis. Der SPK wurde aus der Triton-X-100-Pufferlösung entfernt, in einem 2 ml Safe Lock Tube mit 500 µl RIPA-Pufferlösung wiederum 5 s auf dem Vortexgerät gemischt und anschließend für 5 min im Ultraschallbad gekühlt. Nach erneutem Mischen für 5 s auf dem Vortexgerät, wurde der SPK mit VE-Wasser abgespült und 24 h in einer Well-Platte zum Lufttrocknen aufbewahrt, um ihn danach mit den verschiedenen Methoden zu untersuchen. Diese Methode erfolgte bei allen *in-situ*-SPK.

3.4 *In-vitro*-Prüfkörper

Als Negativ-Kontrolle ohne Pellikel diene eine *in-vitro*-Versuchsreihe. Die SPK wurden dazu fünf Mal im Abstand von einer halben Stunde für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Vor jedem Wechsel trockneten die SPK auf fusselfreien Tüchern für ca. 30 s an der Luft, um eine Verdünnung bzw. Verunreinigung der nächsten Flüssigkeit/Suspension zu vermeiden. Die SPK waren 2,5 h komplett mit Wasser/Suspension bedeckt. Die Ätzung erfolgte gemäß der *in-situ*-SPK, die Nachbehandlung zum Ablösen der Pellikel war nicht notwendig. Nach 24 h Lufttrocknung in einer Well-Platte konnten die SPK untersucht werden.

3.5 Untersuchungsmethoden

Insgesamt wurden 54 SPK für die Untersuchungen zur Messung der Rauheit und Mikrohärtigkeit verwendet. Davon waren sechs SPK *in-vitro*-Prüfkörper, je zwei wurden gespült mit Kalident nano, der Kombination und der Kontrolle. Pro Proband wurden je vier SPK je Mundspüllösung untersucht, d.h. insgesamt zwölf SPK pro Proband und damit insgesamt 48 *in-situ*-SPK. Für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung wurde ein *in-vitro*-SPK pro Mundspüllösung, also insgesamt drei *in-vitro*-SPK, und je ein *in-situ*-SPK pro Proband pro Mundspüllösung verwendet, also zwölf *in-situ*-SPK. Insgesamt erfolgte somit die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung von 15 SPK.

3.5.1 Messung der Rauheit

Die Messung der Rauheit fand mithilfe eines Oberflächenmessgeräts (MicroProf®, FRT, Bergisch Gladbach, Deutschland) statt.

Der MicroProf® ist ein Messgerät zur präzisen optischen Topographiemessung an Oberflächen. Der MicroProf® arbeitet als optisches Profilometer (2D) und als bildgebendes Messgerät (3D) mit einem rasternden Verfahren bzw. mit einem direktabbildenden Flächensensor. Rauheiten und Welligkeiten können zwei- wie dreidimensional bestimmt werden. Der im MicroProf® eingesetzte Sensor FRT CWL benutzt ein patentiertes Verfahren, das die chromatische Aberration, im Prinzip den wellenlängenabhängigen Brechungsindex, von Linsen ausnutzt. Die Probe wird mit fokussiertem Weißlicht beleuchtet. Eine passive Optik mit großer chromatischer Aberration fächert das Weißlicht vertikal in Fokuspunkte verschiedener Farbe und somit Höhe auf. Trifft fokussiertes Licht auf eine Oberfläche, wird dieses Licht im Gegensatz zu den unfokussierten Teilen des Strahls optimal reflektiert. Es gelangt durch die gleiche Optik und ein Glasfaserkabel in ein Miniaturspektrometer. Das Licht, das auf die Prüfkörperoberfläche gelangt, wird mit unterschiedlichen Wellenlängen reflektiert, abhängig vom Abstand der Prüfkörperoberfläche. Die Wellenlänge (Farbe) des reflektierten Lichtes ergibt somit über eine Kalibrationstabelle die Entfernung des Sensors zur Probe (Bedienungsanleitung FRT MicroProf®, FRT GmbH, Version 2.104, Datum 2016-10-24).

Jeder Prüfkörper wurde einzeln auf einem Teller fixiert und in einem Feld von 6 x 3 mm gescannt. Die Analyse der gescannten Prüfkörper erfolgte mithilfe der Computersoftware Mark III mit dem Parameter sRq, der die durchschnittliche Oberflächenrauheit im definierten Bereich beschreibt. Diese wurde bei jedem Prüfkörper je zwei Mal auf der geätzten und unge-

ätzten Seite innerhalb eines Kreises mit Radius $r = 0,5$ mm gemessen und der Durchschnitt je Seite gebildet, um die Rauheit der geätzten mit der der ungeätzten Seite vergleichen zu können. Pro Proband wurden der Mittelwert der geätzten und der Mittelwert der ungeätzten Seiten der jeweils vier SPK pro Mundspüllösung errechnet.

3.5.2 Messung der Mikrohärt

Die Mikrohärt wurde gemäß des Vorgehens bei der Standardisierung der SPK mit dem Gerät Duramin 5 (Struers, Willich, Deutschland) gemessen, siehe Kapitel 3.2.2. Es wurden pro SPK jeweils fünf Messungen auf der geätzten und ungeätzten Seite durchgeführt und der durchschnittliche Wert für die geätzte und ungeätzte Seite errechnet. Auch hier wurde pro Proband ein Mittelwert der Ergebnisse der geätzten Seiten der vier SPK pro Mundspüllösung und der ungeätzten Seiten gebildet.

3.5.3 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Nach den Messungen der Rauheit und der Mikrohärt lagerten die SPK entweder vorübergehend in 30%igem Ethanol oder es erfolgte direkt die Vorbereitung für die Untersuchung am Rasterelektronenmikroskop (REM). Die Proben wurden hierfür zweimal für 10 min in eine Well-Platte mit 50%igem Ethanol, danach jeweils 5 min in 70-, 80- und 90%iges Ethanol und zweimal 10 min in 100%iges Ethanol gelegt. Daraufhin wurden die SPK in Hexamethyldisilazan (HMDS) gelegt, welches nach 30 min mit einer Pipette entsorgt wurde. Danach trockneten die SPK über Nacht in der Well-Platte unter einem Abzug. Die SPK wurden mittels Haftaufklebern auf REM-Probetellern befestigt und mit Hilfe des Sputtercoaters und eines Kohlegarns bedampft. Daraufhin konnten die vorbereiteten SPK mittels REM qualitativ untersucht werden. Die Untersuchung der mikromorphologischen Unterschiede zwischen erodiertem und intaktem Schmelz erfolgte bei 5 kV. Es wurde je ausgewähltem Prüfkörper eine Übersicht mit 22- bis 27-facher Vergrößerung und Bilder des geätzten und ungeätzten Bereichs in 500-, 1.000-, 5.000-, 10.000- und 20.000-fachen Vergrößerungen erstellt.

3.6 Vorversuche

Zur Festlegung der endgültigen Versuchsparameter wurden einige Vorversuche durchgeführt, die Schritt für Schritt abgeändert wurden.

3.6.1 Erste Vorversuchsreihe

Begonnen wurden die Versuche mit Tragezeiten von 30 min und 2 h und den Spülungen mit der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Es fand keine Standardisierung der SPK durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt, die Dauer der *in-vitro*-Erosion war 1 min und die Konzentration der Zitronensäure war 5%. Außerdem wurde der Biofilm nach dem Tragen fixiert.

In der ersten Versuchsreihe gab es zwei Tragezeiten. Die SPK wurden in einer Tragerunde 30 min, in einer anderen Tragerunde 2 h getragen und dabei bei beiden Zeiten nur einmal nach 3 min mit der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung gespült. Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mittels 1 µl 5%iger Zitronensäure. Außerdem fand eine Behandlung der Proben mit einer Fixierlösung statt, um den Biofilm zu konservieren. Dazu wurden die SPK für 1 h bei 4 °C in 2%iges Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer gelegt und daraufhin fünf Mal je 10 min mit 0,1 M Cacodylatpuffer gewaschen. Nach dem Waschen der SPK mit sterilem Wasser für fünf Mal je 5 min konnten die Untersuchungen der Rauheit und Mikrohärtigkeit durchgeführt werden. Die SPK lagerten danach wiederum bei 4 °C in 0,1 M Cacodylatpuffer, um dann für die Untersuchung am REM wie in Kapitel 3.5.3 beschrieben vorbereitet zu werden.

3.6.2 Zweite Vorversuchsreihe

Die Auswertungen zeigten, dass ein Ablösen des Biofilms zur Betrachtung der Schmelzoberfläche notwendig war, woraufhin der Biofilm nicht fixiert, sondern abgelöst wurde. Die restlichen Parameter blieben gleich.

Zuerst sollte das Ablösen mittels Reinigung mit 3% NaOCl stattfinden, was allerdings aufgrund einer zurückbleibenden Pellikel nicht zum gewünschten Erfolg verhalf. Dies führte in der zweiten Versuchsreihe zur Anwendung der endgültigen Methode des Ablöses der Pellikel mittels Pufferlösungen nach Kapitel 3.3.4.

3.6.3 Dritte Vorversuchsreihe

Durch stark differierende Ergebnisse der Untersuchung der Rauheit und Mikrohärtigkeit zeigte sich, dass vorab eine Standardisierung der SPK nötig ist, um die Untersuchungsergebnisse vergleichen zu können. Dies wurde daraufhin ab der dritten Versuchsreihe zur endgültigen Methode bei der Prüfkörper-Herstellung, beschrieben in Kapitel 3.2.2. Die Tragezeit wurde auf die endgültigen 2,5 h mit insgesamt fünf Spülungen verlängert. Zusätzlich stellte sich heraus, dass die Konzentration der Zitronensäure für realistischere Bedingungen verringert werden musste, weshalb 1 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure geätzt wurde.

3.6.4 Vierte Vorversuchsreihe

Da der Unterschied zwischen geätzter und ungeätzter Seite bei Ätzung 1 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure zu gering war, wurde in der vierten Versuchsreihe die Dauer der *in-vitro*-Erosion auf 3 min verlängert. Nachdem die Parameter festgelegt waren, wurden die Versuche mit allen Probanden in der endgültigen Versuchsreihe durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Vorversuche

4.1.1 Ergebnisse der Messung der Rauheit

Wie in Abb. 4-2 graphisch dargestellt, betrug die Rauheit bei zwei Probanden mit je zwei Prüfkörpern und einer Tragezeit von 30 min im Mittel $0,035\ \mu\text{m}$ auf der ungeätzten Seite und $0,097\ \mu\text{m}$ auf der geätzten Seite bei der Spülung mit der Kontrolle (Wasser) mit einer Standardabweichung von jeweils $0,01\ \mu\text{m}$. Die Werte der Spülung mit Kalident nano betragen $0,162\ \mu\text{m}$ mit einer Standardabweichung von $0,03\ \mu\text{m}$ auf der ungeätzten Seite und $0,237\ \mu\text{m}$ mit einer Standardabweichung von $0,04\ \mu\text{m}$ auf der geätzten Seite. Wie in Abb. 4-4 zu sehen ist, betrug die Rauheit bei einer Tragezeit von 2 h im Mittel $0,027\ \mu\text{m}$ mit einer Standardabweichung von $0,00\ \mu\text{m}$ auf der ungeätzten Seite und $0,091\ \mu\text{m}$ mit einer Standardabweichung von $0,01\ \mu\text{m}$ auf der geätzten Seite bei der Spülung mit der Kontrolle (Wasser). Die Werte der Spülung mit Kalident nano betragen $0,160\ \mu\text{m}$ mit einer Standardabweichung von $0,03\ \mu\text{m}$ auf der ungeätzten Seite und $0,274\ \mu\text{m}$ mit einer Standardabweichung von $0,02\ \mu\text{m}$ auf der geätzten Seite bei der Tragezeit von 2 h. Die Rauheit nahm nach der Ätzung bei beiden Tragedauern und beiden Spülungen zu und war insgesamt bei Spülung mit Kalident nano größer als bei der Kontrolle (Wasser). Zwischen den Werten der verschiedenen Tragezeiten war kein großer Unterschied festzustellen. Die Mittelwerte der Messergebnisse der SPK der einzelnen Probanden und die Mittelwerte der Messergebnisse aller SPK der beiden Probanden je Mundspüllösung/Suspension sind in Abb. 4-1, Abb. 4-2, Abb. 4-3 und Abb. 4-4 dargestellt.

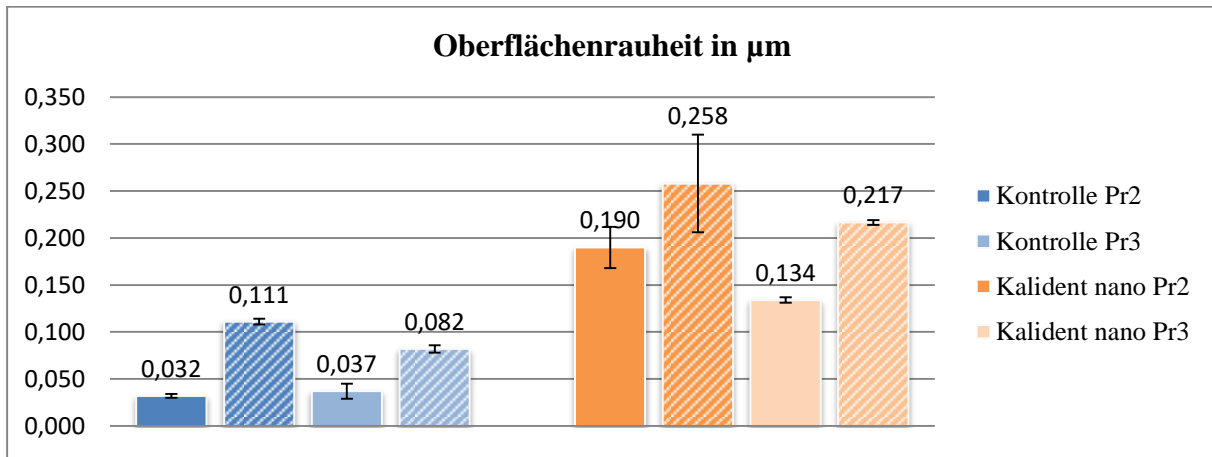


Abb. 4-1 Darstellung der Ergebnisse der Oberflächenrauheit in µm im ungeätzten und geätzten Bereich der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 mit einer 30-min-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde pro Proband der Mittelwert aus je zwei Schmelzprüfkörpern erstellt. Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Proband 2 und 3 spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser) oder Kalident nano. Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 µl 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

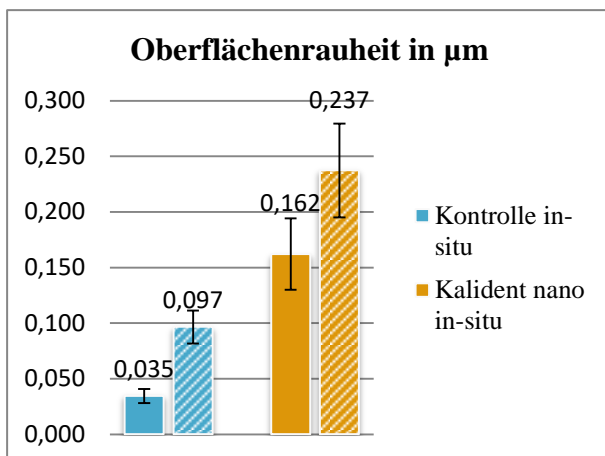


Abb. 4-2 Darstellung der Mittelwerte der Ergebnisse der Oberflächenrauheit in µm im ungeätzten und geätzten Bereich der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 mit einer 30-min-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde je Mundspüllösung/Suspension jeweils im ungeätzten und geätzten Bereich der Mittelwert aus allen Ergebnissen der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 erstellt. Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Proband 2 und 3 spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser) oder Kalident nano. Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 µl 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

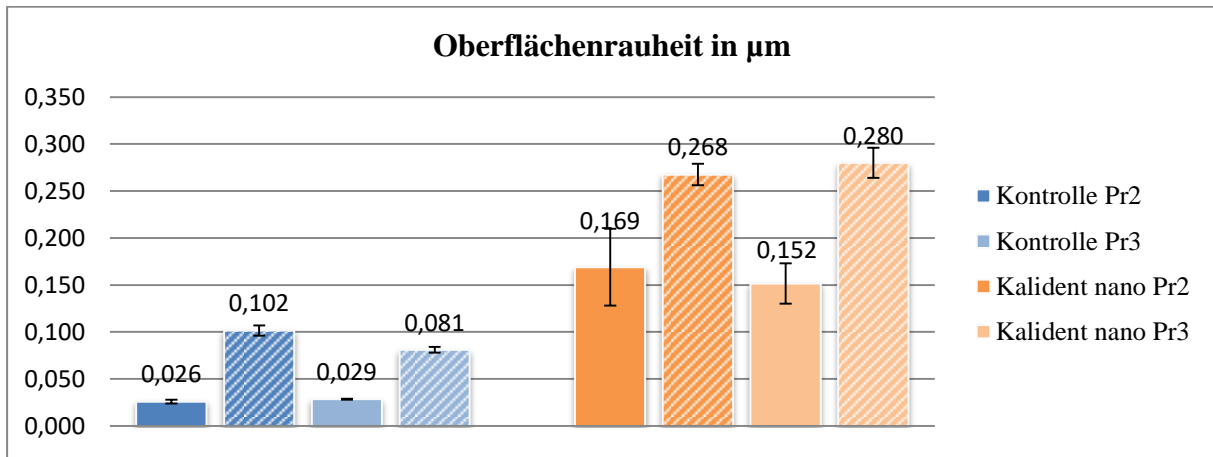


Abb. 4-3 Darstellung der Ergebnisse der Oberflächenrauheit in µm im ungeätzten und geätzten Bereich der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 mit einer 2-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde pro Proband der Mittelwert aus je zwei Schmelzprüfkörpern erstellt. Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Proband 2 und 3 spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser) oder Kalident nano. Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 µl 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

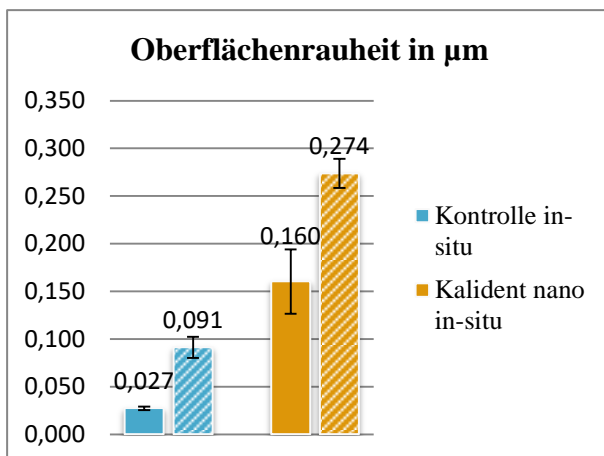


Abb. 4-4 Darstellung der Mittelwerte der Ergebnisse der Oberflächenrauheit in µm im ungeätzten und geätzten Bereich der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 mit einer 2-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde je Mundspüllösung/Suspension jeweils im ungeätzten und geätzten Bereich der Mittelwert aus allen Ergebnissen der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 erstellt. Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Proband 2 und 3 spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser) oder Kalident nano. Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 µl 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

4.1.2 Ergebnisse der Messung der Mikrohärt

Die Mikrohärt betrug bei den gleichen Versuchsbedingungen und einer Tragedauer von 30 min im Mittel 318,5 HV auf der ungeätzten Seite mit einer Standardabweichung von 23,35 HV und 275,0 HV auf der geätzten Seite mit einer Standardabweichung von 17,23 HV bei der Spülung mit der Kontrolle (Wasser), was in Abb. 4-6 dargestellt ist. Die Werte der Spülung mit Kalident nano betragen 285,8 HV auf der ungeätzten Seite mit einer Standardabweichung von 15,03 HV und 249,6 HV auf der geätzten Seite mit einer Standardabweichung von 25,26 HV. Wie Abb. 4-8 zeigt, betrug die Mikrohärt bei einer Tragedauer von 2 h im Mittel 344,5 HV auf der ungeätzten Seite mit einer Standardabweichung von 17,63 HV und 287,9 HV auf der geätzten Seite mit einer Standardabweichung von 27,13 HV bei der Spülung mit der Kontrolle (Wasser). Die Werte der Spülung mit Kalidentnano betragen 311,8 HV auf der ungeätzten Seite mit einer Standardabweichung von 25,78 HV und 244,2 HV auf der geätzten Seite mit einer Standardabweichung von 20,48 HV. Folglich nahm die Mikrohärt nach der Ätzung bei beiden Tragedauern und beiden Spülungen ab und war insgesamt bei Spülung mit Kalident nano geringer als bei der Kontrolle (Wasser). Die Werte der Mikrohärt waren bei der ungeätzten Seite sowohl bei der Kontrolle (Wasser) als auch bei Kalident nano bei einer Tragedauer von 2 h höher als bei 30 min. Die Mittelwerte der einzelnen Probanden und die Übersicht beider Probanden sind in Abb. 4-5, Abb. 4-6, Abb. 4-7 und Abb. 4-8 dargestellt.

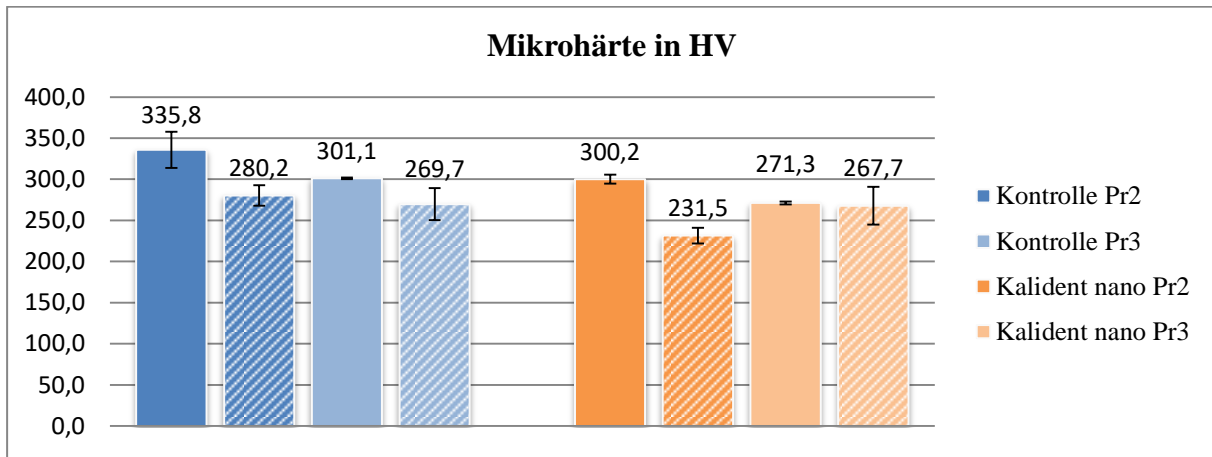


Abb. 4-5 Darstellung der Ergebnisse der Mikrohärte in HV im ungeätzten und geätzten Bereich der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 mit einer 30-min-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde pro Proband der Mittelwert aus je zwei Schmelzprüfkörpern erstellt. Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärte statt. Proband 2 und 3 spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser) oder Kalident nano. Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 µl 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

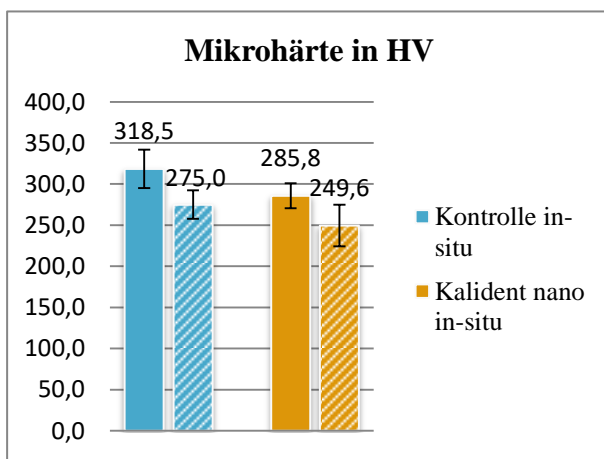


Abb. 4-6 Darstellung der Mittelwerte der Ergebnisse der Mikrohärte in HV im ungeätzten und geätzten Bereich der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 mit einer 30-min-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde je Mundspüllösung/Suspension jeweils im ungeätzten und geätzten Bereich der Mittelwert aus allen Ergebnissen der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 erstellt. Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärte statt. Proband 2 und 3 spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser) oder Kalident nano. Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 µl 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

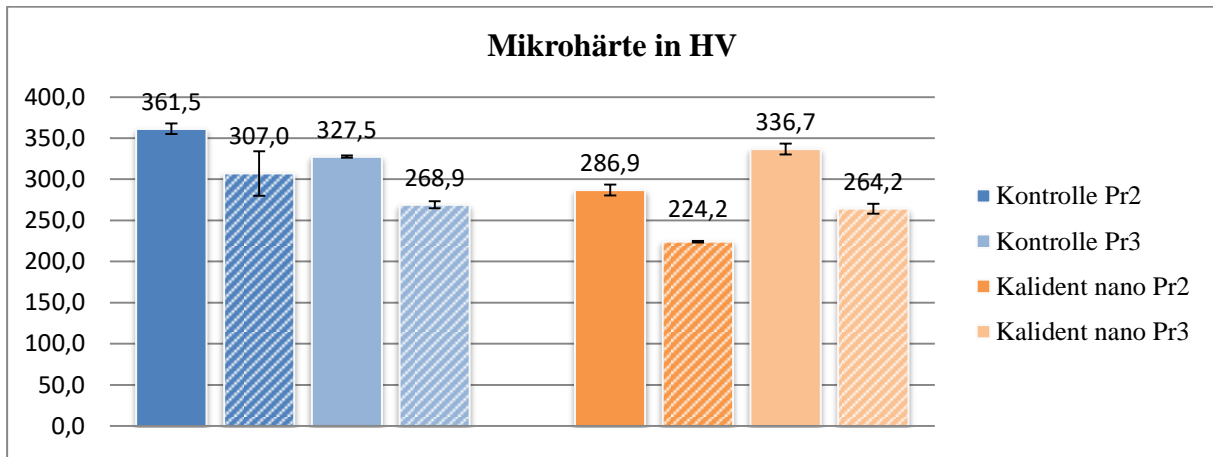


Abb. 4-7 Darstellung der Ergebnisse der Mikrohärte in HV im ungeätzten und geätzten Bereich der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 mit einer 2-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde pro Proband der Mittelwert aus je zwei Schmelzprüfkörpern erstellt. Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärte statt. Proband 2 und 3 spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser) oder Kalident nano. Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 µl 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

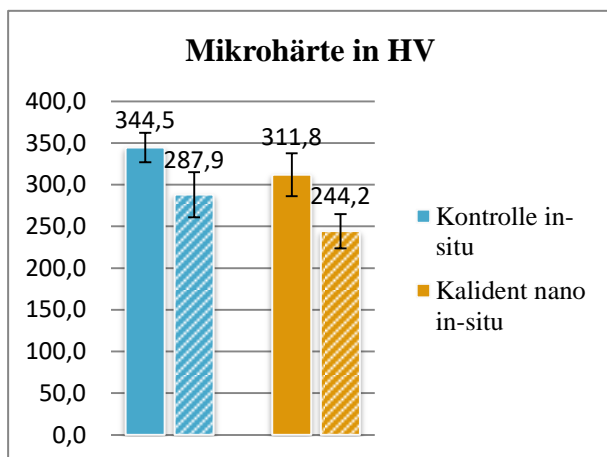


Abb. 4-8 Darstellung der Mittelwerte der Ergebnisse der Mikrohärte in HV im ungeätzten und geätzten Bereich der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 mit einer 2-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde je Mundspüllösung/Suspension jeweils im ungeätzten und geätzten Bereich der Mittelwert aus allen Ergebnissen der Schmelzprüfkörper der Probanden 2 und 3 erstellt. Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärte statt. Proband 2 und 3 spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser) oder Kalident nano. Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 µl 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

4.1.3 Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung

In der Übersichtsaufnahme (Abb. 4-9) mit 25-facher Vergrößerung eines *in-situ*-SPK kann man deutlich die Grenze zwischen Ätzpunkt und unerodiertem Schmelz erkennen. Die geätzte Seite erscheint heller und rissiger als die ungeätzte Seite.

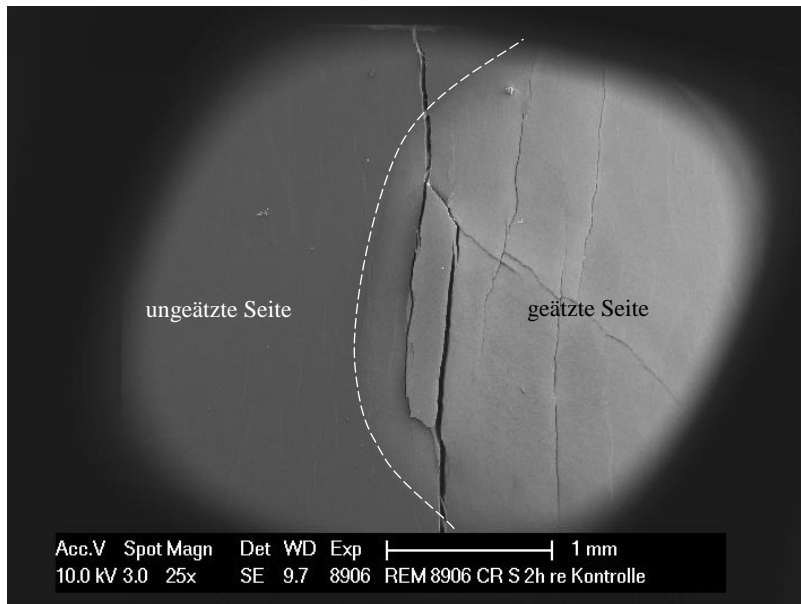
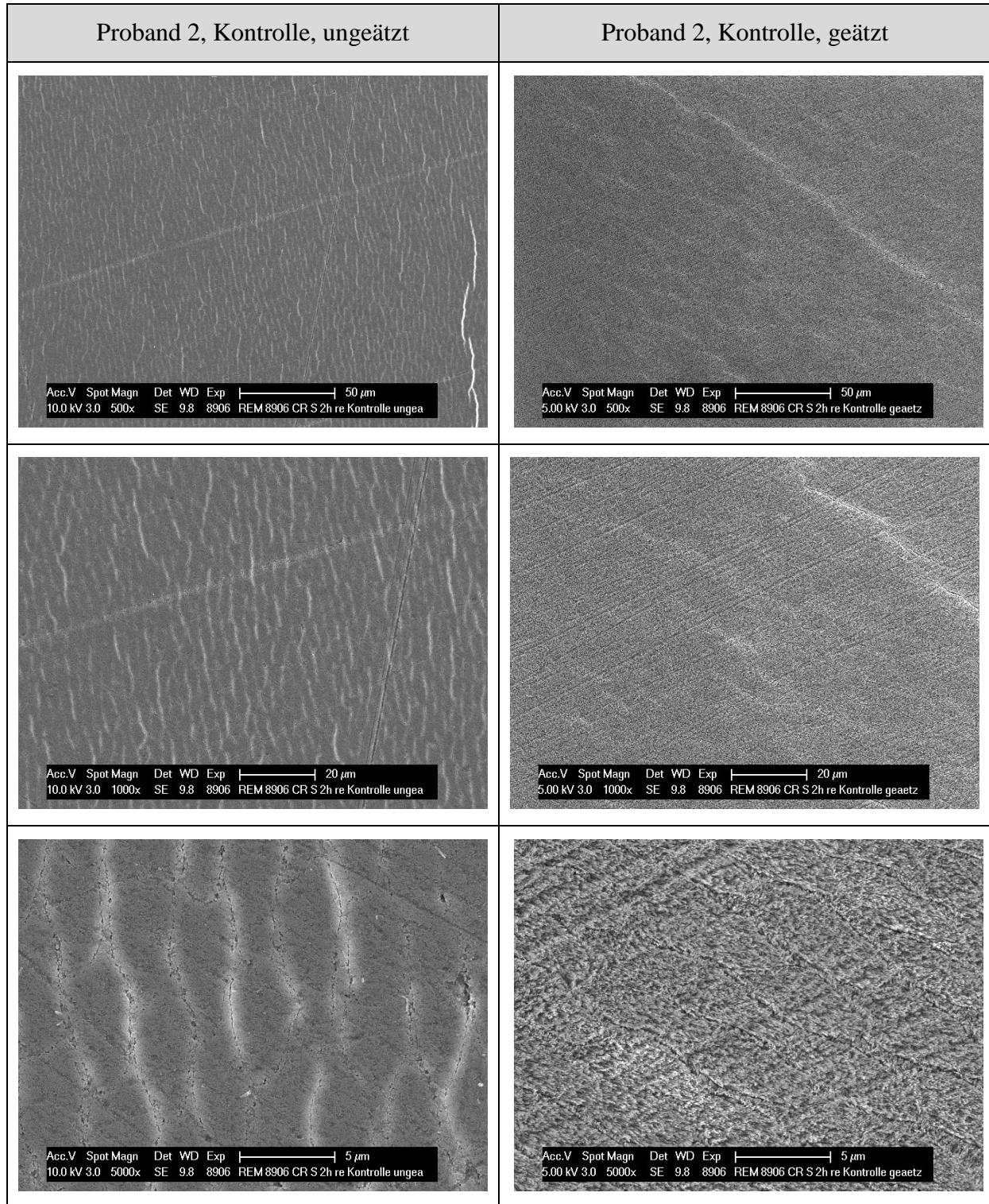


Abb. 4-9 REM-Übersichtsaufnahme (in 25-facher Vergrößerung) eines Schmelzprüfkörpers des Probanden 2 mit einer 2-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser). Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser). Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 μ l 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

In Abb. 4-10 sind die REM-Aufnahmen in den 500-, 1.000-, 5.000-, 10.000- und 20.000-fachen Vergrößerungen der ungeätzten und geätzten Seite eines Prüfkörpers des Probanden 2 mit der Kontrolle (Wasser) als Spüllösung gegenübergestellt. Man erkennt die Veränderung der Struktur des Schmelzes nach der Säureexposition. Der ungeätzte Schmelz wirkt homogen gegen die „ausgefranzten“ Schmelzkristalle auf der geätzten Seite.

Ergebnisse



(Legende siehe nächste Seite)

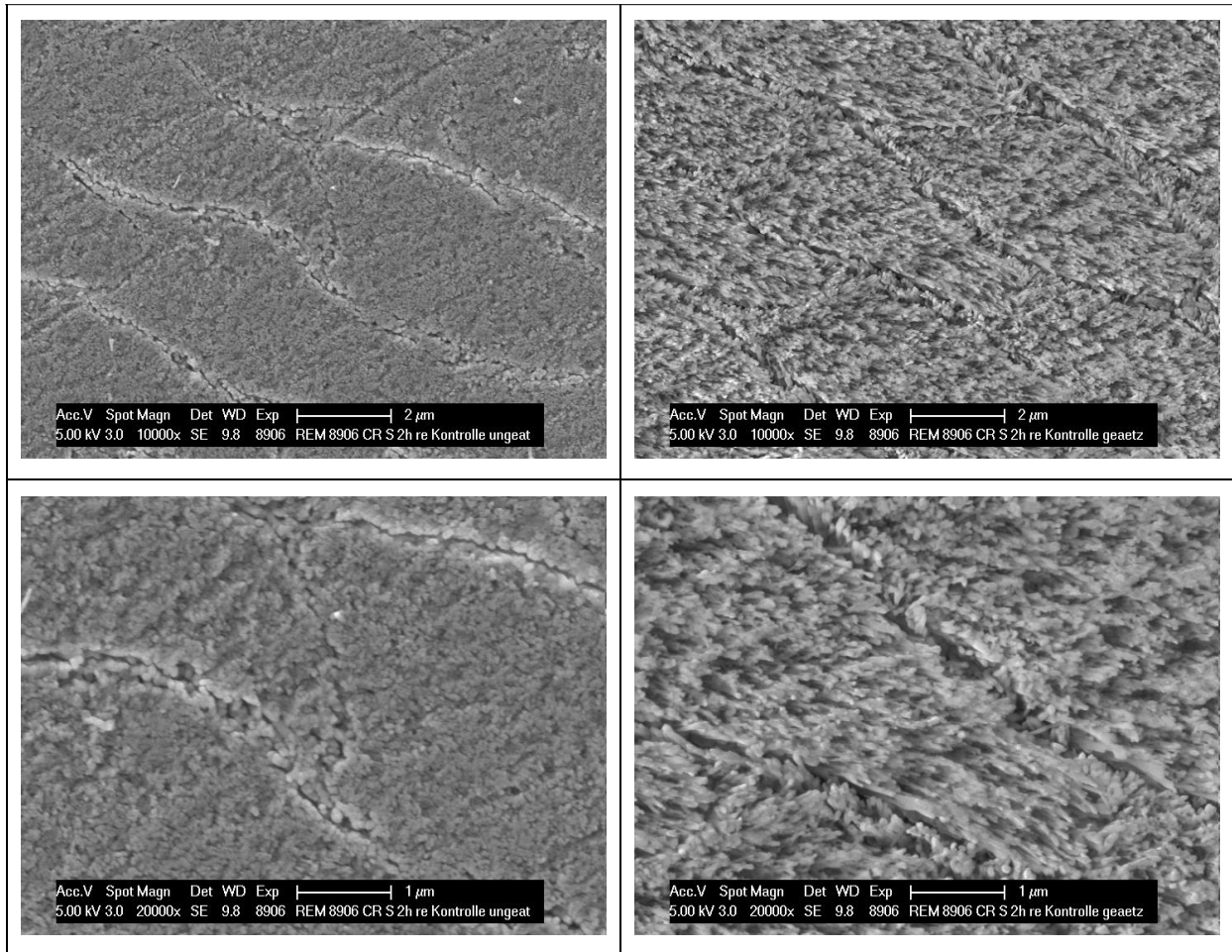


Abb. 4-10 REM-Aufnahmen (in den Vergrößerungen 500-fach, 1.000-fach, 5.000-fach, 10.000-fach und 20.000-fach) eines Schmelzprüfkörpers des Probanden 2 mit einer 2-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser). Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab keine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser). Die *in-vitro*-Erosion erfolgte 1 min mit 1 μ l 5%iger Zitronensäure. Die Pellikel wurde nach der Säureexposition fixiert

4.2 Ergebnisse der endgültigen Versuche

4.2.1 Ergebnisse der Messung der Rauheit

Bei den endgültigen Versuchen wurden sowohl *in-vitro*- als auch *in-situ*-Ergebnisse erzielt und ausgewertet. Die *in-situ*-Ergebnisse ergaben sich durch die Mittelwerte aller vier Probanden. Wie in Abb. 4-12 dargestellt, betrug die Rauheit bei der Spülung mit der Kontrolle (Wasser) *in-vitro* 0,268 μ m auf der ungeätzten Seite mit einer Standardabweichung von 0,03 μ m und 0,365 μ m auf der geätzten Seite mit einer Standardabweichung von 0,07 μ m. *In-situ* betrug die Rauheit auf der ungeätzten Seite 0,186 μ m mit einer Standardabweichung von 0,09 μ m und 0,242 μ m auf der geätzten Seite mit einer Standardabweichung von 0,08 μ m. Bei Spülung mit Kalident nano *in-vitro* war der Wert der Rauheit auf der ungeätzten Seite 0,365 μ m mit einer Standardabweichung von 0,02 μ m und 0,402 μ m auf der geätzten Seite

mit einer Standardabweichung von 0,04 μm . Das *in-situ*-Ergebnis bei Kalident nano auf der ungeätzten Seite war 0,213 μm mit einer Standardabweichung von 0,06 μm und 0,288 μm auf der geätzten Seite mit einer Standardabweichung von 0,08 μm . Bei den *in-vitro*-Versuchen mit der Kombination betrug die Rauheit auf der ungeätzten Seite 0,594 μm mit einer Standardabweichung von 0,04 μm und 0,808 μm auf der geätzten Seite mit einer Standardabweichung von 0,06 μm . *In-situ* lagen die Werte bei 0,239 μm mit einer Standardabweichung von 0,11 μm auf der ungeätzten Seite und 0,311 μm auf der geätzten Seite mit einer Standardabweichung von 0,10 μm . Alle Ergebnisse auf der ungeätzten Seite waren sowohl *in-vitro* als auch *in-situ* niedriger als die auf der geätzten Seite. Insgesamt waren die Werte der *in-vitro*-Versuche bei allen Spülungen auf beiden Seiten höher als bei den *in-situ*-Versuchen, wobei die Werte der Kombination deutlich höher waren als die der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano. Bei den *in-situ*-Ergebnissen war die Rauheit der Kontrolle (Wasser) am niedrigsten und die der Kombination am höchsten. Die Ergebnisse der *in-vitro*-Versuche und der einzelnen Probanden sind in Abb. 4-11 dargestellt. Der Vergleich der *in-vitro*- mit den *in-situ*-Ergebnissen ist in Abb. 4-12 zu sehen.

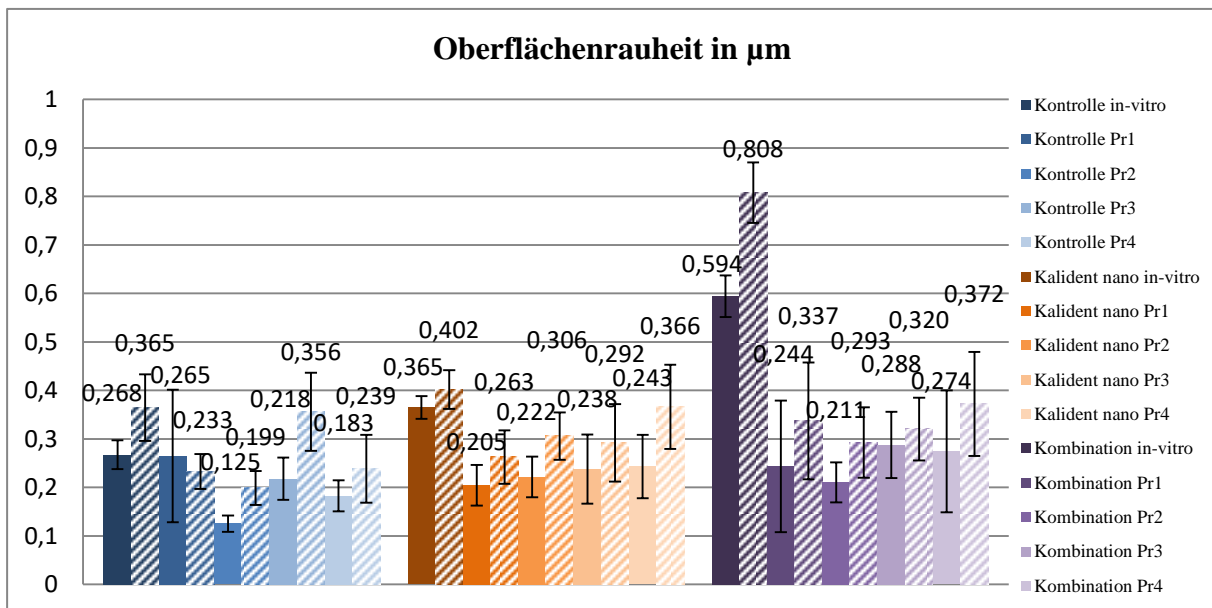


Abb. 4-11 Darstellung der Ergebnisse der Oberflächenrauheit in μm im ungeätzten und geätzten Bereich der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper und der Schmelzprüfkörper mit einer 2,5-h-Pellikel der einzelnen Probanden bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde *in-vitro* der Mittelwert aus zwei Schmelzprüfkörpern und pro Proband der Mittelwert aus je vier Schmelzprüfkörpern erstellt. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Die Probanden spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*- und *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 μl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

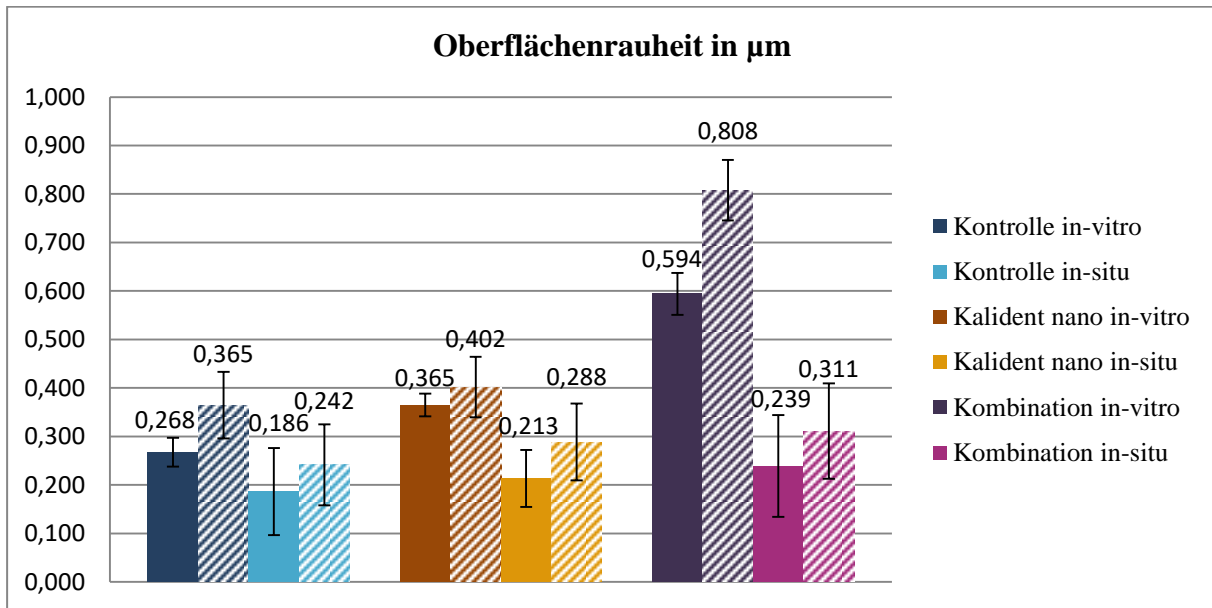


Abb. 4-12 Darstellung der Mittelwerte der Ergebnisse der Oberflächenrauheit in μm im ungeätzten und geätzten Bereich der *in-vitro*- und der *in-situ*-Schmelzprüfkörper mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde je Mundspüllösung/Suspension jeweils im ungeätzten und geätzten Bereich der Mittelwert aus allen Ergebnissen der *in-vitro*- und der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erstellt. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Die Probanden spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*- und *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 μl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

4.2.2 Ergebnisse der Messung der Mikrohärtigkeit

Bei gleichen Versuchsbedingungen wurden wiederum die Ergebnisse der *in-vitro*- mit denen der *in-situ*-Versuche verglichen. Die Mikrohärtigkeit *in-vitro* betrug bei der Kontrolle (Wasser) 332,3 HV mit einer Standardabweichung von 2,79 HV auf der ungeätzten Seite und 265,5 HV mit einer Standardabweichung von 12,81 HV auf der geätzten Seite, wie in Abb. 4-14 zu sehen ist. *In-situ* lagen die Werte der Kontrolle (Wasser) bei 339,5 HV mit einer Standardabweichung von 15,58 HV auf der ungeätzten Seite und 271,2 HV mit einer Standardabweichung von 18,82 HV auf der geätzten Seite. Kalident nano ergab *in-vitro*-Werte von 320,5 HV mit einer Standardabweichung von 11,04 HV auf der ungeätzten Seite und 264,9 HV mit einer Standardabweichung von 8,32 HV auf der geätzten Seite. *In-situ* betrug die Werte bei Kalident nano 333,4 HV mit einer Standardabweichung von 17,32 HV auf der ungeätzten Seite und 259,9 HV mit einer Standardabweichung von 17,05 HV auf der geätzten Seite. Die Kombination hatte *in-vitro*-Ergebnisse von 347,1 HV mit einer Standardabweichung von 19,27 HV auf der ungeätzten Seite und 304,0 HV mit einer Standardabweichung

von 18,29 HV auf der geätzten Seite. *In-situ* betrug der Wert auf der ungeätzten Seite 336,9 HV mit einer Standardabweichung von 14,33 HV und auf der geätzten Seite 266,1 HV mit einer Standardabweichung von 13,48 HV. Die Mikrohärtigkeit war auf der ungeätzten Seite *in-vitro* und *in-situ* ähnlich, bei der Kontrolle (Wasser) und Kalident nano *in-vitro* geringfügig niedriger, bei der Kombination *in-vitro* geringfügig höher als *in-situ*. Auch auf der geätzten Seite unterschieden sich die Werte *in-vitro* und *in-situ* nur wenig. Bei der Kontrolle (Wasser) war der Wert *in-vitro* niedriger als *in-situ*, bei Kalident nano und der Kombination waren die Werte *in-vitro* höher. Die Ergebnisse der *in-vitro*-Versuche und der einzelnen Probanden sind in Abb. 4-13 dargestellt. Der Vergleich der *in-vitro*- mit den *in-situ*-Ergebnissen ist in Abb. 4-14 zu sehen.

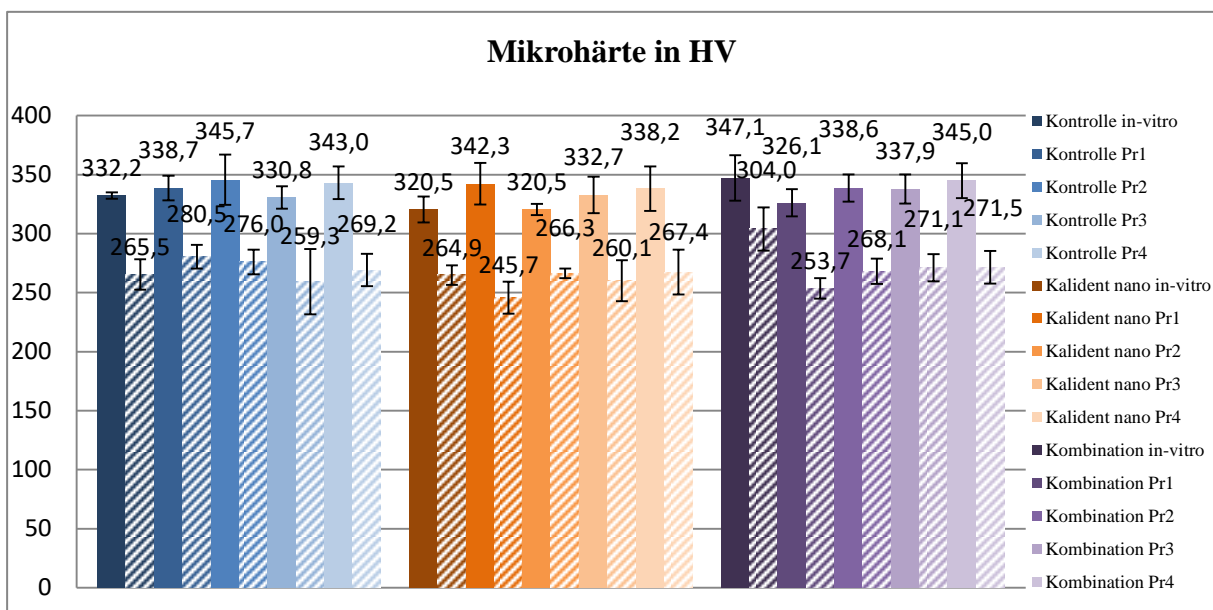


Abb. 4-13 Darstellung der Ergebnisse der Mikrohärtigkeit in HV im ungeätzten und geätzten Bereich der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper und der Schmelzprüfkörper mit einer 2,5-h-Pellikel der einzelnen Probanden bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde *in-vitro* der Mittelwert aus zwei Schmelzprüfkörpern und pro Proband der Mittelwert aus je vier Schmelzprüfkörpern erstellt. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Die Probanden spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*- und *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

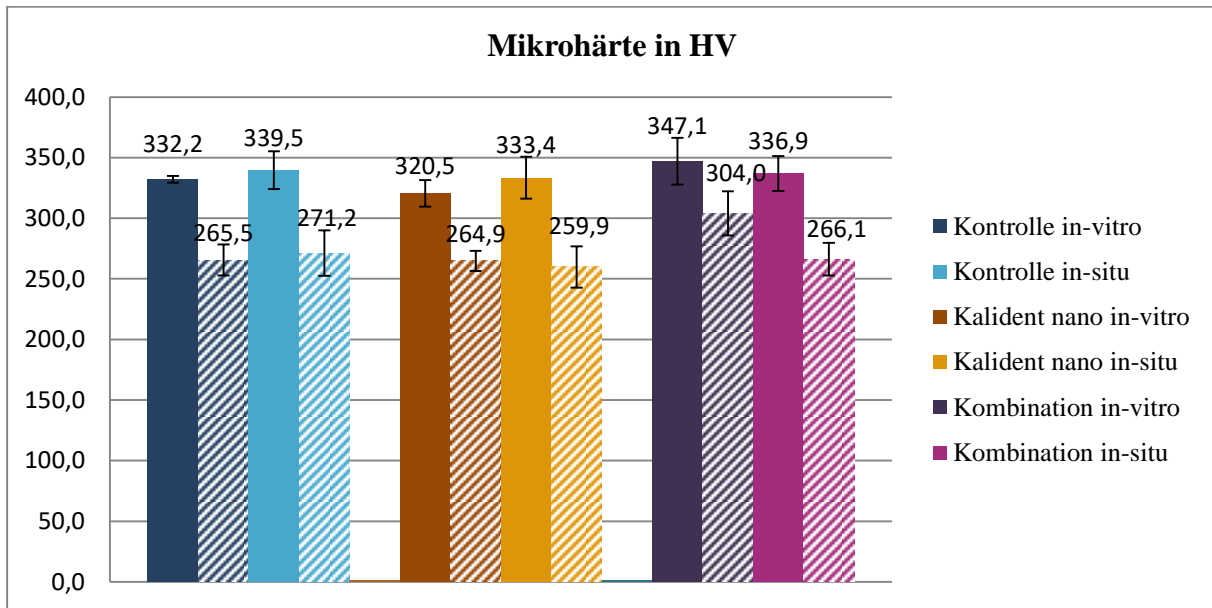


Abb. 4-14 Darstellung der Mittelwerte der Ergebnisse der Mikrohärte in HV im ungeätzten und geätzten Bereich der *in-vitro*- und der *in-situ*-Schmelzprüfkörper mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Die ausgefüllten Säulen beschreiben die Werte des ungeätzten, die schraffierten Säulen die Werte des geätzten Bereichs. Es wurde je Mundspüllösung/Suspension jeweils im ungeätzten und geätzten Bereich der Mittelwert aus allen Ergebnissen der *in-vitro*- und der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erstellt. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärte statt. Die Probanden spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*- und *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

4.2.3 Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung

Zuerst wurden alle Schmelzprüfkörper in einer 24- bis 26-fachen Vergrößerung betrachtet.

In Abb. 4-15 sind die Übersichtsaufnahmen in 24- bis 26-facher Vergrößerung der *in-vitro*-Prüfkörper und der SPK von Proband 2 nach Spülung mit den verschiedenen Spüllösungen verglichen. Die Übersichtsaufnahmen aller weiteren Probanden befinden sich im Anhang (Abb. 9-1). Der Säureexpositionspunkt ist nicht bei allen Prüfkörpern in der Übersicht gut sichtbar, v.a. nicht bei Kalident nano *in-vitro*. Außerdem fallen die starken Risse bei der Kontrolle (Wasser) *in-vitro*, Kalident nano Proband 2 und der Kombination *in-vitro* auf. Bei letzterem SPK sind auch großflächig weiße, fleckige Auflagerungen zu erkennen.

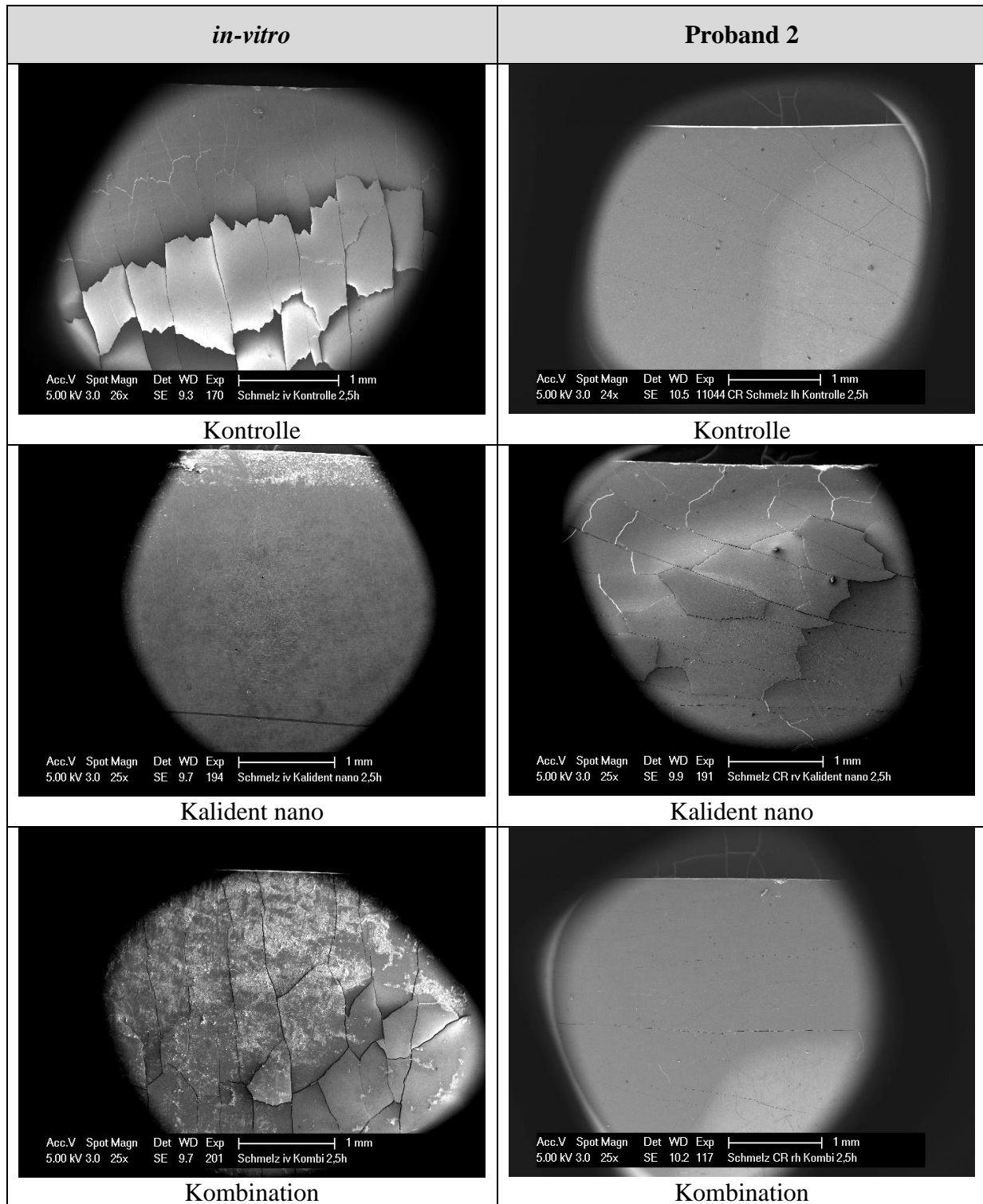


Abb. 4-15 REM-Übersichtsaufnahmen (in 24- bis 26-facher Vergrößerung) der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper und der Schmelzprüfkörper von Proband 2 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtte statt. Die Probanden spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*- und *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

In Abb. 4-16, Abb. 4-17, Abb. 4-18, Abb. 4-19 und Abb. 4-20 sind die 500-, 1.000-, 5.000-, 10.000- und 20.000-fach vergrößerten REM-Aufnahmen der *in-vitro*-Versuche der unterschiedlichen Spüllösungen zu sehen. Die geätzte Oberfläche sieht grundsätzlich durch die Demineralisation „ausgefranst“ aus. Die Oberfläche ist im ungeätzten Bereich unversehrt außer bei Kalident nano. Hier erscheint die ungeätzte Oberfläche ähnlich der geätzten, was auf der Übersichtsaufnahme bereits zu erahnen war. In den 500- und 1.000-fachen Vergrößerungen der Kombination bestätigt sich ebenfalls das Bild der Übersichtsaufnahme, da im ungeätzten Bereich weiße, unterschiedlich große und unterschiedlich geformte Auflagerungen sichtbar sind. Im geätzten Bereich sind diese nicht zu erkennen. In den 5.000-, 10.000- und 20.000-fachen Vergrößerungen werden auf allen Prüfkörpern kleine vermehrt kugelförmige Auflagerungen sichtbar (siehe beispielhaft weiße Pfeile), wobei sie im geätzten Bereich weniger sind als im ungeätzten.

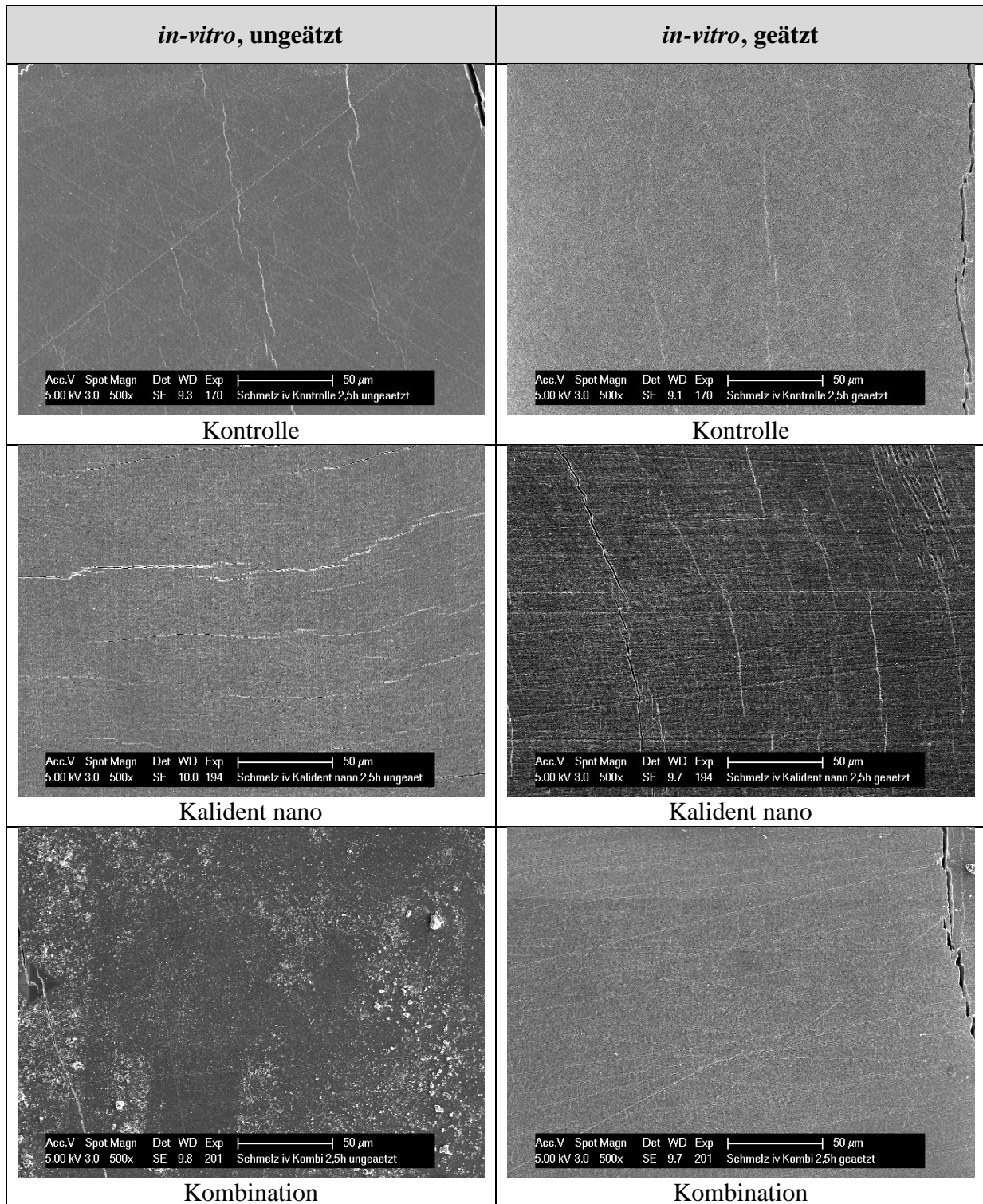


Abb. 4-16 REM-Aufnahmen (in 500-facher Vergrößerung) der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure

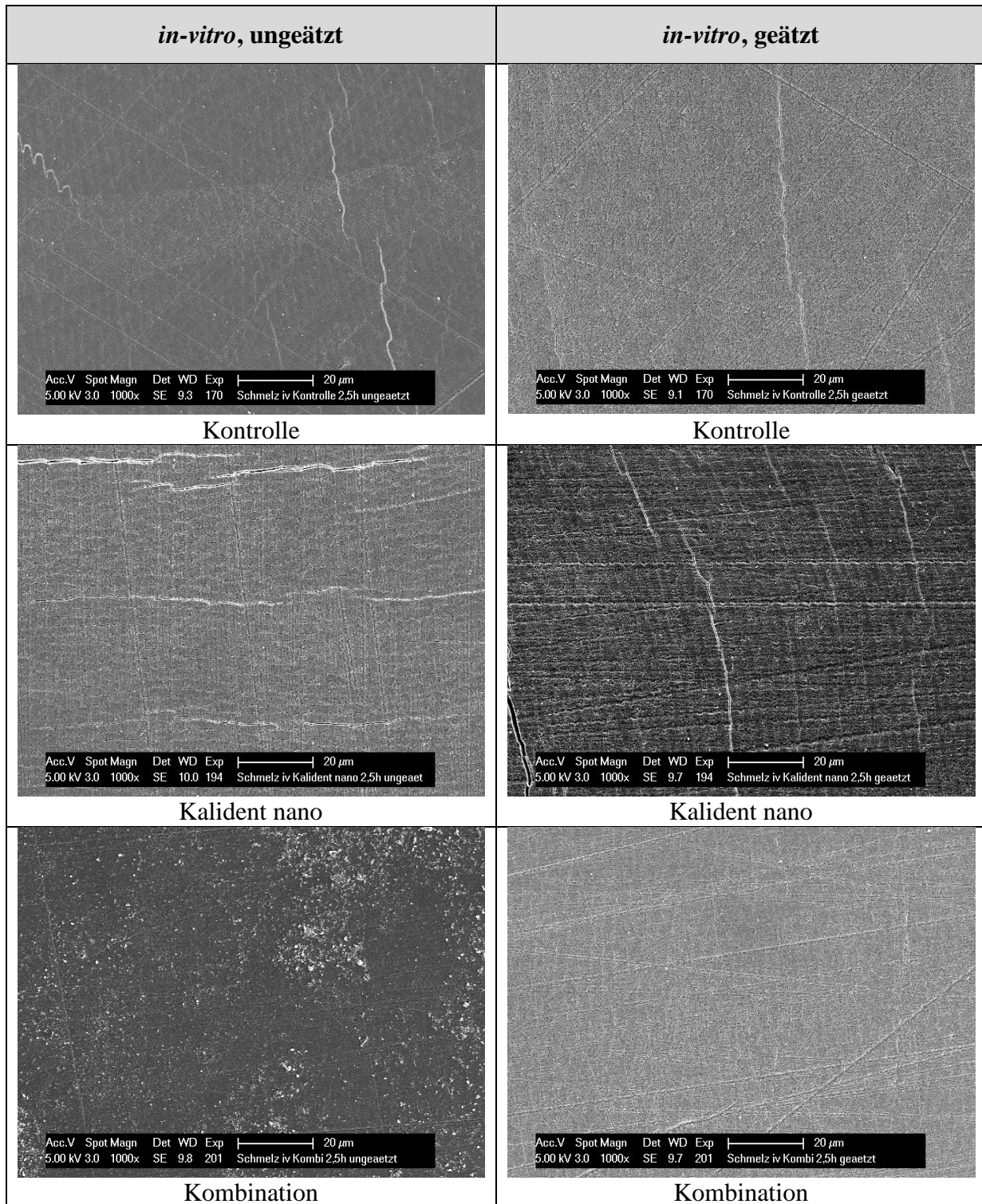


Abb. 4-17 REM-Aufnahmen (in 1.000-facher Vergrößerung) der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure

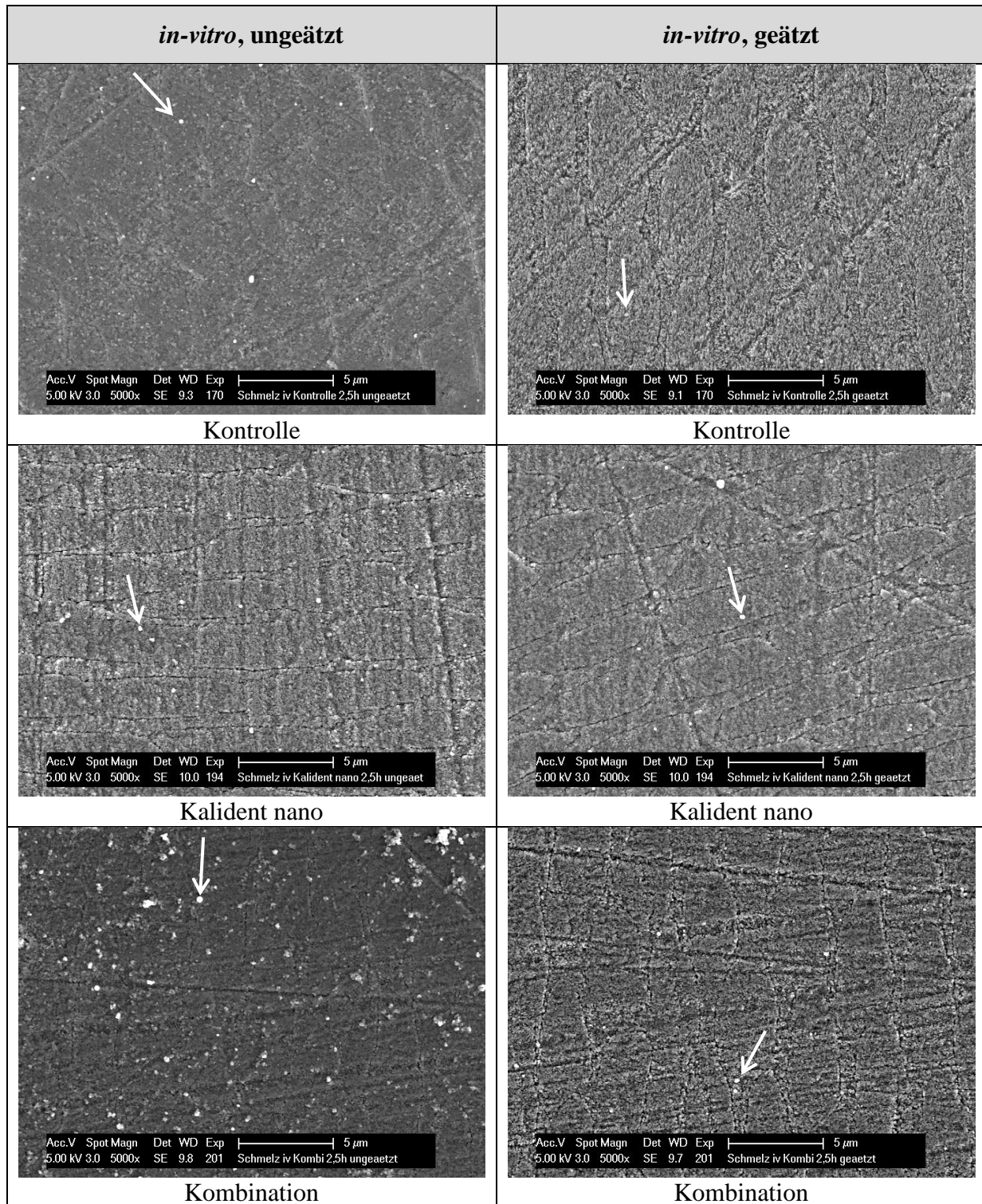


Abb. 4-18 REM-Aufnahmen (in 5.000-facher Vergrößerung) der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure

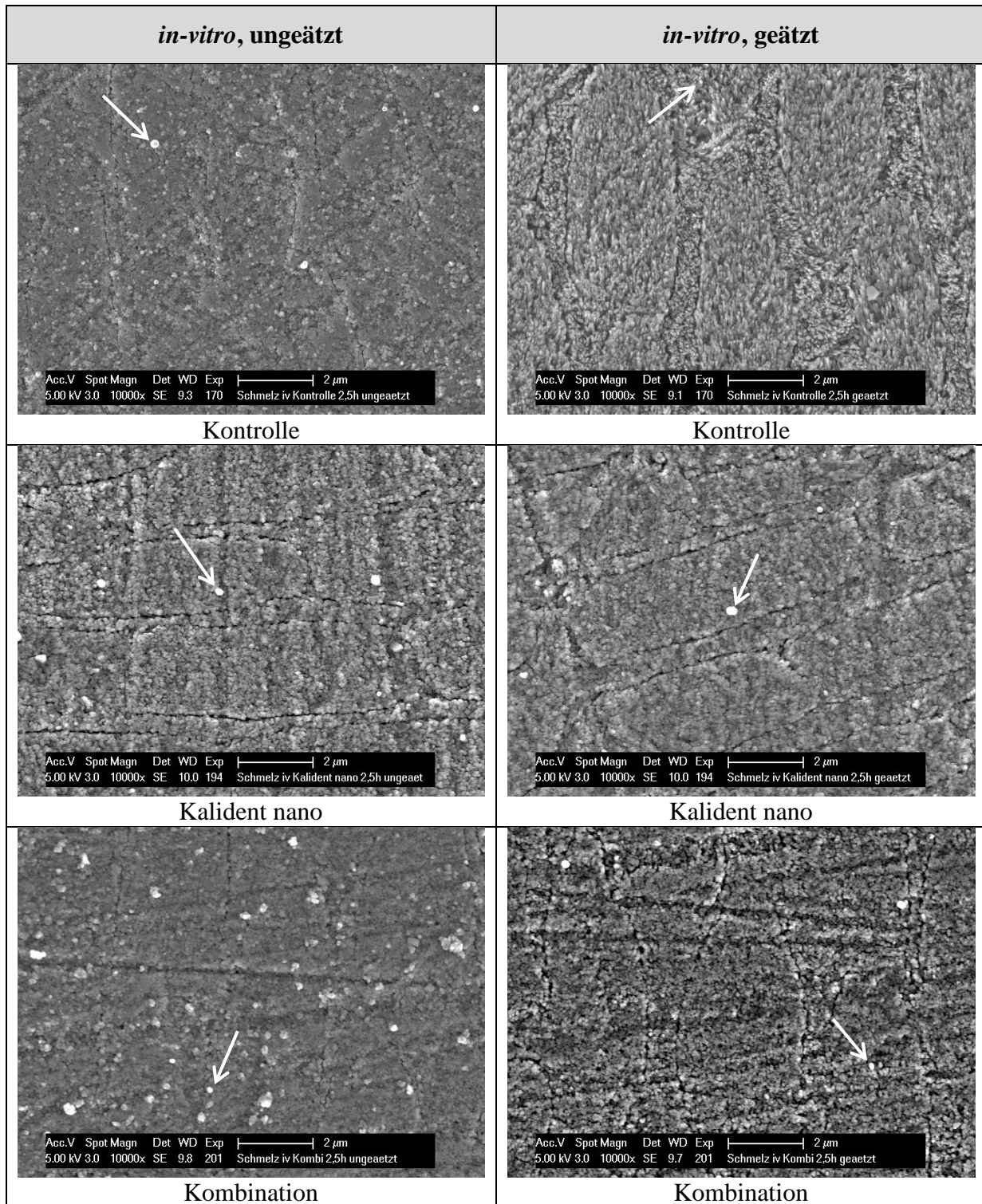


Abb. 4-19 REM-Aufnahmen (in 10.000-facher Vergrößerung) der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure

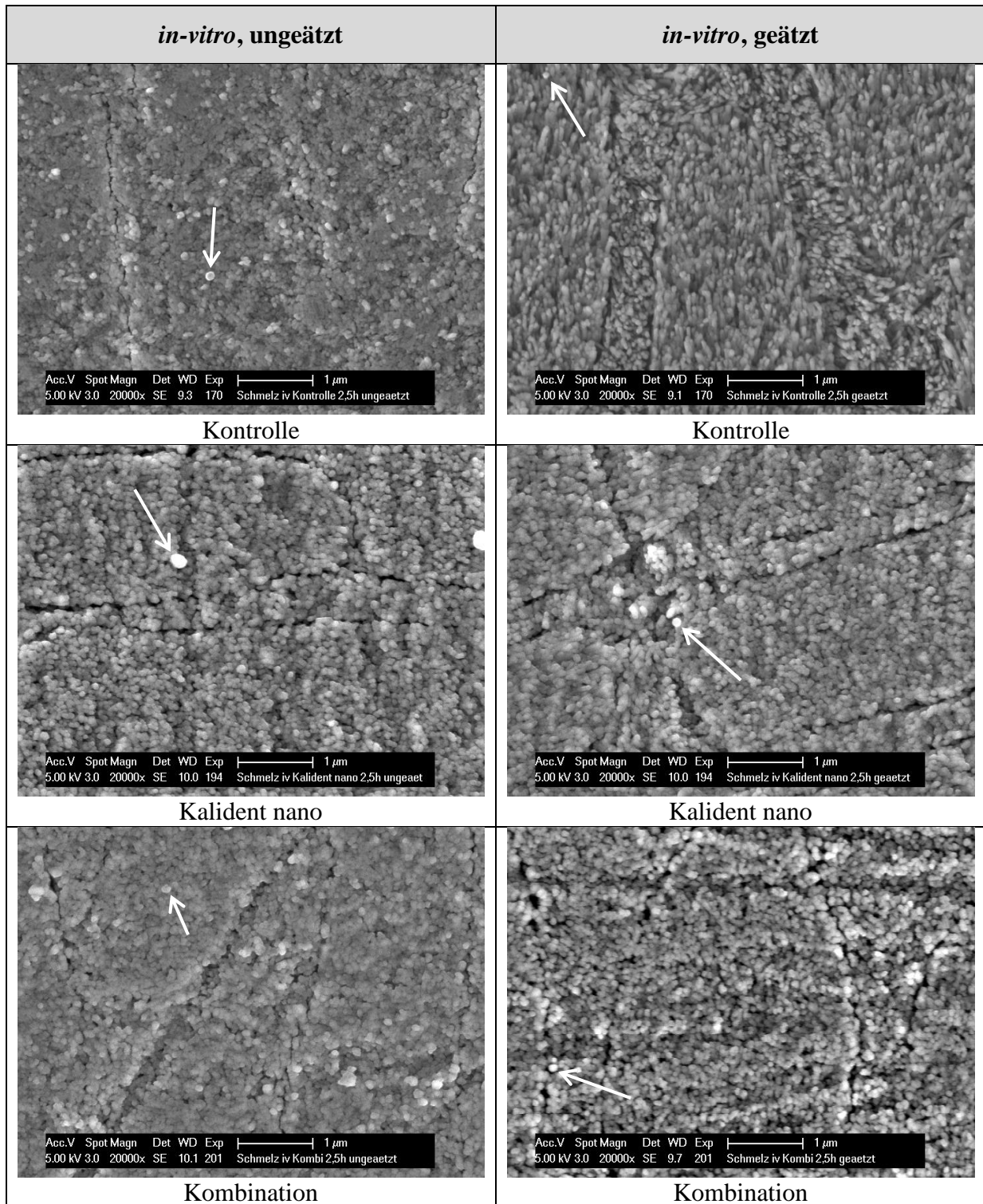


Abb. 4-20 REM-Aufnahmen (in 20.000-facher Vergrößerung) der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Die *in-vitro*-Schmelzprüfkörper wurden fünf Mal im Abstand von 30 min für 30 s in 1 ml der jeweiligen Suspension/Mundspüllösung in eine Well-Platte gelegt und die restliche Zeit in 1 ml sterilem Wasser aufbewahrt. Die *in-vitro*-Erosion der *in-vitro*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure

In Abb. 4-21, Abb. 4-22, Abb. 4-23, Abb. 4-24 und Abb. 4-25 sind die REM-Aufnahmen der ungeätzten und geätzten Seite des Probanden 2 aller Spüllösungen zur besseren Übersicht gegenübergestellt. Im Anhang folgen die Aufnahmen aller weiteren Probanden (Abb. 9-2, Abb. 9-3, Abb. 9-4, Abb. 9-5, Abb. 9-6, Abb. 9-7, Abb. 9-8, Abb. 9-9, Abb. 9-10, Abb. 9-11, Abb. 9-12, Abb. 9-13, Abb. 9-14, Abb. 9-15, Abb. 9-16). Auch bei Proband 2 sind teilweise kugelförmige Auflagerungen zu erkennen (siehe weiße Pfeile). Es erscheint auch hier die ungeätzte Oberfläche von Kalident nano eher „zerklüftet“ und ähnelt dadurch der geätzten Seite wie beim *in-vitro*-SPK.

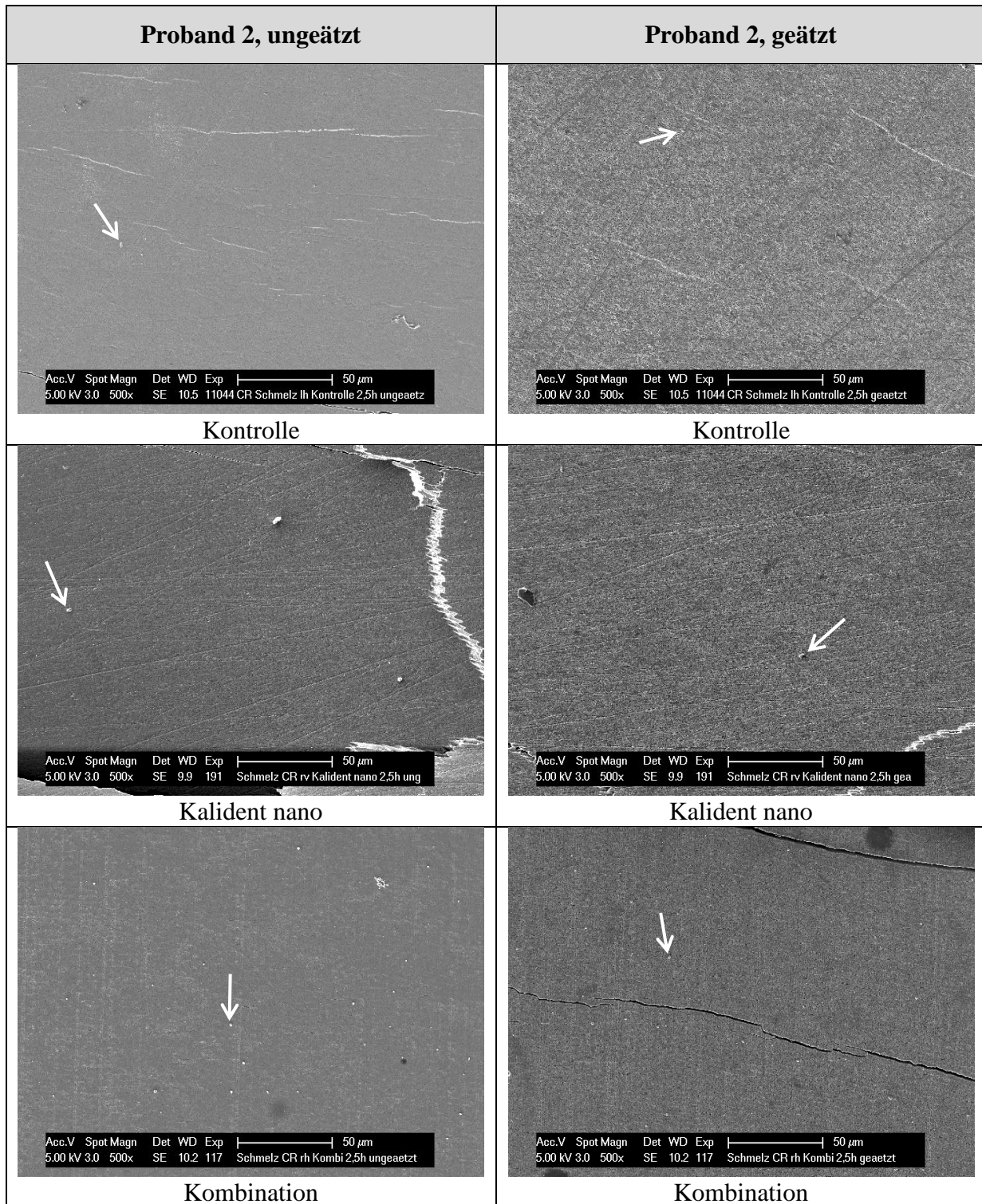


Abb. 4-21 REM-Aufnahmen (in 500-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 2 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

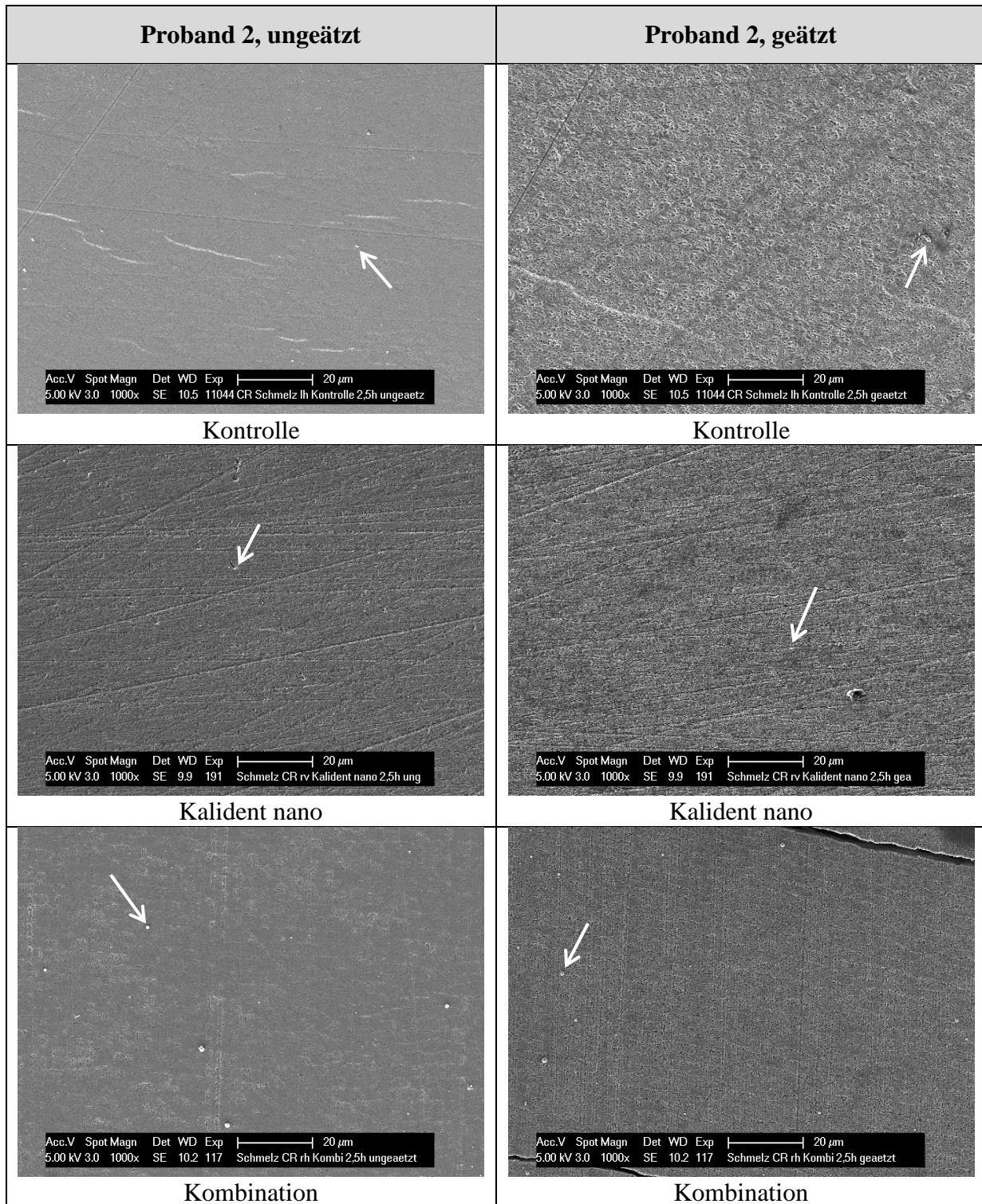


Abb. 4-22 REM-Aufnahmen (in 1.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 2 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

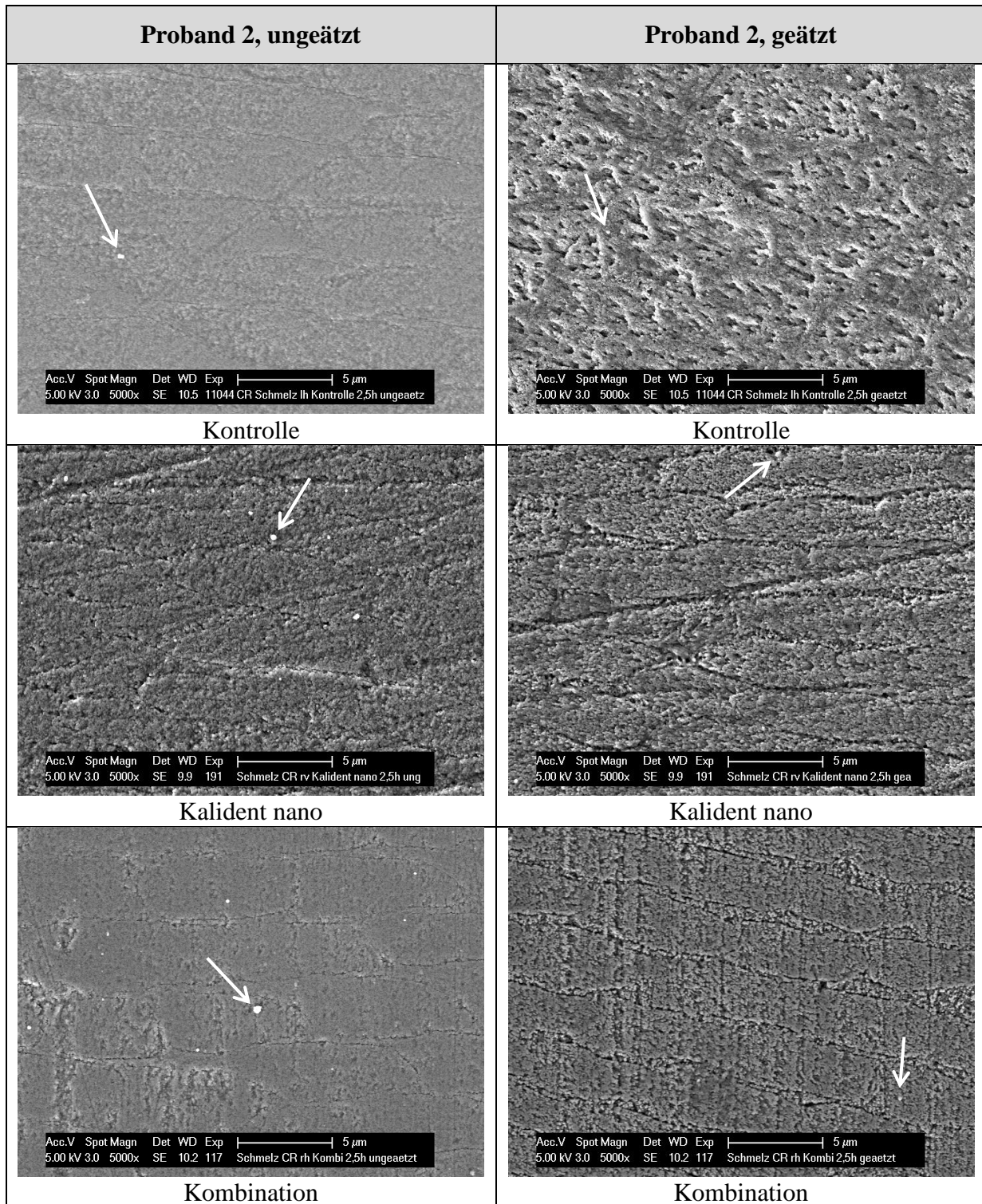


Abb. 4-23 REM-Aufnahmen (in 5.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 2 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

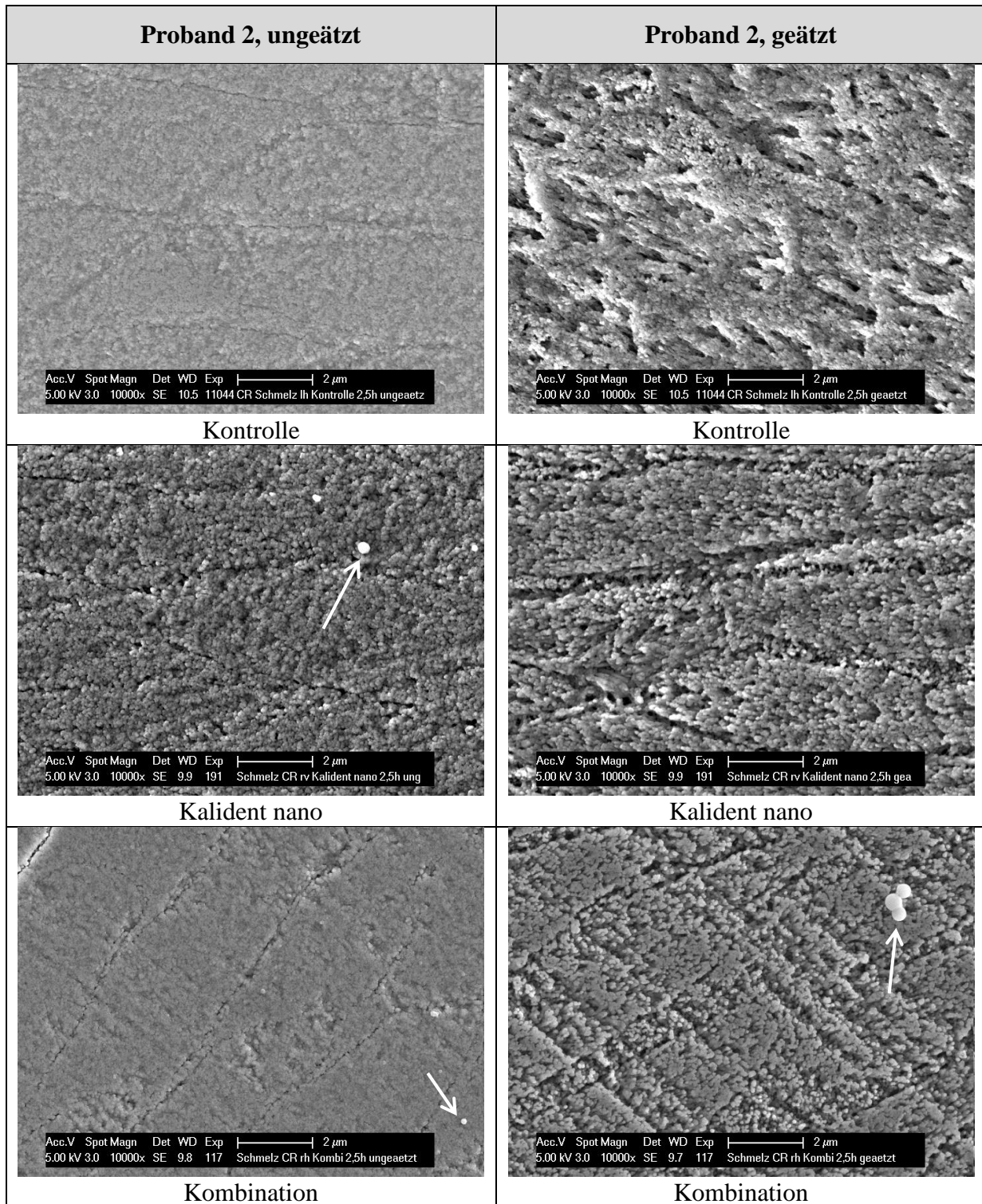


Abb. 4-24 REM-Aufnahmen (in 10.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 2 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

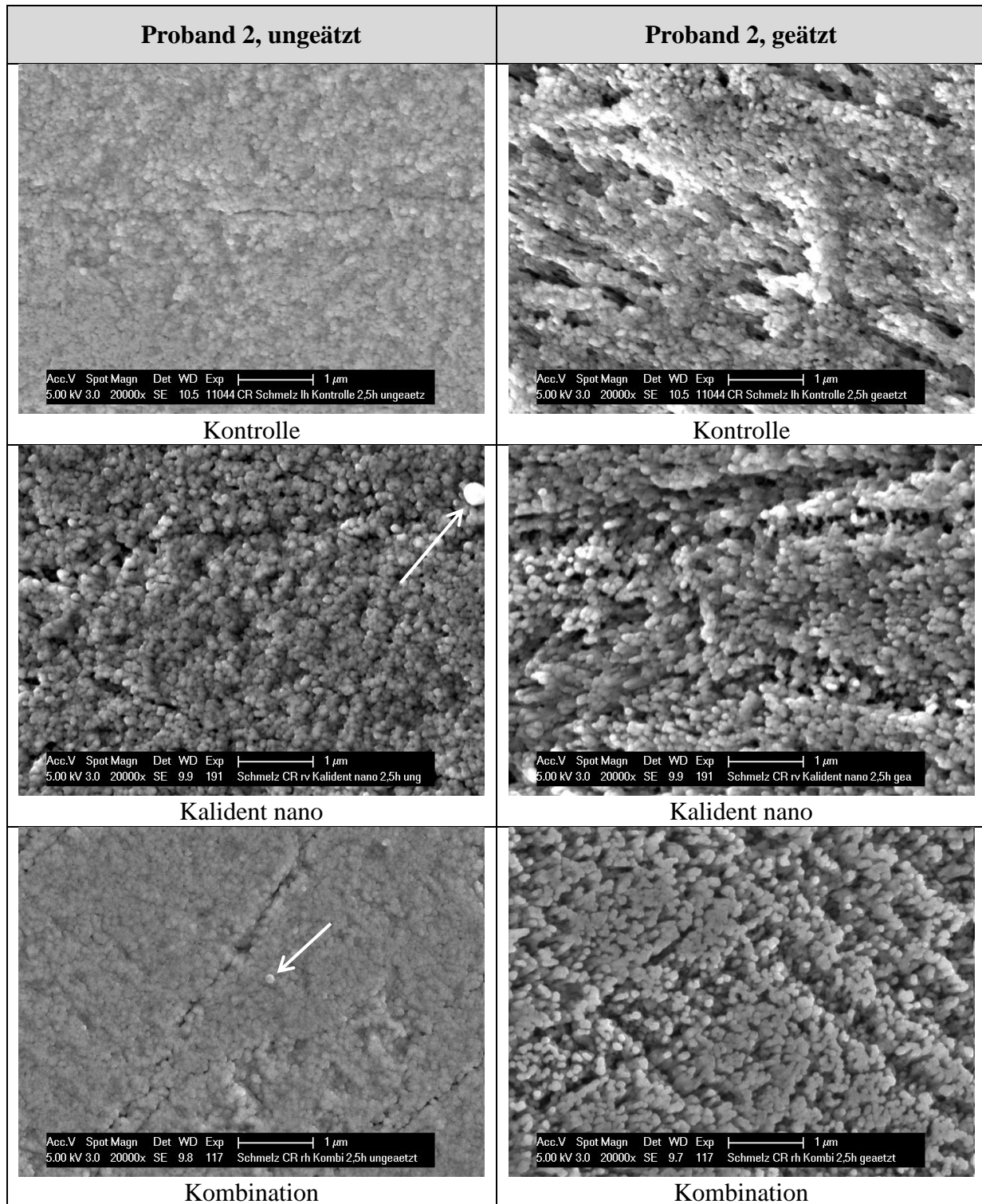


Abb. 4-25 REM-Aufnahmen (in 20.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 2 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

5 Diskussion

5.1 Kritische Betrachtung von Material und Methode

5.1.1 Fragestellung

In der vorliegenden Studie sollte getestet werden, ob apatithaltige Suspensionen einen positiven protektiven Effekt auf den Zahnschmelz bei erosivem Angriff haben. Zum einen wurde eine Suspension aus Wasser und Hydroxylapatit-Nanopartikeln und zum anderen eine Suspension aus Wasser und Hydroxylapatit-Nanopartikeln in Verbindung mit Tanninsäure, einem Polyphenol, untersucht. Vor allem die *in-situ*-Versuche sind hierbei interessant, um einen modifizierenden Effekt auf die Pellikel feststellen zu können. Die *in-vitro*-Versuche dienen als Kontrolle, wenn keine Pellikel als Schutz vorhanden ist.

Bereits in früheren Studien erfolgte die Untersuchung der Wirksamkeit der nicht modifizierten *in-situ*-Pellikel bezüglich der Reduzierung der Erosion. In einer Studie wurde festgestellt, dass der Schutz der Pellikel nicht durch die Art der Säure beeinflusst wird. Proben mit Pellikel zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Säuren. Im Gegensatz dazu zeigten Proben ohne Pellikel einen signifikant höheren Kalziumverlust durch Erosion mit Zitronensäure im Vergleich zu Salzsäure und Phosphorsäure (Wiegand et al., 2008). Die Pellikel bietet somit teilweisen Schutz gegenüber Säureangriffen, auch wenn sie nicht komplett die Demineralisation der Zahnhartsubstanzen verhindern kann (Cheung et al., 2005; Hannig and Hannig, 2014; Wiegand et al., 2008). Die Pellikel kann der Säureeinwirkung bis zu einem gewissen Grad widerstehen und schützt dadurch die darunter liegende Schmelzoberfläche vor erosiver Zerstörung (Hannig and Balz, 1999).

Interaktionen mit Speichelbestandteilen sowie mit der Pellikelschicht tragen wesentlich zur Wirkungsweise verschiedener Präventivmittel bei. Da die Pellikelschicht überall auf allen festen Oberflächen, die in der Mundhöhle exponiert sind, ist, interagieren zwangsläufig funktionelle Wirkstoffe zuerst mit den Pellikelkomponenten, bevor sie das Zahngewebe erreichen. Aufgrund der netzwerkartigen Struktur der Pellikel kann ebenfalls vermutet werden, dass Partikel an die Schmelzoberfläche diffundieren können (Kensche et al., 2016). Es stellt sich also die Frage, ob sich eine Modifikation der Pellikel als positiv erweisen kann.

Die Reparatur von demineralisierten Schmelzstrukturen könnte beispielsweise verbessert werden, wenn Apatitpartikel zugeführt werden. Diese sollten zur Größe der nanoskaligen De-

fekte passen und dem Maßstab der kleinsten Baueinheiten des Schmelzes, den Hydroxylapatit-Kristalliten, entsprechen. In einer Studie wurde die Wirksamkeit biomimetischer Apatit-Nanokristalle in einer Zahnpastazubereitung bereits *in-vitro* gezeigt, insbesondere zum Zweck der Remineralisierung und der Prävention von Demineralisation (Hannig et al., 2013a). Des Weiteren wurden *in-situ* eine verbesserte Schutzeigenschaft der Pellikel und Schmelzremine-ralisierung durch biomimetische Materialien nachgewiesen (Hannig and Hannig, 2012; Kenschke et al., 2016; Souza et al., 2015).

Auch Tanninsäure verbessert pH-abhängig signifikant die erosionsschützenden Eigenschaften der Pellikel. In früheren Studien wurde die Pellikel bereits mit Polyphenolen oder anderen Pflanzenextrakten modifiziert, um die protektiven Eigenschaften der Pellikel zu verstärken (Hertel et al., 2017; Joiner et al., 2006; Joiner et al., 2003). Die Spülung mit Tanninsäure führt zu einer nachhaltigen Modifikation der Pellikel, indem sie deutlich elektronendichter wird. Tanninsäure bietet somit ebenfalls einen effektiven und nachhaltigen Ansatz zur Prävention von Karies und Erosion (Hertel et al., 2017). Es hat sich gezeigt, dass die Bestandteile von schwarzem Tee und Rotwein eine tiefgreifende Wirkung auf die *in-vitro*-Pellikelreifung haben, indem sie den Aufbau verdickter Schichten gefärbten Materials bewirken, die sich nicht ohne weiteres entfernen lassen (Joiner et al., 2003). Außerdem wurde bereits nachgewiesen, dass Spülungen mit bestimmten polyphenolhaltigen Getränken zur Vorbeugung von Biofilm-induzierten Krankheiten in der Mundhöhle beitragen können (Hannig et al., 2009). Polyphenolhaltiger Zistrosentee beispielsweise kann verwendet werden, um die anfängliche bakterielle Anhaftung in der Mundhöhle zu verringern (Hannig et al., 2008). Auch Spülungen mit Tanninsäure führten zu einer starken sofortigen und lang anhaltenden antibakteriellen und antiadhärenten Wirkung (Schestakow and Hannig, 2020). Nicht nur auf Schmelz-, sondern auch auf Dentinoberflächen ist Tanninsäure ein vielversprechendes Anti-Biofilm-Mittel (Schestakow et al., 2021).

5.1.2 Vorbereitung der Schmelzprüfkörper und Trägerschienen

In dieser Studie wurden Rinderzähne zur Herstellung der SPK verwendet. Rinderschmelzmaterial wurde schon vorher aufgrund seiner hohen strukturellen Kompatibilität mit menschlichem Zahnhartgewebe und wegen der Knappheit an menschlichem Material verwendet (Hannig et al., 2004). Rinderzähne werden als hervorragender Ersatz für menschliche Zähne für die zahnmedizinische Forschung angesehen, jedoch sind die Schmelzmikrostrukturen von

Rinderschneidezähnen, die Anordnungen von Prismen und Interprismen und ihre räumlichen Beziehungen nicht gut beschrieben worden. Eine Studie zeigte im Vergleich zu humanem Schmelz zwei Hauptmerkmale der Mikrostruktur des Rinderschmelzes, nämlich eine komplizierte räumliche Beziehung zwischen Prismen und Interprismen und größere faserartige Schmelzkristalle (Wang et al., 2012). Menschlicher Zahnschmelz hat eine etwas geringere Dichte und eine geringere Vickershärte, weist aber einen etwas höheren Gehalt an Kalzium und Phosphor im Vergleich zum Rinderschmelz auf (Attin et al., 2007). Es wurde festgestellt, dass die erodierten Läsionen im permanenten Rinderschmelz doppelt bzw. dreimal so schnell voranschreiten wie im menschlichen Schmelz (Amaechi et al., 1999a; Featherstone and Mellberg, 1981). Diese Beobachtung ist nicht überraschend, da bekannt ist, dass Rinderschmelz ein poröseres Material mit größeren Kristallen ist als menschlicher Schmelz (Arends et al., 1989; Arends and Jongebloed, 1978). Des Weiteren waren in dieser Studie SPK einer Größe von 6x4 mm notwendig, wofür sich humane Zähne nicht eignen, da sie nach Parallelisierung und Politur zu klein wären.

Für eine genaue Beurteilung der Schmelzhärte sind flache, polierte Oberflächen notwendig (Schlueter et al., 2011). In dieser Studie wurde deshalb auf ein Schmelz-Dentin-Verhältnis von 2:1 und eine rechteckige Form mit parallelen Seiten geachtet. Des Weiteren wurden die SPK aufsteigend bis zu 4.000 Grit poliert und anhand eines Lichtmikroskops kontrolliert. Um individuelle Unterschiede der Prüfkörper zu umgehen und alle SPK vergleichbar zu machen, wurden vorab Mikrohärtemessungen durchgeführt und ungeeignete SPK, die keine durchschnittliche Härtewerte zwischen 300 HV und 400 HV aufwiesen, aussortiert.

Um eine eventuelle Kontamination und Dehydrierung der SPK während der Vorbereitung zu beseitigen, erfolgte die Reinigung und Rehydrierung der SPK.

Die Trägerschienen zur Befestigung der SPK können schnell, kostengünstig und ohne großen Aufwand individuell hergestellt und für jeden Probanden angepasst werden, was sich bereits in vorhergehenden Studien bewährt hat (Hannig et al., 2013a; Hannig et al., 2013b; Hannig et al., 2009; Hannig et al., 2004). Sie sind außerdem wiederverwendbar und werden durch die fehlende Gaumenbedeckung gut von den Probanden akzeptiert. Um einen Effekt der Pellikel darstellen zu können, wurden die SPK an der bukkalen Seite der Trägerschienen im Oberkiefer montiert, denn es wurde bereits festgestellt, dass die Pellikel an den palatinalen Flächen deutlich dünner ist als an den bukkalen Flächen der oberen Zähne (Amaechi et al., 1999b). Nach Anbringen der SPK mit dem Befestigungsmaterial lagerten die Trägerschienen 24 h in sterilem Wasser. Ziel war es, dass sich während der intraoralen Tragezeit keine Bestandteile

des Befestigungsmaterials freisetzen, welche die Pellikelbildung beeinflussen könnten. Denn es wurde festgestellt, dass Befestigungsmaterialien in frischem Zustand einen gewissen Grad an antibakterieller Aktivität zeigten, während die Aktivität nach dem Aushärten und der Lagerung stark vermindert, in einigen Fällen sogar völlig aufgehoben war (Ørstavik and Hensten-Pettersen, 1978).

5.1.3 Gewinnung der *in-situ* Prüfkörper

Die fünf Probanden, die an dieser Studie teilnahmen, wurden alle vorab auf ihre Gesundheit und Mundgesundheit überprüft, waren Nichtraucher und nahmen keine Medikamente ein, um etwaige individuelle Faktoren, die sich auf die Studie auswirken könnten, auszuschließen. Bei einer Probandin konnte Kariesaktivität festgestellt werden, weshalb diese vorab von der Studie ausgeschlossen wurde.

Da die Tragerunden mit den verschiedenen Suspensionen/Mundspüllösungen an unterschiedlichen Tagen im Abstand von mindestens 24 h durchgeführt wurden, konnte verhindert werden, dass sich die vorherige Suspension/Mundspüllösung auf die Pellikel auswirkte. Die Probanden veränderten grundsätzlich nichts an ihren Ernährungsgewohnheiten und putzten morgens die Zähne mit ihren gewöhnlich verwendeten Zahnpasten, um möglichst unbeeinflusste Ergebnisse zu erhalten. Um auch letzte Zahnpastareste zu entfernen, wurden die Zähne 30 min vor Versuchsbeginn nochmal mit Wasser geputzt. Da unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten oder jegliche Nahrungs- oder Getränkebestandteile die Mundgesundheit und Pellikelbildung beeinflussen kann, nahmen die Probanden während der Tragezeit weder Nahrung noch andere Getränke als stilles Wasser zu sich (Linkosalo and Markkanen, 1985; Moynihan and Petersen, 2004; Smits et al., 2020; Vacca Smith and Bowen, 2000; Yong, 2017).

Es wurde sich für eine anfängliche Tragezeit von 3 min zur initialen Biofilmbildung vor der ersten Spülung entschieden, da die Pellikel in 2-3 min die initiale Dicke erreicht, welche so für ca. 30 min bleibt. Erst danach erhöht sich die Dicke der Pellikel um das ca. Dreifache auf ca. 100-1000 nm und erreicht ihr Plateau nach 30-90 min (Hannig and Joiner, 2006).

Die Spüldauer von 30 s stellt einen Zeitraum dar, der realistisch und alltagstauglich ist.

Nach Ende der Tragezeit wurden die SPK umgehend aus dem Mund und von den Schienen entfernt und nach kurzer Vorbereitung halbseitig geätzt. Es wurde 1 µl 1%ige Zitronensäure verwendet, die 3 min lang auf dem SPK verblieb und danach abgespült wurde. In einer Studie wurde gezeigt, dass Getränke mit Zitronensäure einen größeren erosiven Effekt auf Zahn-

schmelz hat als Getränke, die Apfelsäure beinhalten (Meurman et al., 1990). Da Zitronensäure in vielen Getränken und Lebensmitteln enthalten ist, ist die Anwendung von Zitronensäure bei den Experimenten in dieser Studie nahe der Realität.

Zum Ablösen der Pellikel wurde eine Methode angewendet, die zwei Pufferlösungen (Triton-X-100-Pufferlösung und RIPA-Pufferlösung) zu Hilfe nahm. Diese Methode wurde bei allen *in-situ*-SPK angewendet. In der Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung zeigte sich, dass die Pellikel nicht von allen SPK komplett entfernt wurde. Dies deutete sich bereits bei der Auswertung der Messungen der Rauheit an. Um den Effekt der Suspensionen auf die reine Schmelzoberfläche darzustellen, sollte also auf ein anderes Verfahren zum Ablösen der Pellikel zurückgegriffen werden.

5.1.4 *In-vitro*-Prüfkörper

Um einen Vergleich zwischen *in-situ* und *in-vitro* ziehen zu können, wurden *in-vitro*-Prüfkörper ohne die natürliche Pellikel mit den gleichen Versuchsbedingungen behandelt. Dadurch konnte der Effekt der Säure auf den Schmelz ohne die schützende Pellikel dargestellt werden.

5.1.5 Untersuchungsmethoden

Die Profilometrie ist die am häufigsten angewandte quantitative Methode zur Untersuchung von Schmelz und Dentin in *in-vitro*-, *in-situ*- und auch in klinischen Modellen, gefolgt von der quantitativen Methode zur Bewertung der Oberflächenhärte von Zahnschmelz. Die Rasterelektronenmikroskopie (REM) ist die am häufigsten angewandte Methode zur qualitativen Untersuchung der Erosion (Schlueter et al., 2011).

In dieser Studie wurden eben diese quantitativen und qualitativen Methoden angewandt.

Die Oberflächenprofilometrie quantifiziert den Verlust von Zahngewebe im Verhältnis zu einer unbehandelten Referenzfläche und liefert Informationen über die Oberflächenrauheit (Field et al., 2010). Rauheitsmessungen scheinen jedoch nur für frühe Stadien der Erosion nützlich zu sein (Schlueter et al., 2011).

Es erfolgte die Profilometrie bzw. Messung der Oberflächenrauheit über das Scannen der Oberfläche und Erfassen aller Unebenheiten. Hierbei zeigte sich, dass diese Methode für die Anwendung von Mundspüllösungen mit Hydroxylapatit-Nanopartikeln wenig aussagekräftig

ist. Eine Einlagerung von Nanopartikeln ist erwünscht, lässt allerdings die Oberfläche rauher erscheinen, was sonst als ein erhöhter Säureangriff gedeutet wird.

Des Weiteren wurde die Mikrohärtigkeit zum Vergleich der ungeätzten und geätzten Seite der SPK gemessen. Die Kosten für die Mikrohärtigkeit-Analyse sind relativ gering und es ist eine einfache Methode, um genaue Informationen über frühe Erosion zu erhalten (Schlueter et al., 2011).

Die Rasterelektronenmikroskopie hat sich als unverzichtbar erwiesen, um ultrastrukturelle Veränderungen im Zusammenhang mit Erosion sowohl im Schmelz als auch im Dentin zu untersuchen (Schlueter et al., 2011). Die Rasterelektronenmikroskopie war eine der ersten Techniken, die zur Messung der *in-vitro*-Resorption von Zahnhartsubstanz verwendet wurde und sie wird auch heute noch häufig eingesetzt, so auch in dieser Studie. Rasterelektronenmikroskop-Bilder haben eine große Schärfentiefe, können daher hochauflösende 3-D-Bilder liefern und qualitativ ausgewertet werden. Für die konventionelle Rasterelektronenmikroskopie muss die Oberfläche mit einem elektrisch leitfähigen Material beschichtet werden, um die Ansammlung elektrostatischer Ladung zu verhindern, was die Proben während des Austrocknungs- und Sputterprozesses zweifellos irreversibel verändert (Field et al., 2010). Die in dieser Studie verwendeten SPK wurden deshalb nach der Vorbereitung für das Rasterelektronenmikroskop nicht mehr für die Auswertung mit anderen Methoden verwendet.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Messung der Rauheit

In dieser Studie wurde experimentell festgestellt, dass die Rauheit bei allen Prüfkörpern, sowohl *in-vitro* als auch *in-situ*, nach Säureexposition zunahm. Außerdem zeigten sich insgesamt die *in-vitro*-SPK deutlich rauher als die *in-situ*-SPK. Hier werden die grundsätzlich schützenden Eigenschaften der Pellikel deutlich, wie schon vielfach in der Literatur beschrieben (Carpenter et al., 2014; Featherstone and Lussi, 2006; Hannig and Balz, 1999; Hannig et al., 2004; Hara and Zero, 2014; Lussi, 2009; Zero and Lussi, 2005). In einer vorhergehenden Studie konnte bereits festgestellt werden, dass eine experimentell gebildete Pellikelschicht die Schmelzoberfläche vor Erosion durch niedrig konzentrierte Zitronensäure und in den Anfangsstadien auch bei der Erosion durch konzentriertere Lösungen schützte. Bei 0,1%iger Säure wurde ein signifikanter Schutz der Schmelzoberfläche festgestellt. Auch konnte bei

Proben, die kurz in 1%ige Zitronensäure getaucht wurden, ein pellicelbedingter Schutz nachgewiesen werden (Nekrashevych et al., 2004).

In dieser Studie wurden die geringsten Werte bei der Spülung mit der Kontrolle (Wasser) festgestellt, die höchsten Werte bei Spülung mit der Kombination. Dies deutet darauf hin, dass die Spülungen mit Kalident nano und der Kombination keinen schützenden Effekt auf die Schmelzoberfläche haben. Allerdings wurden rasterelektronenmikroskopisch bei Spülung mit Kalident nano und der Kombination Auflagerungen beobachtet, wobei es sich um verbliebene Hydroxylapatitpartikel handeln könnte. Diese würden wiederum die Werte der Rauheit negativ beeinflussen, selbst wenn sie sich positiv auf die Schmelzregeneration auswirken würden. Es zeigten sich auch teilweise große Unterschiede zwischen den verschiedenen Probanden. Das kann zum einen auf unterschiedliche Auflagerungen auf den SPK zurückgeführt werden und zum anderen auf interindividuelle Unterschiede der Probanden hinweisen, welche durch unterschiedliche Speichelzusammensetzungen oder -flussrate erklärt werden kann (Jager et al., 2011; Jensdottir et al., 2005). Vor allem die Werte *in-vitro* für Kalident nano waren im Vergleich zu allen anderen Werten deutlich erhöht. Hier könnte es an der Methodik liegen, da die *in-vitro*- nicht wie die *in-situ*-SPK nachbehandelt wurden. Bei den *in-situ*-SPK erfolgte die Entfernung der Pellicel nach Säureexposition, wodurch eventuell auch ein vermehrtes Ablösen von Hydroxylapatitpartikeln stattfand. Die *in-vitro*-SPK wurden lediglich mit Wasser abgesprüht, was ein vermehrtes Verbleiben der Hydroxylapatitpartikel auf den SPK erklären würde.

Abschließend lässt sich feststellen, dass die Ergebnisse der Messungen der Rauheit der Schmelzoberfläche nicht aussagekräftig sind.

5.2.2 Messung der Mikrohärtigkeit

Bei den Mikrohärtigemessungen in dieser Studie zeigte sich, dass die Messwerte nach Säureexposition bei allen SPK unabhängig von der Spüllösung/Suspension abnahmen. Alle Ergebnisse für den ungeätzten Bereich unterschieden sich jedoch wenig, genauso wie alle Ergebnisse für den geätzten Bereich. *In-vitro* waren die Ergebnisse für den ungeätzten und geätzten Bereich bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser) geringfügig niedriger als *in-situ*, bei Spülung mit Kalident nano waren sie im ungeätzten Bereich geringfügig niedriger, im geätzten Bereich geringfügig höher und bei Spülung mit der Kombination waren die Ergebnisse ungeätzt und geätzt geringfügig höher als *in-situ*. Des Weiteren wurden keine großen Unterschiede zwi-

schen den Probanden festgestellt. Eine Studie wies bei Mikrohärtmessungen positive Effekte von Suspensionen mit Hydroxylapatit, auch bzw. v. a. in Kombination mit dem pflanzlichen Gallen-Sumach, nach (Huang et al., 2010). In einer anderen Studie wurde jedoch festgestellt, dass die Behandlung mit Nano-HA keine signifikanten Unterschiede bei der Schmelzhärte ergab und die verwendeten Nano-HA-Zahnpasten nicht in der Lage waren, die Demineralisierung des Zahnschmelzes zu reduzieren (Comar et al., 2013). Eine weitere Studie bestätigt diese Ergebnisse. Die Positivkontrolle mit einer Lösung mit 1000 ppm Natriumfluorid zeigte die höchste Wirksamkeit bei der Verbesserung der Remineralisierung, während der geringste Remineralisierungseffekt bei der Negativkontrolle und der Suspension mit Nanohydroxylapatitpartikeln festgestellt wurde (Huang et al., 2010).

Auch in dieser Studie kann der gewünschte positive, protektive Effekt der Anwendung von Suspensionen mit Hydroxylapatitpartikeln in Bezug auf die Mikrohärt nicht nachgewiesen werden.

5.2.3 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Bei den quantitativen Methoden der Messung der Rauheit und der Mikrohärt konnte kein positiver Effekt der getesteten Suspensionen nachgewiesen werden. Die zusätzliche Auswertung der qualitativen rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung könnte jedoch trotzdem auf einen protektiven Effekt hinweisen.

Bereits früher wurde die protektive Wirkung der Pellikel auf die Schmelzoberfläche im Rasterelektronenmikroskop festgestellt (Cheung et al., 2005; Meurman and Frank, 1991). Auch andere Untersuchungsmethoden führten zu dieser Feststellung (Hara et al., 2006).

In der vorliegenden Studie ist der Säureexpositionspunkt nicht bei allen Prüfkörpern in der Übersicht gut sichtbar. Außerdem fallen bei verschiedenen SPK die starken Risse bei unterschiedlichen Suspensionen/Mundspüllösungen auf. Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen sind sehr unterschiedlich, was es sehr schwierig macht sie zu vergleichen.

In den REM-Aufnahmen sieht die geätzte Oberfläche grundsätzlich durch die Demineralisation „ausgefranst“ aus. Die Oberfläche ist im ungeätzten Bereich weitestgehend unversehrt außer bei der Spülung mit Kalident nano. Sowohl *in-vitro* als auch *in-situ* erscheint nicht nur der geätzte, sondern auch der ungeätzte Bereich zerklüftet.

Auf verschiedenen Prüfkörpern sind kleine, vermehrt kugelförmige Auflagerungen sichtbar,

wobei sie im geätzten Bereich weniger zahlreich sind als im ungeätzten. In einer Studie, die Zahnpasten mit Hydroxylapatit nach der Demineralisation des Schmelzes verwendeten, wurden bei der rasterelektronenmikroskopischen Analyse ebenfalls Auflagerungen beschrieben, die als Schutzschicht fungieren und die Remineralisation fördern (Gjorgievska et al., 2013). Sinnvollerweise sollten die hier getesteten Suspensionen zusätzlich bei Anwendung nach Säureätzung untersucht werden.

5.3 Schlussfolgerungen

Es kann geschlussfolgert werden, dass die innerhalb von 2,5 h *in-situ* gebildete Pellikel einen Schutz des Zahnschmelzes gegen die Erosion durch Zitronensäure bietet. Unter den Versuchsbedingungen dieser Studie hemmt die Pellikel die erosive Wirkung der Zitronensäure jedoch nicht vollständig.

Die Modifikation der Pellikel durch Spülungen mit Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure zeigt keinen klaren erosionsprotektiven Effekt gegenüber der Kontrollspülung (Wasser), außerdem zeigen sich keine einheitlichen Ergebnisse der Rauheit und Mikrohärtigkeit.

Um aussagekräftigere Ergebnisse zu erzielen, sind weitere Studien erforderlich mit Adaptation der Untersuchungsmethoden. Die Methodik der Messung der Oberflächenrauheit, die für Mundspüllösungen geeignet ist, scheint für Suspensionen mit Hydroxylapatitpartikeln eher ungeeignet zu sein. Ebenfalls scheint die Ablösung der Pellikel nicht komplett zielführend gewesen zu sein und muss kritisch betrachtet werden, da in der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung noch Ablagerungen zu erkennen waren.

Weitere Studien sind also nötig, um die erosionsprotektive Wirkung apatithaltiger Suspensionen auf Zahnschmelz zu verifizieren.

6 Literaturverzeichnis

1. Abdullah AZ, Ireland AJ, Sandy JR, Barbour ME (2012) A Nanomechanical Investigation of Three Putative Anti-Erosion Agents: Remineralisation and Protection against Demineralisation. *Int J Dent* 2012:768126
2. Addy M, Shellis RP (2006) Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci* 20:17-31
3. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM (1999a) Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil* 26:624-630
4. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A (1999b) Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res* 78:1821-1828
5. Arends J, Christoffersen J, Ruben J, Jongebloed WL (1989) Remineralization of bovine dentine in vitro. The influence of the F content in solution on mineral distribution. *Caries Res* 23:309-314
6. Arends J, Jongebloed WL (1978) Crystallites dimensions of enamel. *J Biol Buccale* 6:161-171
7. Attin T, Deifuss H, Hellwig E (1999) Influence of acidified fluoride gel on abrasion resistance of eroded enamel. *Caries Res* 33:135-139
8. Attin T, Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A (2007) The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel: Erosion-abrasion experiments. *J Dent* 35:773-777
9. Barbour ME, Lussi A (2014) Erosion in relation to nutrition and the environment. *Monogr Oral Sci* 25:143-154
10. 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. *Eur J Oral Sci* 116:473-478
11. Baumann T, Kozik J, Lussi A, Carvalho TS (2016) Erosion protection conferred by whole human saliva, dialysed saliva, and artificial saliva. *Sci Rep* 6:34760
12. Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT (2012) Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci*

20:493-502

13. Carpenter G, Cotroneo E, Moazzez R, Rojas-Serrano M, Donaldson N, Austin R, et al. (2014) Composition of enamel pellicle from dental erosion patients. *Caries Res* 48:361-367
14. Carvalho TS, Schmid TM, Baumann T, Lussi A (2017) Erosive effect of different dietary substances on deciduous and permanent teeth. *Clin Oral Investig* 21:1519-1526
15. Cheaib Z, Lussi A (2011) Impact of acquired enamel pellicle modification on initial dental erosion. *Caries Res* 45:107-112
16. 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. *Aust Dent J* 50:228-234
17. Comar LP, Souza BM, Gracindo LF, Buzalaf MA, Magalhaes AC (2013) Impact of experimental nano-HAP pastes on bovine enamel and dentin submitted to a pH cycling model. *Braz Dent J* 24:273-278
18. Dawes C (2008) Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc* 139 Suppl:18S-24S
19. Ebadifar A, Nomani M, Fatemi SA (2017) Effect of nano-hydroxyapatite toothpaste on microhardness of artificial carious lesions created on extracted teeth. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 11:14-17
20. Eccles JD (1982) Tooth surface loss from abrasion, attrition and erosion. *Dent Update* 9:373-374, 376-378, 380-371
21. Eisenburger M, Shellis RP, Addy M (2004) Scanning electron microscopy of softened enamel. *Caries Res* 38:67-74
22. Featherstone JD, Lussi A (2006) Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci* 20:66-76
23. Featherstone JD, Mellberg JR (1981) Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 15:109-114
24. Field J, Waterhouse P, German M (2010) Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues in vitro. *J Dent* 38:182-190
25. Gjorgievska ES, Nicholson JW, Slipper IJ, Stevanovic MM (2013) Remineralization of demineralized enamel by toothpastes: a scanning electron microscopy, energy dispersive X-ray analysis, and three-dimensional stereo-micrographic study. *Microsc Microanal* 19:587-

595

26. Guare RO, Ferreira MC, Leite MF, Rodrigues JA, Lussi A, Santos MT (2012) Dental erosion and salivary flow rate in cerebral palsy individuals with gastroesophageal reflux. *J Oral Pathol Med* 41:367-371
27. Hannig C, Basche S, Burghardt T, Al-Ahmad A, Hannig M (2013a) Influence of a mouthwash containing hydroxyapatite microclusters on bacterial adherence in situ. *Clin Oral Investig* 17:805-814
28. Hannig C, Gaeding A, Basche S, Richter G, Helbig R, Hannig M (2013b) Effect of conventional mouthrinses on initial bioadhesion to enamel and dentin in situ. *Caries Res* 47:150-161
29. Hannig C, Sorg J, Spitzmuller B, Hannig M, Al-Ahmad A (2009) Polyphenolic beverages reduce initial bacterial adherence to enamel in situ. *J Dent* 37:560-566
30. 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. *J Dent* 36:540-545
31. Hannig M, Balz M (1999) Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res* 33:372-379
32. Hannig M, Fiebiger M, Guntzer M, Dobert A, Zimehl R, Nekrashevych Y (2004) Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch Oral Biol* 49:903-910
33. Hannig M, Hannig C (2007) Der initiale orale Biofilm – pathogen oder protektiv? *Oralprophylaxe* 29
34. Hannig M, Hannig C (2010) Nanomaterials in preventive dentistry. *Nat Nanotechnol* 5:565-569
35. Hannig M, Hannig C (2012) Nanotechnology and its role in caries therapy. *Adv Dent Res* 24:53-57
36. Hannig M, Hannig C (2014) The pellicle and erosion. *Monogr Oral Sci* 25:206-214
37. Hannig M, Joiner A (2006) The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci* 19:29-64
38. 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. *J Dent Res* 85:612-616

39. Hara AT, Zero DT (2014) The potential of saliva in protecting against dental erosion. *Monogr Oral Sci* 25:197-205
40. Hay DI (1973) The interaction of human parotid salivary proteins with hydroxyapatite. *Arch Oral Biol* 18:1517-1529
41. Hellwig E, Klimek J, Attin T (2013) Einführung in die Zahnerhaltung.3-8
42. 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 Res* 51:34-45
43. Holbrook WP, Furuholm J, Gudmundsson K, Theodors A, Meurman JH (2009) Gastric reflux is a significant causative factor of tooth erosion. *J Dent Res* 88:422-426
44. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H (2010) Combined effects of nano-hydroxyapatite and *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel lesion in vitro. *J Dent* 38:811-819
45. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H (2011) Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res* 45:460-468
46. Huang SB, Gao SS, Yu HY (2009) Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater* 4:034104
47. Imfeld T (1996) Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci* 104:151-155
48. Jaeggi T, Lussi A (1999) Toothbrush abrasion of erosively altered enamel after intraoral exposure to saliva: an in situ study. *Caries Res* 33:455-461
49. Jager DH, Vieira AM, Ligtenberg AJ, Bronkhorst E, Huysmans MC, Vissink A (2011) Effect of salivary factors on the susceptibility of hydroxyapatite to early erosion. *Caries Res* 45:532-537
50. Jensdottir T, Holbrook P, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A (2006) Immediate erosive potential of cola drinks and orange juices. *J Dent Res* 85:226-230
51. Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A (2005) Effects of sucking acidic candy on whole-mouth saliva composition. *Caries Res* 39:468-474
52. Joiner A, Elofsson UM, Arnebrant T (2006) Adsorption of chlorhexidine and black tea onto in vitro salivary pellicles, as studied by ellipsometry. *Eur J Oral Sci* 114:337-342
53. 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. *Eur J Oral Sci* 111:417-422

54. Kanzow P, Wegehaupt F, Attin T, Wiegand A (2016) Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence Int* 47:275-278

55. Kensche A, Potschke S, Hannig C, Richter G, Hoth-Hannig W, Hannig M (2016) Influence of Calcium Phosphate and Apatite Containing Products on Enamel Erosion. *ScientificWorldJournal* 2016:7959273

56. Kutsch VK (2014) Dental caries: an updated medical model of risk assessment. *J Prosthet Dent* 111:280-285

57. Lehmann KM, Hellwig E, Wenz H-J (2012) Zahnärztliche Propädeutik : Einführung in die Zahnheilkunde ; mit 32 Tabellen.39-42

58. Lelli M, Putignano A, Marchetti M, Foltran I, Mangani F, Procaccini M, et al. (2014) Remineralization and repair of enamel surface by biomimetic Zn-carbonate hydroxyapatite containing toothpaste: a comparative in vivo study. *Front Physiol* 5:333

59. Linkosalo E, Markkanen H (1985) Dental erosions in relation to lactovegetarian diet. *Scand J Dent Res* 93:436-441

60. Lussi A (2009) Dental erosion--novel remineralizing agents in prevention or repair. *Adv Dent Res* 21:13-16

61. Lussi A, Jaeggi T (2008) Erosion--diagnosis and risk factors. *Clin Oral Investig* 12 Suppl 1:S5-13

62. Lussi A, Jaeggi T, Zero D (2004) The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res* 38 Suppl 1:34-44

63. Lussi A, Megert B, Shellis RP, Wang X (2012) Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. *Br J Nutr* 107:252-262

64. Meurman JH, Frank RM (1991) Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res* 25:1-6

65. Meurman JH, Harkonen M, Naveri H, Koskinen J, Torkko H, Rytomaa I, et al. (1990) Experimental sports drinks with minimal dental erosion effect. *Scand J Dent Res* 98:120-128

66. Meurman JH, ten Cate JM (1996) Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci* 104:199-206

67. Min JH, Kwon HK, Kim BI (2015) Prevention of dental erosion of a sports drink by nano-sized hydroxyapatite in situ study. *Int J Paediatr Dent* 25:61-69
68. Moazzez R, Bartlett D (2014) Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci* 25:180-196
69. Moynihan P, Petersen PE (2004) Diet, nutrition and the prevention of dental diseases. *Public Health Nutr* 7:201-226
70. 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 Prev Dent* 2:5-11
71. Noble WH, Donovan TE, Geissberger M (2011) Sports drinks and dental erosion. *J Calif Dent Assoc* 39:233-238
72. Ørstavik D, Hensten-Pettersen A (1978) Clinical and Materials Sciences:Antibacterial Activity of Tooth-Colored Dental Restorative Materials. *Journal of Dental Research* 57:171-174
73. Parry J, Shaw L, Arnaud MJ, Smith AJ (2001) Investigation of mineral waters and soft drinks in relation to dental erosion. *J Oral Rehabil* 28:766-772
74. Poggio C, Gulino C, Mirando M, Colombo M, Pietrocola G (2017) Protective effect of zinc-hydroxyapatite toothpastes on enamel erosion: An in vitro study. *J Clin Exp Dent* 9:e118-e122
75. Rajeev G, Lewis AJ, N S (2020) A time based objective evaluation of the erosive effects of various beverages on enamel and cementum of deciduous and permanent teeth. *J Clin Exp Dent* 12:e1-e8
76. Ranjitkar S, Kaidonis JA, Smales RJ (2012) Gastroesophageal reflux disease and tooth erosion. *Int J Dent* 2012:479850
77. Rehage M, Delius J, Hofmann T, Hannig M (2017) Oral astringent stimuli alter the enamel pellicle's ultrastructure as revealed by electron microscopy. *J Dent* 63:21-29
78. Roveri N, Iafisco M (2010) Evolving application of biomimetic nanostructured hydroxyapatite. *Nanotechnol Sci Appl* 3:107-125
79. Sagar S, Sherlin JH, Moses S (2020) Prevalence of erosion on dental hard tissues and its correlation with dietary habits. *Drug Invention Today* 14:170-173
80. Sarni-Manchado P, Canals-Bosch JM, Mazerolles G, Cheynier V (2008) Influence of

the glycosylation of human salivary proline-rich proteins on their interactions with condensed tannins. *J Agric Food Chem* 56:9563-9569

81. Schestakow A, Guth MS, Eisenmenger TA, Hannig M (2021) Evaluation of Anti-Biofilm Activity of Mouthrinses Containing Tannic Acid or Chitosan on Dentin In Situ. *Molecules* 26:1,7,11

82. Schestakow A, Hannig M (2020) Effects of Experimental Agents Containing Tannic Acid or Chitosan on the Bacterial Biofilm Formation in Situ. *Biomolecules* 10:1,11,13

83. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C (2011) Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res* 45 Suppl 1:13-23

84. Schweizer-Hirt CM, Schait A, Schmid R, Imfeld T, Lutz F, Muhlemann HR (1978) [Erosion and abrasion of the dental enamel. Experimental study]. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* 88:497-529

85. Singh M, Arseneault M, Sanderson T, Murthy V, Ramassamy C (2008) Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms. *J Agric Food Chem* 56:4855-4873

86. Siqueira WL, Helmerhorst EJ, Zhang W, Salih E, Oppenheim FG (2007) Acquired enamel pellicle and its potential role in oral diagnostics. *Ann N Y Acad Sci* 1098:504-509

87. Smits KPJ, Listl S, Jevdjevic M (2020) Vegetarian diet and its possible influence on dental health: A systematic literature review. *Community Dent Oral Epidemiol* 48:7-13

88. Smullen J, Koutsou GA, Foster HA, Zumbe A, Storey DM (2007) The antibacterial activity of plant extracts containing polyphenols against *Streptococcus mutans*. *Caries Res* 41:342-349

89. Souza BM, Comar LP, Vertuan M, Fernandes Neto C, Buzalaf MA, Magalhaes AC (2015) Effect of an Experimental Paste with Hydroxyapatite Nanoparticles and Fluoride on Dental Demineralisation and Remineralisation in situ. *Caries Res* 49:499-507

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

91. Vacca Smith AM, Bowen WH (2000) The effects of milk and kappa-casein on salivary pellicle formed on hydroxyapatite discs in situ. *Caries Res* 34:88-93

92. Vukosavljevic D, Custodio W, Buzalaf MA, Hara AT, Siqueira WL (2014) Acquired

pellicle as a modulator for dental erosion. Arch Oral Biol 59:631-638

93. Wang C, Li Y, Wang X, Zhang L, Tiantang, Fu B (2012) The enamel microstructures of bovine mandibular incisors. Anat Rec (Hoboken) 295:1698-1706
94. Wang X, Lussi A (2012) Functional foods/ingredients on dental erosion. Eur J Nutr 51 Suppl 2:S39-48
95. Weber MT, Hannig M, Potschke S, Hohne F, Hannig C (2015) Application of Plant Extracts for the Prevention of Dental Erosion: An in situ/in vitro Study. Caries Res 49:477-487
96. White AJ, Gracia LH, Barbour ME (2011) Inhibition of dental erosion by casein and casein-derived proteins. Caries Res 45:13-20
97. Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhaes AC, Sener B, Attin T (2008) Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. Acta Odontol Scand 66:225-230
98. Xi Q, Hoth-Hannig W, Deng S, Jin X, Fu B, Hannig M (2020) The effect of polyphenol-containing solutions on in situ biofilm formation on enamel and dentin. J Dent 102:103482
99. Yang X, Yang B, He L, Li R, Liao Y, Zhang S, et al. (2017) Bioinspired Peptide-Decorated Tannic Acid for in Situ Remineralization of Tooth Enamel: In Vitro and in Vivo Evaluation. ACS Biomater Sci Eng 3:3553-3562
100. Yong L (2017) Influence of vinegar on biofilm formation in situ. Med. Diss., Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
101. Yoshida T, Hatano T, Ito H (2000) Chemistry and function of vegetable polyphenols with high molecular weights. Biofactors 13:121-125
102. Zero DT, Lussi A (2005) Erosion--chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. Int Dent J 55:285-290

7 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar erstellt. Mein herzlicher Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. M. Hannig. Für die großzügige Unterstützung meiner wissenschaftlichen und studentischen Tätigkeiten, für die Überlassung des Promotionsthemas. Außerdem danke ich für die konstruktive Kritik während der experimentellen Phase und die ausgezeichneten Möglichkeiten diese Arbeit in seiner Abteilung zu erarbeiten.

Den wissenschaftlichen Mitarbeitern des Forschungslabors der Zahnerhaltung, ganz besonders *Frau Dr. Natalia Umanskaya* und *Frau Dr. Simone Trautmann* für die exzellenten Arbeitsbedingungen in den Laboreinrichtungen, für die Einarbeitung in die notwendigen Methoden, für ihr Engagement, die zahlreichen Gespräche sowie für die herzliche Unterstützung bei dem experimentellen Teil der Arbeit und ein immer offenes Ohr. Außerdem danke ich *Norbert Pütz* für die geduldige Einweisung, Betreuung und tatkräftige Unterstützung am Rasterelektronenmikroskop und wertvolle Anregungen.

Kristin Festl. Für die gemeinsamen unzähligen Stunden im Forschungslabor und die gegenseitige Unterstützung. Für jedes Gespräch und auch manchmal das Schweigen, wenn kein Nerv mehr da war, um zu sich über die Dissertation zu unterhalten. Danke, dass du immer für mich da bist.

Meiner Familie. Allen voran meinen Eltern *Dres. Elisabeth und Gerhard Ruhm*, die mich in jeder Lebenslage unterstützen und ohne deren Hilfe ich nicht da wäre, wo ich heute bin. Danke für die vielen Stunden der Freistellung zur Verschriftlichung dieser Dissertation in unserer gemeinsamen Praxis, in denen ich nicht zur Behandlung zur Verfügung stand. Außerdem danke ich meinem Partner *Alexander Wolf* für die Unterstützung, das Korrekturlesen und die Motivation zum schnellstmöglichen Abschluss der Dissertation.

8 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

9 Anhang

9.1 Verwendete Chemikalien, Materialien und Geräte

Tabelle 9-1 Verwendete Chemikalien

Stoff	Hersteller
2-Propanol 70%	Otto Fischar GmbH & Co. KG (Saarbrücken, Deutschland)
AquaClean	WAK – Chemie Medical GmbH (Bad Soden, Deutschland)
Aqua B. Braun 1000 ml	B. Braun Melsungen AG (Melsungen, Deutschland)
Zitronensäure (Citric acid analytical grade 38640)	Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Deutschland)
Ethanol 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 100%	Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Hexamethyldisilazane 98,5%	Abcr GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Natriumhypochlorit-Lösung 3% DAC 500 ml	Hedinger (Stuttgart, Deutschland)
President light body	Coltène/Whaledent AG (Altstätten, Schweiz)
RIPA Buffer 15 ml	Cell Signaling Technology (Leiden, Niederlande)
Tannic Acid 250 g	Sigma Chemical CO. (St. Louis, USA)
Thymol 0,1% Lösung	Apotheke im Universitätsklinikum des Saarlandes, Deutschland
Tris Pufferan $\geq 99,9\%$	Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Triton X 100	Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)

Tabelle 9-2 Verwendete Materialien

Material	Hersteller
Aluminium Specimen Stubs 0.5“	Agar Scientific (Stansted, Vereinigtes Königreich)
Aufbewahrungsbox	Allit AG Kunststofftechnik (Bad Kreuznach, Deutschland)
Einmal Zahnbürste	Centramed Medizintechnik GmbH & Co. KG (Koblenz, Deutschland)
Griffinbecher 400 ml	Vitlab (Grossostheim, Deutschland)
Kohlegarn 0,7 g/m	Plano GmbH (Wetzlar, Deutschland)
Messbecher 150 ml	VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland)
Parafilm M PM-996	Bemis (Neenah, USA)
Pinzette BD216R	Aesculap AG (Tuttlingen, Deutschland)
Pipettenspitzen Biosphere Quality Tips 0,1-10 µl	Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland)
Pipettenspitzen Quality Pipette Tips 100-1000 µl	Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland)
Pipettenspitzen 5 ml PhysioCare concept	Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland)
Pipettenspitzen 10 ml Cellstar	Greiner bio-one (Frickenhausen, Deutschland)
Plano Leit-Tabs	Plano GmbH (Wetzlar, Deutschland)
Polypropylen Röhrchen Cellstar 15 ml, 50 ml	Greiner bio-one (Frickenhausen, Deutschland)
Rotilabo Einmal-Wägeschalen	Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Rotilabo Schwimmständer	Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Safe-Lock Tubes 2 ml, 5 ml	Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland)
Siliziumkarbid-Nassschleifpapier 400, 600, 800 Grit	Struers GmbH (Erkrath, Deutschland)

Siliziumkarbid-Nassschleifpapier 1200, 2500, 4000 Grit	Buehler (Esslingen am Neckar, Deutschland)
Untersuchungshandschuhe Purple nitrile-extra S	Halyard Deutschland (Weinheim, Deutschland)
VWR Light-Duty Tissue Wipers	VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland)
Well Cell Culture Plate Cellstar 6, 24, 48	Greiner bio-one (Frickenhäusen, Deutschland)

Tabelle 9-3 Verwendete Geräte

Gerät	Hersteller
Abzug mc6	Waldner Laboreinrichtungen GmbH & Co. KG (Wangen im Allgäu, Deutschland)
Duramin-5, Serial No. 5655124	Struers GmbH (Rødovre, Dänemark)
Drucksprüher	Bürkle (Bad Bellingen, Deutschland)
Flockeneisbereiter AF 20	Scotsman (Pogliano Milanese, Italien)
Kühlhaus	Viessmann Werke GmbH & Co. KG (Allendorf, Deutschland)
Kühlschrank exquisit	GGV GmbH & Co. KG (Kaarst, Deutschland)
Kühlschrank Liebherr gastro line	Liebherr Hausgeräte (Ochsenhausen, Deutschland)
Kühlschrank Liebherr Premium NoFrost	Liebherr Hausgeräte (Ochsenhausen, Deutschland)
Zoom-Stereomikroskop SMZ-168 Series	Motic (Wetzlar, Deutschland)
MicroProf	Fries Research & Technology GmbH (Bergisch Gladbach, Deutschland)
Nassschleifgerät Phoenix 3000 Variable Speed Grinder-Polisher	Buehler (Esslingen am Neckar, Deutschland)
Pipette 5 ml	VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland)

Anhang

Pipette Transferpette S 100 µl, 1000 µl	Brand GmbH + Co. KG (Wertheim, Deutschland)
Präzisionswaage CP 423 S	Sartorius AG (Göttingen, Deutschland)
Rasterelektronenmikroskop	FEI/Philips XL30 FEG ESEM with Electron Backscatter Diffraction analysis and Energy-Dispersive X-ray capability, FEI Corporate Headquarters (Oregon, USA)
Schleiftrennmaschine WOCO 50p	Conrad Apparatebau GmbH (Clausthal-Zellerfeld, Deutschland)
Sonorex RK 31	Bandelin electronic (Berlin, Deutschland)
Sputtercoater	Model SCD 030, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH (Wetzlar, Deutschland)
Vortex-Genie 2 G-560E	Scientific Industries (Bohemia, USA)
Wipptisch Rocky 1000	Labortechnik Fröbel GmbH (Lindau, Deutschland)

9.2 REM-Bilder aller Probanden

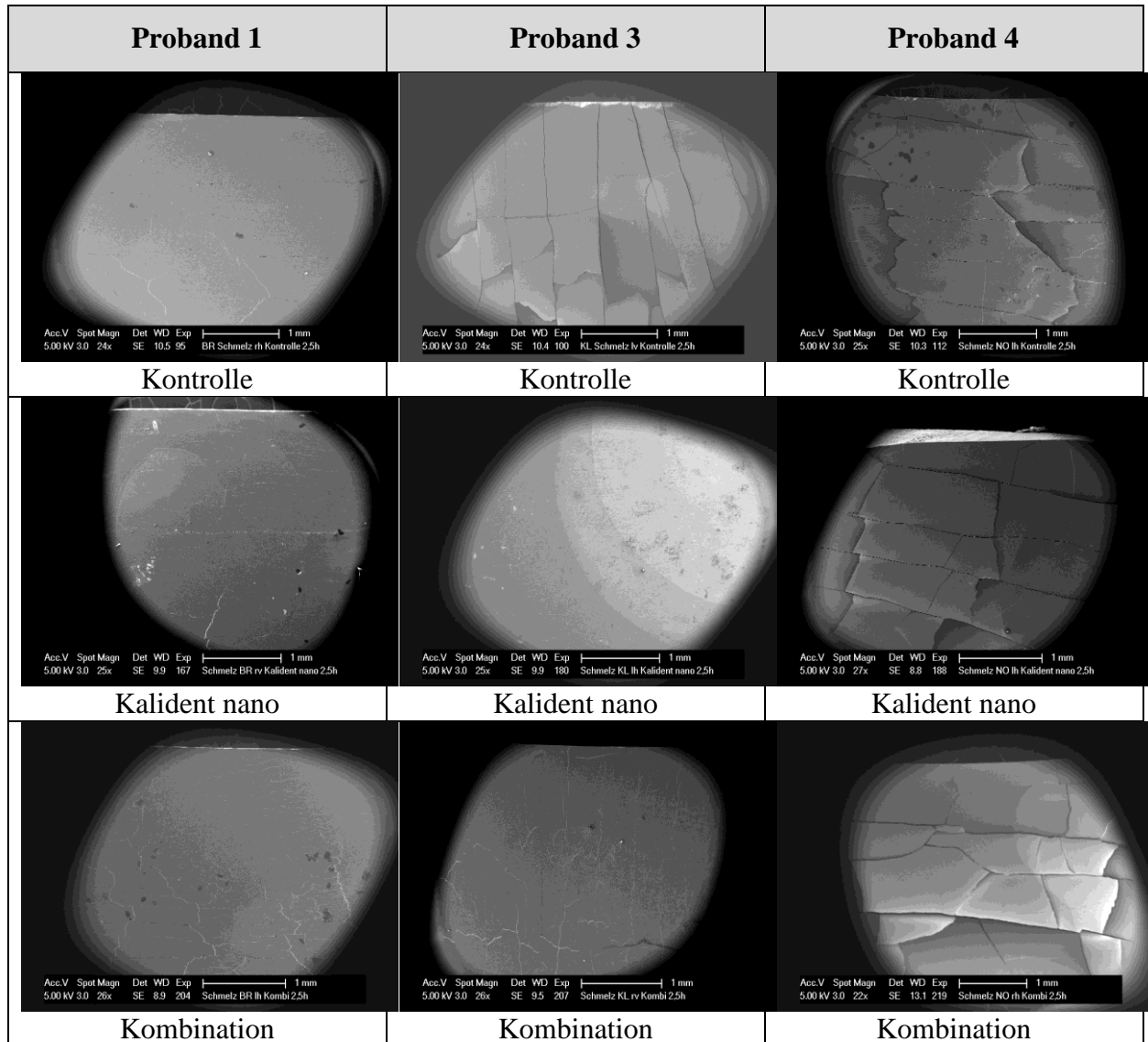


Abb. 9-1 REM-Übersichtsaufnahmen (in 22- bis 27-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 1, 3 und 4 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Die Probanden spülten nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

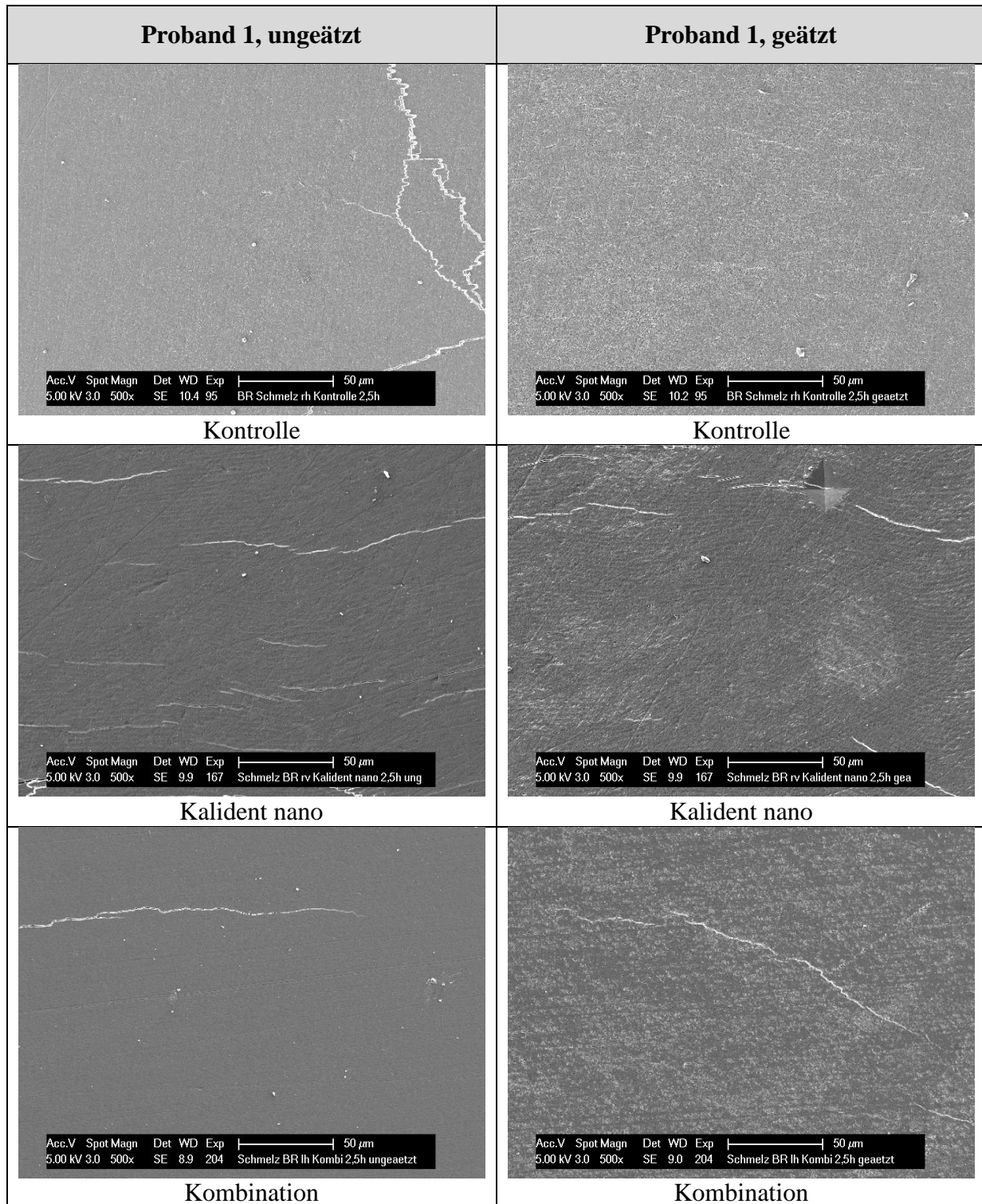


Abb. 9-2 REM-Aufnahmen (in 500-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 1 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

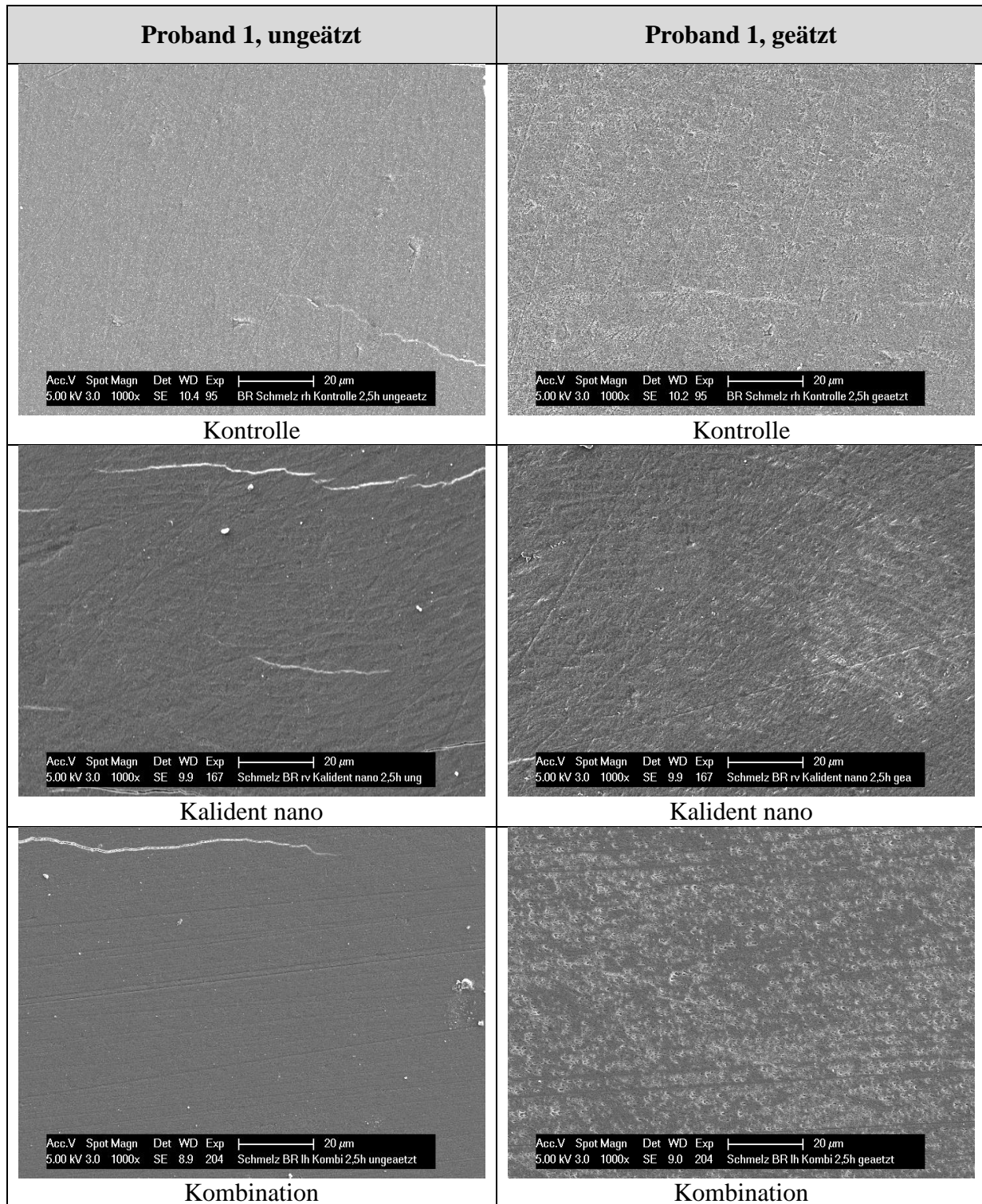


Abb. 9-3 REM-Aufnahmen (in 1.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 1 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

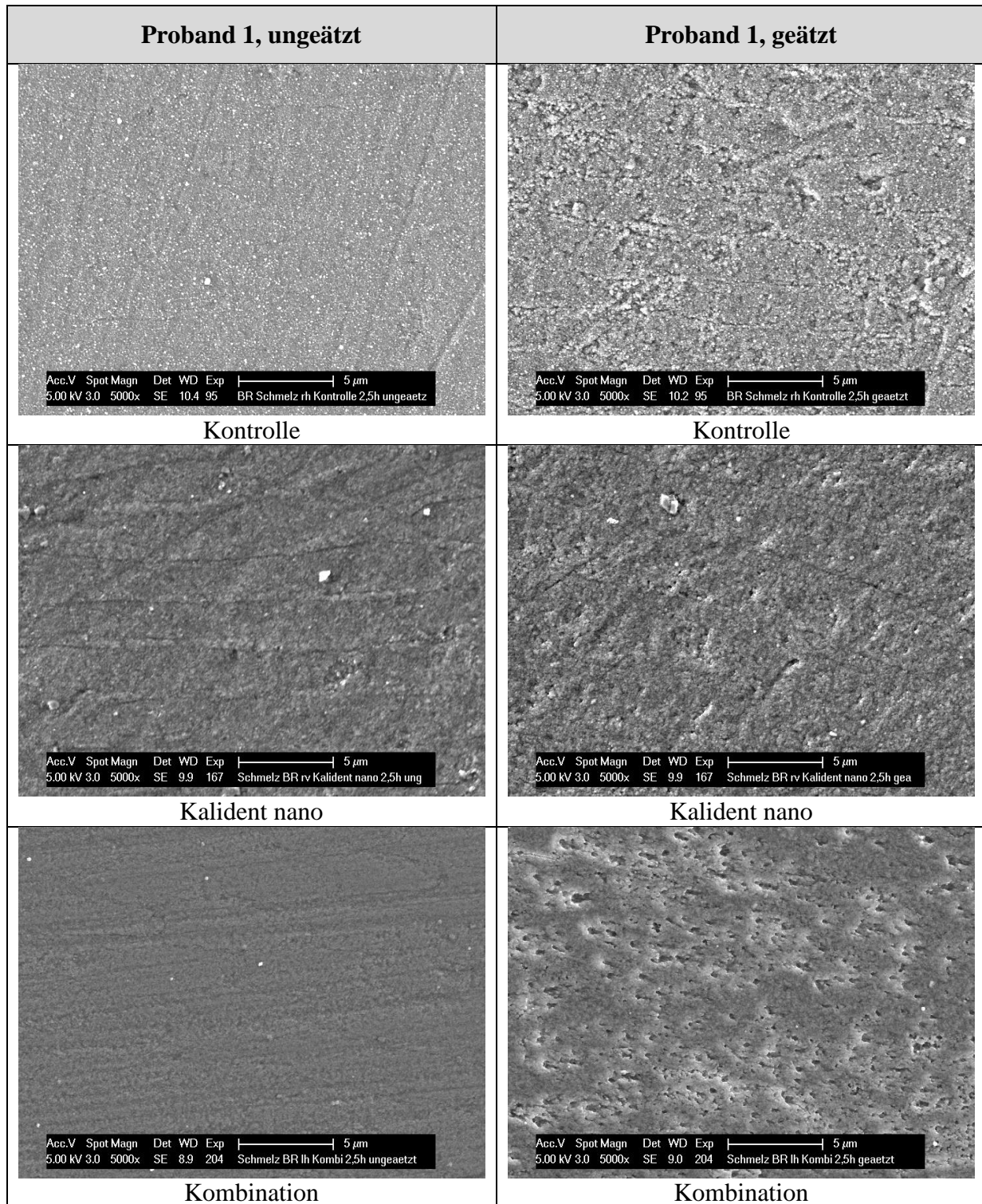


Abb. 9-4 REM-Aufnahmen (in 5.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 1 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

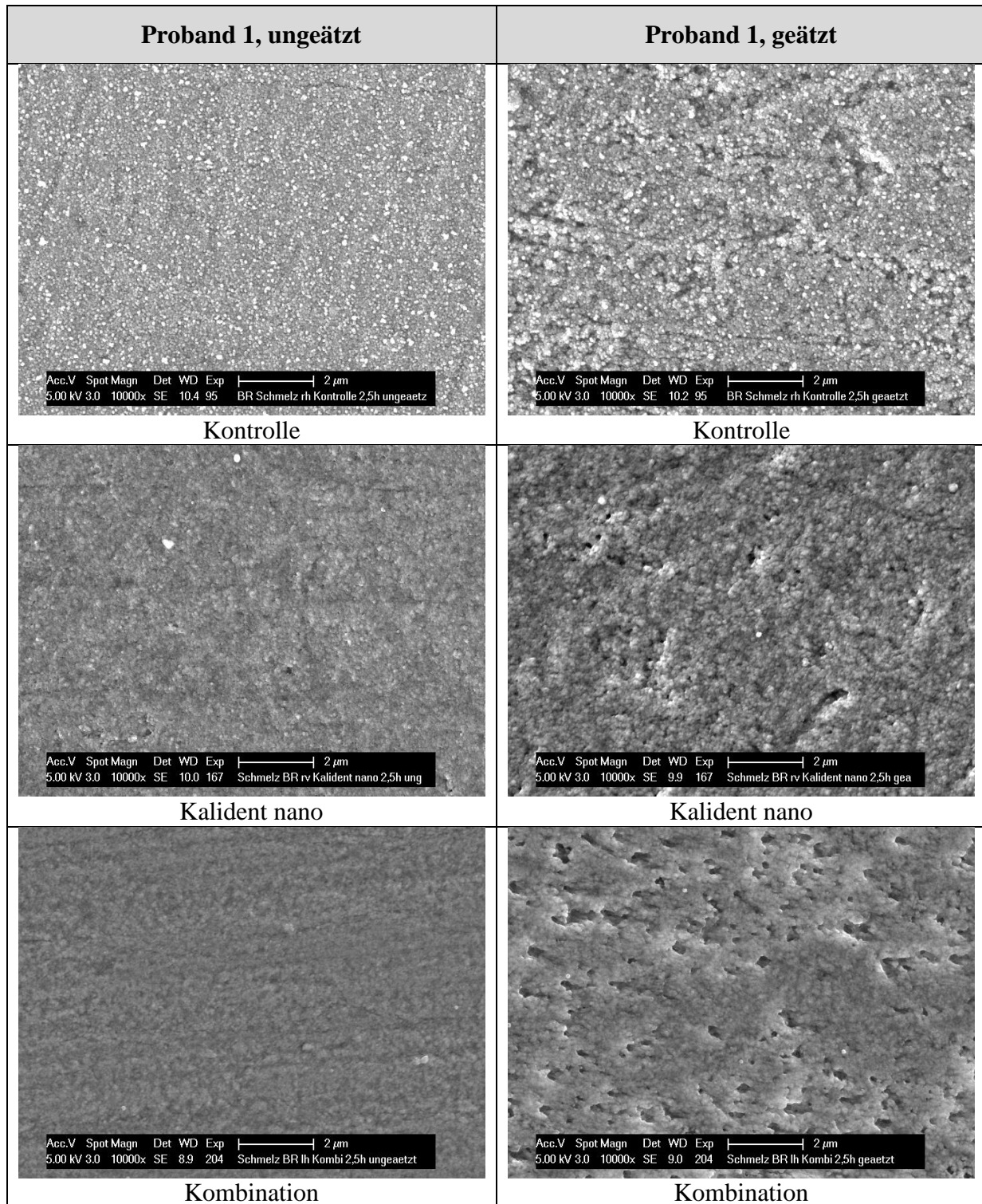


Abb. 9-5 REM-Aufnahmen (in 10.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 1 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

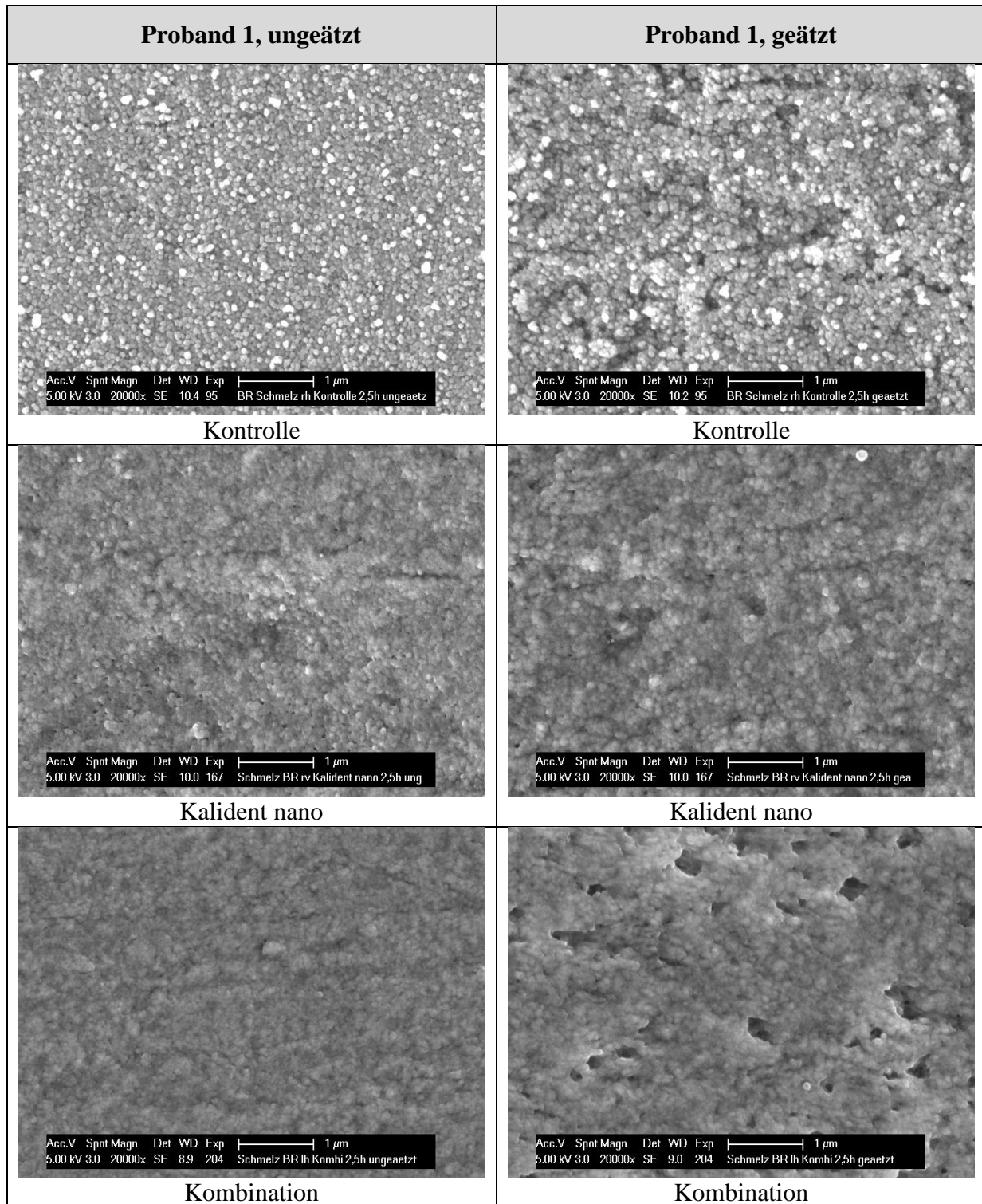


Abb. 9-6 REM-Aufnahmen (in 20.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 1 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

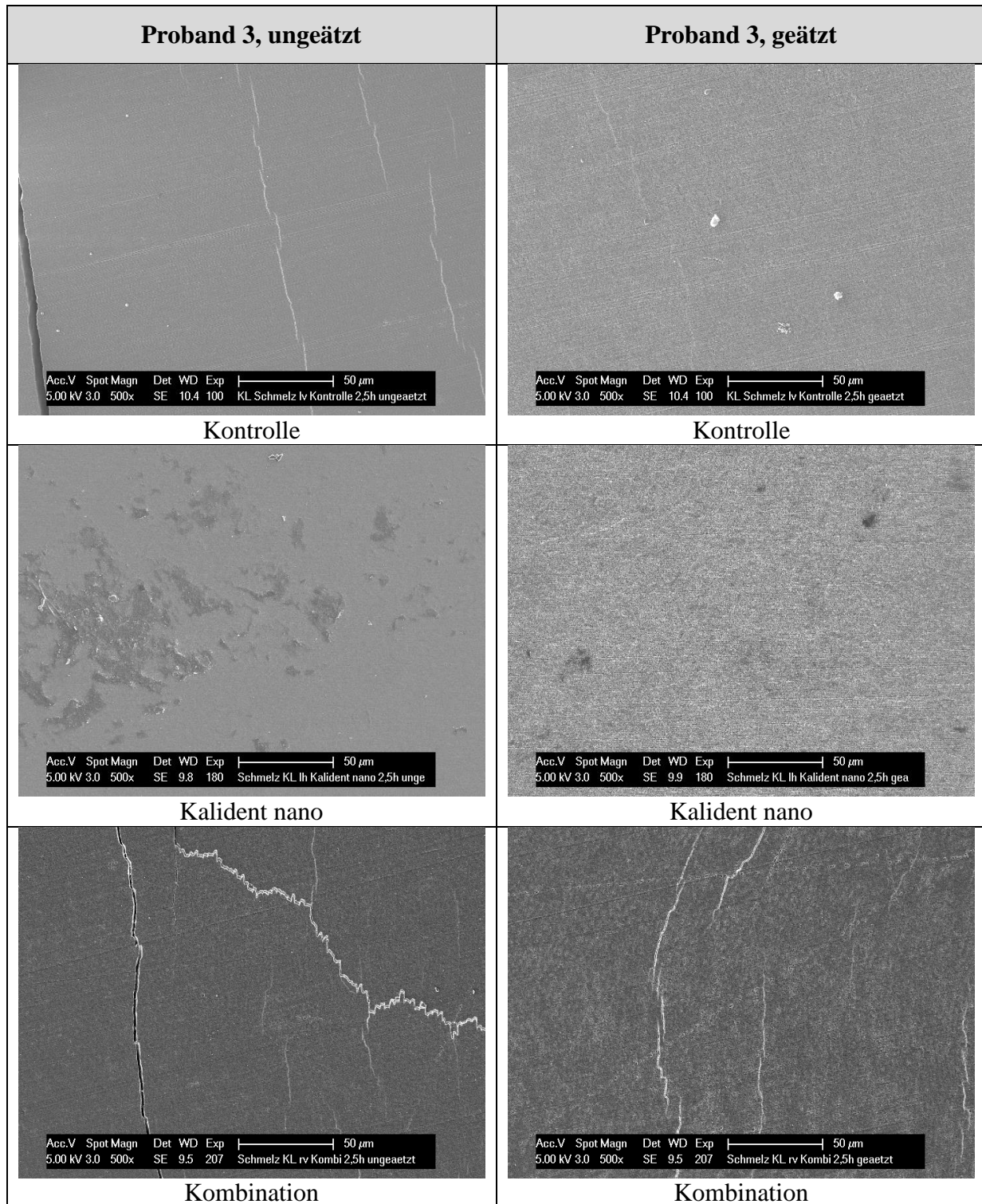


Abb. 9-7 REM-Aufnahmen (in 500-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 3 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

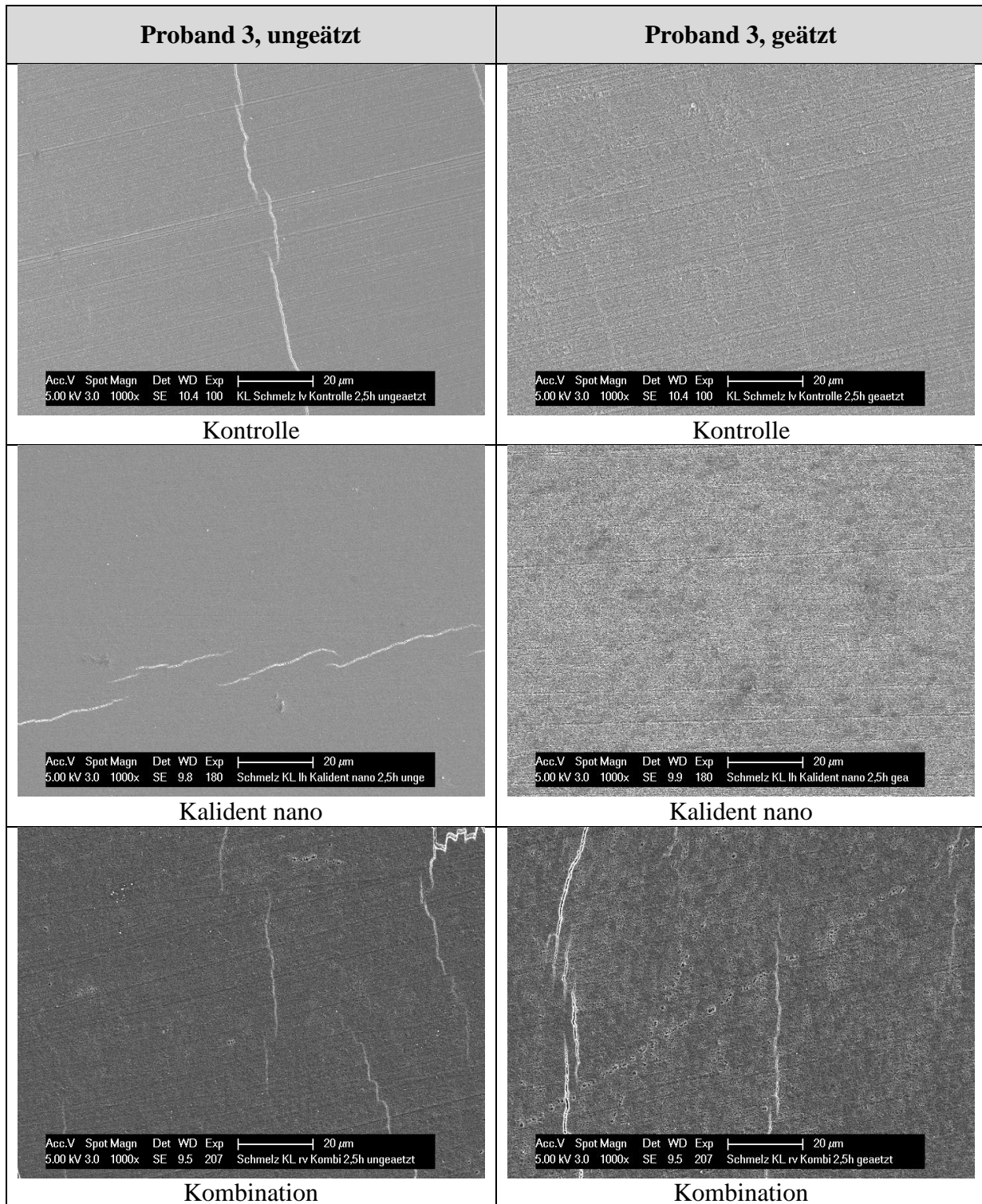


Abb. 9-8 REM-Aufnahmen (in 1.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 3 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

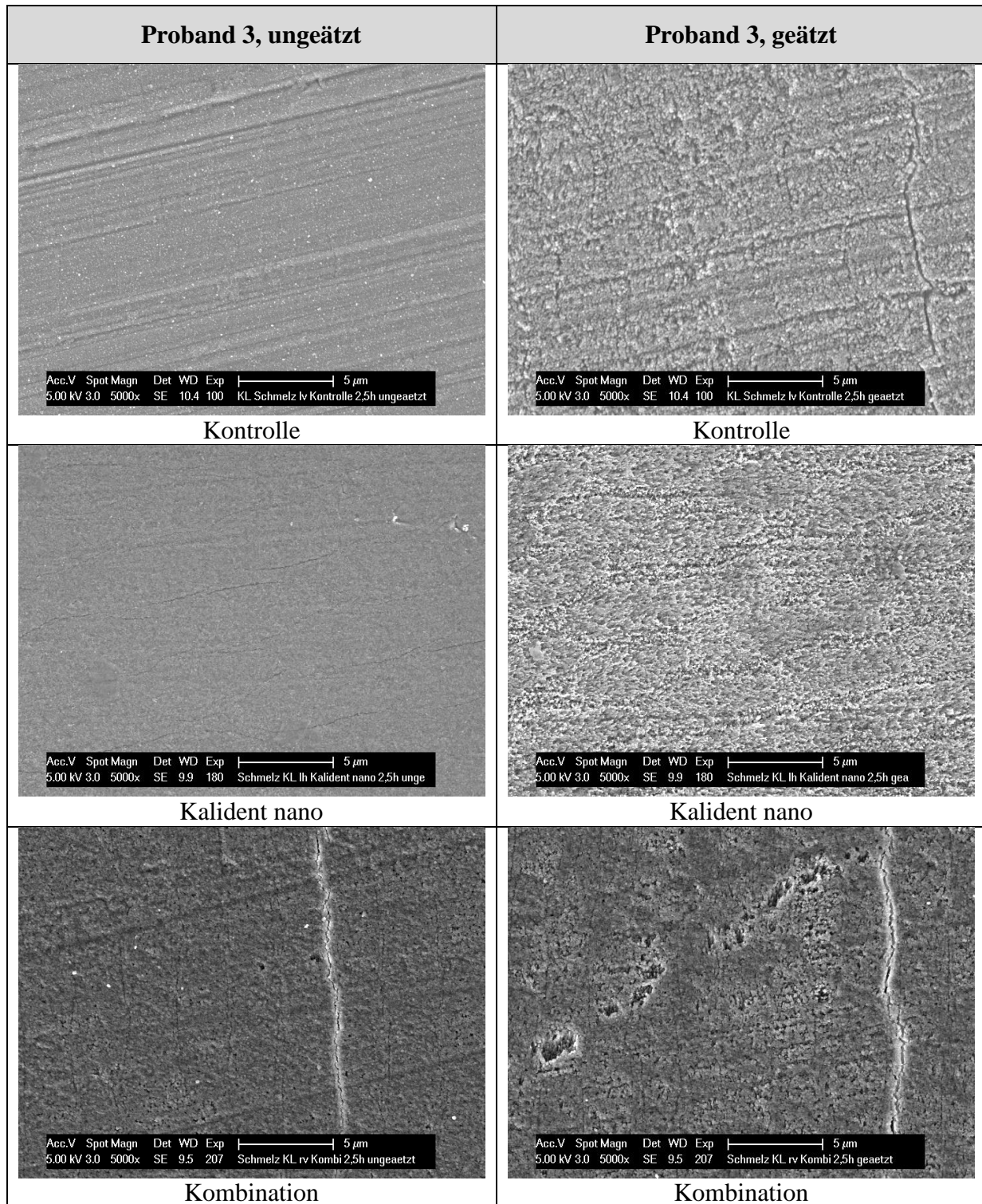


Abb. 9-9 REM-Aufnahmen (in 5.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 3 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

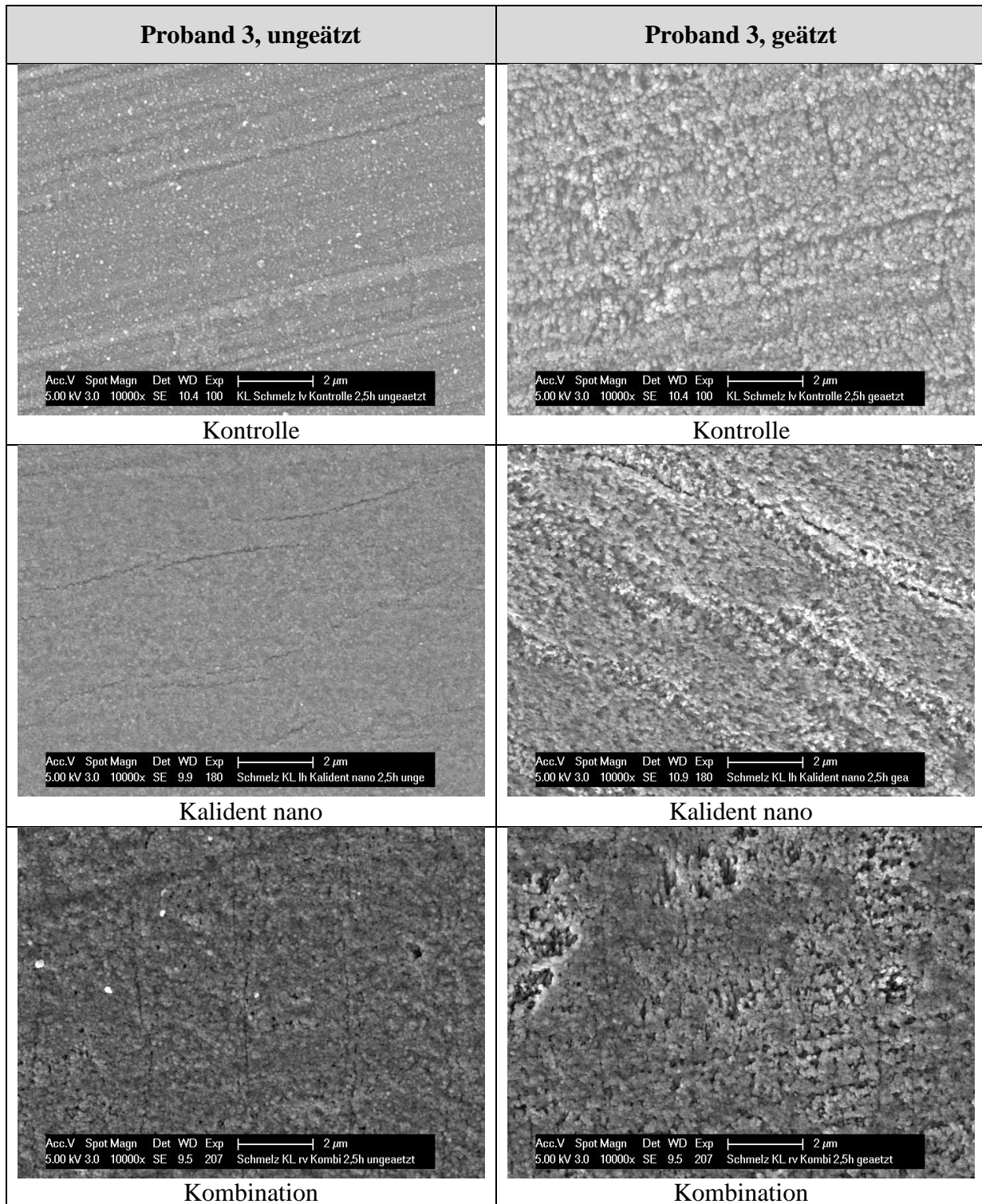


Abb. 9-10 REM-Aufnahmen (in 10.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 3 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

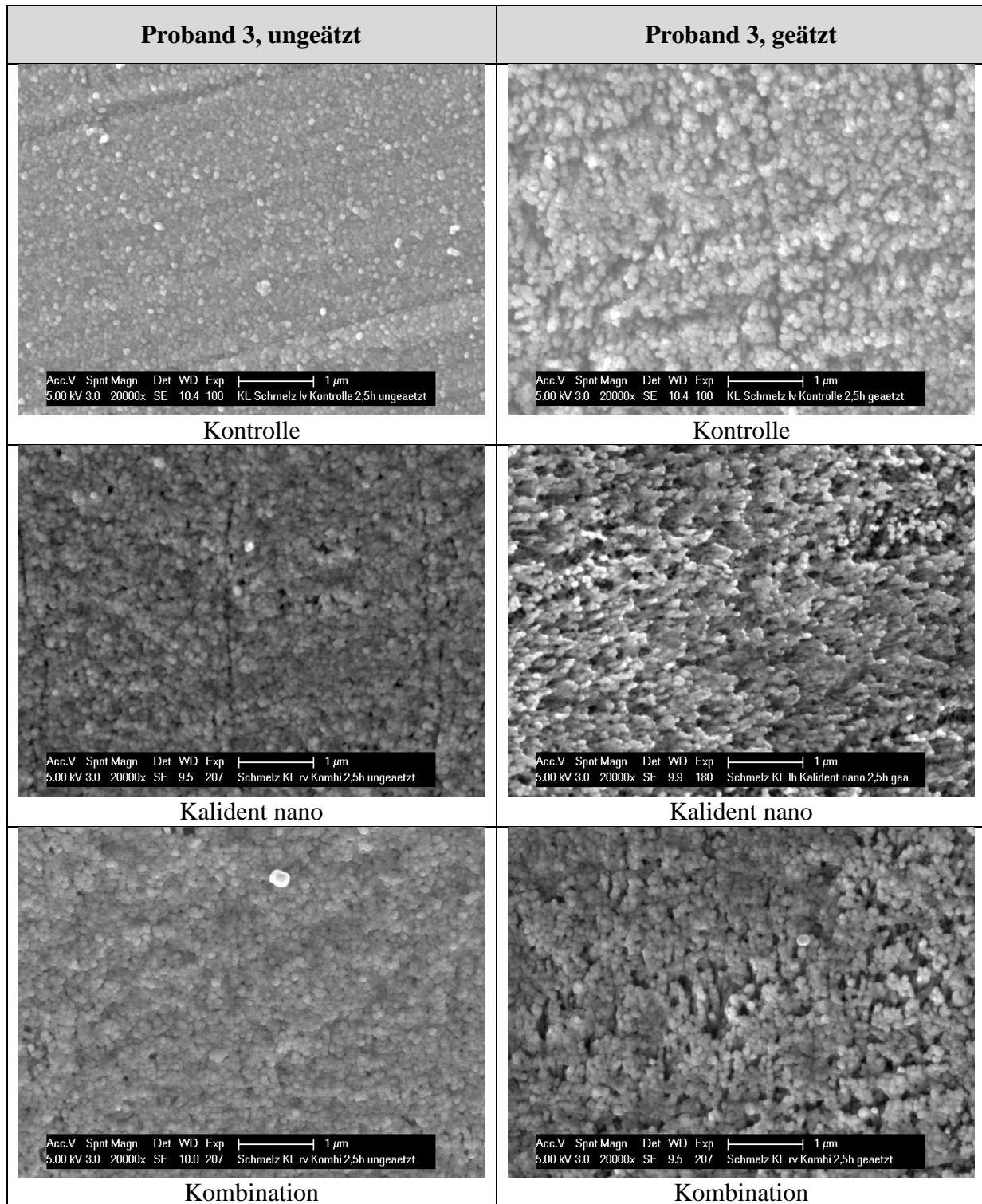


Abb. 9-11 REM-Aufnahmen (in 20.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 3 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

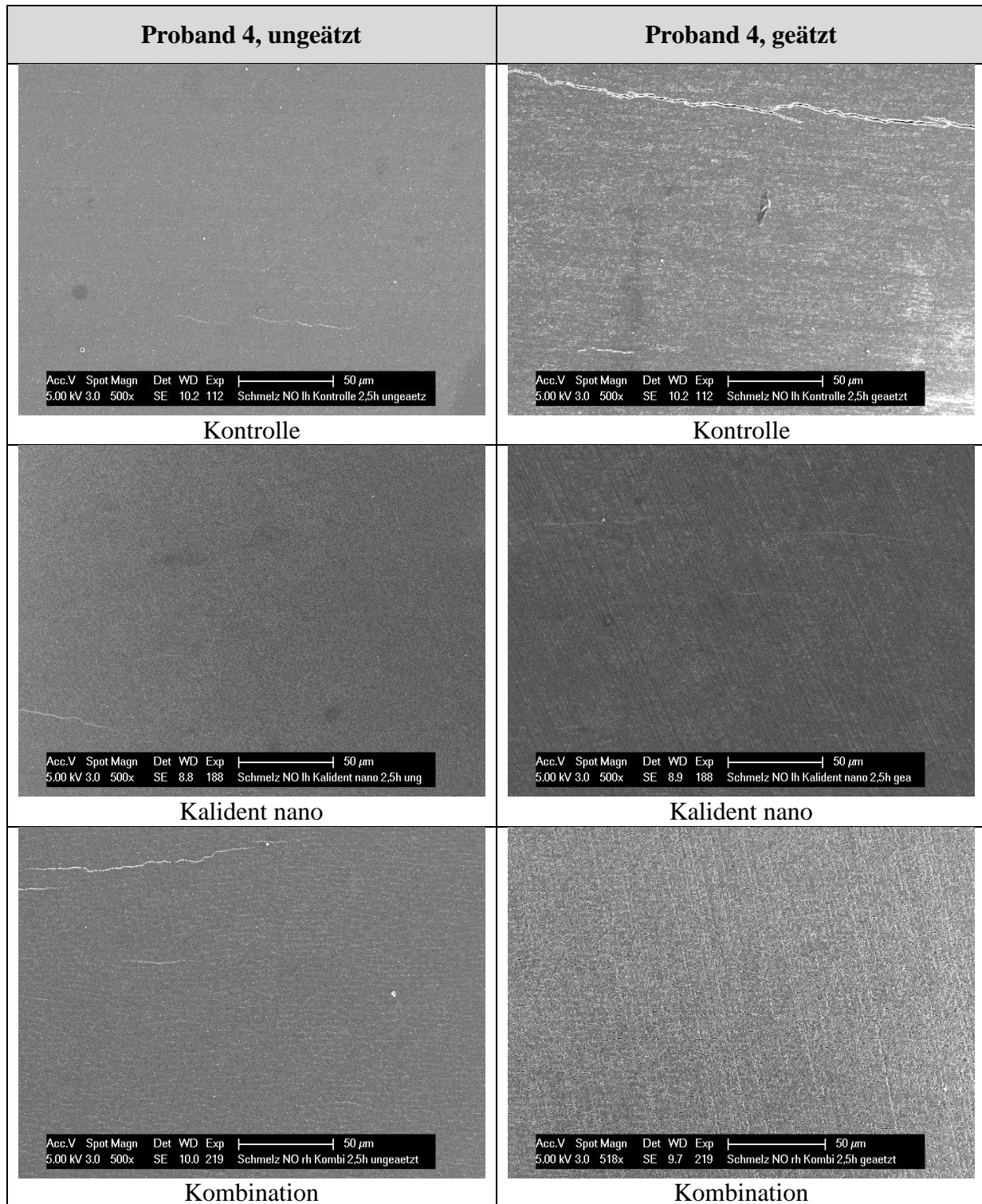


Abb. 9-12 REM-Aufnahmen (in 500- bis 518-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 4 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

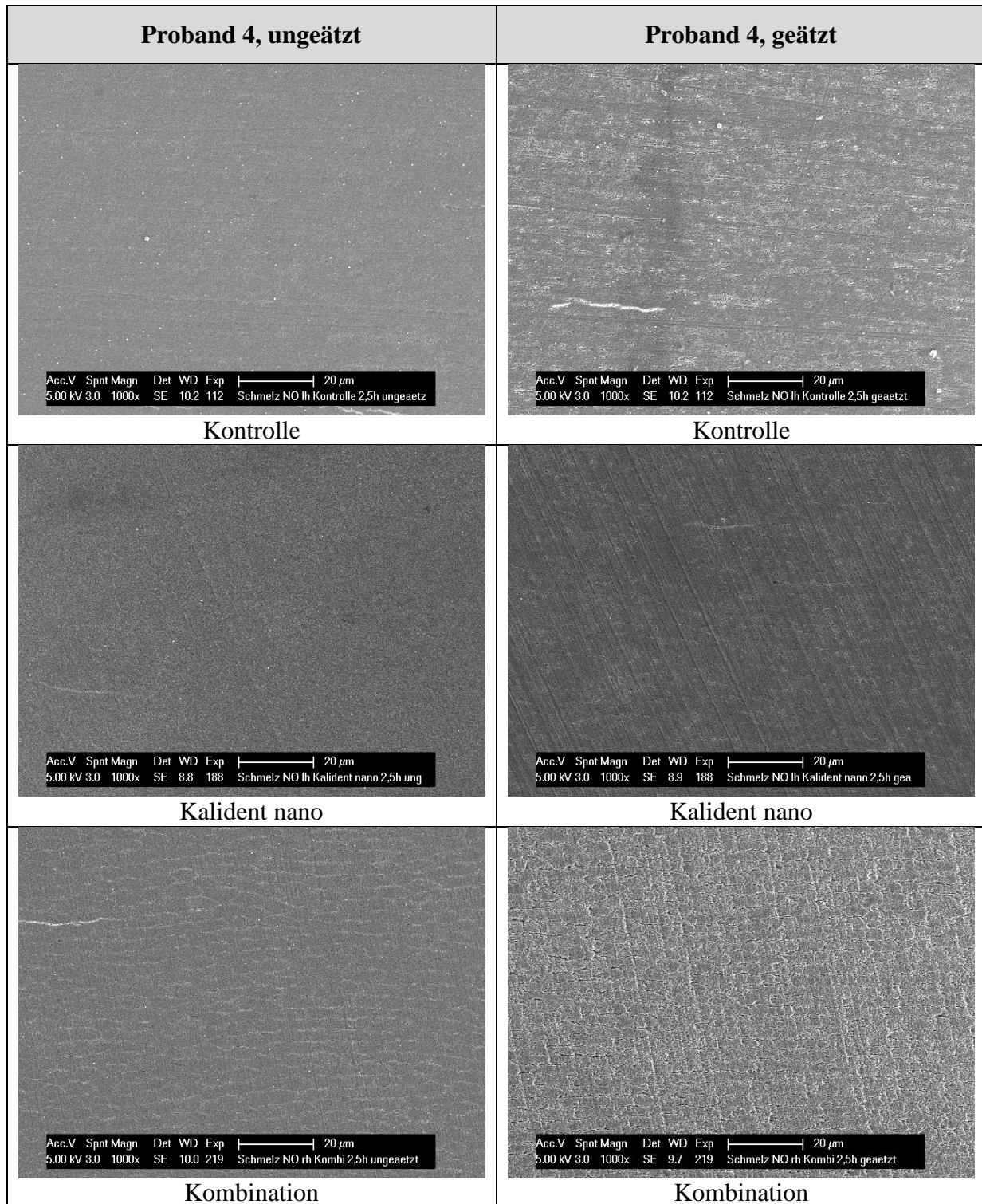


Abb. 9-13 REM-Aufnahmen (in 1.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 4 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

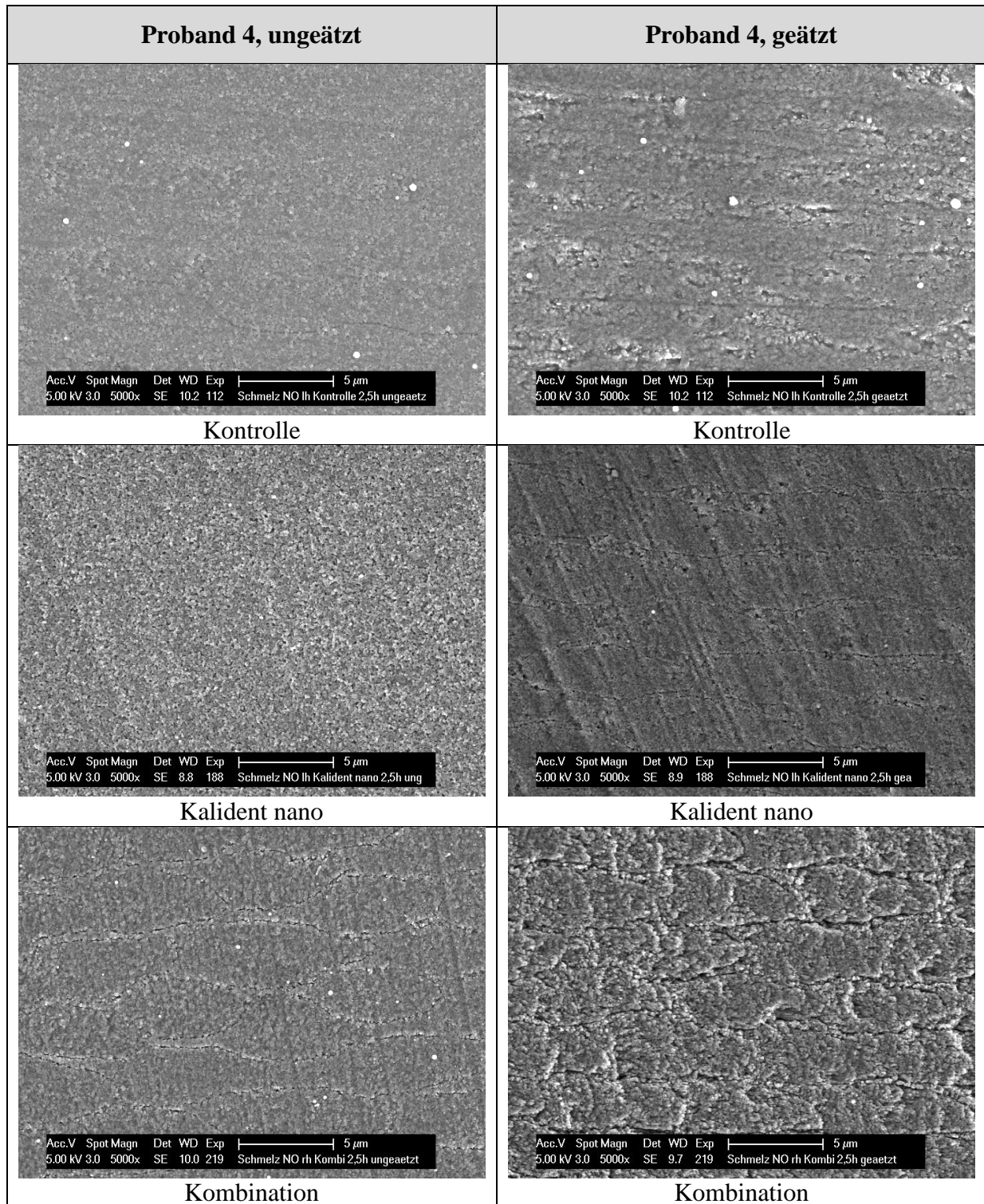


Abb. 9-14 REM-Aufnahmen (in 5.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 4 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

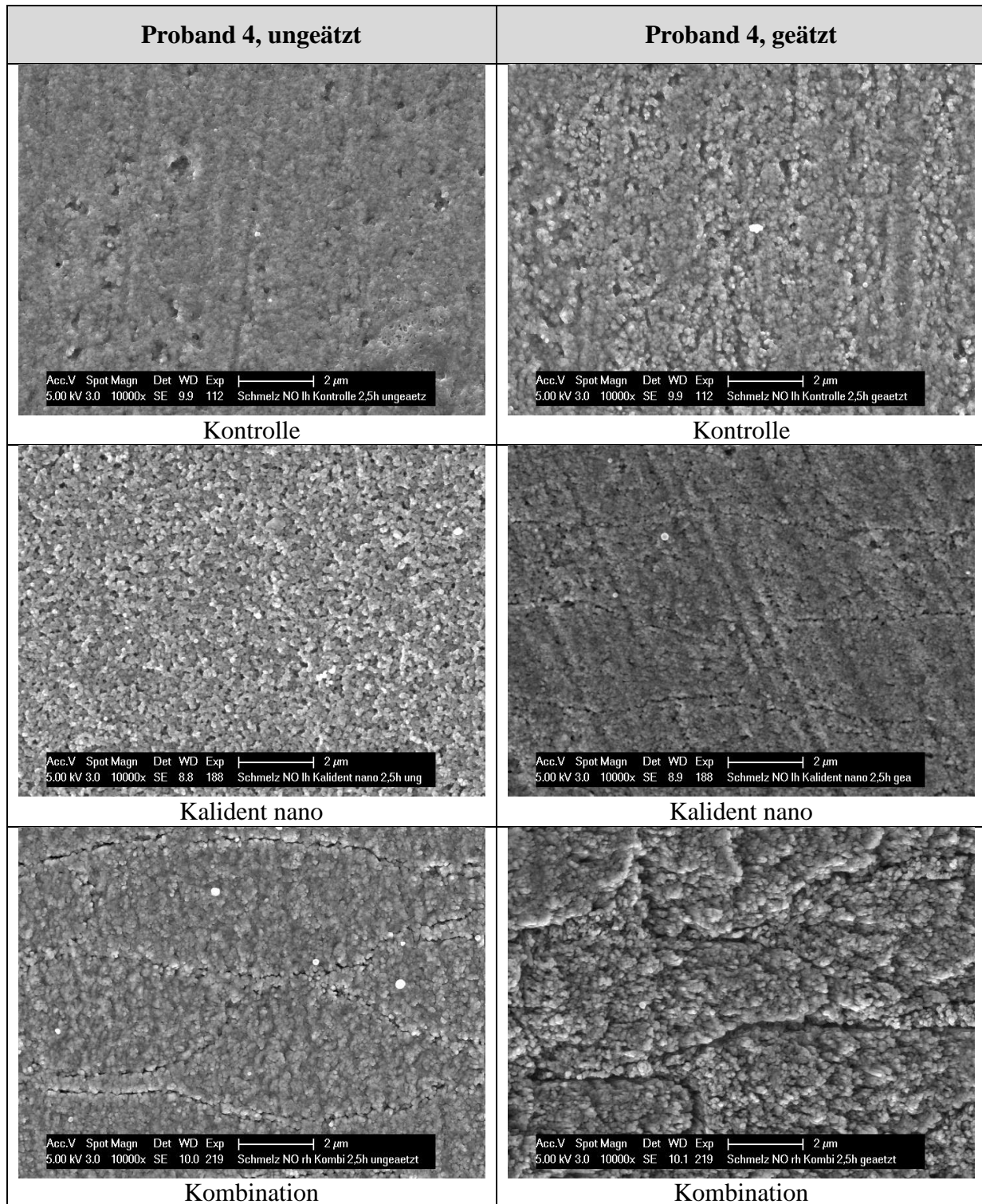


Abb. 9-15 REM-Aufnahmen (in 10.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 4 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst

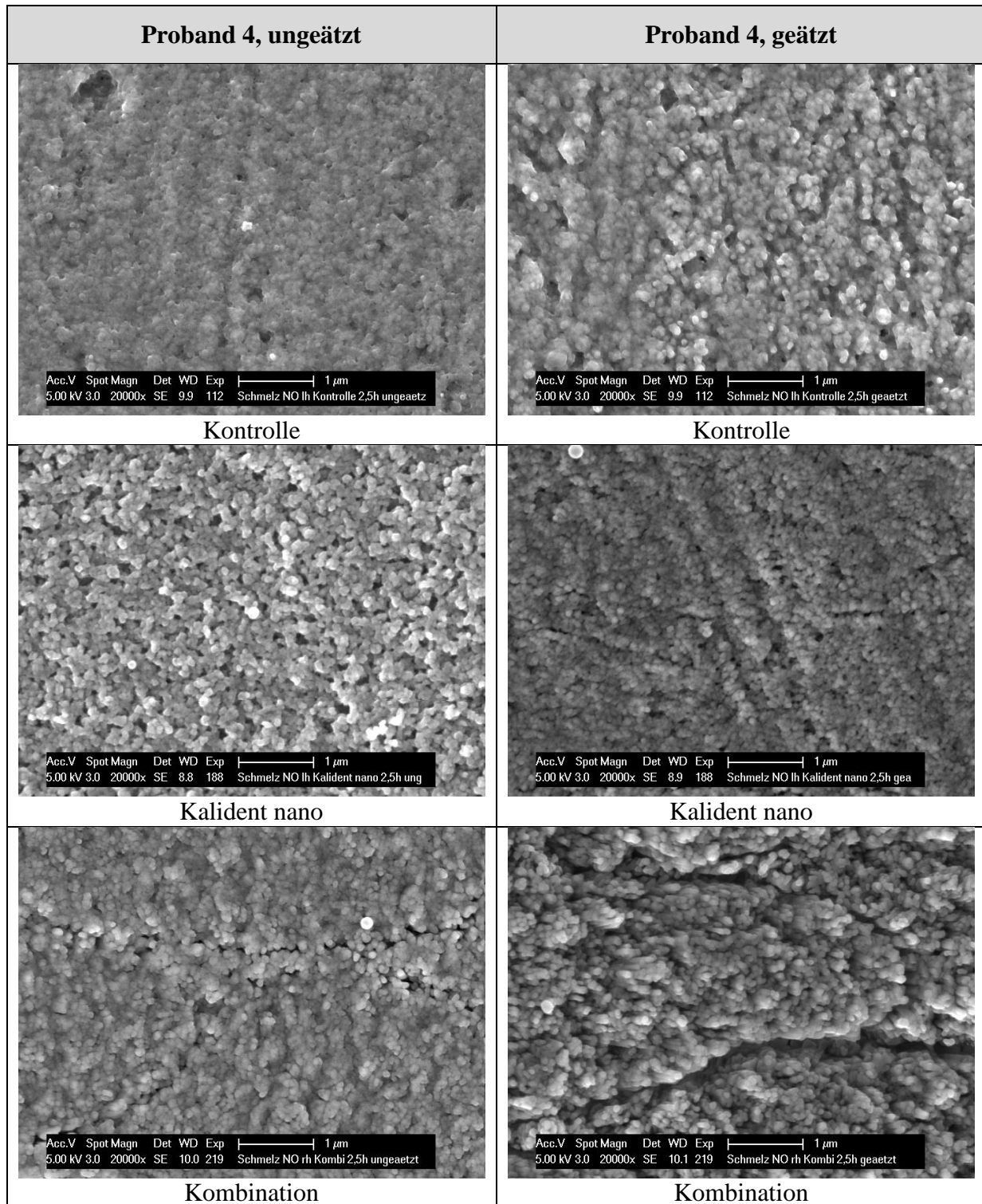


Abb. 9-16 REM-Aufnahmen (in 20.000-facher Vergrößerung) der Schmelzprüfkörper von Proband 4 mit einer 2,5-h-Pellikel bei Spülung mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano und der Kombination aus Kalident nano und Tanninsäure. Jeweils links sind die Aufnahmen des ungeätzten, rechts die Aufnahmen des geätzten Bereichs zu sehen. Es fand vorab eine Standardisierung der Schmelzprüfkörper durch Bestimmung der Mikrohärtigkeit statt. Der Proband spülte nach 3 min für 30 s mit der Kontrolle (Wasser), Kalident nano oder der Kombination. Danach wurde alle 30 min für je 30 s mit der jeweiligen Mundspüllösung/Suspension gespült, sodass insgesamt fünf Spülungen stattfanden (nach 3 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min). Die *in-vitro*-Erosion der *in-situ*-Schmelzprüfkörper erfolgte 3 min mit 1 µl 1%iger Zitronensäure. Die Pellikel der *in-situ*-Schmelzprüfkörper wurde nach der Säureexposition abgelöst