

Aus der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde,

Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof. Dr. M. Hannig

**IN-VITRO-STUDIE ZUM EINFLUSS KOMMERZIELL  
VERFÜGBARER ZAHNPASTEN AUF DEN VERSCHLUSS  
VON DENTINTUBULI**

*Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde*

**der Medizinischen Fakultät**

**der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES**

2021

vorgelegt von:

Oliver Bloss

geb. am: 16.04.1984 in Barcelona

Tag der Promotion: 28.09.2021  
Dekan: Prof. Dr. M.D. Menger  
1. Berichterstatter: Prof. Dr. S. Rupf  
2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Karl

## Abkürzungen

<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>EDX</b>	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
<b>et al.</b>	und andere
<b>Gew.-%</b>	Gewichtsprozent
<b>h</b>	Stunde
<b>min</b>	Minute
<b>s</b>	Sekunde
<b>mm</b>	Millimeter
<b>REM</b>	Rasterelektronenmikroskop
<b>C</b>	Kohlenstoff
<b>N</b>	Stickstoff
<b>O</b>	Sauerstoff
<b>Na</b>	Natrium
<b>Ca</b>	Calcium
<b>Mg</b>	Magnesium
<b>Ti</b>	Titan
<b>F</b>	Fluorid
<b>S</b>	Schwefel
<b>P</b>	Phosphor
<b>Si</b>	Silizium
<b>Zn</b>	Zink
<b>K</b>	Kalium
<b>n-HA</b>	nano-Hydroxylapatit
<b>MFS</b>	Multifunktionsspritze
<b>LSF</b>	Laborspritzflasche / Drucksprüher
<b>vgl.</b>	vergleiche
<b>ca.</b>	circa
<b>n</b>	Anzahl

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1	Deutsche Zusammenfassung .....	1
1.2	Abstract.....	3
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>5</b>
2.1	Literaturübersicht.....	6
2.1.1	Substanzverlust und die Folgen.....	6
2.1.2	Die Zahnhartsubstanzen: Schmelz und Dentin .....	7
2.1.3	Verschiedene Füllkörper in Zahnpasten.....	8
2.1.4	Hydroxylapatit.....	10
2.1.5	Der Speichel .....	12
2.2	Ziel der Arbeit / Fragestellung.....	13
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODE .....</b>	<b>14</b>
3.1	Herstellung und Vorbereitung der Prüfkörper.....	14
3.1.1	Studiendesign .....	14
3.1.2	Putzmedium / Zahnpasten .....	14
3.1.3	Herstellung der Dentinprüfkörper .....	16
3.1.4	Festlegung der Versuchsflächen.....	18
3.1.5	Erzeugung von Erosion .....	19
3.1.6	Flussdiagramme zu den Versuchsabläufen .....	19
3.2	Zahnputzsimulation .....	22
3.2.1	Beschreibung des Zahnbürstsimulators.....	22
3.2.2	Einstellung der Parameter und Montage der Prüfkörper.....	23
3.2.3	Wasserbasiertes Versuchsmodell .....	24
3.2.4	Speichelbasiertes Versuchsmodell .....	25
3.3	Rasterelektronenmikroskop (REM).....	26

3.3.1	Quantitative Analyse des Tubuliverschlussgrades .....	26
3.3.1	Qualitative Analyse des Tubuliverschlussgrades .....	27
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>28</b>
4.1	Wasserbasiertes Modell .....	28
4.1.1	Quantitative Ergebnisse.....	28
4.1.2	Qualitative Ergebnisse.....	32
4.2	Speichelbasiertes Modell.....	38
4.2.1	Quantitative Ergebnisse.....	38
4.2.2	Qualitative Ergebnisse.....	45
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>57</b>
5.1	Kritische Betrachtung der eigenen Untersuchung (Methodendiskussion) .....	57
5.1.1	Gestaltung der Prüfkörper und Abdeckung der Referenzfläche .....	57
5.1.2	REM-Abbildungen und Elementanalysen.....	58
5.1.3	Gebrauchsdauer und Anpressdruck der Handzahnbürste.....	59
5.1.4	Die Wahl der Zahnpasten.....	59
5.2	Wasserbasiertes Versuchsmodell.....	60
5.2.1	Putzdauer, Verdünnung und Prüfkörperreinigung .....	60
5.2.2	EDX (wasserbasiertes Versuchsmodell) .....	62
5.3	Speichelbasiertes Versuchsmodell.....	63
5.3.1	Die einzelnen Zahnpasten und Speichel.....	63
5.3.2	Die Zahnpasten im Vergleich.....	67
5.4	Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den Ergebnissen aus der Literatur .....	68
5.4.1	<i>In-vivo</i> -Vergleich: .....	69
5.4.2	<i>In-situ</i> -Vergleich: .....	71
5.4.3	<i>In-vitro</i> -Vergleich:.....	71
5.5	Schlussfolgerung .....	73
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>74</b>

## Inhaltsverzeichnis

---

<b>7</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>80</b>
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF</b> .....	<b>81</b>

# 1 Zusammenfassung

## 1.1 Deutsche Zusammenfassung

**Ziele:** Die vorliegende *In-vitro*-Untersuchung beschäftigt sich mit dem Einfluss verschiedener, kommerziell verfügbarer Zahnpasten auf das Dentin. Das Ziel dieser Untersuchung ist zu prüfen, ob ein Tubuliverschluss im Dentin durch die verschiedenen Zahnpasten stattfindet. Der Einfluss des Hydroxylapatits als Zahnpasta-Inhaltsstoff steht dabei im Vordergrund. Daraus resultiert ein vergleichender Versuchsaufbau von zwei Zahnpasten, die Hydroxylapatit enthalten, und zwei Zahnpasten, die kein Hydroxylapatit enthalten.

**Materialien und Methoden:** Für den *In-vitro*-Versuch wurden humane Dentinprüfkörper in quadratischer Form (Kantenlängen ca. 6 mm) hergestellt. Die Prüfkörperoberfläche wurde für 15 s mit Phosphorsäure geätzt, um die Dentintubuli zu eröffnen. Es wurden zwei Versuchsmodelle entworfen. Ein wasserbasiertes Versuchsmodell diente zur Festlegung der für den nachfolgenden speichelbasierten Versuch adäquaten Putzdauer (10 Sekunden, 1 Minute oder 1 Stunde), der nach dem Putzen durchzuführenden Reinigung mit Wasser (Absprühen mit Multifunktionsspritze oder Laborspritzflasche) und dem Verhältnis der Verdünnung Zahnpasta zu Wasser (1:3 oder 1:10). Als Ergebnis wurden für das speichelbasierte Versuchsmodell eine Putzdauer von 1 min, eine Verdünnung Zahnpasta zu Speichel von 1:3 und die Reinigung der Prüfkörper anhand einer Laborspritzflasche festgelegt. Für das speichelbasierte Versuchsmodell wurden die Prüfkörper-Versuchsflächen in einer Zahnputzmaschine 1 Minute lang unter stetiger Zahnpasta-Zufuhr geputzt. Folgende Zahnpasten kamen zum Einsatz: hydroxylapatithaltige Zahnpasta (Apatit-Paste), hydroxylapatithaltige und fluoridhaltige Zahnpasta (Apatit-Fluorid-Paste), fluoridhaltige Zahnpasta (Fluorid-Paste) und hydroxylapatitfreie und fluoridfreie Zahnpasta (Basispaste). Je acht Prüfkörper wurden mit einer der vier mit destilliertem Speichel verdünnten Zahnpasten im Verhältnis 3:1 geputzt. Putzen mit Speichel diente als Kontrolle. Die Prüfkörper wurden mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM) und mittels elektronendispersiver Röntgenanalyse (EDX) analysiert. Der Dentintubuli-Verschlussgrad wurde quantitativ anhand der REM-Bilder bei 1000facher Vergrößerung visuell fünfstufig kategorisiert (1 = Tubuli offen; 2 = Tubuli teilweise offen, 3 = Tubuli teilweise offen und teilweise geschlossen, 4 = Tubuli teilweise geschlossen, 5 = geschlossen) und ein Median ermittelt. Die EDX-Analyse ermöglichte die Untersuchung der Zusammensetzung des tubulären Inhalts bei 5000facher Vergrößerung.

**Ergebnisse:** Anhand des wasserbasierten Versuchs wurde eine Putzdauer von einer Minute, eine Verdünnung von 1:3 und das Absprühen der Prüfkörper mit einer Laborspritzflasche für den speichelbasierten Versuch festgelegt. Im speichelbasierten Versuch zeigten die Bilder der REM-Analyse bei allen Zahnpasten offene und teilweise verschlossene Dentinkanälchen. Bei der Apatit-Paste war der Verschlussgrad auf geputzten Flächen mit einem Median-Score von 3,5 am höchsten. Beim Putzen mit Speichel traten keine Tubuliverschlüsse auf den Versuchsflächen auf (Median-Score 1). Die Fluoridpaste wies Verschlussgrade bis Min-Score: 1 und Max-Score: 4 auf, die den Median-Score auf 2 festlegten. Der Median-Score der Apatit-Fluorid-Paste und Basispaste lag bei 1,5. Die Elementanalyse zeigte, dass bei Tubulieinschlüssen entweder die Calcium- und Phosphatwerte erhöht waren oder der Siliziumwert erhöht war. Im Durchschnitt ergab die Apatit-Paste von allen mit Zahnpasta geputzten Proben intratubulär die höchsten P- (9,8 Gew.-%) und Ca- (18,7 Gew.-%) Werte, Si (6 Gew.-%) war auch stark vertreten (Apatit-Fluorid-Paste: P = 5,3; Ca = 8,5; Si 8,9 Gew.-%; Fluoridpaste: P = 2; Ca = 3,8; Si 14,4 Gew.-%; Basispaste: P = 7,3; Ca = 12,2; Si 2,2 Gew.-%). Die hohen P- (11,9 Gew.-%) und Ca- (21,4 Gew.-%) Werte der Speichelproben ergaben sich aus der Messung der Tubuliwände, die Tubuli waren leer (Median-Score 1). Die Ergebnisse der EDX-Analyse und insbesondere das Vorkommen des Elements Silizium als Bestandteil von Putzkörpern weisen auf eine Einlagerung von Substanzen aus der Zahnpasta in die Dentintubuli hin.

**Schlussfolgerung:** Zahnpasten ermöglichen durch ihre Anwendung keinen vollständigen Verschluss der Dentintubuli. Hinsichtlich des Verschlussgrades weisen die untersuchten Zahnpasten jedoch Unterschiede auf. Die Erhöhung des Anteils von Hydroxylapatit in der Zahnpasta führt zu einem stärkeren Eintrag von Hydroxylapatit in die Dentintubuli.

## 1.2 Abstract

**Title:** *In-vitro* study on the influence of commercially available toothpastes on the closure of dentine tubules.

**Aim:** This in-vitro study analyses the influence of different, commercially available toothpastes on human dentine. The aim is to find out if toothpastes are able to seal dentine tubules. The influence of hydroxyapatite is in the focus. The comparison of two toothpastes with hydroxyapatite and two without hydroxyapatite define the structure of this analysis.

**Materials and methods:** Quadrate, human, dentine specimens were produced for this in vitro study. The surface of a specimen was eroded by phosphorous acid for 15 s to ensure opened dentine tubules. The preliminary water-based test was required to find the adequate cleaning time (10 sec, 1 min or 1 h), cleaning method of the specimens after brushing (multifunctional syringe or laboratory squeeze bottle) and dilution ratio (1:3 or 1:10) for the main experiment. 1 min, 1:3 dilution and laboratory squeeze bottle were subsequently chosen for the saliva-based test. For the main experiment the specimens were brushed for 1 minute in a brushing machine supplying constantly toothpaste reagent. Four, with filtered saliva at a ratio of 3:1 diluted, toothpastes were tested respectively on 8 specimens. These toothpastes were: toothpaste containing hydroxyapatite (Apatit-Paste), toothpaste containing hydroxyapatite and fluoride (Apatit-Fluorid-Paste), toothpaste containing fluoride (Fluorid-Paste) and toothpaste free of hydroxyapatite and fluoride (Basispaste). Further 8 specimens were brushed only with saliva as control group. Afterwards the specimens were quantitatively analyzed by a SEM and EDX. The degree of tubule closure was assigned to five categories (1 = open; 2 = partly open, 3 = partly open and partly closed, 4 = partly closed, 5 = closed) by visual consideration of the respective REM-photographic images (magnification 1000x) and the Median of every reagent group was determined. Qualitative analysis was possible by EDX (magnification 5000x).

**Results:** According to the preliminary water-based test a cleaning time of 1 minute, the specimen cleaning by laboratory squeeze bottle and a dilution ratio of 1:3 were determined for the saliva-based experiment. The pictures of the SEM analysis in the main experiment showed in all toothpaste reagents opened or almost closed tubules. The Apatit-Paste had the highest degree of tubule closure on cleaned surfaces (Median Score 3,5). Cleaning with Saliva (Speichel) didn't have any effect on the tubules (Median Score 1). Fluorid-Paste had different degrees of tubule closure that fixed the Median Score on 2. The Median Score of Apatit-Fluorid-

Paste and Basispaste was 1,5. The EDX revealed that in closed tubules calcium and phosphate concentrations were high or silicon concentration was high instead. Apatit-Paste had the highest P- (9,8 Gew.-%) und Ca- (18,7 Gew.-%) values, Si (6 Gew.-%). (Apatit-Fluorid-Paste: P = 5,3; Ca = 8,5; Si 8,9 Gew.-%; Fluorid-Paste: P = 2; Ca = 3,8; Si 14,4 Gew.-%; Basispaste: P = 7,3, Ca = 12,2, Si 2,2 Gew.-%). The high P- (11,9 Gew.-%), Ca- (21,4 Gew.-%) value of Saliva test samples were the result of measurement of the naked tubule walls, the tubules were empty (Median Score 1). The results of the EDX-analysis and the existence of silicon as toothpaste ingredient show that toothpaste substances are enclosed into dentine tubules.

**Conclusion:** The toothpastes do not seal dentine tubules completely. The toothpastes are different concerning the degree of tubule closure. The elevation of the portion of hydroxyapatite in toothpaste enforces the inclusion of hydroxyapatite into dentine tubules.

## 2 Einleitung

Der moderne Lebensstil ist durch den ständigen Konsum von Zucker, sowie sauren Speisen und Getränken gekennzeichnet. Dies kann zu erosiven Schäden an Zahnoberflächen führen. Zusätzlich kann in Folge exponierter Dentinoberflächen Karies entstehen. Mechanischer Faktoren führen zu weiterem Substanzverlust (West und Joiner, 2014). Mechanische Faktoren sind, abgesehen von Beiß- und Mahlvorgängen, abrasive Inhaltsstoffe in den Zahnpasten. Die Abrasiva in den Zahnpasten dienen der Beseitigung des Plaque-Biofilms und anderer Auflagerungen. Durch das Zusammenspiel von Erosion und abrasiven Zahnpasten kommt es zur Schädigung der Zahnhartsubstanzen (Wiegand et al., 2013). Die häusliche, intensiv betriebene Mundhygiene kann somit einen unerwünschten Nebeneffekt haben.

Die Mundhygiene ist Teil des täglichen Lebens und Ausdruck der zivilisatorischen Entwicklung. Gemäß der S2k-Leitlinie zur Kariesprophylaxe aus dem Jahr 2016 (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischgesellschaften, 2016) hat, neben der Fluoridierung und der zahnärztlichen Kontrolle und Prophylaxe, der Gebrauch von Zahnbürste und Zahnpasta einen hohen Stellenwert zur Vermeidung oraler Erkrankungen. Daher wird in vielen Ländern bereits dem Nachwuchs im Kindesalter der Umgang mit Zahnpasta und Zahnbürste nahegebracht (Rossette et al., 2013). Zähneputzen soll zur Gewohnheit werden und dient der Prävention vor Kariesbefall und vor Schädigung des Zahnhalteapparates durch Gingivitis und Parodontitis. Im höheren Alter kommt es zunehmend zu freiliegendem Dentin an den Zahnkronen bzw. Wurzeloberflächen. An freiliegendem Dentin kann, durch die in den Dentintubuli enthaltenen pulpalen Nervenendigungen, Überempfindlichkeit an den Zähnen klinisch ausgelöst werden und die Kariesanfälligkeit ansteigen (Takano et al., 2003).

Dem Verbraucher steht eine große Auswahl an Mundhygieneprodukten zur Verfügung. Seit einigen Jahren werden Zahnpasten mit Hydroxylapatit-Partikeln angeboten. Hydroxylapatit ist der Hauptbestandteil des Zahnschmelzes. Durch die Verwendung hydroxylapatithaltiger Zahnpasten wird eine Regeneration vorgeschädigter Zahnhartsubstanzen behauptet (Dr-Wolff-Group; 2021).

Die vorliegende Untersuchung beschäftigt sich mit nanopartikulären, hydroxylapatithaltigen Zahnpasten und derer Effekte auf die Dentintubuli.

## 2.1 Literaturübersicht

### 2.1.1 Substanzverlust und die Folgen

Es gibt drei Formen des nichtkariösen Substanzverlustes bei Zähnen: Erosion, Attrition und Abrasion. Erosion an Zahnhartsubstanzen wird durch intrinsische Säuren, wie Magensäure, oder extrinsische Säuren, wie säurehaltige Getränke, verursacht. Attrition entsteht durch die Interaktion antagonistischer Zähne. Diese Form des Abtrages tritt altersbedingt durch Verschleiß oder als Folge von Bruxismus in Erscheinung. Abrasion bedeutet einen Substanzverlust durch äußere mechanische Beanspruchung (West und Joiner, 2014).

Zahnpasten enthalten bis auf wenige Ausnahmen passive Putzkörper mit Schmirgelfunktion (Abrasive), um Beläge besser zu entfernen. Ein erhöhter Gehalt dieser Körper in einer Zahnpasta führt zu einem erhöhten Substanzabtrag (Wiegand et al., 2013). Bei Abrasion ist zwischen Schmelz und Dentin zu unterscheiden (West und Joiner, 2014).

Der RDA-Wert gibt die Abrasivität in Zahnpasten auf Dentin an (Philipotts et al., 2005). In vielen Studien werden die RDA-Werte der jeweils untersuchten Zahnpasten nicht angegeben (Ganss et al., 2013).

Gemäß einer Studie (Wiegand et al., 2009) ist der wesentliche Abtrag von den Füllstoffen der Zahnpasta abhängig. Die Zahnbürste selbst und ihre Härte spielen eine untergeordnete Rolle. Die Andruckkraft der Handzahnbürste fällt bei durchschnittlich 1,6 N (+/-0,3 N) im Vergleich zur elektrischen Zahnbürste höher aus. Bei elektrischen Zahnbürsten liegt der Anpressdruck bei 0,9 N (+/-0,2 N), (Wiegand et al., 2013; West und Joiner, 2014).

Gemäß Addy und West (Addy und West, 2015) findet eine Untersuchung der Abrasion in der Regel in Verbindung mit Erosion statt. Der Abtrag, der sich daraus ergibt, ist messbar. Freiliegendes Dentin, das nach einem Säureangriff und Bürstvorgang eine abdeckende Schmierschicht vorweist, weist durch zusätzliche Abrasion oder erneutem Säureangriff eröffnete Dentin-Kanälchen auf. Diese eröffneten Kanälchen führen zu erhöhter Zahnempfindlichkeit. Hier ist eine Verschiebung von Demineralisation und Remineralisation zu Gunsten der Remineralisierungseffekte gegenüber der Abrasivität von Zahnpasten wünschenswert.

Die Abrasion der Zahnhartsubstanzen ist Gegenstand vieler Studien. Diese finden in der Regel *in situ* oder *in vitro* an erodierten Zahnoberflächen statt (Ganss et al., 2013; Ganss et al., 2014; Ganss et al., 2011; Ganss et al., 2009; Kishen et al., 2006; Zimmer, 2015).

Eine Studie befasst sich mit der quantitativen Analyse von Substanzverlust auf Dentin. Das Rasterelektronenmikroskop wird zur Untersuchung der Oberflächenmorphologie des Dentins empfohlen. Vergleiche peritubulärer Veränderungen vor und nach erosiven und abrasiven Einflüssen sind mit einem REM schon bei 500facher Vergrößerung möglich (Ganss et al., 2009).

### 2.1.2 Die Zahnhartsubstanzen: Schmelz und Dentin

Nach dem Zahndurchbruch ist eine zelluläre Regeneration von Schmelzoberflächen nicht möglich. Nach der Phase der Zahnentwicklung sterben die schmelzgenerierenden Ameloblasten ab. Der Schmelz ist aus Prismen aufgebaut. Diese Prismen sind geometrischen Körper, die Kristallite bilden. Das Hydroxylapatit,  $\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO})_3$ , stellt die anorganische Grundsubstanz des Schmelzes dar. Am ausgereiften Schmelz macht dieser anorganische Anteil 96 Gew.-% aus (Sun et al., 2014).

Der Schmelz unterliegt chemischen und mechanischen Alterungsprozessen. Chemisch führen erosive Einflüsse zum Herauslösen von Calcium und Phosphationen. Die Regeneration initialer Defekte auf der molekularen Ebene ist chemisch möglich und findet auf natürliche Weise durch Calcium- und Phosphationen aus dem Speichel statt. Strukturelle Veränderungen, d.h. Verlust oberflächlichen Schmelzes kann bisher nicht regenerativ ausgeglichen werden (Sun et al., 2014; Hannig M. und Hannig C., 2010).

Eine verbesserte Schmelzregeneration auf molekularer Ebene ist durch Erhöhung der Konzentration der fehlenden Ionen durch Calciumsilikat- und natriumphosphathaltigen Zahnpasten, einschließlich der weit verbreiteten Fluoride, möglich (Hannig M. und Hannig C., 2010; West und Joiner, 2014).

Die dentinbildenden Odontoblasten befinden sich nach der Zahnentwicklung und dem Zahndurchbruch im Pulpenkavum. Altersbedingt oder durch äußere Reize, wie Temperaturveränderung, Karies oder Bruxismus, bilden Odontoblasten in Richtung Pulpahöhle Prädentin aus, das zu Dentin mineralisiert. Die Fortsätze der Odontoblasten verlaufen durch die vom Pulpenkavum in die zur Peripherie bis zur Schmelz-Dentin-Grenze ziehenden Dentinkanälchen. Die Flüssigkeitsverschiebung in diesen Dentinkanälchen ist nach der hydrodynamischen Brännströmschen Theorie für das Reizempfinden des Zahnes verantwortlich. Die Eröffnung der Tubuli kann zu einer Hypersensibilität des Zahnes führen. Eine Neubildung des peripheren Dentins ist nicht mehr möglich (Brännström et al., 1968).

Dentin besteht zu 18 Gew.-% aus organischer Matrix. Der anorganische Mineralanteil liegt bei über 70 Gew.-% und der Wasseranteil bei 12 Gew.-%. Der anorganische Mineralanteil besteht

überwiegend aus Hydroxylapatit. Dieses Hydroxylapatit ist in einem Gerüst aus Kollagenen des Typs I eingelagert. Das Kollagengerüst ist Teil der organischen Strukturen des Dentins. Das Dentin ist durch das Kollagengerüst elastisch und hat zugleich, durch die eingelagerten Hydroxylapatite, eine hohe mechanische Festigkeit. Die äußerste Dentinschicht bildet das Manteldentin. Darunter befindet sich das zirkumpulpale Dentin. Das zirkumpulpale Dentin beinhaltet das peritubuläre Dentin und intertubuläre Dentin. Das intertubuläre Dentin bildet die Dentin- Hauptmasse und ist weniger mineralisiert als das peritubuläre Dentin. Das peritubuläre Dentin umgibt die Dentinkanälchen und ist stark mineralisiert. In den Dentinkanälchen liegen die Odontoblastenfortsätze. Zur Pulpa hin liegt ein schwach mineralisierter Bereich mit Prädentin. Darunter befinden sich die Odontoblasten (Gühring und Barth, 1992).

Freiliegendes Dentin ist durch Magensaft angreifbar. Magensaft hat einen niedrigen pH-Wert und enthält proteolytische Enzyme wie Trypsin und Pepsin. Durch Reflux oder Erbrechen gelangt der Magensaft in die Mundhöhle. Die Säure löst den anorganischen Anteil des Dentins. Die Enzyme greifen die organischen, von den Kollagenfibrillen gebildeten, Anteile des Dentins an. Unmittelbare mechanische Beanspruchung dieser Zone durch das Zähnebürsten führt zu Substanzverlust. Dies geschieht nahezu unabhängig von der angewandten Kraft. Der Substanzverlust ist auf den proteolysierten Bereich begrenzt (Schlueter et al., 2012).

Eine Remineralisierung des Dentins nach einer rein erosiven Schädigung ist von verfügbaren Calcium- und Phosphationen abhängig. Eine mechanische Wiederherstellung des Dentins ist nur durch tiefdringende Bindung an die Dentinmatrix möglich. Bei einer oberflächlichen Ausfällung und Anlagerung ist eine mechanische Wiederherstellung nicht möglich. Es gibt bisher keine Möglichkeit der mechanisch gleichwertigen Wiederherstellung des Dentingefüges (Bertassoni et al., 2010; Bertassoni et al., 2009; Hannig M. und Hannig C., 2010).

### 2.1.3 Verschiedene Füllkörper in Zahnpasten

Zahnpasten unterscheiden sich erheblich in ihrer Zusammensetzung. Einige Inhaltsstoffe haben eine chemische Funktion. Sie interagieren mit dem Schmelz und mit dem Dentin. Sie sind in gebundener Form in Zahnpasten enthalten und lösen sich, um dann wiederum an die Zahnhartsubstanz zu binden oder sie verbinden sich erst und fallen dann als haftender Niederschlag aus. Dabei kommt es zur Bildung einer chemisch gebundenen Schutzschicht mit Ionenspeicher- und Säurepufferfunktion (Gjorgievska et al., 2013; Moron et al., 2013; Amaechi und van Loveren, 2013).

Die Zahnhartsubstanzen unterliegen einer Demineralisation und einer Remineralisation. Das Prinzip der Remineralisation beruht auf dem Austausch oder Einbau der verschiedenen

Hydroxylapatitkomponenten ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ ). Calcium kann durch Natrium, Magnesium und Zink ersetzt werden. Das Phosphat kann durch Karbonat und die Hydroxylgruppe durch Fluorid ersetzt werden (West und Joiner, 2014; Amaechi und van Loveren, 2013). Fluorid ist in Zahnpasten ein häufig verwendeter Wirkstoff. Fluorid wirkt erosiven Einflüssen sowohl im Schmelz als auch im Dentin entgegen (Bertassoni et al, 2009). Ziel ist es, Fluorhydroxylapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ) an der Oberfläche zu bilden. Dazu werden zusätzlich zum Fluorid hohe Mengen an Calcium und Phosphat benötigt (Reynolds, 2008; Hannig M. und Hannig C., 2010). Fluorhydroxylapatite sind im sauren Milieu weniger löslich als natürliches Hydroxylapatit. Dies ist für die Säureresistenz von Vorteil (Shellis und Wilson, 2004; Bertassoni et al., 2009; Amaechi und van Loveren, 2013). Verbreitete Fluoridverbindungen in Zahnpasten sind Natriumfluorid, Natriummonofluorphosphat, Aminfluorid, Aluminiumfluorid und Zinnfluorid. (Amaechi und van Loveren, 2013).

Weitere anorganische wie organische Inhaltsstoffe sollen die Remineralisation verbessern. Fügt man einer Zinnfluoridzahnpasta Chitosan, ein Biopolymer aus Glucosaminen bei, hebt es sich vom vergleichbaren Natriumfluorid am Schmelz ab. Es wird vermutet, dass Chitosan eine Carrier-Funktion und eine hohe Bindungsaffinität zu Schmelz hat (Ganss et al., 2012). Am Dentin sind die Remineralisationseffekte einer chitosanhaltigen Zahnpasta vergleichbar mit einer natriumfluoridhaltigen Zahnpasta (Ganss et al., 2014).

Eine *in-situ*-Studie (Joiner et al., 2014) verbindet ein zweiphasiges Gel aus Calciumsilikat, Phosphat und Fluoriden mit einer ähnlich zusammengesetzten Zahnpasta. Nach mehrtägiger Anwendung der Gel-Zahnpasta-Mischung kommt es zu einer Erhöhung der Schmelzhärte.

Weitere Verbindungen in Zahnpasten sind Calcium-Natrium-Phosphat-Silikat (Bioglass), Nano-Hydroxylapatite oder Strontium-Acetat auch in Kombination mit Fluoriden. Auf Schmelz werden durch diese Verbindungen Remineralisationseffekte beobachtet (Gjorgievska et al., 2013). Das in Zahnpasta vorhandene Bioglass, amorphes Calciumphosphat oder Casein-Phosphopeptid-amorphes Calciumphosphat verringert gemäß einem Review (Reynolds, 2008) die Dentinhypersensibilität. Nach einer Studie (Wang et al., 2011) induziert Bioglass (calcium-sodium-phosphosilicatebioactiveglass) die Bildung von karbonisierten Hydroxylapatiten (C-HAP). Besonders in offenen Dentintubuli führt das zu einem stabilen Verschluss. Das zusätzlich eingelagerte Silikat ist dabei entscheidend für die Stabilität des Tubuliverschlusses. Andere Reagenzien zum Tubuliverschluss sind Strontiumsilikat, Arginin und Calciumcarbonat. Arginin und Calciumcarbonat bilden einen hydroxylapatitartigen Verschluss durch Calcium und Phosphat aus, der säurelöslich ist und somit eine regelmäßige Anwendung erfordert. Der

Nachweis der Wirkung Pulpa-beruhigenden Kaliumnitrats bei offenen Dentintubuli steht noch aus (Addy und West, 2015).

Die Wechselwirkungen der chemisch aktiven Komponenten in Zahnpasten untereinander oder mit den abrasiven Zusätzen sind bisher nicht ausreichend geklärt (Ganss et al., 2013). Nano-Hydroxylapatitzahnpasta hemmt in Kombination mit Fluorid dessen Verfügbarkeit (Ganss et al., 2013). Weiterhin kann nicht ausgeschlossen werden, dass Abrasiva derselben Zahnpasta durch mechanischen Einfluss die chemisch erfolgten additiven Prozesse auf der Dentinoberfläche wieder zunichtemachen (Amaechi und van Loveren, 2013).

Einige Substanzen weisen mechanische Funktionen auf. Dadurch soll insbesondere anhaftende Plaque auf der Zahnoberfläche abgeschrubbt werden. Die Abrasivität dieser Substanzen ist ein Nebeneffekt. Das Ausmaß des Abriebs ist von Menge und Beschaffenheit jener Füllstoffe abhängig (Pascaretti-Grizon et al., 2013). Natriumbikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) ist eine abrasive Substanz. Natriumbikarbonat ist seit langem in Gebrauch. Es ist wasserlöslich, seine Abrasivität wird in der feuchten Mundhöhle als unbedenklich angesehen (Pascaretti-Grizon et al., 2013).

Titaniumdioxid-Nanopartikel lösen sich unter Feuchteeinwirkung nicht auf. Sie sind in Zahnpasten und auch in anderen Pflegeprodukten enthalten. Eine Toxizität ist bisher nicht nachgewiesen, aber auch bisher nicht vollständig auszuschließen (Weir et al., 2012). Sehr häufig finden sich abrasive Putzkörper wie Siliziumdioxid, Aluminiumoxid, Calciumpyrophosphat, Calciumkarbonat und Silikatverbindungen wie Aluminiumsilikat in Zahnpasten (Schemehorn et al., 2011). Silikatverbindungen reichern sich in Dentintubuli an. Dadurch erhöhen sie die Säurebeständigkeit hinsichtlich einer Wiedereröffnung (Addy und West, 2015). Es gibt Zahnpasten mit Gold- und Silberpartikeln. Silbernanopartikel besitzen im Gegensatz zu Gold eine bakterizide Wirkung. Das bakterizide Zinknitrat ist vergleichsweise effektiv und wird daher ebenfalls verwendet (Junevičius et al., 2015).

### 2.1.4 Hydroxylapatit

Hydroxylapatite  $\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$  sind Hauptbestandteil des Knochens, des Dentins und des Zahnschmelzes. Die Abhängigkeit vom pH-Wert und von den Konzentrationsgefällen in der Umgebung ist der Angelpunkt für die De- und Remineralisationsprozesse der Hydroxylapatite der Zahnhartsubstanzen. Calciumarme und karbonatreiche Apatite sind säureanfällig. Im Vergleich ist die Säureanfälligkeit fluoridhaltiger Apatite reduziert (West und Joiner, 2014).

Folgendes zu Hydroxylapatiten ist in einer Studie zum gesundheitlichen Risiko von Hydroxylapatit-Protein-Kompositen (Scheel und Hermann, 2011) zusammengefasst:

- In Zahnpasten, häufig in denen gegen Zahnempfindlichkeit, kommen Hydroxylapatite in synthetischer Form vor, beispielsweise mit durchschnittlich 0,1 % als Hydroxylapatitkomposite. Diese werden aus Calciumchlorid-Dihydrat, Gelatine und Ammoniumphosphat synthetisiert.
- Hydroxylapatit wird in der Implantologie als Knochenersatzmaterial verwendet.
- Gleich welcher Formen und Größen gibt es grundsätzlich keine Bestätigung für Anzeichen von Toxizität oder Unverträglichkeiten.
- In der Pharmakologie und Biochemie macht man sich die hohe Bindungsfreudigkeit des Hydroxylapatites (HA) in Nanoform an DNA und Proteine zu Nutze.
- Hydroxylapatit löst sich in Wasser, im neutralen und alkalischen Milieu nicht, dafür unter sauren Bedingungen ab einem pH-Wert von 5,2 und niedriger.
- Auch die Konzentration von Phosphat- und Calciumionen ist bezüglich der Löslichkeit des Hydroxylapatites und der Sättigung im Speichel relevant.

Beschrieben wird (Jin et al., 2013), dass nano-Hydroxylapatite sich als Apatitkristallanhäufungen auf der Schmelzoberfläche aufschichten und zu aufhellenden Effekten am Zahn führen. Ein Bleaching durch abrasionsbedingte Oberflächenaufrauung wird dementiert. Zahnpasten mit nano-Hydroxylapatit sind nicht auffallend abrasiv. Die Anhaftung von Hydroxylapatiten an die Dentintubuliöffnungen führt zu deren Verschluss und trägt zur Verringerung von Hypersensitivitäten bei (Wang et al., 2011). Nano-Hydroxylapatite besitzen eine hohe Proteinaffinität. Analog zu Hydroxylapatit verhält sich Calciumhydroxid. Es bindet durch seine Proteinaffinität an Dentin. Der oberflächliche Verschluss der Tubuli allein ist auf Dauer nicht beständig, da er mechanischen Einwirkungen nicht standhält (Bartold, 2006). Grundsätzlich macht eine zu abrasive Zahnpasta jede Form des äußerlichen Tubuliverschlusses oder der Bildung einer Oberflächenschutzschicht wieder zunichte (Moron et al., 2013). Hydroxylapatite kommen in manchen Zahnpasten, z.B. Apacare (Cumdente, Tübingen), als nano-Hydroxylapatite (n-HA) und als Zinkkarbonat-nano-Hydroxylapatite ( $\text{ZnCO}_3/\text{n-HA}$ ), z.B. Biorepair und Biorepair Sensitive, vor (Tschoppe, 2011). Eine Studie (Aykut-Yetkiner et al., 2014) vergleicht die n-HA-haltigen Zahnpasten BioRepair und Apacare sowie weitere ohne n-HA auf Dentin. Fast alle Zahnpasten zeigten vergleichbare Substanzverlustwerte. Für BioRepair wurden höhere Substanzverlustwerte ermittelt.

Die Fluoridverfügbarkeit einer Zahnpasta wird durch nano-Hydroxylapatite reduziert (Ganss et al., 2013). Nano-Hydroxylapatite mit einer Größe von 20 nm zeigen eine deutliche Bindungsaffinität zu Dentin (Ganss et al., 2013). Die Verbindung von nano-Hydroxylapatit mit

Proteinen wie Amelogenin, Asparginsäure, Alanin, Arginin oder Tensiden sind vielversprechend. Diese Ansätze scheitern jedoch *in-vivo* bei der Frage nach der Beständigkeit der chemisch erzielten Veränderungen gegenüber mechanischen Einflüssen (Hannig M. und Hannig C., 2010; Ganss et al., 2011).

### 2.1.5 Der Speichel

Der menschliche Speichel besteht zu 99,5 % aus Wasser. Proteine, Ionen und Enzyme sind weitere Bestandteile des Speichels (Roblegg et al., 2019). Pro Tag variiert die Menge an produziertem Speichel zwischen 0,5 bis 1,5 Liter. Produziert wird der Speichel tageszeitabhängig in den Speicheldrüsen. Die großen Speicheldrüsen sind die paarig auftretenden Ohrspeicheldrüsen (Glandula parotidea), die Unterkieferspeicheldrüsen (Glandula submandibularis) und die Unterzungspeicheldrüse (Glandula sublingualis). Kleinere Speicheldrüsen verteilen sich an der Gaumen-, Rachen-, Wangen- und Zungengrundschleimhaut. Man unterscheidet serösen und mukösen Speichel. Der seröse Speichel hat eine verdünnende Funktion. Der muköse Speichel enthält viel Mucine. Mucine sind Eiweißproteine, die für den Schleimüberzug auf den Schleimhäuten verantwortlich sind. Es kommen im Speichel außerdem Ammoniak, Harnsäure, Harnstoff, Folsäure und Vitamin C vor. Enthaltene Enzyme sind die Alpha-Amylase zur Spaltung von Kohlenhydraten und die Lipase zur Verdauung von Fett. An Ionen finden sich Calcium, Phosphat, Magnesium, Kalium und Natrium im Speichel (Psychirembel, 2002; Klinke & Silbernagel, 2005). Durch diese Ionen hat der Speichel eine Remineralisationsfunktion auf den Zahnoberflächen. Abgesehen von den Mucinen sind Immunglobuline des Typs A (IGA), Beta-2-Mikroglobuline und Lactoferine weitere Enzyme des Speichels (Richards et al., 2017 ; Sevon et al., 2008).

## 2.2 Ziel der Arbeit / Fragestellung

Es ist bekannt, dass nano-Hydroxylapatite eine hohe Bindungsaffinität zu Proteinen haben und ein oberflächlicher Verschluss der Dentintubuli möglich ist. Jedoch wäre die Infiltration der n-HA in die Kanälchen und Bindung an die organischen Bestandteile, in Anbetracht der teilweise kontraproduktiven Abrasionseffekte von Zahnpasten beim Bürsten, günstiger. Daher sollen speziell Einlagerungen in die Dentintubuli durch Putzen mit verschiedenen Zahnpasten nachgewiesen und verglichen werden, um folgender Nullhypothese auf den Grund zu gehen:

**Zwischen den untersuchten Zahnpasten gibt es keinen Unterschied für den Verschluss der Dentintubuli nach dem Putzen.**

## 3 Material und Methode

### 3.1 Herstellung und Vorbereitung der Prüfkörper

#### 3.1.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine experimentelle *In-vitro*-Studie. Diese *In-vitro*-Studie wurde im Labor der Universität des Saarlandes in Homburg (Saar) durchgeführt.

#### 3.1.2 Putzmedium / Zahnpasten

Es wurden vier unterschiedliche Zahnpasten für diese Untersuchung ausgewählt und kodiert.

Die Unterschiede bestanden darin, ob Hydroxylapatit und/oder Fluorid enthalten war.

Genauere Beschreibungen dazu sind in Tabelle 1 und Tabelle 2 aufgeführt.

Alle Zahnpasten wurden im Rahmen des wasserbasierten Versuches im Verhältnis 1:3 und 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnt.

Alle Zahnpasten wurden für den speichelbasierten Versuch im Verhältnis 1:3 mit filtriertem Speichel verdünnt.

Destilliertes Wasser (wasserbasiertes Versuchsmodell) bzw. filtrierter Speichel (speichelbasiertes Versuchsmodell) diente als fünftes Putzmedium für die Kontrollgruppe.

**Tabelle 1** Verwendete Zahnpasten und Inhaltsstoffe gemäß Packungsangaben

<b>hydroxylapatithaltige Zahnpasta<sup>1</sup></b>	<b>hydroxylapatit- und fluoridhaltige Zahnpasta<sup>2</sup></b>	<b>fluoridhaltige Zahnpasta<sup>3</sup></b>	<b>Basis-Zahnpasta<sup>4</sup></b>
H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	Glycerin
ZincHydroxyapatite	Sorbitol	HydratedSilica	H <sub>2</sub> O
Hydrated Silica	HydratedSilicia	Sorbitol	Silica
Glycerin	Hydroxylapatite	Glycerin	Algin
Sorbitol	Silicia	PEG-12	Calendula Officinalis Flower Extract
Silica	Disodium Pyrophosphat	Pentasodium-Triphosphate	PrunusAmygdalus-Dulcis Oil (Mandelöl)
Aroma	Polaxamer 188	Tetrasodium Pyrophosphate	Esculin
Cellulose Gum	PEG-32	SodiumLauryl Sulfate	Aroma
Sodium MyristoylSarcosinate	Sodium Lauryl Sulfate	Aroma	Limonene
Sodium Methyl CocoylTaurate	Pentasodium Triphosphate	Cellulose Gum	
Tetrapotassium Pyrophosphate	Tetrapotassium Pyrophosphate	Cocamidopropyl-Betaine	
Zinc PCA	Aroma	Sodium Fluoride	
Sodium Saccharin	Cellulose gum	Sodium Saccharin	
Phenoxyethanol	Sodium Fluoride	Polyethylene	
Benzyl Alcohol	Titanium Dioxide	Xanthan Gum	
Propylparaben	Aluminium Lactate	Sodium Hydroxide	
Methylparaben	Sodium Saccharin	Limonene	
Citric Acid	Methylparaben	CI 74160	
Sodium Benzoate	Propylparaben	CI 42090	
	Eugenol		
	Limonene		

<sup>1</sup> Biorepair

<sup>2</sup> Lacalut White and Repair

<sup>3</sup> Colgate Max White

<sup>4</sup> Weleda Sole

**Tabelle 2** Beschreibung der genutzten Prüfmittel / Zahnpasten, Beschriftung und Kodierung im Versuchsverlauf

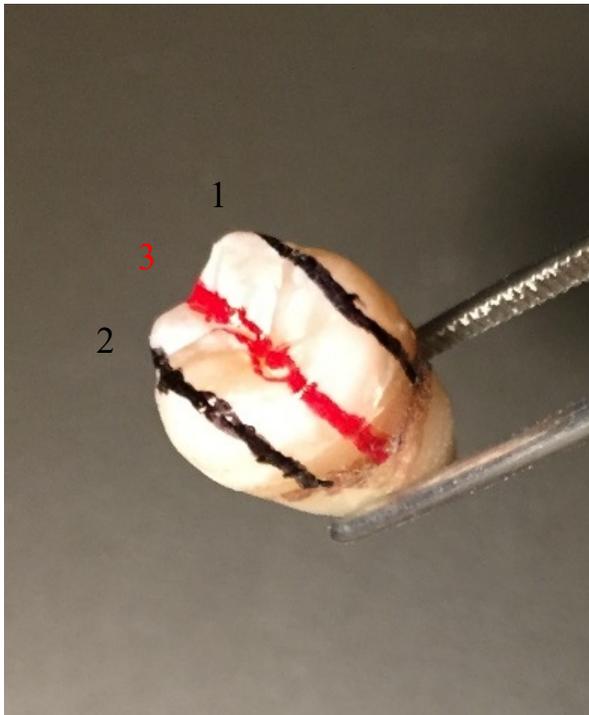
<b>Prüfmittel / Zahnpasta</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Eigenschaften</b>
Biorepair (Dr. Kurt Wolff GmbH & Co. Kg, Bielefeld, Deutschland)	Apatit-Paste	fluoridfrei, hydroxylapatithaltig (20 % laut Herstellerangaben)
Lacalut white and repair (Dr. Theiss Naturwaren GmbH, Homburg, Deutschland)	Apatit-Fluorid-Paste	fluoridhaltig, hydroxylapatithaltig
Colgate Max White One Active (CP Gaba, Hamburg, Deutschland)	Fluorid-Paste	fluoridhaltig, hydroxylapatitfrei
Weleda Sole-Zahncreme (Weleda AG, Schwäbisch Gmünd, Deutschland)	Basis-Paste	fluoridfrei, hydroxylapatitfrei
Referenzgruppe steriles Wasser (Braun AG, Melsungen, Mat. Deutschland) / filtrierter Speichel	Wasser/ Speichel	destilliertes Wasser/ filtrierter Speichel

### 3.1.3 Herstellung der Dentinprüfkörper

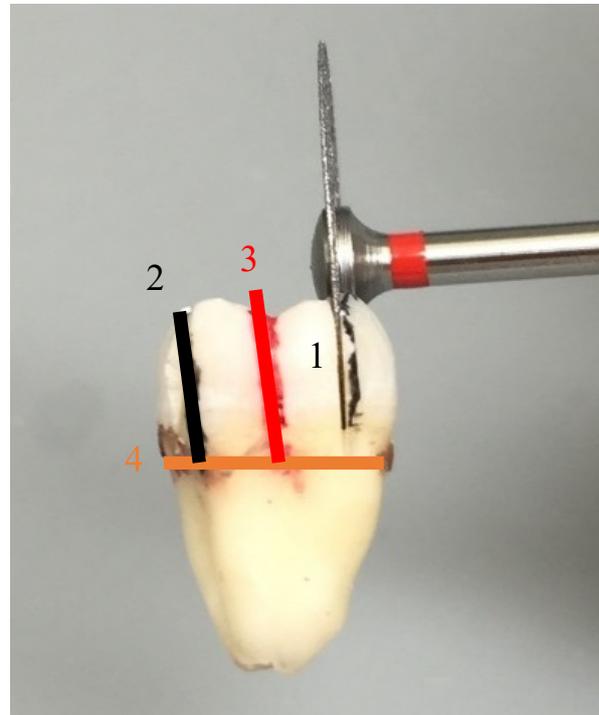
Für die Prüfkörperherstellung wurden frisch extrahierte, kariesfreie und unbehandelte humane Weisheitszähne verwendet. Die Wurzeloberflächen der Weisheitszähne wurden nach der Extraktion grob mit Scalern und Einmalskalpellen von desmodontalem Gewebe befreit, unter fließendem Leitungswasser gereinigt und in Sammelboxen gelagert. Die Sammelboxen enthielten 1%ige Thymollösung (Fluka Chemie AG CH-Buchs, Schweiz).

Aus den bukkalen und oralen Kronenanteilen der Weisheitszähne wurden ungefähr 6 x 6 mm große Dentinprüfkörper präpariert. Mit einem roten und einem schwarzen permanent Marker (Edding, Ahrensburg, Deutschland) wurden die Schnittführungen angezeichnet (Siehe Abb. 1 und 2). Die Präparation wurde hochoberflächlich mit einer Trennscheibe H 332 300 C fein (Hop, Ringleb & CO. Berlin, Deutschland) unter maximaler Wasserkühlung durchgeführt. Erst wurden drei zur bukkalen Zahnfläche parallele Schnitte in mesiodistaler Richtung durch die Zahnkrone durchgeführt (Abb. 1-3). Der erste und der zweite Schnitt wurden so ausgeführt, dass die bukkalen und oralen Schmelzbereiche abgetrennt wurden. Der dritte Schnitt erfolgte genau dazwischen. Dann wurden die Wurzeln entlang der Schmelz-Zementgrenze abgetrennt,

sodass zwei ungefähr gleich starke Hälften der Zahnkrone entstanden. Mit der Diamanttrennscheibe wurden ebenfalls die approximalen Schmelzbereiche entfernt, lediglich okklusale Schmelzreste wurden belassen. Sie dienten später zur Orientierung, wurden selbst jedoch nicht weiter untersucht. Es folgte als nächster Schritt die Politur.



**Abb. 1:** Okklusale Ansicht eines zu präparierenden Weisheitszahnes. Die Zahlen 1, 2 und 3 markieren die Trennlinien. Entlang dieser Trennlinien wurden die Schnitte durchgeführt.



**Abb. 2:** Generierung zweier Prüfkörper-Rohlinge (5) durch 4 Schnitte:

1. mesio – distaler Sagittalschnitt an der oralen Schmelzlamelle
2. mesio – distaler Sagittalschnitt an der bukkalen Schmelzlamelle
3. mesio – distaler Sagittalschnitt parallel und mittig zwischen den ersten beiden Schnitten
4. Transversalschnitt zur Abtrennung des Wurzelbereiches
5. Prüfkörper-Rohling

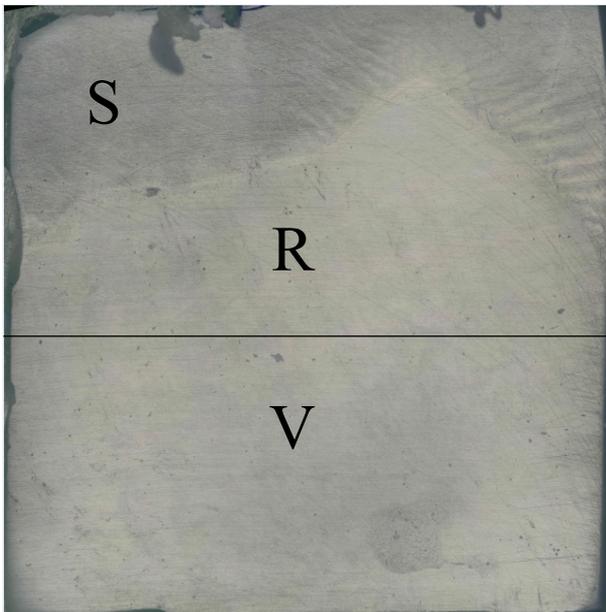
Die primäre Glättung der Prüfkörper-Rohlinge erfolgte mit Silica Carbide Schleifpapier (Buehler-Met II, Esslingen am Neckar, Deutschland) verschiedener Körnung. Das Schleifpapier wurde auf den Drehtellern des Poliergerätes Phoenix 3000 Variable Speed Grinder Polisher (Buehler, Esslingen, Deutschland) aufgespannt. Begonnen wurde bei 200 Umdrehungen pro Minute und einer Körnung von P400 über P600 bis P800 unter ständiger Wasserzufuhr. Die Feinpolitur der Prüfkörper erfolgte am selben Gerät mit Schleifpapieren feinerer Körnung, beginnend bei P1200 über P2400 bis P4000.

Die Prüfkörper wurden unter dem Mikroskop (Motic SMZ-168 Series, Hong Kong, China) bei 7,5facher Vergrößerung nach Planier- oder Polierkanten auf der Oberfläche abgesucht und gegebenenfalls nachpoliert. Die fertigen Prüfkörper hatten nach dem Schleifvorgang eine Größe von 6 x 6 x 1,5 mm und waren bis auf einen kleinen, randständigen, ehemals koronalen Anteil, völlig frei von Schmelz.

### 3.1.4 Festlegung der Versuchsflächen

Speichelbasierter Versuch:

Die quadratischen Prüfkörperoberflächen wurden in 2 Dentinhälften unterteilt (Abb. 3). Die Hälfte mit koronalen Schmelzresten wurde als Referenzfläche festgelegt. Die andere Hälfte wurde als Versuchsfläche definiert. Die Achse zwischen den beiden Hälften wurde durch eine Markierung jeweils an den Prüfkörperaußenkanten festgelegt (permanent Marker Edding, Ahrensburg, Deutschland). Beide Hälften der Prüfkörperoberfläche wurden mit 35%iger Phosphorsäure erodiert (ORBIS Dental, Münster, Deutschland).



**Abb. 3:** Bild einer quadratischen Prüfkörperoberfläche 200fach vergrößert im digitalen Mikroskop (Mat. 35); S: koronaler Schmelzrest, R: Referenzfläche, V: Versuchsfläche

Jeder Prüfkörper wurde rückseitig mit einem Permanentmarker (Edding, Ahrensburg, Deutschland), mit einem Buchstaben und einer Zahl versehen. Der Buchstabe stand für das Reagenz (zum Beispiel A für Wasser oder Speichel) und die Zahl für die Reihenfolge des Prüfkörpers.

Wasserbasierter Versuch:

Die Prüfkörper wurden mit einer Diamanttrennscheibe H 332 300 C fein (Hop, Ringleb & CO. Berlin, Deutschland) unter maximaler Wasserkühlung in zwei gleiche Hälften geschnitten. Die Achse zwischen den beiden Hälften wurde durch eine mittige Markierung am okklusalen Schmelz festgelegt (permanent Marker Edding, Ahrensburg, Deutschland). Dadurch wurde eine Verdopplung der Prüfkörperzahl erreicht. Die Prüfkörperoberflächen wurden komplett mit 35%iger Phosphorsäure erodiert (ORBIS Dental, Münster, Deutschland). Es fand keine Unterteilung in Referenz- und Versuchsfläche statt. Die gesamte polierte Prüfkörperoberfläche diente als Versuchsfläche.

### 3.1.5 Erzeugung von Erosion

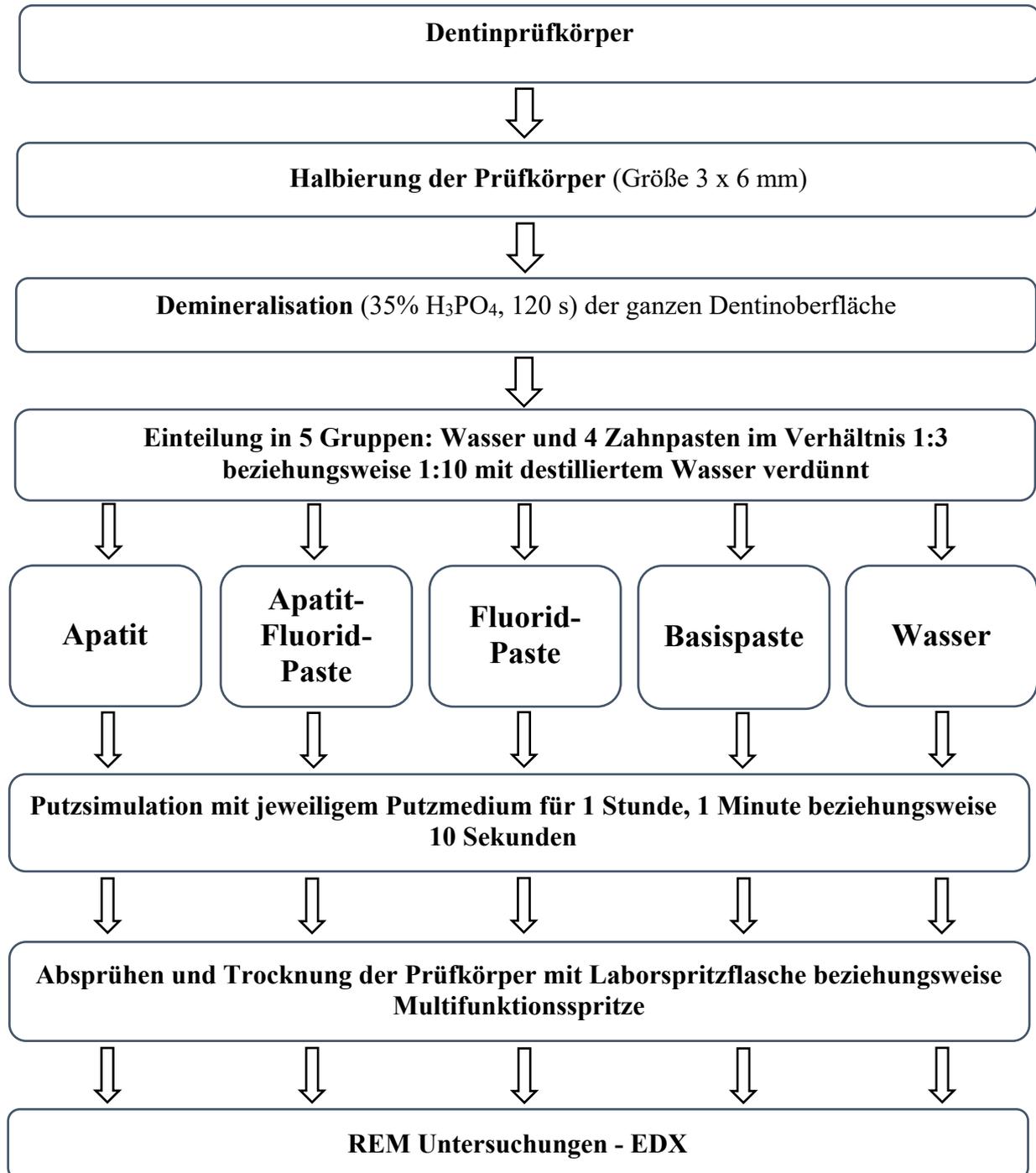
Zur Erzeugung erodierter Dentinoberflächen wurde die Prüfkörperoberfläche eines jeden Prüfkörpers für 15 s mit 37%iger Phosphorsäure (ORBIS Dental, Münster, Deutschland) geätzt und anschließend 15 s mit destilliertem Wasser (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) abgesprüht, um die Säure zu entfernen.

Im Rahmen des wasserbasierten Versuchs wurde ein Teil der erodierten Prüfkörper mit der Laborspritzflasche (Drucksprüher, Bürkle GmbH, Bad Bellingen, Deutschland) abgesprüht. Ein anderer Teil wurde mit der Multifunktionsspritze einer Dentaleinheit abgesprüht (KaVo Dental, Biberach, Deutschland).

### 3.1.6 Flussdiagramme zu den Versuchsabläufen

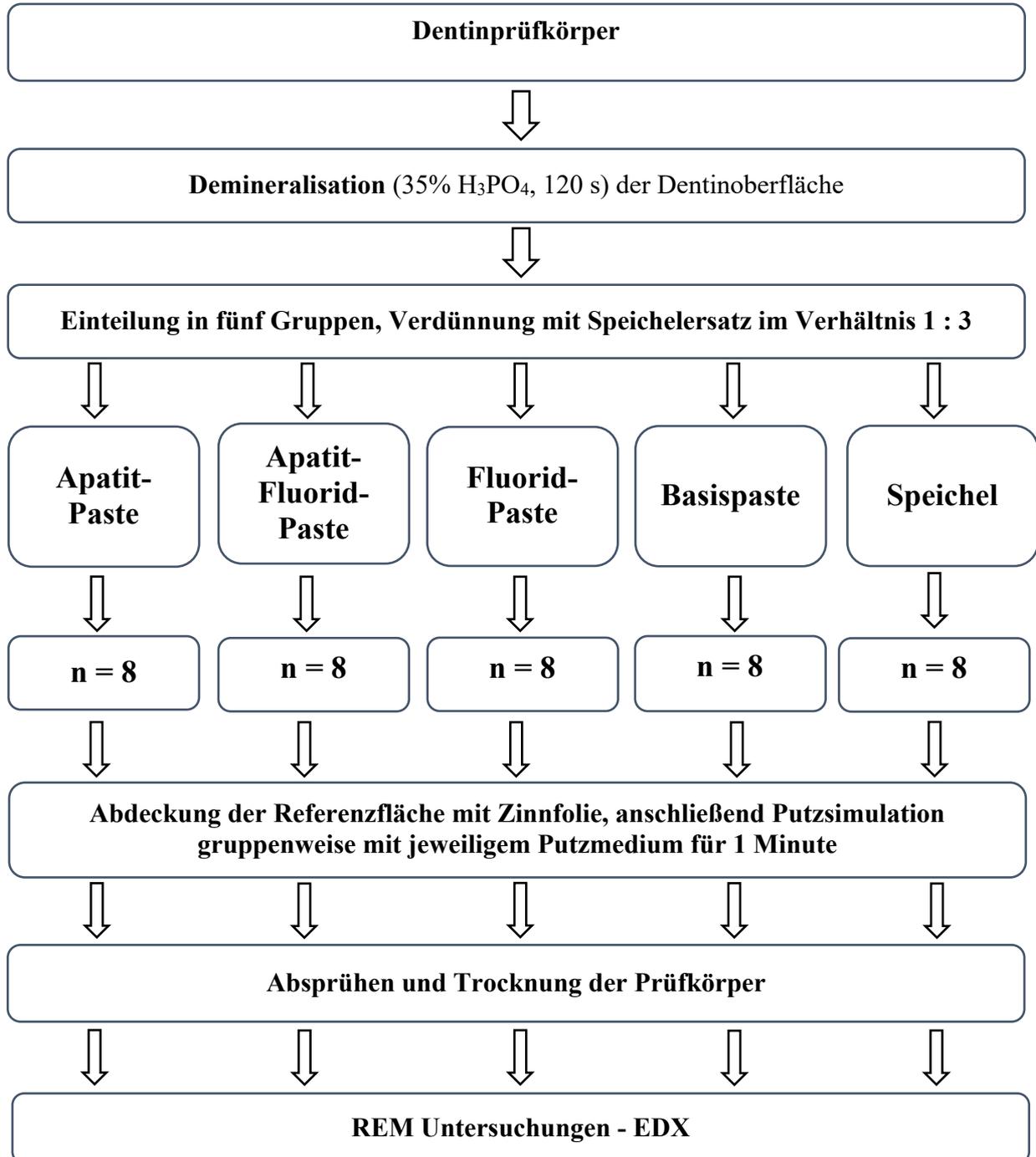
Im Folgenden sind zwei Flussdiagramme zu sehen. Sie veranschaulichen das zweistufige Versuchsdesign. Der zu Beginn durchgeführte wasserbasierte Versuch diente der Beantwortung folgender Fragestellung: Welche Versuchsdauer, Verdünnung und Reinigungsform eignen sich für den weiteren Versuch?

VERSUCHSABLAUF WASSERBASIERTES VERSUCHSMODELL – FLUSSDIAGRAMM



Der anschließende speichelbasierte Versuch konzentrierte sich auf die eigentliche Fragestellung dieser *in-vitro*-Studie zum Tubuliverschluss durch die gewählten Zahnpasten.

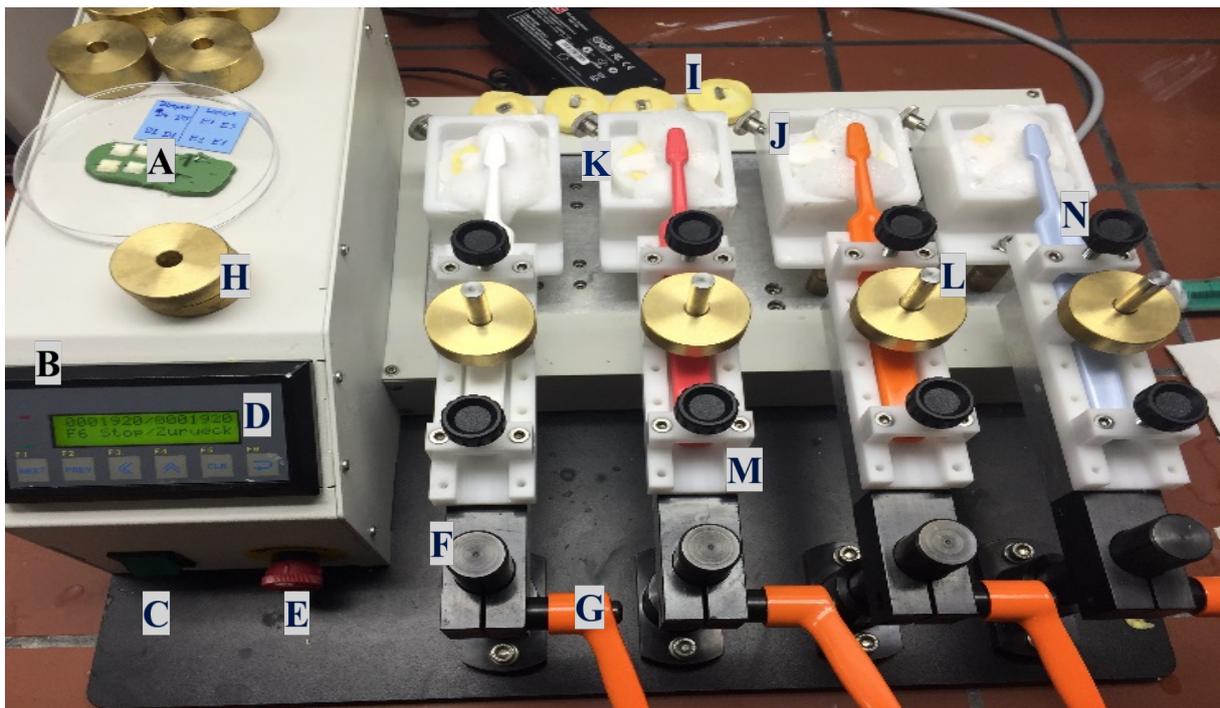
VERSUCHSABLAUF SPEICHELBASIERTES VERSUCHSMODELL – FLUSSDIAGRAMM



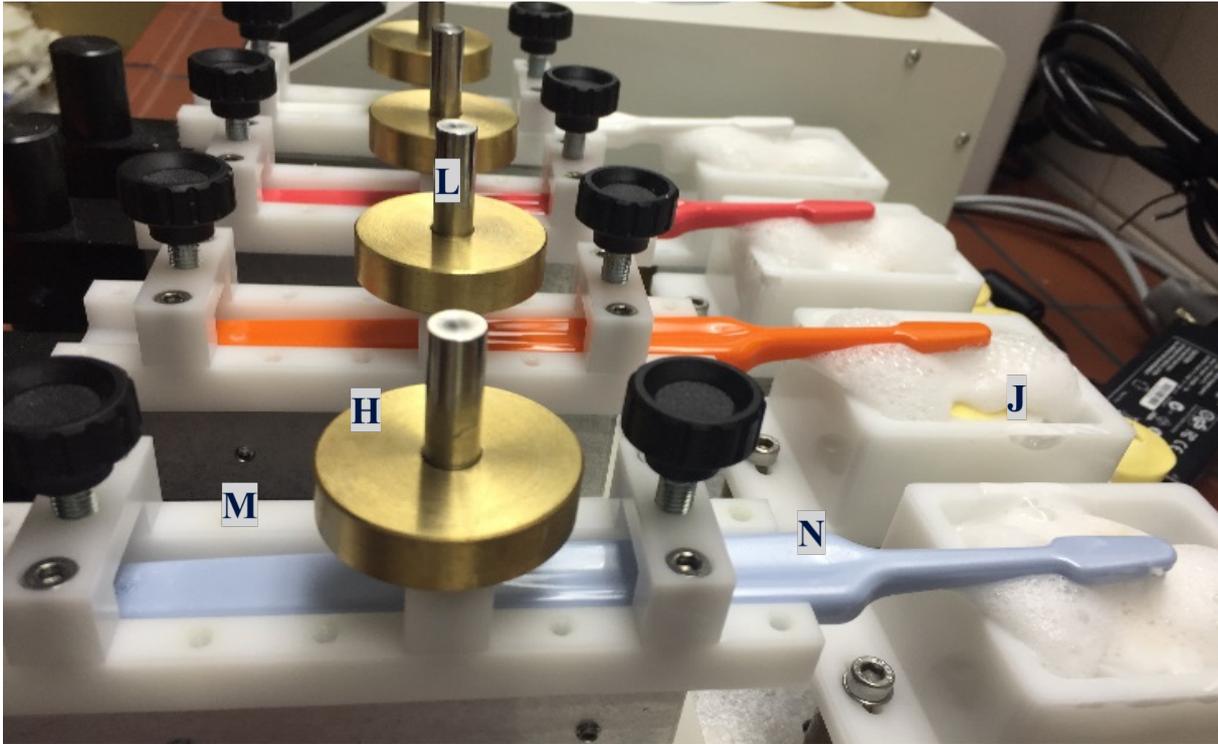
## 3.2 Zahnputzsimulation

### 3.2.1 Beschreibung des Zahnbürstsimulators

Der ZM-Zahnbürstsimulator 3.4. (SD Mechatronik Dental research equipment, Feldkirchen Westerham, Deutschland) diente zur Durchführung der Zahnputzexperimente (Abb. 5 & 6). Es konnten gleichzeitig 4 Prüfkörper definiert geputzt werden. Die Bürstbewegungen waren linear.



**Abb. 4:** Versuchsanordnung von Zahnbürstsimulator mit angebrachten Zahnbürsten während eines Putzversuches. A Prüfkörper, B Zahnbürstsimulator, C Ein/Ausschalter, D Display mit Bedienfeld, E Notausschalter, F Führungssäule der Bürstenhalter, G Klemmhebel für die Höheneinstellung, H Gewichte, I Optosilbasis und Zinnfolie für die Prüfkörper, J Probenaufnahme, K Topf, L Führungsstange für Gewichte, M Bürstenhalter, N Zahnbürste



**Abb. 5:** Versuchsanordnung einer Putzsimulation in der Seitenansicht. Deutlich erkennbar ist der durch den Putzvorgang mit Zahnpasta entstehende Schaum. H Gewichte, J Probenaufnahme mit Schaum, L Führungsstange für Gewichte, M Bürstenhalter, N Zahnbürste

### 3.2.2 Einstellung der Parameter und Montage der Prüfkörper

**Zahnbürstenposition:** Die Zahnbürste wurde gemäß der Betriebsanleitung mit zwei Klemmschrauben so auf der Halterung befestigt, dass der Bürstenkopf mittig über der Versuchsfläche lag.

**Verfahrweg und Putzgeschwindigkeit:** Es wurde ein Verfahrweg von 12 mm bei einer Geschwindigkeit von 60 mm/s eingestellt. Ein Pilotversuch hatte gezeigt, dass die Borsten der Zahnbürsten bei einem Verfahrweg von 4 - 10 mm nicht vollständig über die Prüfkörper glitten. Bei 12 mm Verfahrweg war ein komplettes Gleiten der Borsten über die Prüfkörper festzustellen.

**Putzzyklen:** 1 min Putzzeit entsprach bei einem Pilotversuch einer Zyklenzahl von 64. Die Zahl der Putzzyklen wurde entsprechend auf 64 Putzzyklen innerhalb von 1 min definiert. Bei einer Putzdauer von 60 min entsprach das 3840 Putzzyklen. Das entsprach ca. einem 2mal täglichen 3-minütigem Zähneputzen über 18 Monate (Arnold et al., 2016).

**Anpresskraft:** Die Anpresskraft der Zahnbürste auf den Prüfkörper betrug 1,47 N.

Gewichte von 50, 100 und 150 g konnten an einer Führungsstange auf dem Bürstenhalter angebracht werden. 100 g entsprachen 0,98 N. Zu Beginn wurden 1,96 N als Anpresskraft gewählt. Da die Borsten in einem Pilotversuch schnell abknickten, erwies sich diese Kraft als zu hoch, sodass auf 1,47 N reduziert wurde.

Mit dem C-Silikon Optosil Comfort Putty (Haraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) wurde je ein Prüfkörper in einem der vier Kunststoff-Töpfe des ZM-Zahnbürstsimulators 3.4. (SD Mechatronik Dental researchequipment, Feldkirchen Westerham, Deutschland) befestigt. Die Versuchsfläche musste dabei waagrecht nach oben ausgerichtet sein. Die Töpfe wurden in der Probeaufnahme durch je eine Schraube fixiert. In die vier Zahnbürstenhalterungen wurden je eine mittelweiche Zahnbürste (TePe-Select Zahnbürste, TePe, Hamburg, Deutschland) eingelegt und mittels zweier Klemmschrauben fixiert. Die Borstenspitzen der Zahnbürsten stützten auf der Versuchsoberflächen der Prüfkörper.

### 3.2.3 Wasserbasiertes Versuchsmodell

Das wasserbasierte Versuchsmodell diente der Versuchsoptimierung. Es wurde nach einem an die Realität angenäherten Verfahren hinsichtlich der Putzdauer (10 Sekunden / 1 Minute / 1 Stunde), Prüfkörperreinigung (Absprühen mit Multifunktionsspritze / Laborspritzflasche) und Verdünnung Zahnpasta zu Wasser (1:3 / 1:10) gesucht. Diese Untersuchungen wurden *in-vitro* durchgeführt. Dieser Versuch wurde ohne den Einfluss der Mundhöhle, speziell von Speichel, Pellikel und Biofilm durchgeführt. Je zwei Prüfkörper wurden entweder für 10 Sekunden, 1 Minute oder 1 Stunde mit der jeweiligen Zahnpasta bzw. mit destilliertem Wasser (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) gebürstet. Der Anpressdruck lag bei 1,47 Newton. Die Zahnpasten waren im Verhältnis 1:3 oder 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnt. Beim wasserbasierten Versuch mit einer Putzdauer von 1 h wurde den Proben alle 30 Sek weiteres Zahnpasta-Wassergemisch zugeführt, um das während des Putzvorganges verloren gegangene Putzgemisch aufzufüllen. Die Prüfkörper waren immer benetzt. Die Zahnbürsten wurden nach 30 Versuchsminuten ausgewechselt. Nach dem Putzvorgang wurden die Prüfkörper 15 Sekunden mit der Multifunktionsspritze einer Dentaleinheit (Kavo Dental, Biberach, Deutschland) oder der Laborspritzflasche (Drucksprüher, Bürkle GmbH, Bad Bellingen, Deutschland) mit ca. 1 cm Abstand abgesprüht. Hinsichtlich der Putzdauer, Prüfkörperreinigung und Verdünnung ergaben sich 12 Konstellationen für den wasserbasierten Versuch (Tabelle 3).

Je Konstellation und Zahnpasta wurden zwei Prüfkörper verwendet. Für den wasserbasierten Versuch waren 96 mit Zahnpasta geputzte Prüfkörper notwendig, weitere 6 Prüfkörper wurden als Referenzproben mit destilliertem Wasser geputzt.

**Tabelle 3** Insgesamt 12 Konstellationen aufgrund von drei Parametern: Putzdauer, Verdünnung der Zahnpasta bei der Zahnputzsimulation und anschließende Absprühmethode.

<b>Putzdauer</b>	<b>Verdünnung</b>	<b>Absprühmethode</b>
10 sec	1:10	Laborspritzflasche
10 sec	1:3	Laborspritzflasche
10 sec	1:10	Multifunktionsspritze
10 sec	1:3	Multifunktionsspritze
1 min	1:10	Laborspritzflasche
1 min	1:3	Laborspritzflasche
1 min	1:10	Multifunktionsspritze
1 min	1:3	Multifunktionsspritze
1 h	1:10	Laborspritzflasche
1 h	1:3	Laborspritzflasche
1 h	1:10	Multifunktionsspritze
1 h	1:3	Multifunktionsspritze

### 3.2.4 Speichelbasiertes Versuchsmodell

Diese Untersuchung war eine *in-vitro*-Studie ohne den Einfluss von Pellikel und Biofilm. Anders als im wasserbasierten Modell wurde hier der Einfluss des Speichels berücksichtigt. Zum Verdünnen der Zahnpasten wurde filtrierter Speichel verwendet und kein destilliertes Wasser. Zur Herstellung des filtrierten Speichels wurde Speichel von zwei Spendern in verschließbaren Reagenzgläsern (Cellstar Tubes, Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland) gesammelt. Die Reagenzgläser wurden durch Einbettung in Eis runtergekühlt und konserviert. Der gesammelte Speichel wurde in mehrere 2 ml Reaktionsgefäße mit Deckel (2ml Epi, Paul Böttinger OHG, Bodenmais, Deutschland) umgefüllt. Dazu wurde eine Transferpipette (Centramed, Koblenz, Deutschland) verwendet. Im Anschluss folgte mittels einer Zentrifuge (Biofuge primo, Haereus, Hanau, Deutschland) 10 sek bei 10000 Umdrehungen pro min die Ausfällung größerer Bestandteile aus dem Speichel. Der Ausfall war trüb und lag am Boden der Reaktionsgefäße. Mittels Transferpipette wurde der obere klare Teil des zentrifugierten Speichels entnommen und in ein frisches Reagenzglas (Cellstar Tubes,

Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland) umgefüllt. Anschließend wurde der zentrifugierte Speichel in Einmalspritzen (B.Braun Injekt Luer Solo, Melsungen, Deutschland) aufgezogen. Die Einmalspritzen wurden mit einem Filter (Filtropur S, Sarstedt, Nürnberg, Deutschland) mit einer Porengröße von 0,45  $\mu\text{m}$  versehen und der Speichel damit filtriert. Gesammelt wurde der Speichel erneut in einem frischen Reagenzglas. Der Filtrierungsvorgang wurde mit einem Filter der Porengröße 0,2  $\mu\text{m}$  (Filtropur S, Sarstedt, Nürnberg, Deutschland) wiederholt. Der filtrierte Speichel wurde bis zur Verwendung im speichelbasierten Versuch kühl gestellt.

Für diesen Versuch wurden 8 Prüfkörper je Zahnpasta und 8 Prüfkörper für Speichel untersucht. Ziel des speichelbasierten Versuchsmodells war es den Einfluss der Zahnpasten und des Speichels auf die Dentintubuli zu untersuchen. Dazu wurden 8 Dentinprüfkörper mit einer Suspension von einem Teil Zahnpasta zu drei Teilen Speichel geputzt. Die Putzdauer lag bei einer Minute. Die Prüfkörper wurden anschließend mit der Laborspritzflasche (Drucksprüher, Bürkle GmbH, Bad Bellingen, Deutschland) abgesprüht. Putzdauer, Verdünnung und Absprühmethode wurden gemäß den Ergebnissen des wasserbasierten Versuchs gewählt.

### 3.3 Rasterelektronenmikroskop (REM)

Luftgetrocknete Proben wurden mit der Prüffläche nach oben auf Stiftprobenteller (Plano, Marburg, Deutschland) mit doppelseitigen Aufklebern (light C-Taps, Plano, Marburg, Deutschland) befestigt und in einer Sputteranlage (Sputter Colter SCD 030, Blazers Union FL-9496, Balzers, Lichtenstein) mit Kohlenstoff (Kohlegarn 0,7 g/m, Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland) bedampft. Anschließend wurden sie im Rasterelektronenmikroskop (XL-30 ESEM, FEI-Company, Hillsboro Oregon, USA) analysiert.

#### 3.3.1 Quantitative Analyse des Tubuliverschlussgrades

Für die quantitative Analyse wurden die Vergrößerungsstufen 1000x, 5000x und 10000x bei einer Beschleunigungsspannung von 5 kV mit dem Sekundärelektronen-Detektor (SE-Detektor) eingestellt. Repräsentative Areale aus den Referenz- und Versuchsflächen wurden bei 1000facher und 5000facher Vergrößerung fotografiert. Es wurde darauf geachtet außerhalb der Grenzzone von Referenz- und Versuchsfläche zu bleiben, indem ein Abstand von 1 mm eingehalten wurde. Der Verschlussgrad eines Tubulus wurde nach 5 Kriterien definiert.

**Tabelle 4** Verschlussgrad der Dentintubuli in den Proben

Score	vorherrschender Tubuliverschluss
1	Tubuli offen > 90 %
2	Tubuli teilweise offen > 55 %
3	Tubuli teilweise offen und teilweise geschlossen ≈ 50 %
4	Tubuli teilweise geschlossen > 55 %
5	Tubuli geschlossen > 90 %

Zur Quantifizierung des vorherrschenden Tubuliverschlussgrades auf einer Prüfkörperoberfläche wurde ein Areal aus der Versuchsfläche bei 1000facher Vergrößerung fotografiert. Dieses Areal umfasste eine repräsentative Fläche von 120 µm x 80 µm mit > 50 Tubuli. Anhand der Fotografie erfolgte im Anschluss eine Zuordnung in 5 Kategorien, Score 1 - 5 (Tabelle 4), durch zwei unabhängige Personen. Es wurde der vorherrschende Verschlussgrad berücksichtigt. Diese Scores dienten der Ermittlung eines mittleren Scores aus 2 Prüfkörpern (beim wasserbasierten Versuch) bzw. eines Medians aus 8 Prüfkörpern (beim speichelbasierten Versuch) je Reagenz. Bei 5000facher Vergrößerung erfolgte eine qualitative und deskriptive Untersuchung einzelner Tubuli.

Mittels des Mann-Whitney-U-Tests wurde im speichelbasierten Versuch geprüft, ob der Tubuliverschlussgrad der Zahnpasten zum Speichel einen statistisch signifikanten Unterschied aufwies. Auf gleiche Weise wurden die Ergebnisse der Basispaste und der übrigen Zahnpasten verglichen. Beim Mann-Whitney-U-Test handelte es sich um einen nonparametrischen Test für unabhängige Stichproben. Es wurde von einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ausgegangen ( $P = 0,05$ ).

Beim wasserbasierten Versuch wurde für den Vergleich Laborspritzflasche – Multifunktionsspritze der Wilcoxon-signed-Rank-Test herangezogen. Dabei handelte es sich um einen parametrischen Test, der es erlaubte zwei gepaarte Stichproben zu vergleichen.

### 3.3.1 Qualitative Analyse des Tubuliverschlussgrades

Zusätzlich erfolgten Elementaranalysen im Bereich des intertubulären Dentins sowie von intratubulären Ablagerungen mit elektronendispersiver Röntgenanalyse (EDX) zur qualitativen Untersuchung. Das ermöglichte ein im REM integrierter EDX-Detektor (Si-drift-Detektor, EDAX, Mahwan, USA). Dazu wurde die Spannung auf 10 kV erhöht. Die dabei entstandenen Aufnahmen wurden unter Zuschaltung des Rückstreuelektronen-Detektors (BSE-Detektor)

ausgeführt, da so die Unschärfe, die bei erhöhter kV Zahl entstand, reduziert werden konnte. Die Zahnpasten wurden ebenfalls mittels EDX-Analyse auf ihre Inhaltsstoffe geprüft.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Wasserbasiertes Modell

#### 4.1.1 Quantitative Ergebnisse

##### Apatit-Paste

Jedem Prüfkörper wurde ein Score zugeordnet. Aus den zwei unter gleichen Bedingungen geputzten Prüfkörpern wurde der mittlere Score errechnet. Insgesamt lag der mittlere Score bei der Apatit-Paste im wasserbasierten Modell zwischen 2 und 5. (Score 1 = Tubuli vollständig offen, Score 5 = Tubuli vollständig verschlossen, siehe Tabelle 5)

- Putzdauer: Der mittlere Score lag bei 10 s Putzdauer zwischen 2 und 4. Bei 1 min lag er zwischen 3,5 und 5 und bei 1 h zwischen 2 und 4.
- Verdünnung: Die Verdünnung bewirkte einen mittleren Score-Unterschied von bis zu 2. Die Verdünnung von 1:3 bewirkte hauptsächlich höhere Verschlusseffekte als die Verdünnung von 1:10. Die Verdünnung von 1:3 entspricht angenähert der realen Situation beim Putzen.
- Prüfkörperreinigung: Mit der Multifunktionsspritze waren die mittleren Score-Werte bei den mit Apatit-Paste geputzten Prüfkörpern höher (um bis zu 2 Scores) als mit der Laborspritzflasche oder gleich. In zwei Fällen waren die Scores um 0,5 Scores niedriger.

Bei 1 min Putzdauer wurde insgesamt der höchste Verschlusseffekt, mittlerer Score 3,5 bis 5, erreicht. Bei einer Putzdauer von 10 s, führte die Verdünnung 1:10 zu höheren Verschlüssen als bei einer Verdünnung von 1:3. Bei einer Putzdauer von 1 h, führte die Verdünnung 1:3 zu höheren Verschlüssen als bei einer Verdünnung von 1:10. Insgesamt erreichte die Laborspritzflasche bei Apatit-Paste einen höheren Reinigungseffekt von bis zu zwei Scores Unterschied.

### Apatit-Fluorid-Paste

Insgesamt lag der mittlere Score bei der Apatit-Fluorid-Paste im wasserbasierten Modell zwischen 1 und 5 (Score 1 = Tubuli vollständig offen, Score 5 = Tubuli vollständig geschlossen, siehe Tabelle 5).

- Putzdauer: Der mittlere Score lag bei 10 s Putzdauer zwischen 1 und 2,5. Bei 1 min lag er zwischen 1 und 1,5 und bei 1 h zwischen 3 und 5.
- Verdünnung: Die Verdünnung bewirkte einen mittleren Score-Unterschied von bis zu 5. Die Verdünnung 1:3 bewirkte hauptsächlich höhere oder gleiche Verschlusseffekte als die Verdünnung 1:10.
- Prüfkörperreinigung: Mit der Multifunktionsspritze waren die mittleren Score-Werte bei den mit Apatit-Fluorid-Paste geputzten Prüfkörpern höher (um bis zu 1,5 Scores) als mit der Laborspritzflasche oder gleich.

Unter Berücksichtigung der Verdünnung, wurden beim Verhältnis 1:3 in Kombination mit einer Putzdauer von 1 h insgesamt die höchsten Verschlusseffekte erreicht (mittlerer Score 4,5 und 5). Etwas niedrigere Verschlusseffekte erreichte die Verdünnung 1:10 bei einer Putzdauer von 1 h (mittlere Score 3 und 4,5). Eine Putzdauer von 10 s und 1 min hatten, trotz unterschiedlicher Verdünnung, in 7 von 8 mittleren Scores die gleichen Werte. Bei 1 min Putzdauer waren alle mittleren Scores hinsichtlich der Verdünnung gleich. Insgesamt erreichte die Laborspritzflasche bei Apatit-Fluorid-Paste einen höheren Reinigungseffekt von bis zu 1,5 Scores Unterschied.

### Fluorid-Paste

Insgesamt lag der mittlere Score bei der Fluorid-Paste im wasserbasierten Modell zwischen 1 und 2,5. (Score 1 = Tubuli vollständig offen, Score 5 = Tubuli vollständig geschlossen, siehe Tabelle 5)

- Putzdauer: Der mittlere Score lag bei 10 s Putzdauer zwischen 1 und 2,5. Bei 1 min lag er zwischen 1 und 2 und bei 1 h zwischen 1 und 2.
- Verdünnung: Die Verdünnung bewirkte einen mittlere Score-Unterschied von bis zu 1,5. Die Verdünnung 1:3 bewirkte höhere, gleiche oder niedrigere Verschlusseffekte. Eine Verdünnung von 1:10 bewirkte einen höheren Verschluss bei 10 sek und 1 min Putzdauer (Score-Unterschied 1). Bei 1 h verhielt es sich umgekehrt.

- Prüfkörperreinigung: Mit der Multifunktionsspritze waren die mittleren Score-Werte bei den mit Fluorid-Paste geputzten Prüfkörpern höher (um bis zu 0,5 Scores) als mit der Laborspritzflasche oder gleich, außer in einem Fall.

Bei der Fluoridpaste hatten die verschiedenen Parameter einen geringen Einfluss auf den Verschlussgrad.

### Basispaste

Insgesamt lag der mittlere Score bei der Fluorid-Paste zwischen 1 und 4. (Score 1 = Tubuli vollständig offen, Score 5 = Tubuli vollständig geschlossen, siehe Tabelle 5)

- Putzdauer: Der mittlere Score lag bei 10 s Putzdauer zwischen 1 und 3. Bei 1 min lag er zwischen 1 und 4 und bei 1 h zwischen 1 und 2.
- Verdünnung: Die Verdünnung bewirkte einen mittleren Score-Unterschied von bis zu 3. Die Verdünnung 1:3 bewirkte hauptsächlich höhere Verschlusseffekte.
- Prüfkörperreinigung: Die Prüfkörperreinigung mit der Multifunktionsspritze zeigte insgesamt höhere Verschlussgrade, als mit der Multifunktionsspritze.

Bei den Basispaste-Proben erreichte die Kombination Multifunktionsspritze, 1 min Putzdauer und einer Verdünnung von 1:3 den Verschlussgrad 4.

**Tabelle 5:** Übersicht Tubuliverschlüsse in Form von mittleren Scores: Jedem Prüfkörper wurde ein Score-Wert gemäß Klassifizierung (Tabelle 4) zugeordnet. Ein mittlerer Score wurde aus je zwei unter gleichen Bedingungen geputzten Prüfkörpern nach quantitativer Analyse bei 1000facher Vergrößerung ermittelt.; Einteilung gemäß Versuchskonstellation Tabelle 3; Laborspritzflasche (schwarz) / Multifunktionsspritze (blau)

	1:10, 10 s		1:3, 10 s		1:10, 1 min		1:3, 1 min		1:10, 1 h		1:3, 1 h	
<b>Apatit-Paste</b>	3,5	3,5	2	4	3,5	4	4	5	2,5	2	4	4
<b>Apatit-Fluorid-Paste</b>	1	1	1	2,5	1	1,5	1	1,5	3	4,5	4,5	5
<b>Fluorid-Paste</b>	2	2,5	1	1,5	2	1,5	1	1,5	1	1	2	2
<b>Basispaste</b>	1	1,5	1,5	3	1	3	4	4	2	1	1	2

### Wasser

Der Verdünnungsvergleich entfiel bei Wasser. Alle mit Wasser geputzten Proben wiesen unabhängig von der Putzdauer und der Prüfkörperreinigung einen Score von 1 auf. Die unterschiedlichen Parameter waren bei Wasser für den Tubuliverschluss irrelevant.

### Quantitative Ergebnisse im Vergleich

Im wasserbasierten Versuch wurden 96 Score-Werte aus den Zahnpasta-Proben ermittelt (Ohne Berücksichtigung der Score-Werte aus den ausschließlich mit Wasser geputzten Proben).

Höhere Verschlusseffekte (mittlerer Score  $> 3$ ) wurden nur bei der Apatit-Paste, Apatit-Fluorid-Paste, und Basispaste erreicht. Eine Zunahme der Putzdauer bewirkte keine Zunahme der Tubuliverschlüsse, mit Ausnahme der Apatit-Fluorid-Paste. Die Fluorid-Paste blieb unter dem mittleren Score von 3.

Der wasserbasierte Versuch ergab folgendes:

1. Die Putzzeit von 1 min erweist sich als realitätsbezogen günstig.
2. Die Verdünnung 1:3 führt zu stärkerem Tubuliverschluss und entspricht einem realitätsbezogenen Vorgehen.
3. Die Nutzung der Laborspritzflasche führt zu signifikant geringerem Tubuliverschluss als die Multifunktionsspritze und kann, zur Simulation des Spülens nach dem Zähneputzen, verwendet werden

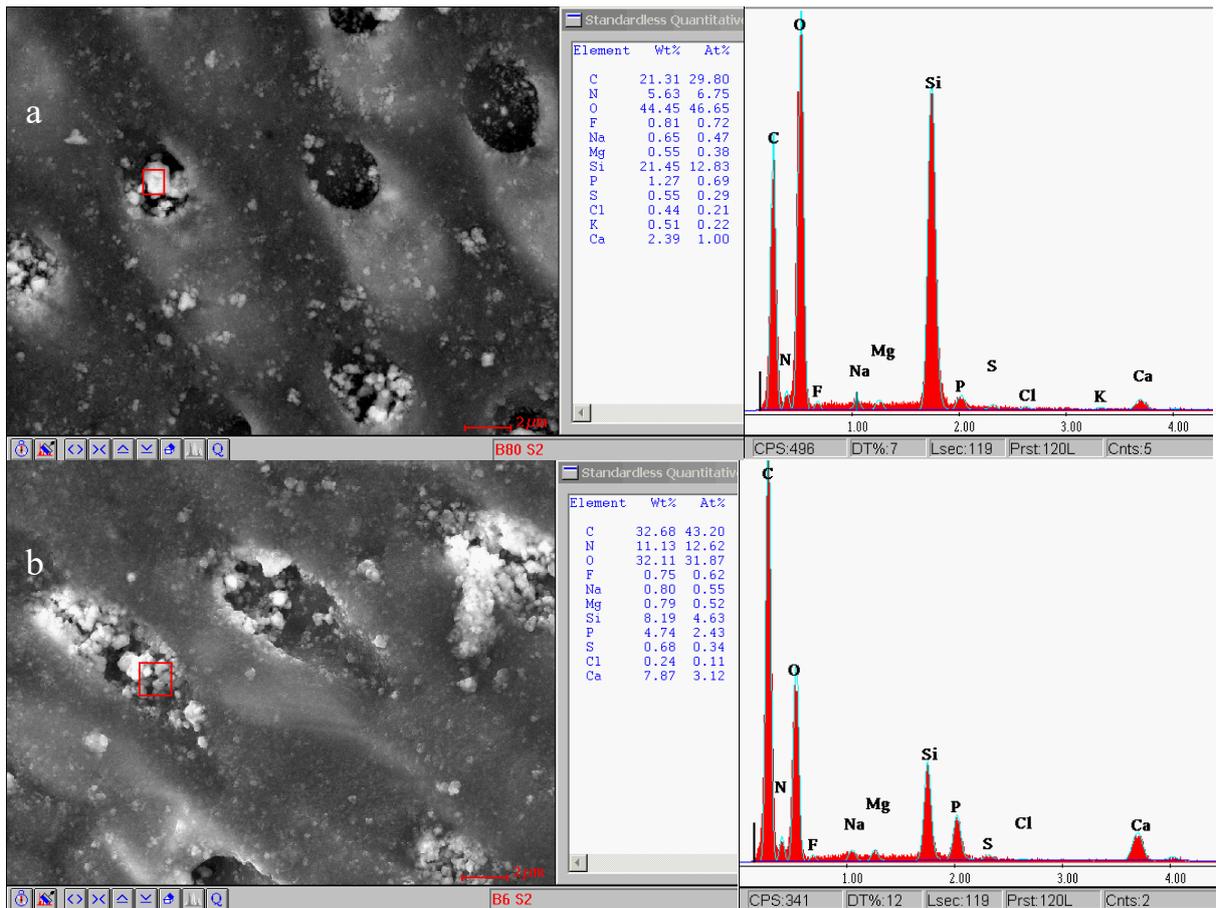
Das Ergebnis des Vergleichs von Laborspritzflasche und Multifunktionsspritze mit dem Wilcoxon-Signed-Rank-Test war mit einem Wert von p-Wert = 0,006 statistisch signifikant.

Gemäß den beobachteten Effekten im wasserbasierten Versuch, wurde für den speichelbasierten Versuch die Verdünnung 1:3 und die Reinigung der Prüfkörper mittels Laborspritzflasche gewählt. Die Putzzeit wurde für den speichelbasierten Versuch auf 1 min festgelegt.

## 4.1.2 Qualitative Ergebnisse

## Apatitpaste

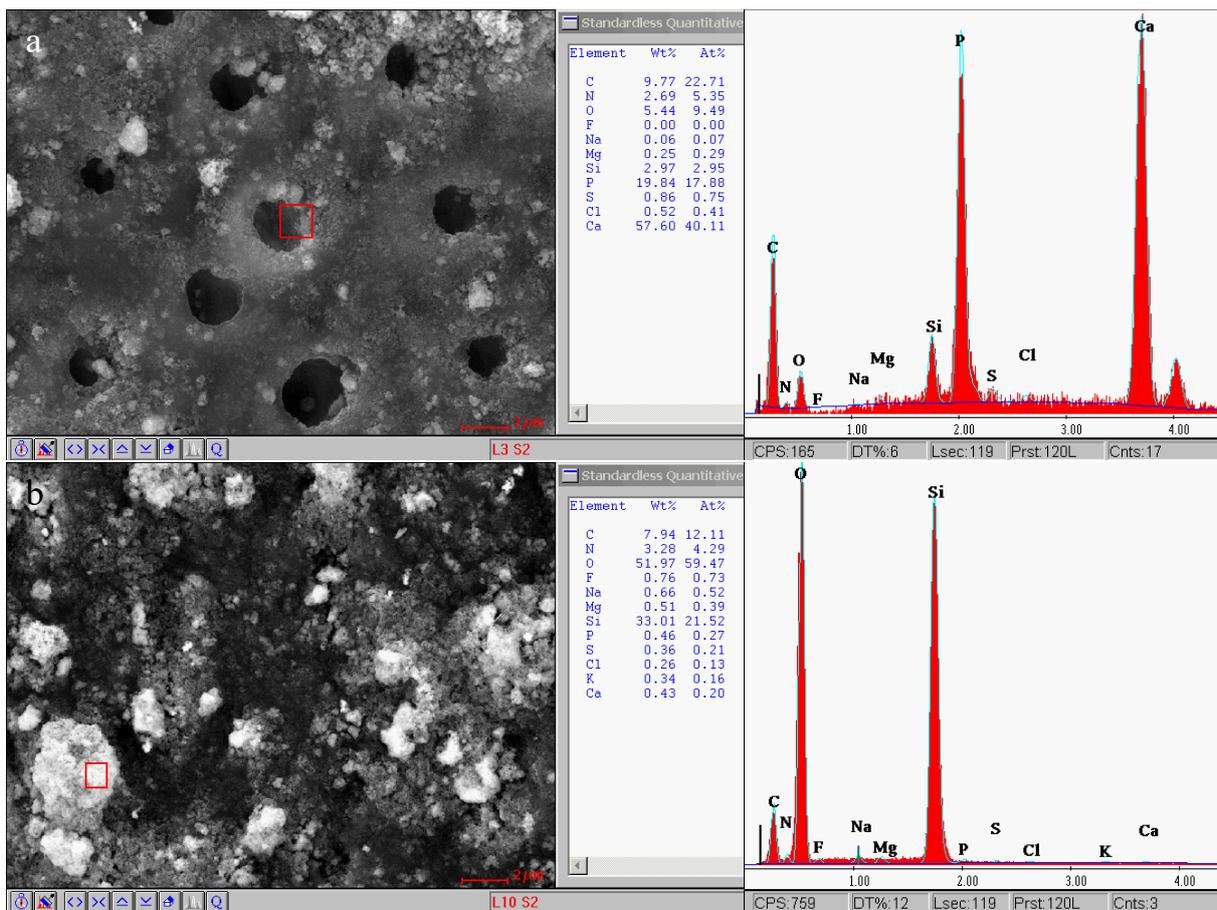
Die Struktur der intratubulären Einlagerungen erschien bei der Apatit-Paste kleinkörnig. Besonders hyperdense Bereiche wiesen auf Silizium hin, wie in Abb. 6 a und den dazugehörigen Zahlen zu erkennen ist. Weniger auffällige Strukturen in den Tubuli wiesen auf erhöhte Mengen Calcium und Phosphat hin (Abb. 6 b).



**Abb. 6:** Zwei Repräsentative Aufnahmen und je zwei Ergebnis-Darstellungen des wasserbasierten Versuches mit Apatit-Paste, intratubulär Messpunkt 1-2  $\mu\text{m}^2$ : a) 1:10 1 h LFS bei 5000x Vergrößerung; b) 1:3 1 min LSF bei 5000x Vergrößerung. In Abb. 6 a sind Einlagerungen in die Tubuli dargestellt. Einlagerungen bilden in Abb. 6 b teilweise verschlossene Tubuli.

## Apatit-Fluorid-Paste

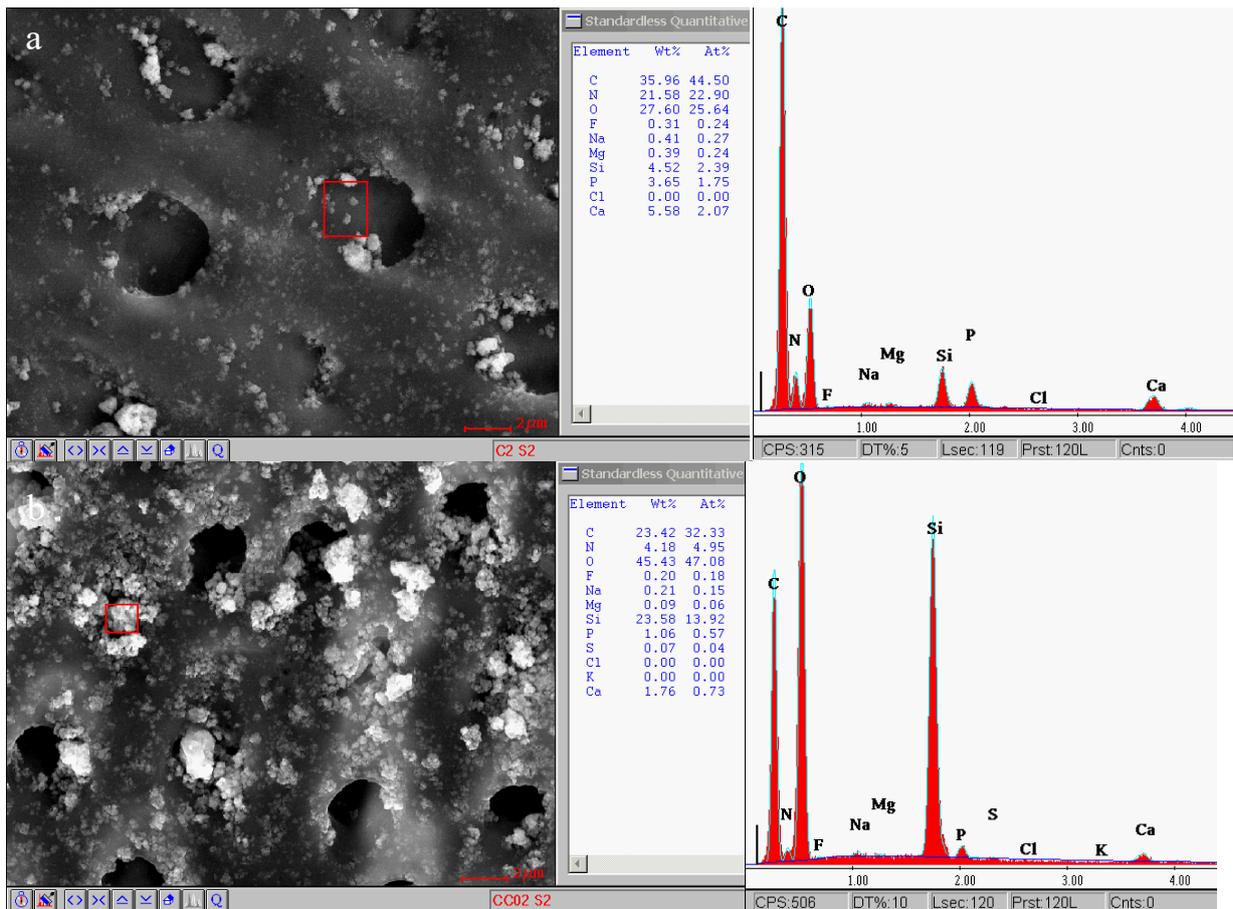
Die Struktur der intratubulären Einlagerungen erschien bei der Apatit-Fluorid-Paste grobkörnig. Bei maximalem Tubuliverschluss waren die Tubuli nicht sichtbar, sondern verdeckt durch Auflagerung (Abb. 7 b). Der Tubuusinhalt war nicht einsehbar. Besonders hyperdense Bereiche wiesen auf Silizium hin. Weniger auffällige Strukturen in den Tubuli wiesen auf erhöhte Mengen Calcium und Phosphat oder auf das peritubuläre Dentin hin (Abb. 7 a).



**Abb. 7:** Zwei Repräsentative Aufnahmen und je zwei Ergebnis-Darstellungen des wasserbasierten Versuches mit Apatit-Fluorid-Paste, intratubulär Messpunkt 1-2  $\mu\text{m}^2$ : a) 1:10 10 s LSF bei 5000x Vergrößerung; b) 1:3 1 h MFS bei 5000x Vergrößerung. In Abb. 7 a sind Einlagerungen in manchen Tubuli erkennbar, in Abb. 7 b ist eine Fläche mit vollständigem Tubuliverschluss durch Auflagerungen dargestellt.

Fluorid-Paste

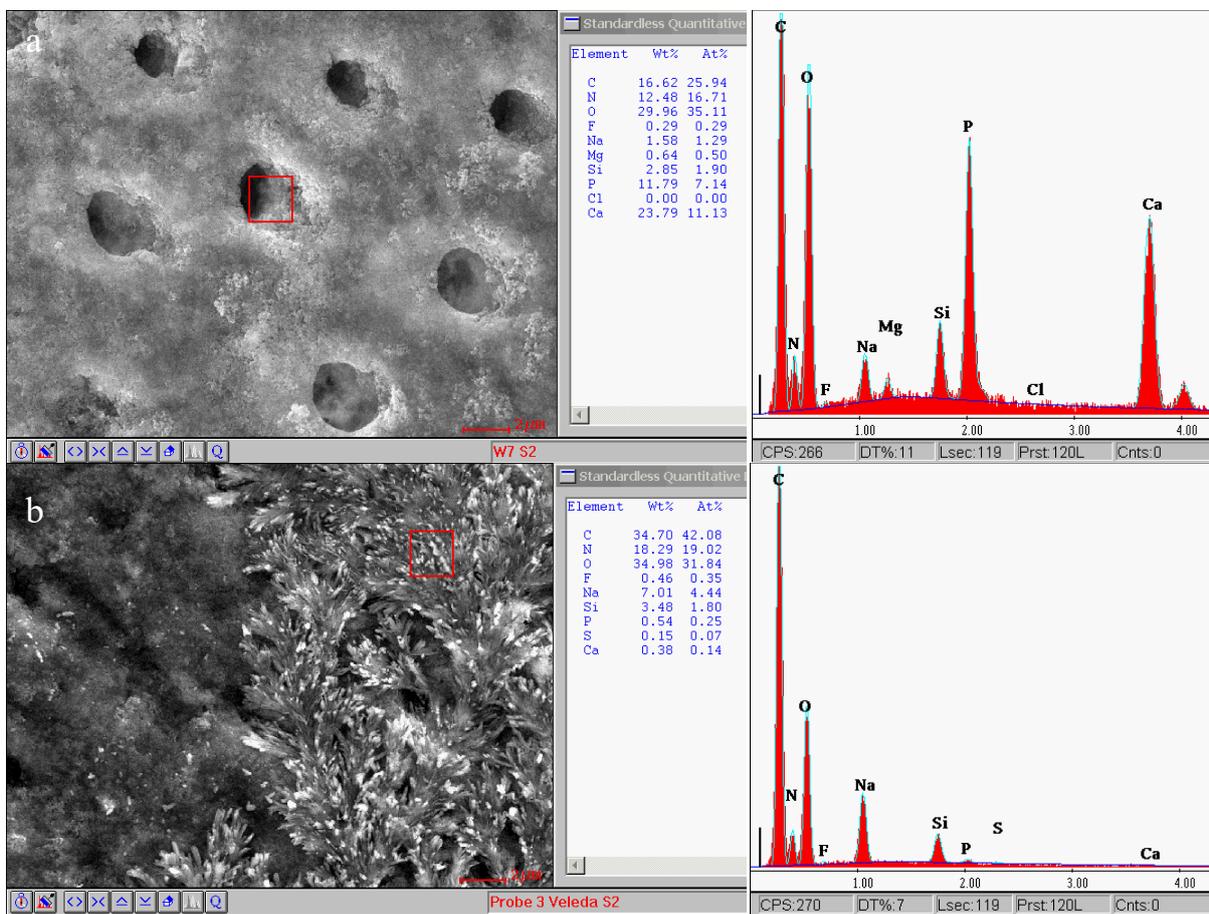
Die Struktur der intratubulären Einlagerungen erschien bei der Fluorid-Paste grobkörnig. Bei geringem Tubuliinhalt wurde hauptsächlich das peritubuläre Dentin gemessen. Erhöhte Mengen Calcium und Phosphat waren messbar (Abb. 8 a). Besonders hyperdense Strukturen im Tubulus wiesen auf Silizium hin, wie in Abb. 8 b und den dazugehörigen Zahlen zu sehen ist.



**Abb. 8:** Zwei Repräsentative Aufnahmen und je zwei Ergebnis-Darstellungen des wasserbasierten Versuchs mit Fluorid-Paste, intratubulär Messpunkt 1-2  $\mu\text{m}^2$ : a) 1:3 1 min LSF bei 5000x Vergrößerung; b) 1:3 1 min MFS bei 5000x Vergrößerung. In Abb 8 a sind offene und teilweise offene Tubuli dargestellt, in Abb. 8 b sind alle Tubuliverschlussgrade vertreten

Basispaste

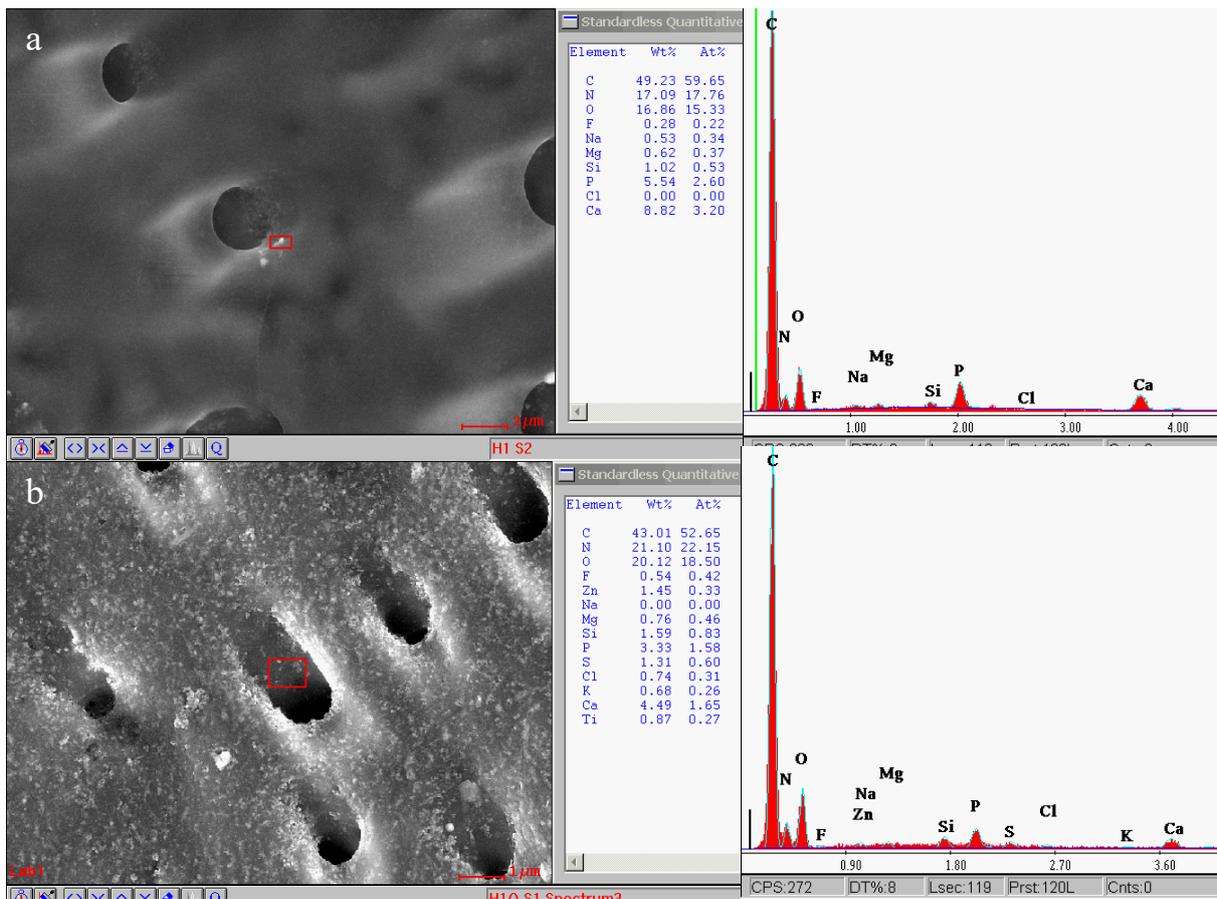
Die Struktur der intratubulären Einlagerungen erschien bei der Basispaste wie ein feinschaumiger Film. In manchen Fällen waren kristalline Strukturen erkennbar (Abb. 9 b). Bei offenen und teilweise offenen Tubuli war der Film selbst entlang der Tubuliwände erkennbar. Erhöhte Mengen Calcium und Phosphat waren messbar, Natrium war nachweisbar (Abb. 9 a). Kristalline Strukturen kamen teilweise bei Proben mit Tubuliverschluss vor. Sie wiesen im Vergleich zum Film hohe Mengen Natrium auf, wie in Abb. 9 b und den dazugehörigen Zahlen zu sehen ist. Tubulieingänge waren bei Proben mit Tubuliverschluss aufgrund aufgelagerter Strukturen ob kristallin oder als Film nicht auszumachen.



**Abb. 9:** Zwei Repräsentative Aufnahmen und je zwei Ergebnis-Darstellungen des wasserbasierten Versuches mit Basispaste, intratubulär Messpunkt 1-2  $\mu\text{m}^2$ : a) 1:10 1 min LSF bei 5000x Vergrößerung; b) 1:3 1 min LSF bei 5000x Vergrößerung. In Abb. 9 a sind von einem schaumigen Film umgebene, teilweise offene Tubuli dargestellt. In Abb. 9 b sind links die Tubuli durch einen schaumigen Film und rechts durch ein kristallines Gefüge abgedeckt.

Wasser

Die Dentinoberfläche stellte sich, nach dem Putzen mit Wasser, vorwiegend glatt dar. Versprengte feinkörnige Strukturen hatten keinen tubuliverschließenden Effekt. Bei höherer Putzdauer (1 min oder 1 h) waren kaum Fremdkörper auf den Prüfkörpern auffindbar (Abb. 10 a). Bei 10 s dagegen viele (Abb. 10 b). Die feinkörnigen Strukturen traten bei kurzzeitiger Putzdauer auf. Sie werden als Überreste des Präparationsvorgangs (Zuschneiden, Polieren) interpretiert.



**Abb. 10:** Zwei Repräsentative Aufnahmen und je zwei Ergebnis-Darstellungen des wasserbasierten Versuches mit Wasser, intratubulär Messpunkt 1  $\mu\text{m}^2$ : a) 1 min LSF bei 5000x Vergrößerung; b) 10 s LSF bei 5000x Vergrößerung. In Abb. 10 a ist eine glatte Dentinoberflächen mit offenen Tubuli dargestellt. In Abb. 10 b sind versprengte feinkörnigen Strukturen ohne tubuliverschließenden Effekt dargestellt.

Qualitative Ergebnisse im Vergleich

Die Apatit-Paste bewirkte Verschlüsse mit feinkörnigen Strukturen. Ca, P und Si waren dominierende Bestandteile dieser Strukturen. Die Apatit-Fluorid-Paste war grobkörnig und bewirkte bei langer Putzdauer Agglomerationen. Ca, P und Si waren hier ebenfalls dominierend. Für die Fluoridpaste waren grobkörnige siliziumhaltige Strukturen typisch. Die Basispaste wies einerseits einen fein-schaumigen Film und andererseits kristalline Strukturen auf. Letztere waren natriumhaltig. Ca, P, Si und Na waren typisch. Bei Wasser fiel auf, dass Verunreinigungen durch längeres Putzen nicht mehr vorhanden waren. In den folgenden Versuchen wurde die Putzdauer von 10 s nicht mehr berücksichtigt.

EDX-Ergebnisse der Zahnpasten

Die Zusammensetzung gemäß Herstellerangaben wurden im EDX überprüft (Tabelle 6). Ca und P ließen Rückschlüsse auf den n-HA-Gehalt in den Zahnpasten zu.

**Tabelle 6** EDX-Untersuchung der unverdünnten Zahnpasta, Mittelwerte in Gew.-% aus je 8 Messungen (Kohlenstoff und Schwefel möglicherweise durch Sputtern beeinflusst; 0\*: Ti wurde hier bei der unverdünnten Apatit-Fluorid-Paste nicht erkannt, auf den geputzten Prüfkörpern wurde Ti erkannt. Der Hersteller gibt die Existenz von Titaniumdioxid an.)

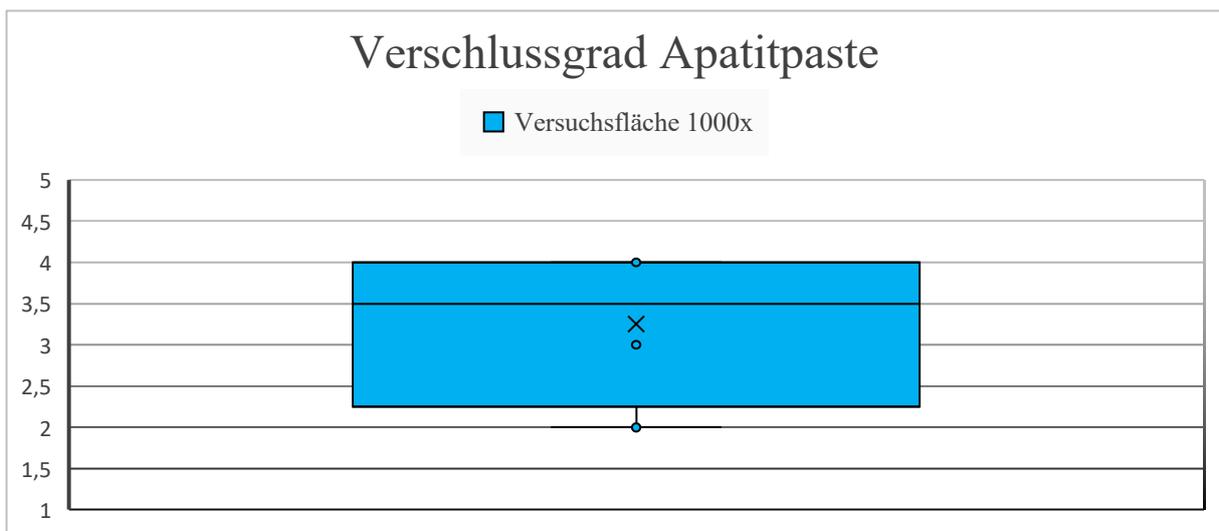
Elemente	Apatit-Paste	Apatit-Fluorid-Paste	Fluorid-Paste	Basispaste
<b>C</b>	10,49	23,51	14,97	36,85
<b>N</b>	2,76	2,36	2,64	1,32
<b>O</b>	45,01	39,94	44,46	30,48
<b>P</b>	6,48	4,46	0	0
<b>Ca</b>	15,64	4,53	0	0
<b>Na</b>	1,27	3,85	2,41	16,40
<b>Si</b>	14,04	15,52	27,76	5,16
<b>Mg</b>	0	0	0	0
<b>S</b>	0	2,72	1,95	0
<b>Cl</b>	0,66	0,01	0	9,76
<b>K</b>	1,94	2,09	0,91	0
<b>Zn</b>	1,18	0	0	0
<b>F</b>	0	0,87	0,89	0
<b>Al</b>	0	0,04	2,34	0
<b>Ti</b>	0	0*	1,62	0

## 4.2 Speichelbasiertes Modell

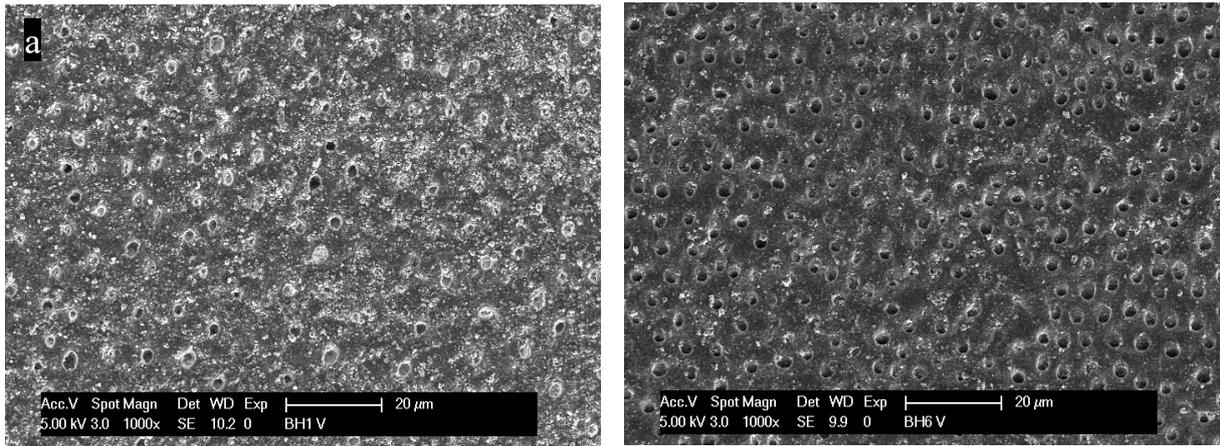
### 4.2.1 Quantitative Ergebnisse

#### Apatit-Paste

Die acht mit Apatit-Paste 1 min geputzten Prüfkörper wurden auf den Oberflächen im REM quantitativ bei 1000facher Vergrößerung analysiert (Abb. 12) und einem Verschlussgrad (Score) zwischen 1 und 5 (Tabelle 4) zugeordnet. Aus diesen 8 Score-Werten ließ sich ein Median errechnen. Der Median auf der Versuchsfläche lag bei 1000facher Vergrößerung bei 3,5. Der Minimalwert lag bei 2, der Maximalwert bei 4. Das Box-Plot-Diagramm in Abb. 11 zeigt, dass Abweichungen von teilweise offenen bis teilweise geschlossenen Tubuli vorhanden waren. Bei einem Median von 3,5 aus 8 Prüfkörper-Scores überwog die Tendenz zu teilweise geschlossenen Tubuli. Vollständige Tubuliverschlüsse waren in verschiedenen Apatit-Paste-Prüfkörpern vereinzelt erkennbar, jedoch nicht überwiegend.



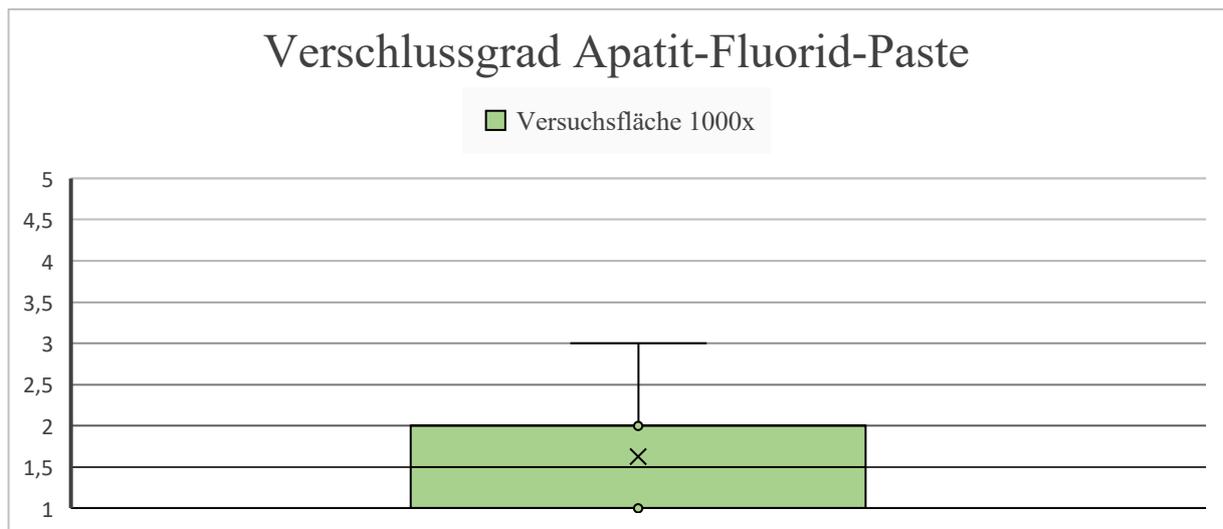
**Abb. 11:** Graphische Darstellung des Verschlussgrades aus 8 Versuchsflächen bei 1000facher Vergrößerung. Nach einer Minute Putzen mit 1:3 verdünnter Apatit-Paste sind leichte bis starke Verschlusseffekte erkennbar. Der Verschlussgrad tendierte insgesamt zum teilweisen, nie zum vollständigen Verschluss der Tubuli. Der Median aus 8 Prüfkörper-Scores lag bei 3,5.



**Abb. 12:** Aufnahmen eines repräsentativen Apatit-Paste-Prüfkörpers: a) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung mit Verschlussgrad Score 4; b) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung mit Verschlussgrad Score 2

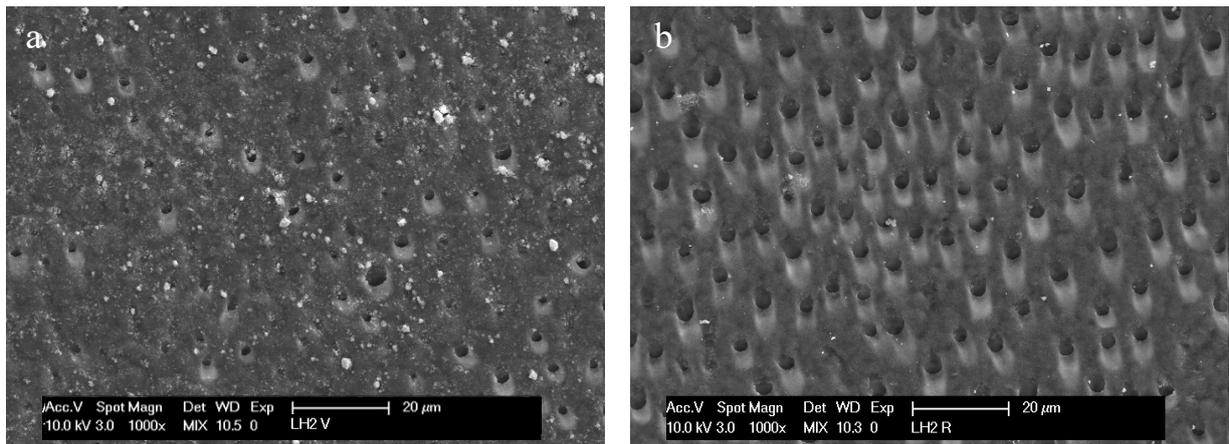
### Apatit-Fluorid-Paste

Die acht mit Apatit-Fluorid-Paste 1 min geputzten Prüfkörper wurden auf den Oberflächen im REM quantitativ bei 1000facher Vergrößerung analysiert (Abb. 14) und einem Verschlussgrad (Score) zwischen 1 und 5 (Tabelle 4) zugeordnet. Aus diesen 8 Score-Werten ließ sich ein Median errechnen. Der Median auf der Versuchsfläche lag bei 1000facher Vergrößerung bei 1,5. Der Minimalwert lag bei 1, der Maximalwert bei 3. Es handelte sich insgesamt um einen ausgebliebenen bis reduzierten Verschlusseffekt mit offenen und teilweise offenen Tubuli. Das Box-Plot-Diagramm in Abb. 13 bestätigte den insgesamt leichten Effekt.



**Abb. 13:** Graphische Darstellung des Verschlussgrades auf der Versuchsfläche bei 1000facher Vergrößerung. Nach einer Minute Putzen mit 1:3 verdünnter Apatit-Fluorid-Paste ausgebliebene bis mittlere Verschlusseffekte. Der Verschlussgrad tendierte insgesamt zum ausgebliebenen Verschluss der Tubuli. Der Median aus 8 Prüfkörper-Scores lag bei 1,5. Der höchste erreichte Verschlussgrad in einem Prüfkörper lag beim Score-Wert 3.

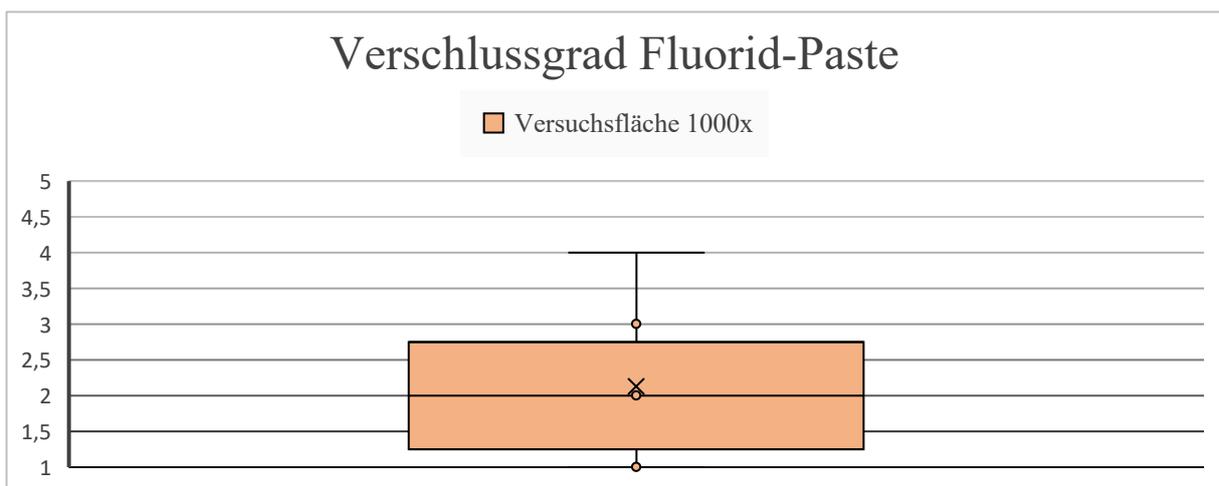
### Repräsentative REM-Aufnahmen:



**Abb. 14:** Aufnahmen eines repräsentativen Apatit-Fluorid-Paste-Prüfkörpers: a) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung mit Verschlussgrad: Score 3; b) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung mit Verschlussgrad Score 1

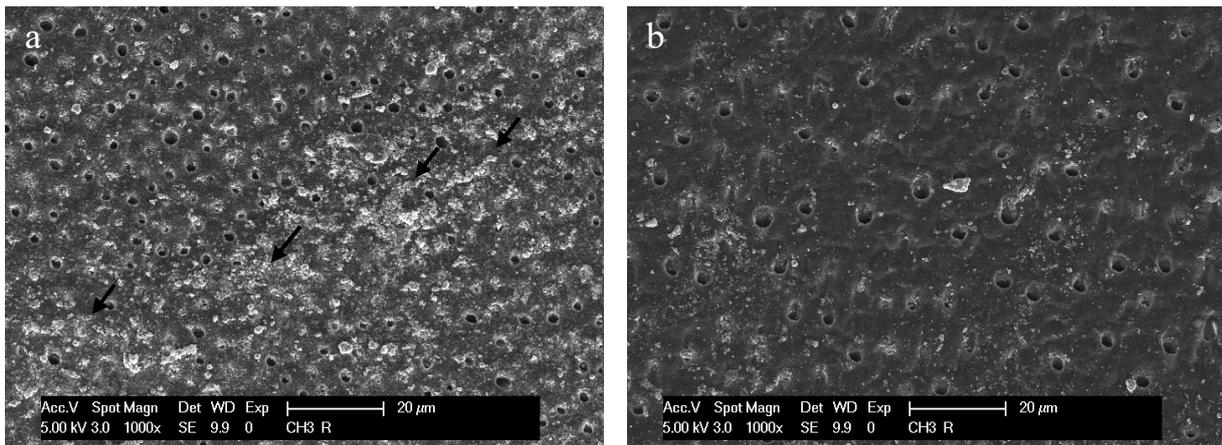
### Fluorid-Paste

Die acht mit Fluorid-Paste 1 min geputzten Prüfkörper wurden auf den Oberflächen im REM quantitativ bei 1000facher Vergrößerung analysiert (Abb. 16) und einem Verschlussgrad (Score) zwischen 1 und 5 (Tabelle 4) zugeordnet. Aus diesen 8 Score Werten ließ sich ein Median errechnen. Der Median auf der Versuchsfläche lag bei 1000facher Vergrößerung bei 2. Der Minimalwert lag bei 1, der Maximalwert bei 4. Der Verschlusseffekt war unterschiedlich, es überwogen teilweise offenen Tubuli. Die Fluoridpaste bildete Streifen auf den Versuchsflächen bei denen vollständige Tubuliverschlüsse vorkommen konnten (Abb. 16 a).



**Abb. 15:** Graphische Darstellung des Verschlussgrades aus 8 Versuchsflächen bei 1000facher Vergrößerung. Nach einer Minute Putzen mit 1:3 verdünnter Fluorid-Paste leichte Verschlusseffekte. Der Verschlussgrad tendierte insgesamt zu teilweise offenen Tubuli. Der Median aus 8 Prüfkörper-Scores lag bei 2. Der Minimalwert lag bei 1, der Maximalwert bei 4.

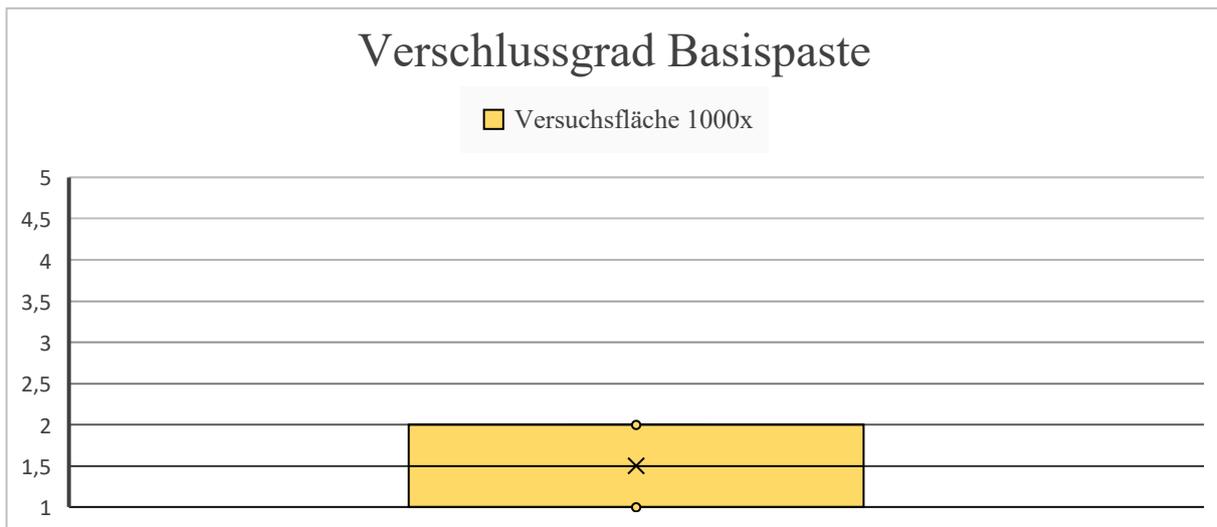
### Repräsentative REM-Aufnahmen:



**Abb. 16:** Aufnahmen eines repräsentativen Fluorid-Paste-Prüfkörpers: a) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung mit Verschlussgrad Score 3 und Streifen mit vollständigen Tubuliverschlüssen; b) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung mit Verschlussgrad Score 2

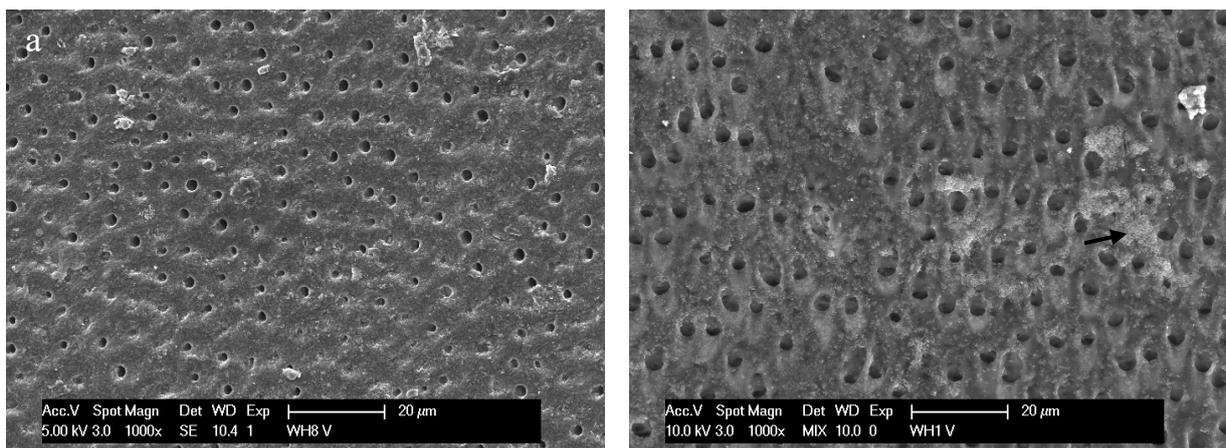
### Basispaste

Die acht mit Fluorid-Paste 1 min geputzten Prüfkörper wurden auf den Oberflächen im REM quantitativ bei 1000facher Vergrößerung analysiert (Abb. 18) und einem Verschlussgrad (Score) zwischen 1 und 5 (Tabelle 4) zugeordnet. Aus diesen 8 Score-Werten ließ sich ein Median errechnen. Der Median auf der Versuchsfläche lag bei 1000facher Vergrößerung bei 1,5. Der Minimalwert lag bei 1, der Maximalwert bei 2. Es handelte sich insgesamt um einen reduzierten Verschlusseffekt mit offenen und teilweise offenen Tubuli. Das Box-Plot-Diagramm in Abb. 17 zeigt, dass es auf der Versuchsfläche bei 1000facher Vergrößerung zu keinen großen Abweichungen kam. Die Tubuli waren nahezu bei allen acht Prüfkörpern offen oder teilweise offen. Vereinzelt konnten vollständige Verschlüsse durch Auflagerungen entdeckt werden. Diese feinkörnigen Auflagerungen dominierten nicht. Sie kamen vereinzelt vor (Abb. 18 b).



**Abb. 17:** Graphische Darstellung des Verschlussgrades auf der Versuchsfläche bei 1000facher Vergrößerung. Nach einer Minute Putzen mit 1:3 verdünnter Basispaste ausgebliebene bis leichte Verschlusseffekte. Der Verschlussgrad lag insgesamt dazwischen. Der Median aus 8 Prüfkörper-Scores lag bei 1,5.

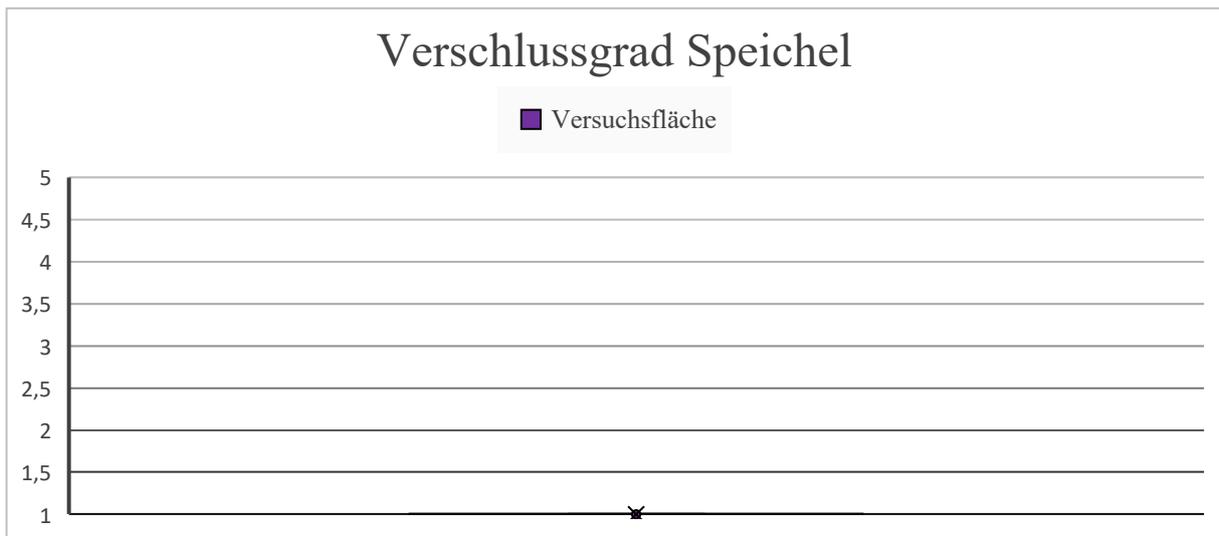
### Repräsentative REM-Aufnahmen:



**Abb. 18:** Aufnahmen eines repräsentativen Basispaste-Prüfkörpers: a) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung mit Verschlussgrad Score 2; b) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung mit Verschlussgrad Score 1, vereinzelt bewirken Auflagerungen vollständige Verschlüsse.

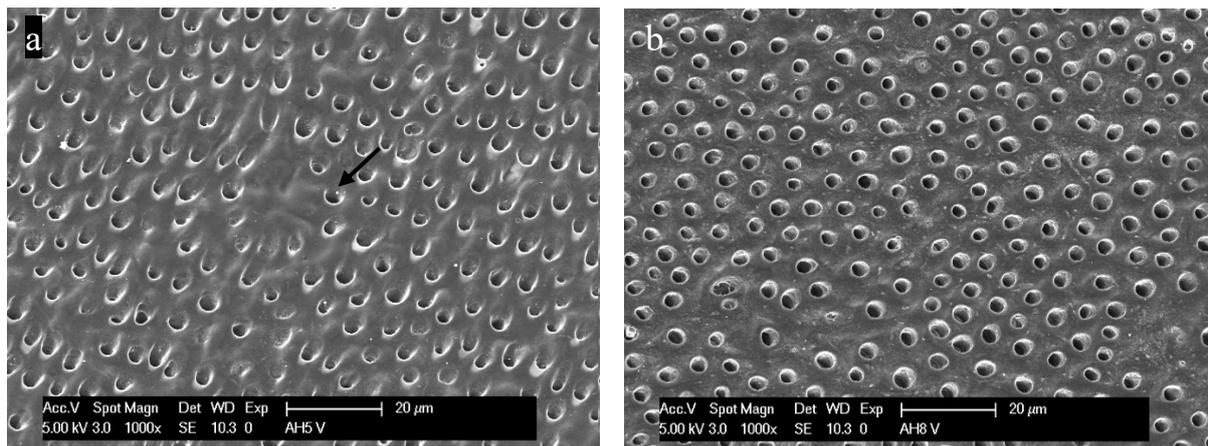
### Speichel

Die acht mit Speichel 1 min geputzten Prüfkörper wurden jeweils auf den Oberflächen im REM visuell bei 1000facher Vergrößerung analysiert (Abb. 20) und einem Verschlussgrad (Score) zwischen 1 und 5 (Tabelle 4) zugeordnet. Aus diesen 8 Score-Werten ließ sich ein Median errechnen. Der Median auf der Versuchsfläche lag bei 1000facher Vergrößerung bei 1. Es kam zu keinen Verschlusseffekten, die Tubuli waren allesamt offen. Punktförmige Fremdkörper traten vereinzelt auf. Diese hatten keinen Tubuli verschließenden Effekt.



**Abb. 19:** Graphische Darstellung des Verschlussgrades auf der Versuchs- und Referenzfläche bei zwei Vergrößerungen. Versuchsfläche: offene Tubuli, Median auf 1, kein Tubuliverschluss erkennbar. Referenzfläche: insgesamt offene bis teilweise offene Tubuli.

### Repräsentative REM-Aufnahmen:

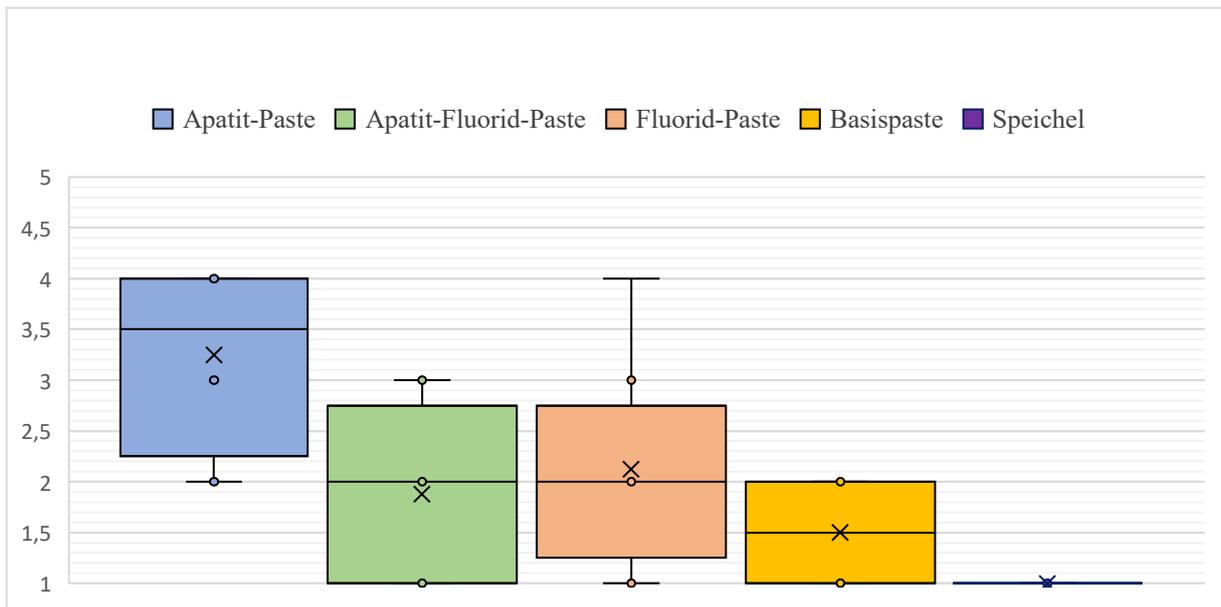


**Abb. 20:** Aufnahmen eines repräsentativen Speichel-Prüfkörpers: a) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung mit nicht vorhandenem Verschlussgrad Score 1 und punktförmigen Fremdkörpern in vereinzelt Tubuli; b) Versuchsfläche 1000 x Vergrößerung Verschlussgrad Score 1.

### Quantitative Ergebnisse im Vergleich

Der Median aus 8 Prüfkörpern lag bei der Apatit-Paste mit 3,5 am höchsten. Der Minimalwert lag bei 2, der Maximalwert bei 4. Die Fluorid-Paste erreichte einen Median von 2 vom Minimalwert 1 bis zum Maximalwert 4. Die Apatit- Fluorid-Paste erreichte einen Median von 1,5 vom Minimalwert 1 bis zum Maximalwert 3. Die Basispaste erreichte einen Median von 1,5 vom Minimalwert 1 bis zum Maximalwert 2. Der Speichel zeigte einen Median von 1. Bei Speichel waren keine Verschlusseffekte vorhanden (Scores bei 1). Mit geringfügigen Unterschieden entsprachen die Mediane den jeweiligen Mittelwerten (Abb. 21). Alle Pasten außer der Basispaste wiesen gegenüber Speichel einen statistisch signifikanten Effekt auf.

Gegenüber der Basispaste wies nur die Apatit-Paste statistisch signifikante Effekte auf (siehe Tabelle 7).



**Abb. 21:** Unterschiede zwischen Apatit-Paste, Apatit-Fluorid-Paste, Fluorid-Paste, Basispaste und Speichel. Apatit-Paste weist die höchste Abweichung zu Speichel auf, Basispaste zu Speichel die geringste.

**Tabelle 7:** Mann-Whitney-U-Test:  $p < 0,05$  signifikanter Unterschied,  $p \geq 0,05$  kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Tubuli-Verschlusseffekte zu Speichel bzw. zur Basispaste

	Speichel	Basispaste
<b>Apatit-Paste</b>	$p = 0,001$	$p = 0,04$
<b>Apatit-Fluorid-Paste</b>	$p = 0,04$	$p = 0,43$
<b>Fluorid-Paste</b>	$p = 0,014$	$p = 0,23$
<b>Basispaste</b>	$p = 0,103$	-
<b>Speichel</b>	$p = 0,103$	-

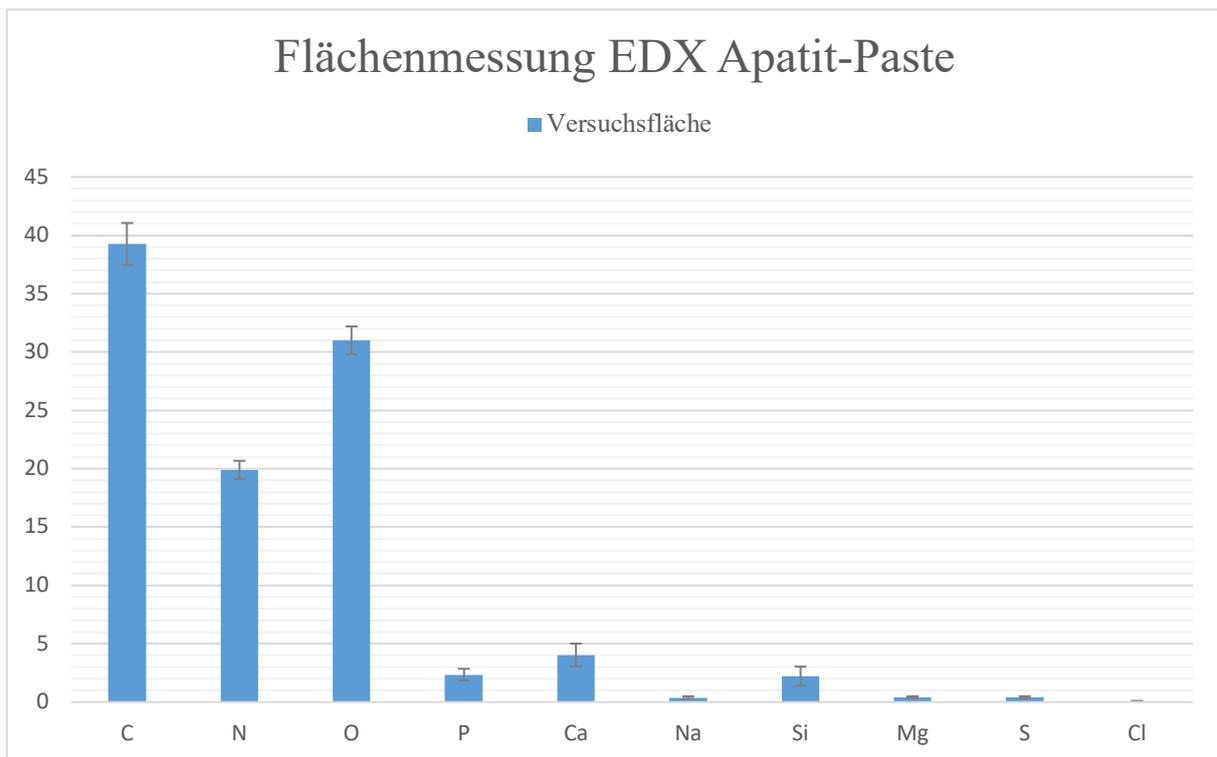
Die Tubuli-Verschlusseffekte aller Zahnpasten, bis auf die Basispaste, waren gegenüber Speichel signifikant. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Basispaste und dem Speichel. Bezogen auf die Basispaste war nur der Unterschied zur Apatit-Paste signifikant.

## 4.2.2 Qualitative Ergebnisse

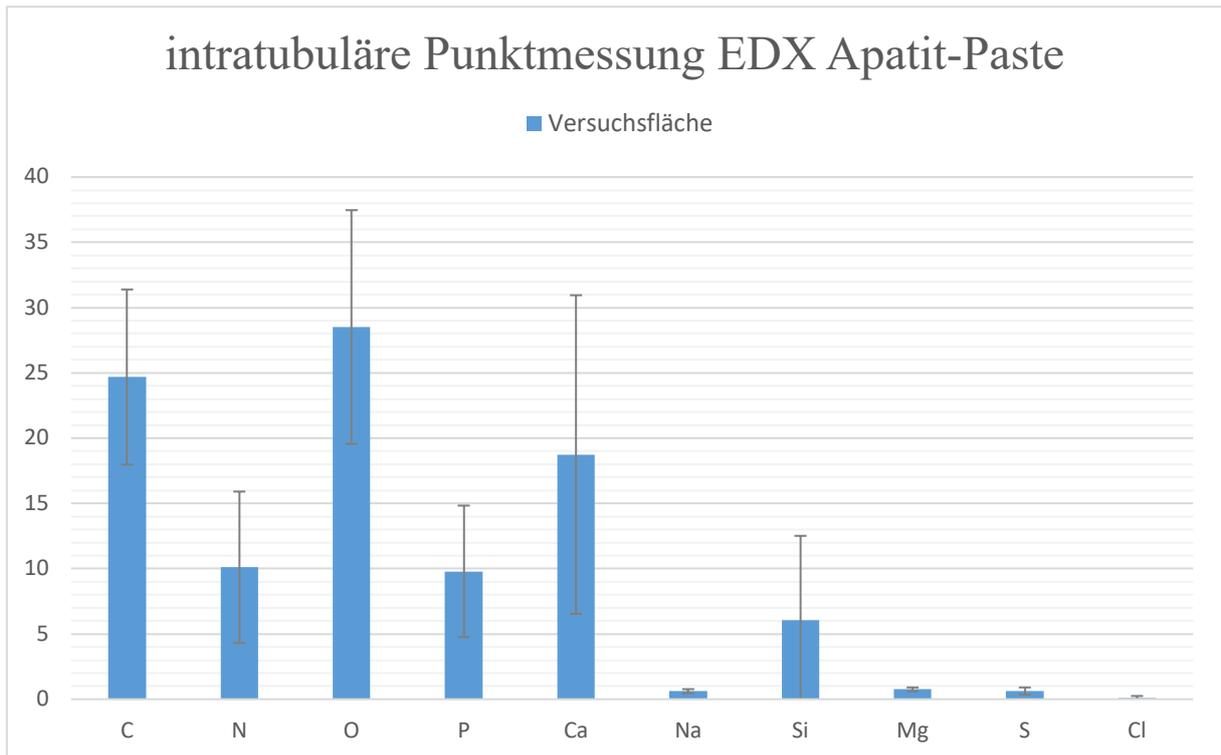
### Apatit-Paste

Die Struktur der intratubulären Einlagerungen entsprach der Beschreibung in Punkt 4.1.2. Es wurden drei EDX-Messungen auf der Versuchsfläche je Prüfkörper durchgeführt. Erkannt wurden in allen Messungen Na, Mg, S, und Cl. Der Nachweis dieser Elemente lag unter 1 Gew.-%. Die Ergebnisse der Versuchsflächen wurden als Mittelwert in drei Säulendiagrammen dargestellt.

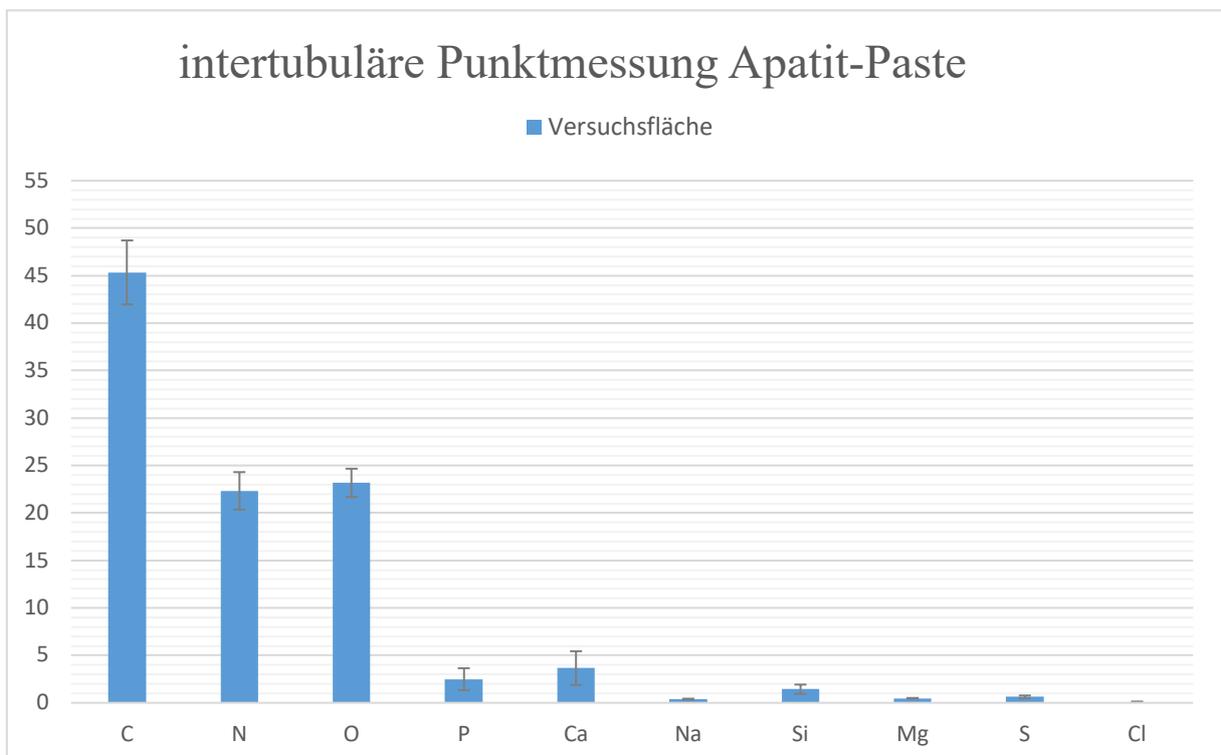
1. (Abb. 22): Die erste Messung bezog sich auf ein Areal von 20 x 25 µm bei 5000facher Vergrößerung: C = 39,3, N = 19,9, O = 31, P = 2,3, Ca = 4, Si = 2,2 Gew.-%.
2. (Abb. 23): Hier wurde der Inhalt eines repräsentativen Tubulus auf seine Zusammensetzung gemessen: C = 24,7, N = 10,1, O = 28,5, P = 9,8, Ca = 18,7, Si = 6 Gew.-%. Gemäß Tabelle 1 waren die Tubuli auf der Versuchsfläche zunehmend verschlossen. Die hohen P- und Ca- Werte verweisen auf Hydroxylapatit als wesentlichen Bestandteil der Verschlüsse.
3. (Abb. 24): Die letzte Messung bezog sich auf einen intertubulär-repräsentativen Bereich: C = 45,3, N = 22,3, O = 23,2, P = 2,5, Ca = 3,7, Si = 1,4 Gew.-%.



**Abb. 22:** Mittelwerte aus 8 Apatit-Paste-Proben der Flächen-Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



**Abb. 23:** Mittelwerte aus 8 Apatit-Paste-Proben der intratubulären Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



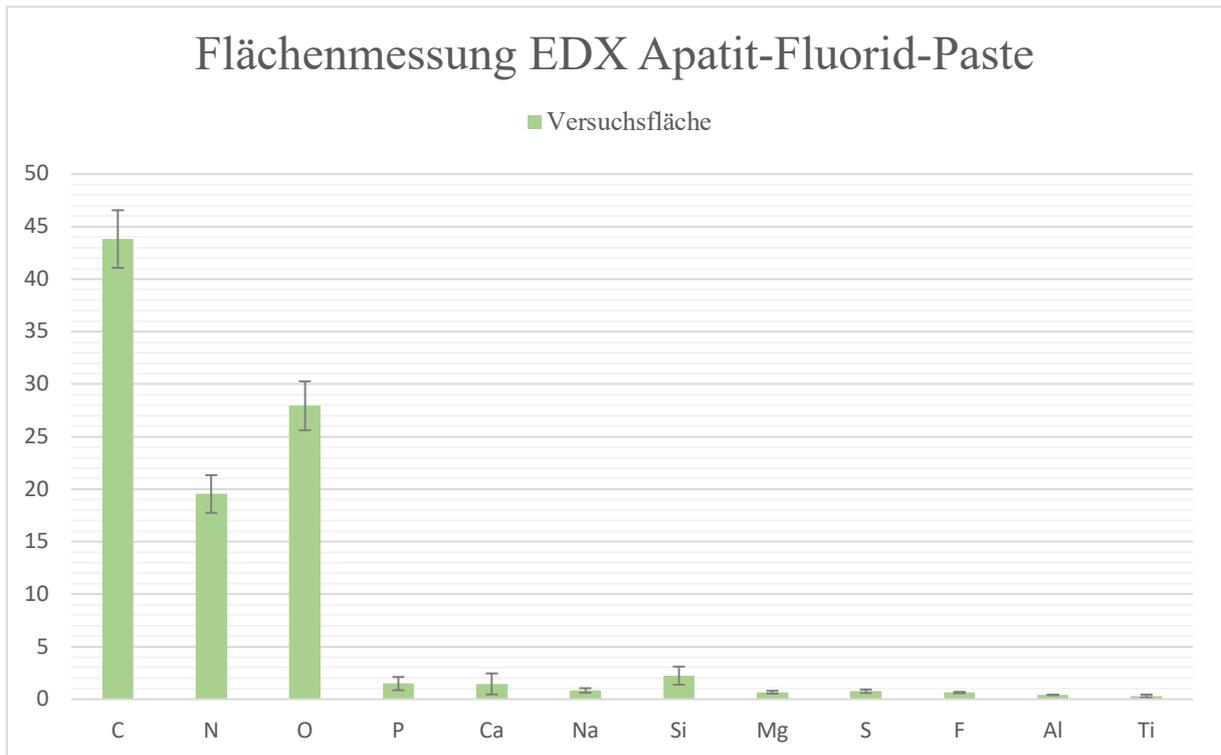
**Abb. 24:** Mittelwerte aus 8 Apatit-Paste-Proben der intertubulären Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%

Die Ergebnisse aus dem Diagramm zur Flächenmessung (Abb. 22) und dem Diagramm zur intertubulären Messung (Abb. 24) ähneln sich. Das intratubuläre Diagramm (Abb. 23) unterscheidet sich aufgrund der erhöhten Werte von Ca, P und Si. C und N sind reduziert. Die Standardabweichungen sind im intratubulären Diagramm (Abb. 23) für C, N, O, P, Ca und Si deutlich ausgeprägt.

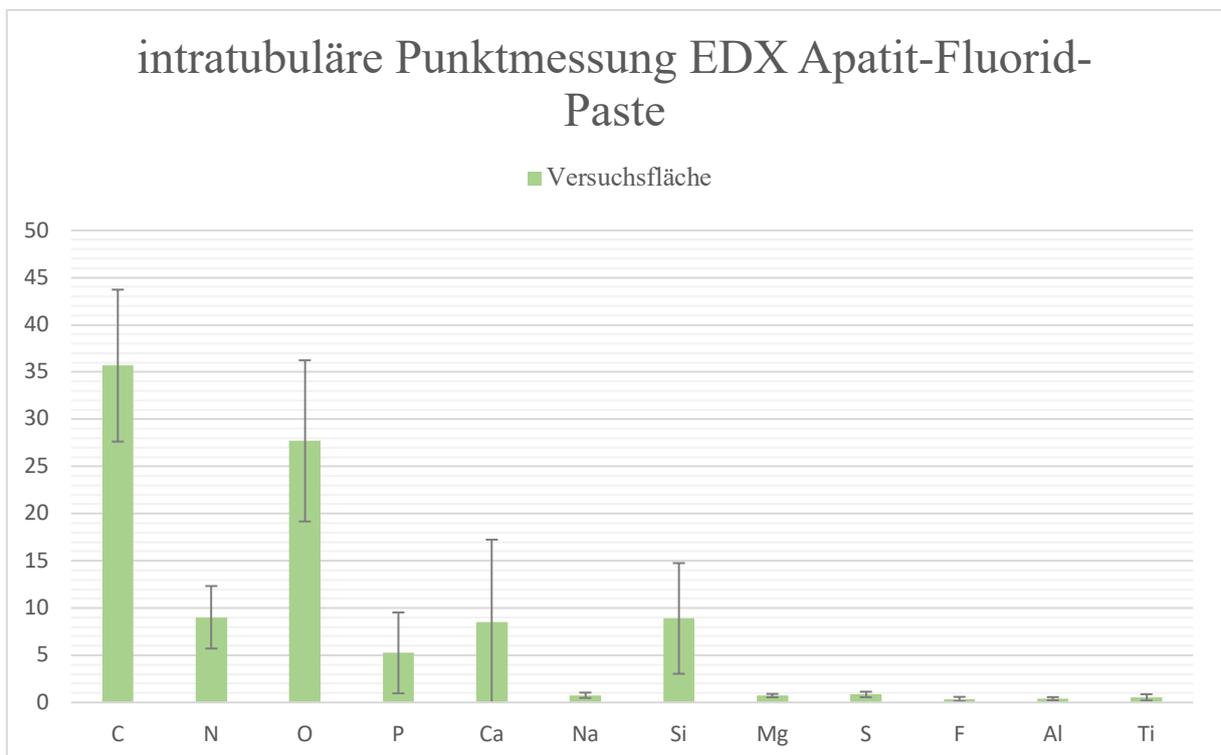
### Apatit-Fluorid-Paste

Die Struktur der intratubulären Einlagerungen war grobkörnig. Hyperdense Bereiche wiesen auf Silizium hin, weniger auffällige Strukturen in den Tubuli wiesen auf erhöhte Mengen Calcium und Phosphat oder auf das peritubuläre Dentin hin. Es wurden drei EDX-Messungen auf der Versuchsfläche je Prüfkörper durchgeführt. Erkannt wurden in allen Messungen Na, Mg, S, F, Al und Ti. Der Nachweis dieser Elemente lag unter 1 Gew.-%. Die Ergebnisse der Versuchsflächen wurden als Mittelwert in drei Säulendiagrammen dargestellt.

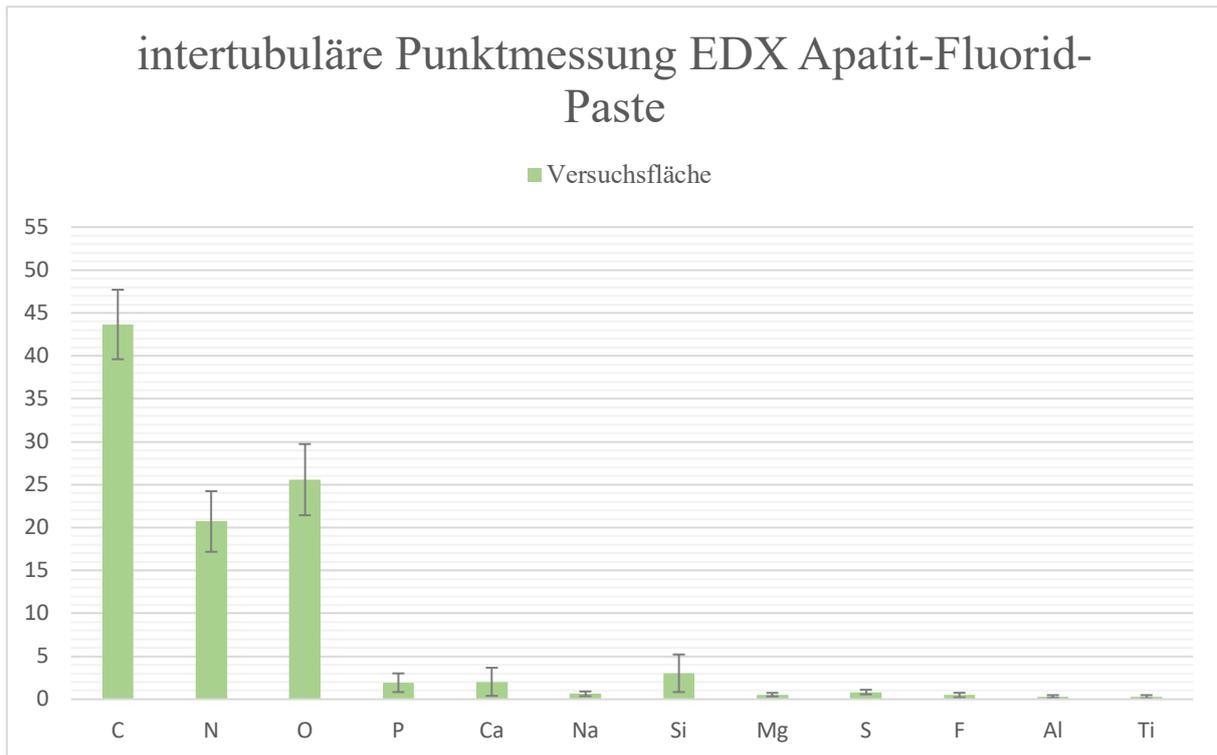
1. (Abb. 25): Die erste Messung bezog sich auf ein Areal von 20 x 25  $\mu\text{m}$  bei 5000facher Vergrößerung: C = 43,8, N = 19,5, O = 27,9, P = 1,5, Ca = 1,5, Si = 2,2 Gew.-%.
2. (Abb. 26): Hier wurde der Inhalt eines repräsentativen Tubulus auf seine Zusammensetzung gemessen: C = 35,7, N = 9,0, O = 27,7, P = 5,3, Ca = 8,5, Si 8,9 Gew.-%. Während Ti auf der Referenzfläche mit 1,7 Gew.-% auffiel, lag er auf der Versuchsfläche unter 1 Gew.-%. Das Verschlussmaterial der Tubuli bei Apatit-Fluorid-Paste bestand aus Si, Ca und P.
3. (Abb. 27): Die letzte Messung bezog sich auf einen intertubulär-repräsentativen Bereich: C = 43,7, N = 20,7, O = 21,5, P = 1,9, Ca = 2, Si = 3 Gew.-%.



**Abb. 25:** Mittelwerte aus 8 Apatit-Fluorid-Paste-Proben der Flächen-Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



**Abb. 26:** Mittelwerte aus 8 Apatit-Fluorid-Paste-Proben der intratubulären Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



**Abb. 27:** Mittelwerte aus 8 Apatit-Fluorid-Paste-Proben der intertubulären Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%

Die Ergebnisse aus dem Diagramm zur Flächenmessung (Abb. 25) und dem Diagramm zur intertubulären Messung (Abb. 27) ähneln sich. Das intratubuläre Diagramm (Abb. 26) unterscheidet sich aufgrund der erhöhten Werte von Ca, P und Si. C und N sind reduziert. Die Standardabweichungen sind im intratubulären Diagramm (Abb. 26) für C, N, O, P, Ca und Si deutlich ausgeprägt.

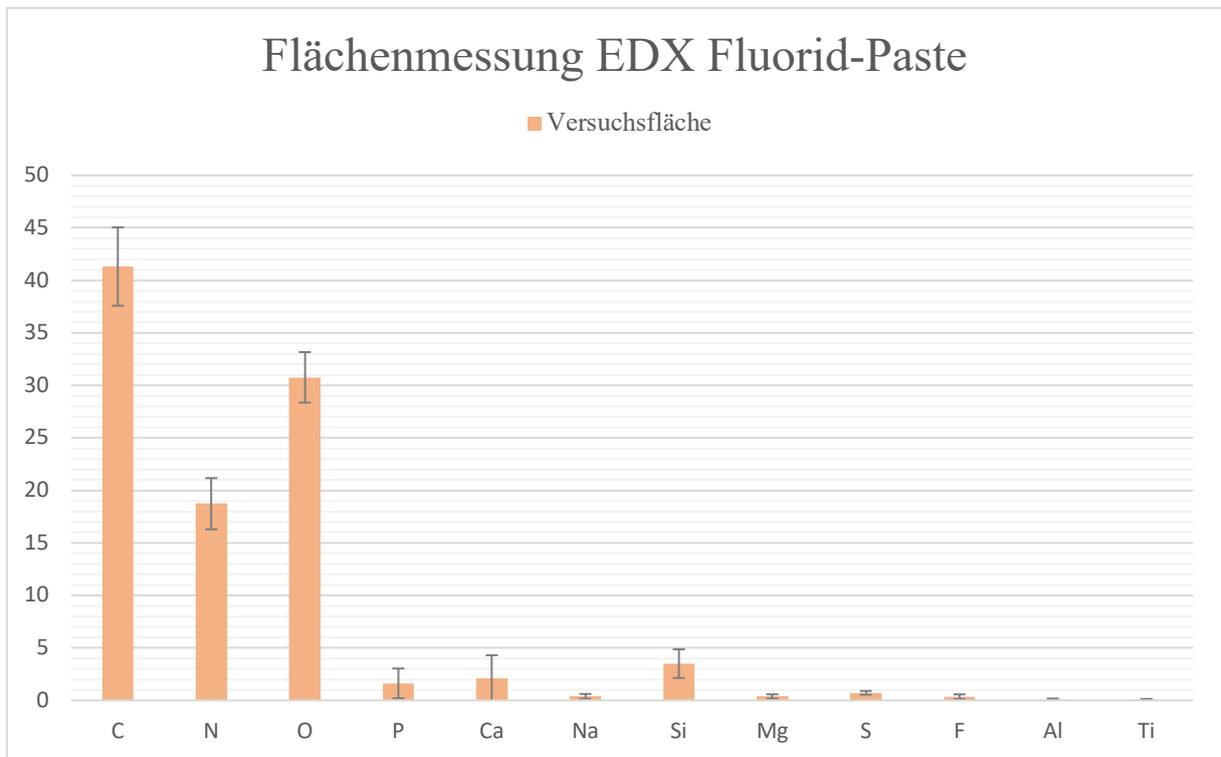
### Fluorid-Paste

Die Struktur der intratubulären Einlagerungen war grobkörnig und entsprach der Beschreibung im wasserbasierten Versuch (4.1.2). Es wurden drei EDX-Messungen auf der Versuchsfläche je Prüfkörper durchgeführt. Erkannt wurden in allen Messungen Na, Mg, S, F, Al und Ti. Der Nachweis dieser Elemente lag unter 1 Gew.-%. Die Ergebnisse der Versuchsflächen wurden als Mittelwert in drei Säulendiagrammen dargestellt.

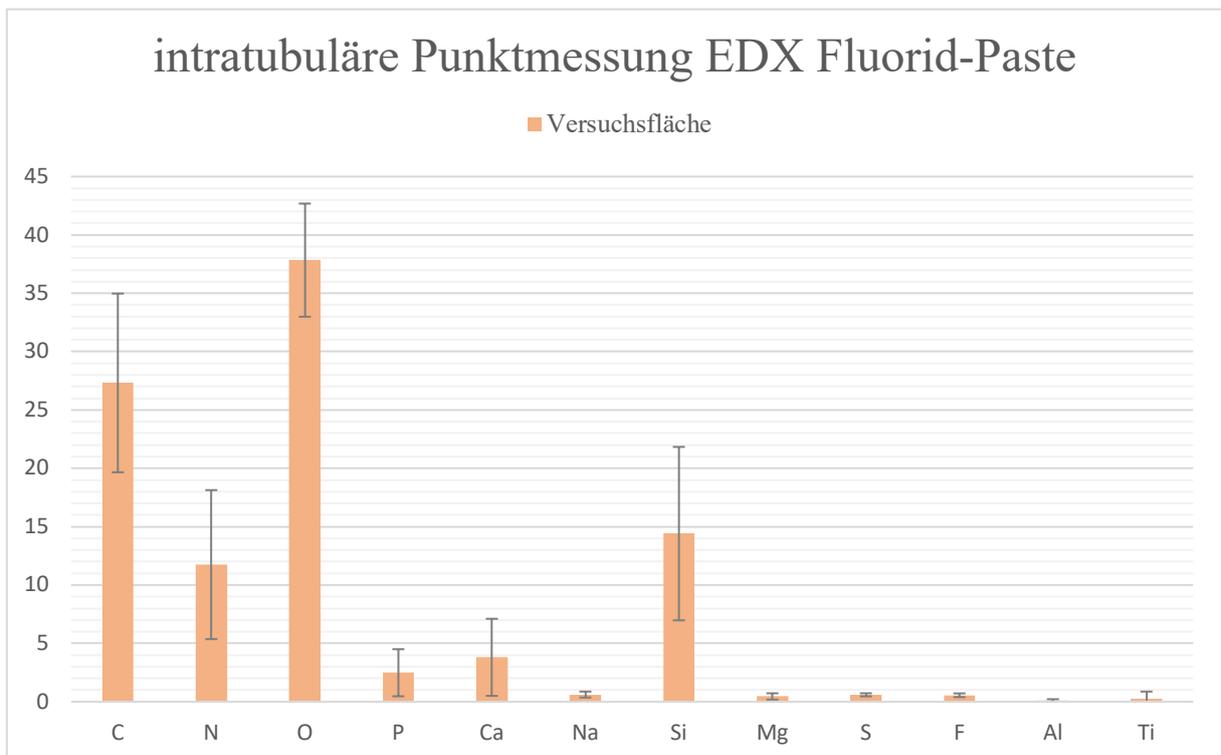
1. (Abb. 25): Die erste Messung bezog sich auf ein Areal von 20 x 25 µm bei 5000facher Vergrößerung: C = 41,3, N = 18,7, O = 30,8, P = 1,6, Ca = 2,1, Si = 3,5 Gew.-%.

2. (Abb. 26): Hier wurde der Inhalt eines repräsentativen Tubulus auf seine Zusammensetzung gemessen: C = 35,7, N = 11,7, O = 37,8, P = 2,5, Ca = 3,8, Si 14,4 Gew.%. Das Verschlussmaterial der Tubuli bestand hauptsächlich aus Si.

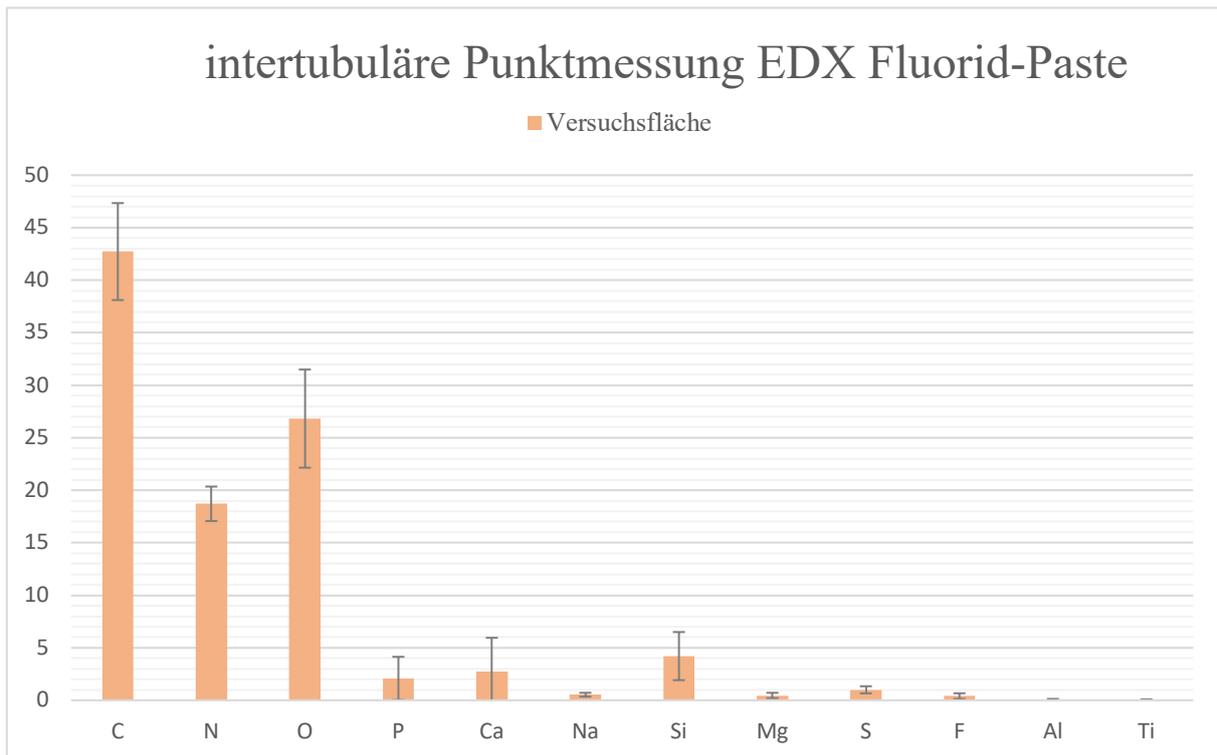
3. (Abb. 27): Die letzte Messung bezog sich auf einen intertubulär-repräsentativen Bereich: C = 42,7, N = 18,7, O = 26,8, P = 2,1, Ca = 2,8, Si = 4,2 Gew.-%.



**Abb. 28:** Mittelwerte aus 8 Fluorid-Paste-Proben der Flächen-Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



**Abb. 29:** Mittelwerte aus 8 Fluorid-Paste-Proben der einer intratubulären Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



**Abb. 30:** Mittelwerte aus 8 Fluorid-Paste-Proben der intertubulären Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%

Die Ergebnisse aus dem Diagramm zur Flächenmessung (Abb. 28) und dem Diagramm zur intertubulären Messung (Abb. 30) ähneln sich. Das intratubuläre Diagramm (Abb. 29) unterscheidet sich aufgrund des erhöhten Wertes von Si. C und N sind reduziert. Die Standardabweichungen sind im intratubulären Diagramm (Abb. 29) für C, N, O, Ca und Si deutlich ausgeprägt.

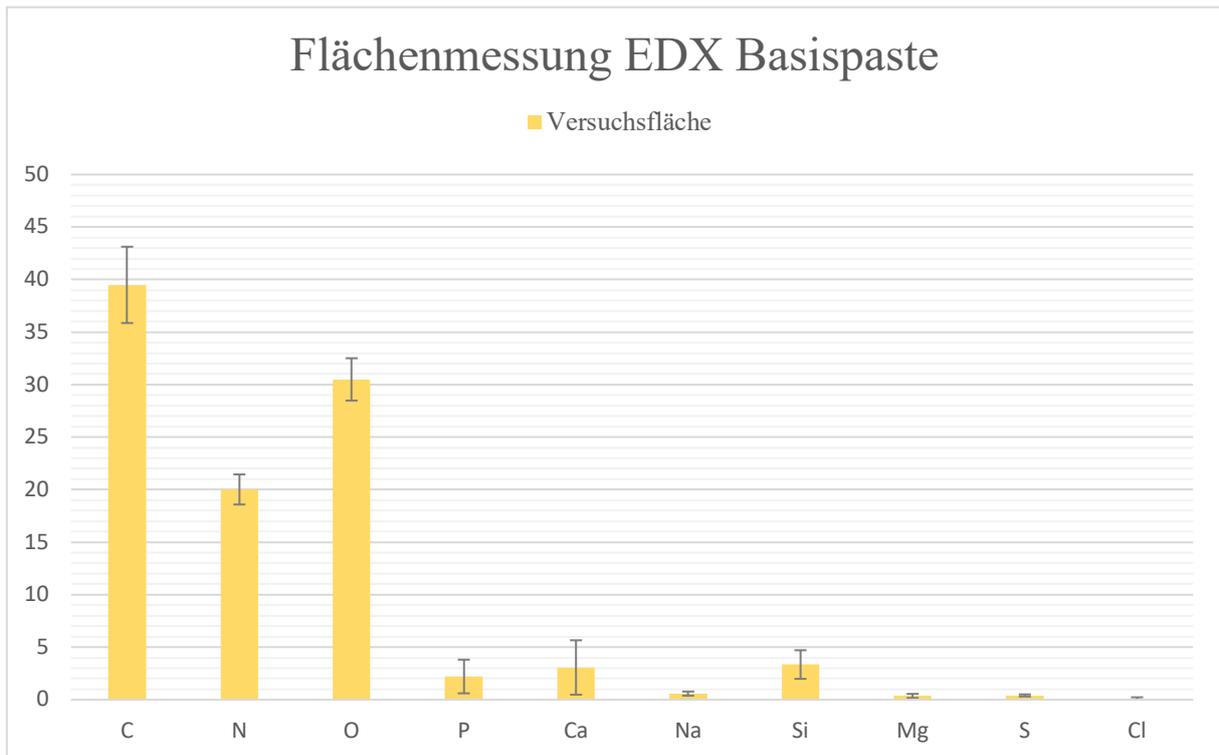
### Basispaste

Die Struktur der intratubulären Einlagerungen war fein und schaumig. Sie kleidete die Tubuliwände teilweise aus. Es kamen vereinzelt kristalline Auflagerungen vor, die die intratubuläre Betrachtung verhinderten (siehe Abb. 18b). Es wurden drei EDX-Messungen auf der Versuchsfläche je Prüfkörper durchgeführt. Erkannt wurden in allen Messungen Na, Mg, S und Cl. Der Nachweis dieser Elemente lag unter 1 Gew.-%. Die Ergebnisse der Versuchsflächen wurden als Mittelwert in drei Säulendiagrammen dargestellt.

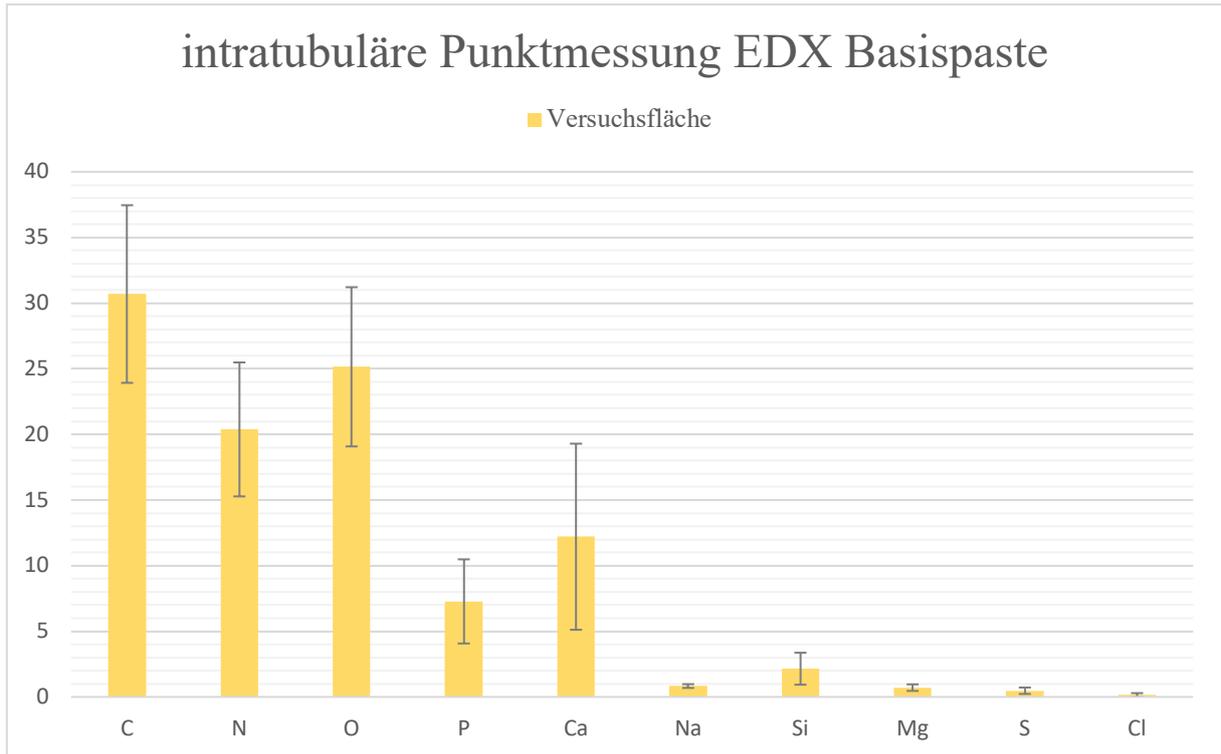
1. (Abb. 25): Die erste Messung bezog sich auf ein Areal von 20 x 25 µm bei 5000facher Vergrößerung: C = 39,5, N = 20,0, O = 30,5, P = 2,2, Ca = 3,0, Si = 3,3 Gew.-%.

2. (Abb. 26): Hier wurde der Inhalt eines repräsentativen Tubulus auf seine Zusammensetzung gemessen: C 30,7, N = 20,4, O = 25,1, P = 7,3, Ca = 12,2, Si 2,2 Gew.-%. Das Verschlussmaterial bestand vorwiegend aus den Hydroxylapatitkomponenten Ca und P.

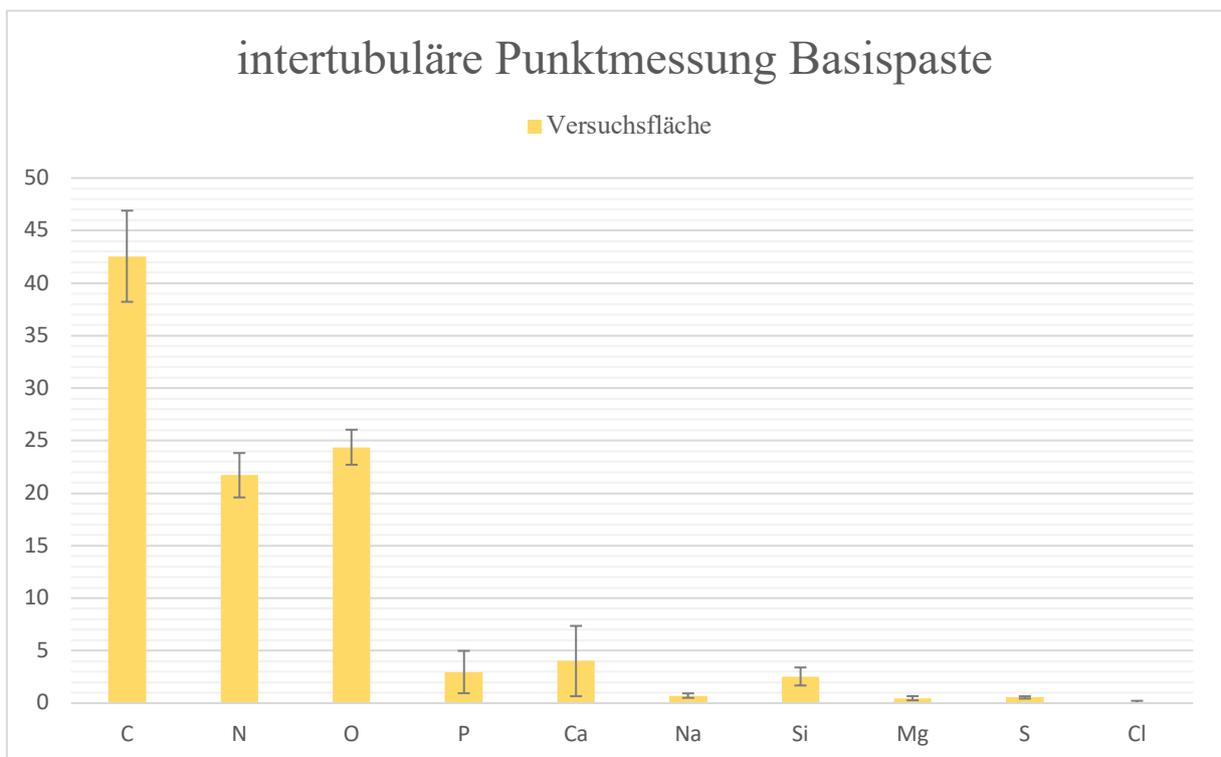
3. (Abb. 27): Die letzte Messung bezog sich auf einen intertubulär-repräsentativen Bereich: C = 42,5, N = 21,7, O = 24,4, P = 3,0, Ca = 4,0, Si = 2,5 Gew.-%.



**Abb. 31:** Mittelwerte aus 8 Basispaste-Proben der Flächen-Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



**Abb. 32:** Mittelwerte aus 8 Basispaste-Proben der intratubulären Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



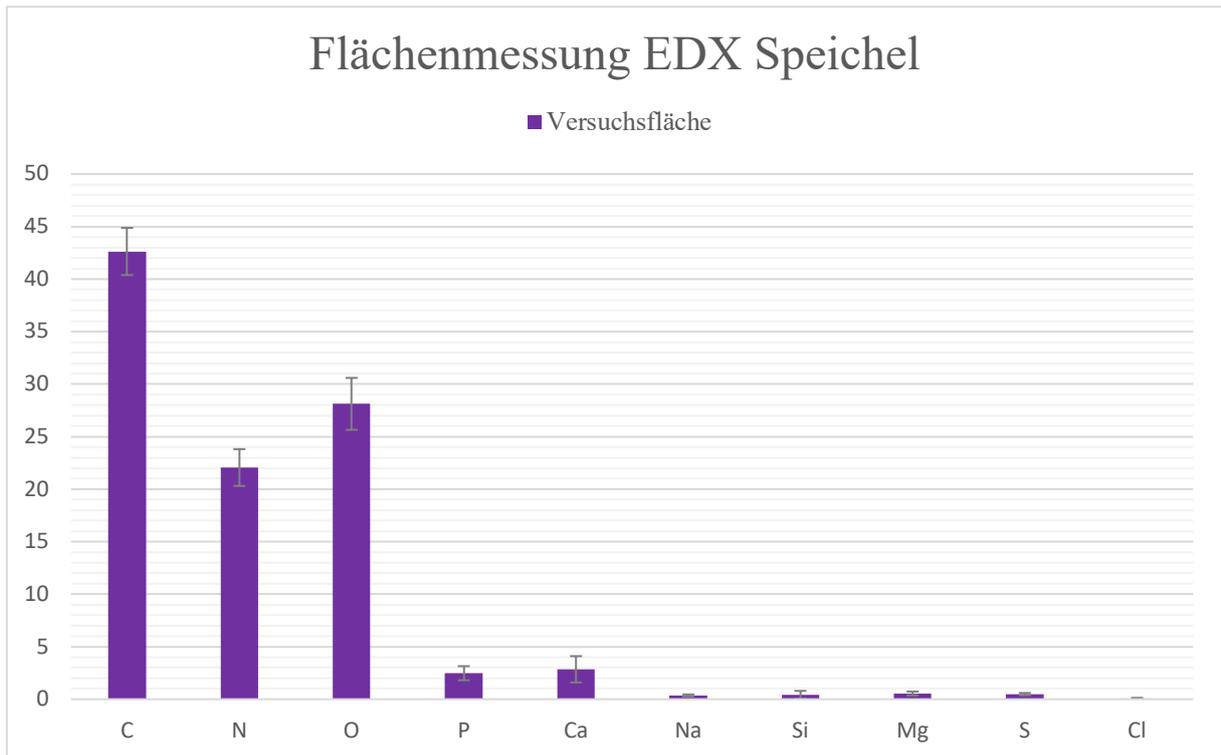
**Abb. 33:** Mittelwerte aus 8 Basispaste-Proben der intertubulären Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%

Die Ergebnisse aus dem Diagramm zur Flächenmessung (Abb. 31) und das Diagramm zur intertubulären Messung (Abb. 33) sind ähnlich, lediglich der Sauerstoff-Wert unterscheidet sich. Das intratubuläre Diagramm (Abb. 32) unterscheidet sich aufgrund der erhöhten Werte von Ca und P. Die Standardabweichungen sind im intratubulären Diagramm (Abb. 32) für C, N, O, P, und Ca deutlich ausgeprägt. Sauerstoff ist intra- wie intertubulär um 5 Gew.-% gegenüber der Flächenmessung reduziert.

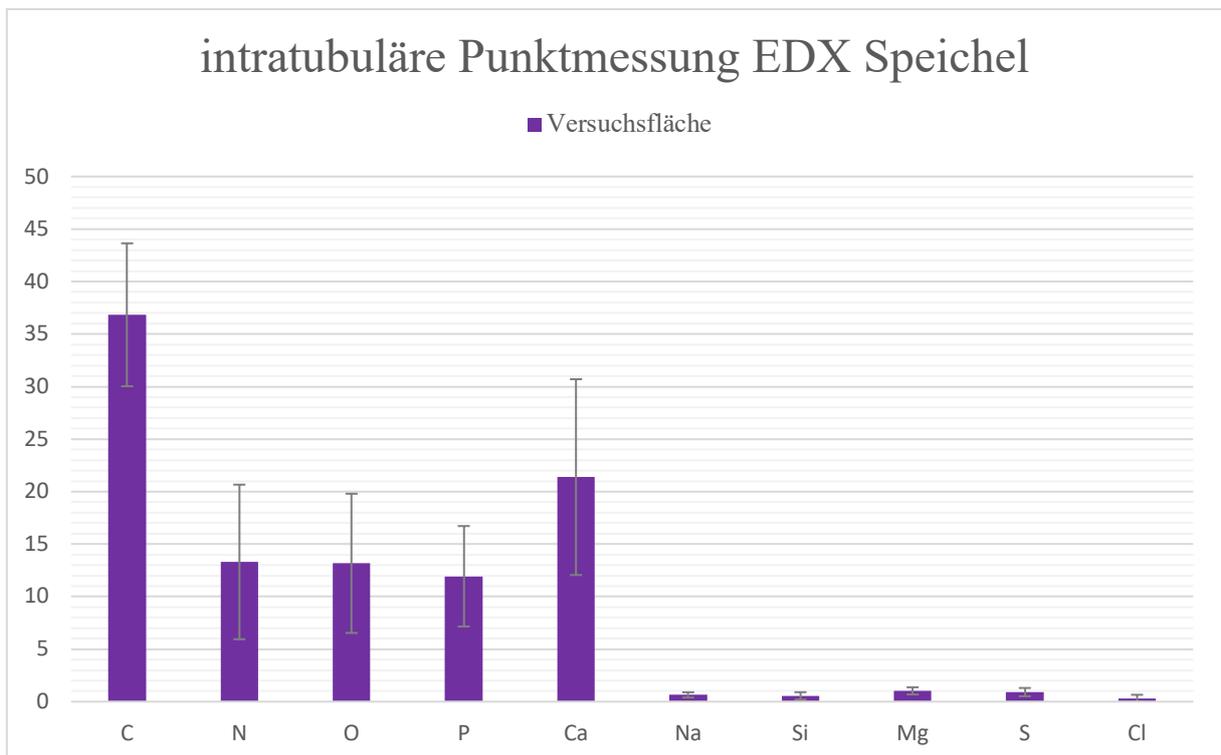
### Speichel

Intratubuläre Einlagerungen kamen kaum vor. Es wurden drei EDX-Messungen auf der Versuchsfläche je Prüfkörper durchgeführt. Erkannt wurden in allen Messungen Na, Si, Mg, S und Cl. Der Nachweis dieser Elemente lag unter 1 Gew.-%. Die Ergebnisse der Versuchsflächen wurden als Mittelwert in drei Säulendiagrammen dargestellt.

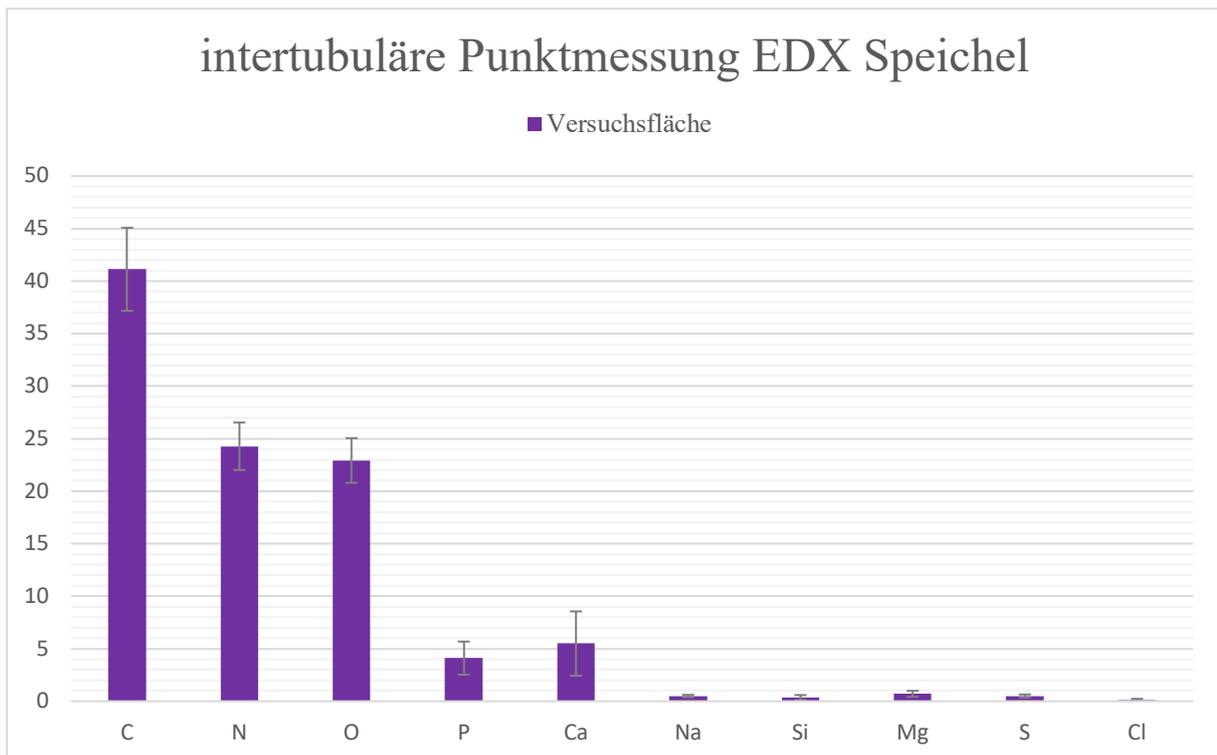
1. (Abb. 34): Die erste Messung bezog sich auf ein Areal von  $20 \times 25 \mu\text{m}$  bei 5000facher Vergrößerung: C = 42,6, N = 22, O = 28,1, P = 2,5, Ca = 2,9 Gew.-% unauffällig.
2. (Abb. 35): Hier wurde der Inhalt oder die Innenseite eines repräsentativen Tubulus auf seine Zusammensetzung gemessen: C = 36,8, N = 13,3, O = 13,2, P = 11,9, Ca = 21,4 Gew.-%. Da kein Verschlussmaterial vorzufinden war, ist intratubulär von peritubulärem Dentin auszugehen.
3. (Abb. 36): Die letzte Messung bezog sich auf einen intertubulär-repräsentativen Bereich: C = 41,1, N = 24,3, O = 22,9, P = 4,1, Ca = 5,5 Gew.-%.



**Abb. 34:** Mittelwerte aus 8 Speichel-Proben der Flächen-Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



**Abb. 35:** Mittelwerte aus 8 Speichel-Proben der intratubulären Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%



**Abb. 36:** Mittelwerte aus 8 Speichel-Proben der Elementanalyse mit Standardabweichung in Gew.-%

Die Ergebnisse aus dem Diagramm zur Flächenmessung (Abb. 34) und dem Diagramm zur intertubulären Messung (Abb. 36) unterscheiden sich bei den N-, O-, P- und Ca-Werten. Das intratubuläre Diagramm (Abb. 35) unterscheidet sich aufgrund der erhöhten Werte von Ca und P. N und O sind reduziert. Die Standardabweichungen sind im intratubulären Diagramm (Abb. 35) für C, N, O, P, und Ca deutlich ausgeprägt.

#### Qualitative Ergebnisse im Vergleich

Die Apatit-Paste wies insgesamt den höchsten Tubuli-Verschlussgrad auf. Die Apatit-Paste (P = 9,8, Ca = 18,7 Gew.-%) und der Speichel (P = 11,9, Ca = 21,4 Gew.-%) zeigten die höchsten intratubulären P- / Ca-Werte. Beim Speichel handelte es sich nicht um Verschlusskomponenten, sondern um die gemessenen Tubuliwände. Im Gegensatz dazu fiel bei der Fluorid-Paste der intratubuläre Inhalt durch den vergleichsweise höchsten Siliziumgehalt auf (Si = 14,4 Gew.-%). Bei der Apatit-Fluorid-Paste erschien das Verhältnis P und Ca zu Si vergleichsweise ausgewogen (P = 5,3, Ca = 8,5, Si 8,9 Gew.-%). Die Basispaste hatte, vom Speichel abgesehen, den geringsten Siliziumgehalt (Si 2,2 Gew.-%). Hier traten P und Ca hervor (P = 7,3, Ca = 12,2). Die Ergebnisse aus den intertubulären Messungen und den Flächenmessungen ähnelten nicht nur innerhalb eines Reagenzes, sondern auch untereinander. Sie unterschieden sich hauptsächlich bei den Elementen N, Ca, P und Si von den intratubulären Ergebnissen.

## 5 Diskussion

### 5.1 Kritische Betrachtung der eigenen Untersuchung (Methodendiskussion)

In dieser Untersuchung wurden nicht durchgebrochene Weisheitszähne verwendet, um das Vorhandensein von Sekundär- und Reizdentin auszuschließen. Somit konnten reine Primärdentinproben hergestellt werden.

#### 5.1.1 Gestaltung der Prüfkörper und Abdeckung der Referenzfläche

Zur Orientierung wurde an einem Ende der Prüfkörper auf die Beseitigung der Schmelzbereiche verzichtet. Für das speichelbasierte Versuchsmodell war entscheidend, dass sich dieser Schmelzbereich hinter einem in der Referenzebene liegenden Dentinabschnitt befand. Somit hatten die Schmelzanteile für den Versuch und die Messungen keine Bedeutung. Es konnte keine Studie gefunden werden, die sich dieser Orientierungshilfe bediente. Die Form und Größe der Prüfkörper wurde in anderen Untersuchungen kaum beschrieben. Lediglich durch Zeichnungen (Ganss et al., 2007) und Angaben zur Versuchsfläche oder dem Durchmesser (Wiegand et al., 2009; Zimmer et al., 2015; Eliades et al., 2013,) konnte auf Form und Größe geschlossen werden. Demnach kommen vorwiegend runde Prüfkörperscheiben mit einem Durchmesser von 3 - 9 mm zur Anwendung. Die Prüfkörperdicke wird mit 750 µm (Ganss et al., 2007) bis 3 mm (Arnold et al., 2016) beschrieben. Aus praktischen Gründen wurden in dieser Untersuchung eine viereckige Form und möglichst große Prüfkörper für ausgedehnte Versuchs- und Referenzflächen bevorzugt.

Für den speichelbasierten Versuch wurden die Referenzflächen der Prüfkörper mit 0,1 mm dicker Zinnfolie abgedeckt. Damit sollten diese Flächen ungeputzt bleiben. Da Zinnfolie plastisch verformbar ist, lässt sie sich gut anbringen und haftet ohne weitere Hilfsmittel. Metallfolien kamen bereits in anderen Studien zum Einsatz (Arnold et al., 2016; Wiegand et al., 2013). Alternativ kam eine Abdeckung mit Nagellack (Moron et al., 2012) oder einem nachhärtenden Kunststoff in Frage (Ganss et al., 2009; Schlueter et al., 2012). Das Abkratzen mit einem Skalpell oder Lösen mit Lösungsmitteln hätte eine Beeinflussung der Oberfläche der Prüfkörper und folglich der Messwerte nach sich ziehen können. Letztere Fehlerquellen wurden

in keiner der verfügbaren Studien bisher thematisiert. Ein Nachteil der Zinnfolienabdeckung war, dass sich die Zahnpasta unter die Zinnfolie schieben konnte. Der Slurry konnte folglich die Dentintubuli in den ungeputzten Flächen kontaminieren. Aufgrund dieser Kontaminierung waren die ungeputzten Flächen nicht als Referenzflächen zu gebrauchen. Es wurden daher die Prüfkörperoberflächen als Referenz herangezogen, bei denen keine Effekte nachzuweisen waren. Das waren die mit Wasser und Speichel geputzten Prüfkörperoberflächen (Abb. 10, Abb. 34, Abb. 35, Abb. 36).

### 5.1.2 REM-Abbildungen und Elementanalysen

Die Untersuchung der Oberfläche von Zahnhartsubstanzen im Hinblick auf An- und Auflagerungen erfolgte in anderen Untersuchungen mittels REM (Bennett et al., 2015; Bertassoni et al., 2010; Gjorgievska et al., 2013). Gemäß Sun et al., 2013 ermöglicht ein integrierter EDX-Sensor die Elementanalyse von Anlagerungen. Erhöhte Mengen an Phosphat, Calcium und Silikat lassen Rückschlüsse auf die Wirkung von Komponenten in den Zahnpasten zu. Calcium und Phosphat geben Aufschluss über den Abrieb der organischen Struktur des Dentins. Andere Elemente, wie beispielsweise Magnesium und Aluminium werden ebenfalls erkannt (Gjorgievska et al., 2013).

In dieser Untersuchung war das Vorkommen von Silizium in geputzten wie ungeputzten Bereichen auffällig. Ein Teil des Siliziums konnte sich durch das siliziumhaltige Schleifpapier bei der Prüfkörperherstellung anreichern. Die EDX-Analysen der Wasser und Speichelprüfkörper zeigten ein geringes Maß an Siliziumkontamination, meist im Bereich von < 1 Gew.-% (Abb. 10, Abb. 34, Abb. 35, Abb. 36). Alle Zahnpasten waren siliziumhaltig und führten zu weiteren intratubulären Einschlüssen von Silizium in die geputzt-geätzten Bereiche, wie die Ergebnisse der Elementanalysen zeigten (siehe Kapitel 4).

Mit einer EDX-Analyse lassen sich Elemente mit einer Ordnungszahl höher 10 zuverlässig nachweisen, sofern die Konzentration eines Elementes bei über 0,1 mmol/kg Trockengewicht liegt. Die Nachweisgrenze von Elementen mit niedriger Ordnungszahl, wie C, N, Cl, P, K, liegt dabei höher als bei Elementen mit hoher Ordnungszahl (Scimea et al., 2018). Die Nachweisgrenze sinkt bei zunehmender Ordnungszahl auf 1 Gew.-% (Choël et al., 2005). Dies deckt sich mit einem Skript von Ecke, 2020, wonach mit einem EDX-Detektor gemessene Elemente < 1 Gew.-% unter der Nachweisgrenze liegen. In dieser *in-vitro* Untersuchung konnten unter der Nachweisgrenze gemessene Elemente dennoch vorhanden sein. Die in Tabelle 6 gemessenen Elemente unterhalb der Nachweisgrenze waren auch bei den Herstellerangaben in Tabelle 1 zu finden. Beim wasserbasierten Putz-Versuch fiel dagegen auf,

dass bei der EDX-Analyse Elemente erschienen, die nicht zur benutzten Zahnpasta passten. Diese Elemente lagen allesamt im Bereich von  $< 1$  Gew.-%. Beim speichelbasierten Modell fielen diese Erscheinungen nicht auf. Eine Erklärung wäre eine nicht mehr nachvollziehbare Kontamination vor der EDX-Analyse. Ebenfalls möglich erscheint, dass beim wasserbasierten Versuch Verunreinigungen durch unterschiedlich behandelte Prüfkörper, die zu Vergleichszwecken gemeinsam im REM untersucht wurden, vorkamen. Beim speichelbasierten Versuch wurde stattdessen darauf geachtet, dass nur Prüfkörper, die mit einer Zahnpasta behandelt wurden, gleichzeitig im REM untersucht wurden. Die Messungen im speichelbasierten Versuch waren im Vergleich zu den Messungen im wasserbasierten Versuch unauffällig. Damit ist eine Kreuzkontamination oder Fehlmessung im Vakuum des REM beim wasserbasierten Versuch denkbar. Diese Fehler fielen jedoch ausnahmslos in Bereiche von unter 1 Gew.-%. Sie stützen damit die Aussage über die Nachweisgrenze bei 1 Gew.-%. Für das wasserbasierte Modell waren diese Erscheinungen irrelevant, sodass auf eine Wiederholung der EDX-Analyse verzichtet wurde.

### 5.1.3 Gebrauchsdauer und Anpressdruck der Handzahnbürste

Die Gebrauchsdauer einer Zahnbürste entsprach bei ein-minütiger Putzdauer, gemäß der Rechnung im Abschnitt 5.2.1, einer Einsatzdauer von 9,4 Tagen.

Die Wahl für einen Anpressdruck von 1,47 N deckte sich mit den Ergebnissen von Wiegand A. et al., 2013, wonach der durchschnittliche Anpressdruck mit einer Handzahnbürste bei 1,6 N ( $\pm 0,3$  N) liegt. Eine allein durch die Zahnbürste verursachte Abrasion auf Dentin hatte sich in jener Untersuchung mit H<sub>2</sub>O als messbar, jedoch von sehr geringem Wert erwiesen. Das deckt sich mit einer weiteren Studie von Wiegand et al., 2009.

### 5.1.4 Die Wahl der Zahnpasten

Es wurden vier Zahnpasten ausgewählt (Tabelle 2). Gemäß der Fragestellung sollten Zahnpasten untersucht werden, von denen regenerierende Effekte auf die Zahnhartsubstanz und die Tubuli zu erwarten waren. Diese Voraussetzung war, gemäß Produktbeschreibung, bei beiden hydroxylapatithaltigen Zahnpasten gegeben. Die ausgewählten hydroxylapatithaltigen Zahnpasten unterschieden sich ihrerseits dadurch, dass eine Zahnpasta fluoridhaltig und eine fluoridfrei war. Entsprechend wurden diese Zahnpasten Apatit-Paste (fluoridfrei und hydroxylapatithaltig) und Apatit-Fluorid-Paste (fluorid- und hydroxylapatithaltig) bezeichnet. Diesen beiden Zahnpasten sollten hydroxylapatitfreie Zahnpasten gegenüberstehen. Diese

hydroxylapatitfreie Zahnpasten sollten sich ihrerseits ebenfalls durch fluoridhaltig (Fluorid-Paste) und fluoridfrei (Basispaste) unterscheiden (Tabelle 1).

## 5.2 Wasserbasiertes Versuchsmodell

Das wasserbasierte Versuchsmodell diente der Ermittlung der optimalen Putzdauer, des Verdünnungsfaktors und der Art der Prüfkörperreinigung für das speichelbasierte Versuchsmodell. Dabei mussten alle Parameter in gegenseitiger Relation betrachtet werden (Tabelle 3). Hierzu diente die visuelle Beurteilung der REM-Bilder und die quantitative Einteilung in offene (Score 1), teilweise offene (Score 2), teilweise offene + teilweise verschlossene (Score 3), teilweise verschlossene (Score 4) und verschlossene Tubuli (Score 5) bei 1000-facher Vergrößerung (Tabelle 4). Es erschien sinnvoll einen großen Bereich mit möglichst vielen Tubuli bildlich einzufangen, um eine repräsentative Aussage in Bezug auf den Verschlussgrad der Tubuli im Prüfkörper zu treffen. Dies gelang bei 1000-facher Vergrößerung. Auf einer untersuchten Fläche konnten unterschiedliche Verschlussgrade vorkommen. Es wurde der vorherrschende Verschlussgrad berücksichtigt. Die Tubuli wurden anhand des im REM vorhandenen EDX-Sensors bei 5000-facher Vergrößerung betrachtet. Hierzu wurden Bereiche bevorzugt, in denen vermehrt Tubuliverschlüsse erkennbar waren. In Bereichen mit völlig offenen Tubuli wären die Untersuchungen nicht sinnvoll gewesen. Die Beurteilung des Verschlussgrades bei 5000-facher Vergrößerung war demnach weder beim wasserbasierten Versuch, noch beim speichelbasierten Versuch repräsentativ. Der Zahnbürstsimulator konnte nur lineare und immer gleiche Bewegungsmuster ausführen. Eine gleichmäßige Verteilung der Putzkörper auf den Prüfkörpern und in die Tubuli war demnach nicht zu erwarten.

### 5.2.1 Putzdauer, Verdünnung und Prüfkörperreinigung

Die Putzdauer wird in anderen *in-vitro*-Studien zu Zahnpasta-Effekten unterschiedlich behandelt. Sie wird zyklisch (Farooq et al., 2015) oder azyklisch (Philipotts et al., 2005) angewandt und liegt meist im Minutenbereich. Inwieweit die Putzdauer einen Einfluss auf die Ergebnisse hat, wird dabei nicht untersucht. In der hier vorliegenden *in-vitro*-Studie wurde azyklisch geputzt. Regenerative Effekte der Zahnhartsubstanzen über die Tubuli hinaus waren

nicht Teil dieser Untersuchung. Um festzustellen, ob die Zahnpasten durch Aufputzen Effekte in den Tubuli verursachten, genügte ein Putzdurchgang.

Bei den Wasserproben konnte man bei 10 s Putzzeit Artefakte auf den Oberflächen erkennen, die wahrscheinlich von den Poliervorgängen übriggeblieben waren. Diese hatten jedoch keinen Tubuli verschließenden Effekt. Die länger geputzten Wasserproben waren vorwiegend frei von Artefakten (Abb. 10 a und b). Abgesehen davon war zu beobachten, dass es bei der Verdünnung 1:3 und bei einer Minute Putzdauer bei allen Zahnpasten Verschlüsse in unterschiedlichem Ausmaß gab (Tabelle 5). Insgesamt gab es keine Korrelation zwischen längerer Putzdauer und stärkeren Verschlusseffekten. Daraus ließ sich ableiten, dass die Putzdauer keinen Einfluss auf den Verschlussgrad hatte. Die Effekte erschienen bei 10 Sekunden dennoch gering, zumal die Apatit-Paste den höchsten Verschlussgrad bei 1 min erzielte. Die Putzdauer von einer Stunde führte bei der Apatit-Fluorid-Paste zur Bildung einer Deckschicht (Abb. 7b). Diese Deckschicht verhinderte das Auffinden und die zuverlässige Untersuchung der Tubuli und ihres Inhaltes. Daher wurde für den speichelbasierten Versuch die Putzdauer von einer Minute festgelegt. Bei der Basispaste konnten bereits bei 1 min Putzen vereinzelt kristalline Strukturen vorkommen und das Auffinden von Tubulieingängen erschweren (Abb. 9b). Sie kamen jedoch sporadisch vor und waren folglich nicht repräsentativ.

Gemäß der Rechnung in der Studie von Arnold et al., 2016 entsprach die gewählte Putzdauer von 1 min einer Putzzeit in der Mundhöhle von 2 mal 3 min pro Tag für 9,4 Tage. Demnach haben 28 Zähne vereinfacht gesagt eine vestibuläre und eine orale zu putzende Fläche. Die okklusalen Flächen bleiben in jener Studie unberücksichtigt. Bei 28 Zähnen würden sich insgesamt 56 zu reinigenden Flächen ergeben. Bei dreiminütigem Putzen zweimal täglich wären das 6,4 Sekunden Putzzeit je Oberfläche pro Tag.

Die Verdünnung von Zahnpasten mit Wasser ist im Verhältnis 1:1 (Sun et al., 2014) oder 1:4 (Ganss et al., 2012) gängig, spiegelt jedoch nicht die Verhältnisse in der Mundhöhle wider. Wasser ist im Vergleich zu Speichel arm an Ionen und nicht zähflüssig. Die Bildung einer schützenden Pellikel ist daher nicht möglich (Shellis et al., 2011). Von zusätzlichen und natürlichen Remineralisierungseffekten ist bei Wasser im Gegensatz zu Speichel nicht auszugehen (Wiegand et al., 2009). Um den Einfluss des Speichels zu berücksichtigen, wurde im speichelbasierten Versuch, als Verdüner für die Zahnpasta, filtrierter Speichel anstelle von Wasser verwendet. Die Verdünnung der Zahnpasten mit Speichel im Verhältnis 1:3 ist gängig (Aykut-Yetkiner et al., 2014; Tschoppe et al., 2011). Das Verdünnungsverhältnis 1:3 wurde im Rahmen des wasserbasierten Versuchs mit destilliertem Wasser als Verdünnungsmedium

untersucht und mit der Verdünnung 1:10 verglichen. Die Verdünnungen 1:3 und 1:10 zeigten im Zusammenhang mit der Putzdauer Unterschiede (siehe Kapitel 4.1.1). Insgesamt waren mehr Tubuliverschlusseffekte bei einer 1:3 Verdünnung erkennbar. Die Verdünnung 1:3 ist der Realität aufgrund des Speichelflusses am nächsten. Der stimulierte Speichelfluss liegt durchschnittlich nach 2 min bei 1,4 - 3,5 ml/min (Benatti Justino et al., 2017; Shimazaki Y et al., 2017). Angesichts der durchschnittlich verwendeten Zahnpastamenge von 0,4 - 1,2 ml (Creeth et al., 2013; SCCNFP, 2003), erschien ein geringeres Verhältnis Zahnpasta zu Speichel realistischer. Damit wurde das Verdünnungsverhältnis 1:3 festgelegt.

Die Prüfkörperreinigung zur Entfernung von Zahnpastaresten war für die Beurteilung der Versuchsflächen nach dem Putzen mit der jeweiligen Zahnpastamischung wichtig. Das Reinigen von Prüfkörpern ist in anderen *in-vitro*-Studien üblich. Genaue Angaben zur Art der Probenreinigung sind dagegen selten. In einer Studie wird das Absprühen (air/water spray) mit 5 s bei 2 bar von einer Entfernung von 10 mm angegeben (Rupf et al., 2011). Ansonsten werden abgesehen von der Spüllösung (mit Leitungswasser oder destilliertem Wasser) nur zeitliche Angaben zwischen 5 s und 1 min oder keine Zeitangabe zur Prüfkörperreinigung nach Zahnpastabehandlung angegeben (Sun et al., 2014, Zimmer et al., 2015, Ganss et al., 2009). In der hier vorliegenden *in-vitro*-Studie wurde die Prüfkörperreinigung mit 15 s durchgeführt. Als Spülgeräte wurden die Laborspritzflasche und die Multifunktionsspritze verglichen. Die Laborspritzflasche schien einen besseren Reinigungseffekt zu haben (Tabelle 5). Das wurde statistisch durch den Wilcoxon-Signed-Rank-Test untermauert ( $p = 0,006$ ). Weitere Subanalysen waren nicht Gegenstand dieser Untersuchung. Für das speichelbasierte Versuchsmodell wurde somit die Laborspritzflasche gewählt. Praktikabilitätsgründe kamen hinzu. Die Laborspritzflasche war im Labor verfügbar und es konnte nicht-kontaminiertes, destilliertes Wasser als Laborspritzflaschen-Inhalt zum Absprühen gewährleistet werden.

### 5.2.2 EDX (wasserbasiertes Versuchsmodell)

Beim wasserbasierten Versuch wurde mittels EDX der Tubulusinhalt untersucht. In diesem Zusammenhang wurden die Zahnpasten auf ihre Zusammensetzung analysiert. Prüfkörper, die mit solehaltiger Basispaste geputzt wurden, enthielten erwartungsgemäß Natrium. Fluoride waren bei den mit fluoridhaltigen Zahnpasten (Fluorid-Paste / Apatit-Fluorid-Paste) geputzten Proben, mit jeweils einer Ausnahme bei Apatit-Fluorid-Paste intratubulär und bei Fluorid-Paste intertubulär in Mengen von unter 1 Gew.-% vorzufinden. Aufgrund der in Punkt 5.1.2 beschriebenen Messungenauigkeit wurden Elemente < 1 Gew.-% nicht weiter betrachtet.

Um einen zuverlässigen und aussagekräftigen Vergleich durchführen zu können waren zwei Prüfkörper nicht ausreichend. Um repräsentativen Ansprüchen zu genügen, wurden für den speichelbasierten Versuch 8 Prüfkörper je Putzmedium festgelegt.

## 5.3 Speichelbasiertes Versuchsmodell

### 5.3.1 Die einzelnen Zahnpasten und Speichel

#### Apatit-Paste

REM (Abb. 11 und Abb. 12): Das REM zeigte, dass auf allen Versuchsflächen teilweise verschlossene Tubuli am häufigsten festzustellen waren. Für die Apatit-Paste konnte somit ein teilweise-tubuliverschließender Effekt nachgewiesen werden.

EDX (Abb. 22, Abb. 23, Abb. 24): Die EDX-Analyse zeigte in allen Proben Siliziumspuren. Die für die Apatit-Paste verwendete Zahnpasta enthielt nachweislich ca. 14 Gew.-% Silizium und ca. 20 Gew.-% n-HA (Tabelle 6; Tabelle 2). Während das Diagramm zur Flächenmessung und das Diagramm zur intertubulären Messung ähnelten, fielen im intratubulären Diagramm die vergleichsweise erhöhten Werte von Ca (18,8 Gew.-%), P (9,8 Gew.-%) und Si (6 Gew.-%) auf. Einzeln betrachtet, variierte der P- und Ca-Anteil im Verhältnis zum Si-Anteil in den Tubuli. Lagen beispielsweise der P- und Ca-Anteil in einem Prüfkörper hoch (P: 10,9 Gew.-%, Ca: 18,9 Gew.-%), so war der Si-Anteil klein (Si: 0,4 Gew.-%). In diesem Fall entsprach das Verhältnis P zu Ca dem Verhältnis 3:5 in der chemischen Formel des Hydroxylapatits  $\text{Ca}_5[\text{OH}(\text{PO}_4)_3]$ . Ebenso konnte der Si-Anteil hoch und der P- und Ca-Anteil niedrig sein (Si: 20 Gew.-%; P: 4,6; Ca 5,6). Ursache für diese Variation konnten Entmischungseffekte innerhalb der Zahnpasta sein, die zu einer inhomogenen Verteilung des Hydroxylapatits führten. Es musste davon ausgegangen werden, dass das in der Zahnpasta enthaltene Hydroxylapatit in die Tubuli eingelagert oder hineingeputzt wurde. Es war anzunehmen, dass sowohl Hydroxylapatite wie auch Silikate bei der Apatit-Paste einen tubuliverschließenden Mechanismus hervorriefen. Tubuliverschluss durch Silizium wird in der Literatur bereits erwähnt (Addy und West, 2015; Wang et al., 2011). Es eröffnete sich die Frage, welcher Verschluss in Stabilität und in Abdichtung der Bessere wäre: Verschluss durch Hydroxylapatit, Verschluss durch Silizium oder Verschluss durch die Kombination aus Hydroxylapatit und Silizium. Die intratubulär gemessenen Schwefel- und Magnesiumanteile warfen Fragen über deren Herkunft auf. Die EDX-Analyse der reinen Apatit-Zahnpasta ergab mehr Elemente als in

Tabelle 1 aufgelistet, diese lagen jedoch unter 1 Gew.-%. Die Messungen der Zahnpasten wurden nicht punktuell, sondern flächenmäßig vorgenommen. Eine Ansammlung und damit verbundene punktuelle Erhöhung über ein Gew.-% war denkbar. Gemäß Herstellerangaben enthält das Kohlegarn Schwefelverbindungen (Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland). Durch das Sputtern konnten somit Schwefelverbindungen auf die Proben gelangen und mitgemessen werden. Magnesium konnte durch den Speichel in die Tubuli gelangen. Ansonsten musste von einer unbekanntem oder nicht mehr nachvollziehbaren Verunreinigung ausgegangen werden.

### Apatit-Fluorid-Paste

REM (Abb. 13 und Abb. 14): Die Apatit-Fluorid-Zahnpasta enthielt wie die Apatit-Zahnpasta Hydroxylapatit (Tabelle 1). Gemäß Tabelle 6 konnte der Anteil an Hydroxylapatit (P = 4,5 und Ca = 4,5 Gew.-%) in der Apatit-Fluorid-Paste nicht so hoch sein wie bei der Apatit-Paste (P = 6,5 und Ca = 15,6 Gew.-%). Bei der Apatit-Fluorid-Paste waren im speichelbasierten Versuch intratubuläre Einschlüsse nicht in dem Maße wie bei der Apatit-Paste zu messen. Bei der Apatit-Fluorid-Paste dominierten offene und teilweise offene Tubuli. Der deutlich geringere Hydroxylapatit-Gehalt war ein möglicher Faktor (Tabelle 6). Darüber hinaus konnte der etwas höhere Siliziumanteil (ca. 15,5 Gew.-%) gegenüber der Apatit-Zahnpasta (ca. 14 Gew.-%) oder die Beschaffenheit der Silikatkörper das Abrasions-Remineralisationsgleichgewicht beeinflussen haben. Diese Wechselwirkungen zwischen Abrasion und Remineralisation werden bereits in der Literatur beschrieben und sind weiterhin Gegenstand der Forschung (Pascaretti-Grizon et al., 2013; Amaechi und van Loveren, 2013; Ganss et al., 2013; Moron et al., 2013).

EDX (Abb. 25, Abb. 26, Abb. 27): In und außerhalb der Tubuli fanden sich Spuren von Fluorid, Aluminium und Titan. Titan lag bei der EDX-Analyse der Apatit-Fluorid-Zahnpasta bei 0 Gew.-%, Aluminium bei 0,04 Gew.-% (Tabelle 6). Der Hersteller gibt die Existenz von Titaniumdioxid und Aluminium-Lactat in seiner Zahnpasta an (Tabelle 1). Auf den Proben der Apatit-Fluorid-Paste war von punktuellen Anhäufungen und keiner Kontamination auszugehen. Es waren auch Na, Mg und S < 1 Gew.-% nachweisbar. Intratubulär gingen die Einlagerungen mit vergleichsweise hohen Si-, P-, und Ca-Werten einher. In der Fläche und intertubulär lagen Si, P und Ca dagegen durchschnittlich bei ca. 2 bzw. 1 Gew.-% (Abb. 25, 27). Dieses Phänomen war bei der fluoridfreien Apatit-Paste ebenfalls zu beobachten (Abb. 22, 24). Dieses Ergebnis lässt die Interpretation zu, dass in den Tubuli Hydroxylapatit-Kristalle eingelagert waren.

### Fluorid-Paste

REM (Abb. 15 und Abb. 16): Die Auswertung der Bilder zeigte ein diverses und uneinheitliches Gesamtergebnis für die Fluorid-Paste. Dies wird durch die hohen Unterschiede zwischen Minimal- und Maximalwert deutlich. Die Fluorid-Paste wies in jeder Probe unterschiedliche Verschlussgrade der Tubuli auf. Die Versuchsflächen waren gekennzeichnet von streifenartig angeordneten Tubuli mit hoch und niedrig ausgeprägten Tubuliverschlüssen. Ein Zusammenhang mit den linearen Putzvorgängen lag nahe.

EDX (Abb. 28, Abb. 29, Abb. 30): Im EDX waren die intratubulären Einschlüsse durch einen hohen Siliziumanteil gekennzeichnet. Zwei Proben wiesen auf der Versuchsfläche ausschließlich teilweise offene oder ganz offene Tubuli auf. Die intratubulären Messungen zeigten hier einen niedrigen Siliziumgehalt von  $< 3$  Gew.-%. Dem standen Messungen an Prüfkörpern mit teilweise verschlossenen oder ganz verschlossenen Tubuli mit einem Siliziumgehalt von  $> 10$  % gegenüber. Die Diversität der Tubuliverschlüsse war durch eine Wechselwirkung zwischen Abrasion und Remineralisation erklärbar. Diese Wechselwirkung wird in der Literatur bereits beschrieben (Amaechi und van Loveren, 2013). Mit Si = 27,8 Gew.-% war der Anteil an abrasiven Füllkörpern doppelt bis fünffach so hoch wie in den anderen Zahnpasten (Tabelle 6). In der Fluorid-Zahnpasta war Schwefel nachweislich enthalten. Titan lag bei der EDX-Analyse der reinen Fluorid-Zahnpasta bei unter 1 Gew.-%. Die Standardabweichung in Abb. 29 wies darauf hin, dass Titan vereinzelt auch zu über 1 Gew.-% gemessen wurde. Denkbar war, dass sich Titan am gemessenen Tubulus angesammelt hatte oder durch Verunreinigung in die Tubuli gelangt war.

### Basispaste

REM (Abb. 17 und Abb. 18): Die Basispaste wies auf den Versuchsflächen bei 1000facher Vergrößerung vorwiegend offene Tubuli auf. Durch lokalisierte Auflagerungen kam es in vier von acht Prüfkörpern zu abgedeckten Tubuli (Abb. 18 b).

EDX (Abb. 31, Abb. 32, Abb. 33): Bei Tubuli mit Einschlüssen wurden Siliziumanteile von weniger als 4 Gew.-% gemessen. Der Anteil an Phosphor und Calcium war intratubulär mit insgesamt P = 7,3 Gew.-% und Ca = 12,2 Gew.-% hoch (Abb. 32). Andere gemessene intratubuläre Regionen waren vorwiegend offen oder ganz offen und wiesen Siliziumwerte von ca. 1 Gew.-% auf. Das erklärte einen Mittelwert bei Silizium von 2,2 Gew.-%. Abgesehen von C, N, O, P, Ca und Si lagen alle weiteren Elemente wie Na, Mg, S und Cl unterhalb von 1 Gew.-%. Zink wurde in der reinen Basis-Zahnpasta mit 8,1 Gew.-% nachgewiesen (Tabelle 6). In den Proben der Basispaste wurde Zink dagegen nicht nachgewiesen. Magnesium und Schwefel

mussten als Verunreinigung, Speichelanteil oder Fehlerkennung des EDX-Sensors angesehen werden.

### Speichel

REM (Abb. 19 und Abb. 20): Zu erwarten war ein leichter Remineralisationseffekt, da Speichel aufgrund seiner Ionen Remineralisationspotential aufweist (Shellis et al., 2011; Wiegand et al., 2009). Es war auf den Versuchsflächen kein nennenswerter Ansatz von Tubuliverschlüssen festzustellen. Eine Erklärung für die ausgebliebenen Remineralisationseffekte an den Versuchsflächen war, dass abrasive Effekte der Zahnbürsten den Remineralisationseffekten des Speichels (Speichel) gegenüber gestanden hatten. Die Effekte zwischen Remineralisation und Abrasion werden in verschiedenen Studien thematisiert, beziehen sich jedoch nicht auf Speichel, sondern auf Zahnpasten (Amaechi und van Loveren, 2013; Hannig M. und Hannig C., 2010; Ganss et al., 2011). Abrasion allein durch Zahnbürsten ist gemessen worden, wird aber als vernachlässigbar betrachtet (Wiegand et al., 2009). Ob die Zahnbürste die Remineralisation durch Abrasion verhindern konnte, blieb somit unklar. Alternativ war die Verhinderung einer Remineralisation durch Bewegung und Schwingung des Speichels denkbar.

EDX (Abb. 34, Abb. 35, Abb. 36): Im EDX ließ sich immer ein kleiner Anteil Silizium (Mittelwert < 1 Gew.-%) nachweisen. Silizium wird als Bestandteil des Speichels nicht erwähnt (Psychirembel, 2002; Klinke & Silbernagel, 2005). Die Kontamination des Dentins mit Silizium konnte durch das silikathaltige Schleifpapier bei der Prüfkörperherstellung zustande gekommen sein. Hierbei können Siliziumpartikel entlang der Tubuli in tiefere Dentinregionen transportiert worden sein und waren so den Reinigungsschritten entzogen. Eine andere Erklärung war nicht denkbar. Bei der intratubulären Betrachtung fiel auf, dass intratubuläre Einschlüsse aus Silizium bestanden. Die meisten Tubuli der Speichel-Prüfkörper waren ohne Inhalt. Folglich konnten intratubulär lediglich die Tubuliwände untersucht werden. Die Tubuliwandmessungen fielen durch hohe P- und Ca-Werte auf (Mittelwerte: P = 11,9 Gew.-%; Ca = 21,4 Gew.-%). Intertubulär lag P bei ca. 4 und Ca bei ca. 5 Gew.-%. Diese Unterschiede können auf den unterschiedlichen Mineralisationsgrad von intra- und intertubulärem Dentin zurückgeführt werden. Die Flächenmessung wies P- und Ca-Mittelwerte < 3 Gew.-% auf. Intratubulär war Sauerstoff mit durchschnittlich 13,2 Gew.-% halb so hoch messbar wie bei allen anderen Zahnpastamittelwerten (O in Apatit-Paste: 28,5 Gew.-%, Apatit-Fluorid-Paste: 27,7 Gew.-%, Fluorid-Paste: 30,8 Gew.-%, Basispaste: 25,2 Gew.-%).

### 5.3.2 Die Zahnpasten im Vergleich

Für die Fragestellung war der Vergleich zwischen vorhandenen und nicht vorhandenen Verschlusseffekten relevant. Folglich interessierte der Vergleich aller Pasten mit Speichel. Um die Relevanz der Unterschiede zu Speichel zu klären, wurden die Ergebnisse anhand eines Mann-Whitney-U-Test verglichen (Tabelle 7). Dabei handelt es sich um einen non-parametrischen Test für unabhängige Stichproben. Ausgehend von einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % konnte man annehmen, dass bei  $p < 0,05$  ein signifikanter Unterschied zu Speichel vorlag. So verhielt es sich bei der Apatit-Paste, der Apatit-Fluorid-Paste und der Fluoridpaste. Bei der Basispaste war  $p > 0,05$ . Alle Pasten, außer der Basispaste, wiesen demnach gegenüber Speichel einen statistisch signifikanten Tubuliverschlusseffekt auf. Gegenüber der Basispaste wies nur die Apatit-Paste einen statistisch signifikanten Effekt auf. Dementsprechend bewirkte die Apatit-Paste den insgesamt höchsten Tubuli-Verschlussgrad (Abb. 21). Die Apatit-Paste wies darüber hinaus die höchsten P / Ca-Werte intratubulär auf (Abb. 23). Daraus ließ sich ableiten, dass es sich bei den intratubulären Einschlüssen um Hydroxylapatit ( $\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$ ) handelte. Man konnte von einem Hydroxylapatit-bedingten Tubuliverschluss ausgehen. Im Gegensatz dazu stand die Fluorid-Paste. Hier fiel insgesamt der intratubuläre Inhalt durch den höchsten Siliziumgehalt auf. Somit konnte man hier von siliziumbedingtem Tubuliverschluss sprechen (Abb. 29). Beim Speichel waren die Tubuli offen (Abb. 19), es wurde kein Inhalt gemessen, sondern nur die freien Tubuliwände. Das erklärte die ähnlich hohen P- und Ca-Werten wie bei der Apatit-Paste (Abb. 35). Die Tubuli bei der Apatit-Fluorid-Paste und bei der Basispaste waren nach 1 min Putzen hauptsächlich teilweise offengeblieben (Abb. 13, Abb. 17). Der Inhalt der Tubuli mit Verschlusseffekten ließ jedoch Rückschlüsse auf die Zusammensetzung des Inhaltes zu. Bei der Apatit-Fluorid-Paste erschien das Verhältnis P und Ca zu Si ausgewogen (Abb. 26). Die Basispaste zeigte, vom Speichel abgesehen, den geringsten Siliziumgehalt. Hier überwogen P und Ca (Abb. 32). Jede Zahnpasta hatte eine eigene Wirkung in den Tubuli mit Auffälligkeiten bei P / Ca und Si. Außerhalb der Tubuli konnten Auffälligkeiten dieser Art nicht festgestellt werden. Die intertubulären Messungen und die Flächenmessungen hatten sehr ähnliche Werte innerhalb einer Zahnpasta. Ebenfalls ähnlich waren die Werte der intertubulären Messungen und die Flächenmessungen der Zahnpasten untereinander.

## 5.4 Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den Ergebnissen aus der Literatur

Die für diese Untersuchung verwendete Apatit-Paste enthielt gemäß Herstellerangaben 20 % n-HA (Tabelle 2). Hinsichtlich Tubuliverschlüsse oder Dentin-Hypersensitivitäten kommen Zahnpasten mit 20 % n-HA in Studien vor (Orsini et al., 2010; Wang et al., 2016, Engel, 2019). Oft wird die verwendete Zahnpasta nicht eindeutig benannt. Stattdessen wird der n-HA-Gehalt (meist in Gew.-%) angegeben (Vano et al., 2014; Jena und Shashirekha; 2015, Amaechi et al.; 2015, Wang et al., 2016). Alternativ wird die Zahnpasta benannt und stattdessen auf die Angabe zum n-HA-Gehalt verzichtet (Gopinath et al., 2015; Yadav et al., 2019). Ein möglicher Grund hierfür ist, dass nicht jeder Zahnpasta-Hersteller den n-HA-Gehalt angibt. In der vorliegenden Studie war der n-HA-Gehalt der Apatit-Paste bekannt. Der n-HA-Gehalt der Apatit-Fluorid-Paste war dagegen unbekannt. Nur die Elementanalyse der Apatit-Fluorid-Zahnpasta gab über ihren n-HA-Gehalt Aufschluss ( $\text{Ca} + \text{P} < 9$  Gew.-% gemäß Tabelle 6). Studien neueren Datums kommen vermehrt aus fernöstlichen Regionen mit uns unbekanntem Hydroxylapatit-Zahnpasten (Yuan et al., 2012; Gopinath et al. 2015; Yadav et al. 2019; Jena et al., 2017). Die in dieser Studie verwendete Apatit-Fluorid-Zahnpasta ist innerhalb einer öffentlich zugänglichen Studie bisher nicht auffindbar. Als handelsübliche fluorid-hydroxylapatithaltige Zahnpasta wurde Apacare gefunden (Aykut-Yetinger et al., 2014), jedoch nicht im Zusammenhang mit Tubuliverschluss oder Dentin-Hypersensitivität. Stattdessen taucht Remin Pro in diesem Zusammenhang auf (Jena et al., 2017). Fluoridhaltige Zahnpasten gelten als vorteilhaft gegenüber erosiven Einflüssen auf Zahnhartsubstanzen (Bertassoni et al, 2009). Ein vorteilhafter Effekt fluoridhaltiger und hydroxylapatithaltiger Zahnpasta auf durch Erosion eröffnete Dentintubuli lag nahe. Dieser vorteilhafte Effekt blieb in der hier vorliegenden Studie aus.

Inwieweit die in der hier vorliegendem *in-vitro*-Studie festgestellten Tubuli-Verschlusseffekte klinisch relevant sind, sollte in einer klinischen Studie geprüft werden. Ein Blick in die aktuelle Datenlage kann hierüber Aufschluss geben.

#### 5.4.1 *In-vivo*-Vergleich:

In den letzten 10 Jahren wurden einige randomisierte, klinische doppelblind-Studien durchgeführt, die sich mit der Reduktion der Dentin-Hypersensitivität durch n-HA-haltige Zahnpasten befassen.

Im Rahmen einer klinischen Studie wurde 2010 eine signifikante Reduktion der Dentin-Hypersensitivität nach 4 und 8 Wochen durch Zähneputzen mit einer n-HA haltigen Zahnpasta und mit einer handelsüblichen fluorid- und kaliumnitrathaltigen Zahnpasta festgestellt (Orsini et al., 2010). Die n-HA haltige Zahnpasta war die gleiche, wie die hier verwendete Apatit-Paste.

2013 wurde eine klinische Studie mit einer argininhaltigen Zahnpasta, mit einer strontiumhaltigen Zahnpasta und mit einer Zahnpasta mit 30 % n-HA veröffentlicht (Orsini et al., 2013). Alle drei Zahnpasten waren nach 8 Wochen Zähneputzen ähnlich wirksam bei der Reduktion der Dentin-Hypersensitivität an Zähnen.

Eine klinische Studie verglich eine 15-prozentige n-HA-Zahnpasta, mit einer fluoridhaltigen Zahnpasta und mit einem Placebo (Vano et al., 2014). Nur die n-HA-Zahnpasta bewirkte eine signifikante Reduktion der Dentin-Hypersensitivität nach 4 Wochen Zähneputzen. Es folgte eine fast gleiche Studie mit 2-prozentiger n-HA-Zahnpasta vier Jahre später (Vano et al., 2018). Sie entsprach im Aufbau, in der Wahl der Vergleichs-Zahnpasten, im Ergebnis und im Wortlaut der vorangegangenen Studie von 2014.

Eine n-HA-Zahnpasta wurde mit einer Calcium-Natrium-Phosphorsilikat-Zahnpasta im Rahmen einer klinischen Studie verglichen (Gopinath et al., 2015). Beide Zahnpasten führten innerhalb von 4 Wochen Zähneputzen zur Reduktion von Dentin-Hypersensitivität. Jene Studie wirft die Frage auf, ob die beiden Zahnpasten tatsächlich so unterschiedlich waren. Calcium und Phosphat sind Hauptbestandteile von Hydroxylapatit (Sun et al., 2014). Silikat ist in hydroxylapatithaltigen Zahnpasten üblich (Schemehorn et al., 2011). Phosphat, Calcium und Silizium waren in dieser *in-vitro* Untersuchung Hauptbestandteil vom Tubulusinhalt bei Tubuliverschlüssen.

Eine weitere klinische Studie aus Indien untersuchte die Wirkung von drei täglich auf keilförmige Zahnwurzeldefekte aufpolierte Zahnpasten (Jena und Shashirekha, 2015). Dabei handelte es sich um eine novaminhaltige Zahnpasta, eine argininhaltige Zahnpasta und eine 15

% hydroxylapatithaltige Zahnpasta. Die n-HA Zahnpasta und die argininhaltige Zahnpasta bewirkten eine Reduktion der Dentin-Hypersensitivität. Das Aufpolieren von Zahnpasten war nicht vergleichbar mit dem Aufputzen von Zahnpasten in der vorliegenden *in-vitro* Untersuchung.

2016 wurde eine klinische Studie veröffentlicht, in der 2 hydroxylapatithaltige Pasten (20 % und 10%) zum regelmäßigen Auftragen, ein Fluoridlack zum Auftragen und eine argininhaltige Zahnpasta zum Aufputzen verglichen wurden (Wang et al., 2016). Alle vier Stoffe enthielten Fluorid. Während der Fluoridlack nur anfangs eine Reduktion der Dentin-Hypersensitivität erzielte, hatten die anderen drei Maßnahmen diesen Effekt über drei Monate hindurch.

In einer klinischen Studie neueren Datums aus Indien bekamen 2 Gruppen die gleiche n-HA-Zahnpasta mit unbekanntem n-HA-Gehalt, weitere zwei die gleiche Kräuterzahnpasta und eine Kontrollgruppe erhielt kein Präparat (Yadav et al., 2019). Weitere Unterteilungen kamen durch routinemäßig durchgeführte oder nicht durchgeführte Zahnreinigungen und Laserbehandlungen zustande. Insgesamt kam es bei allen vier Zahnpasta-Gruppen zu einer deutlichen Reduktion der Dentin-Hypersensitivität. In dieser Studie erschwerten die zusätzlichen Maßnahmen wie Zahnreinigung und Laserbehandlung eine Bewertung der Ergebnisse.

Eine 2019 erschienene Meta-Analyse aus China analysierte 30 randomisierte klinische Studien über die Reduktion der Dentin-Überempfindlichkeit durch Dentin-Hypersensitivität reduzierende Zahnpasten im Zeitraum 1980 – 2018. Demnach eignen sich n-HA-haltige Zahnpasten zur Reduktion Dentin-Hypersensitivität (Meng-Long et al., 2019). Bei genauerer Durchsicht fiel auf, dass nur zwei Studien mit n-HA-haltigen Zahnpasten in die Metaanalyse eingeflossen waren. Dabei handelte es sich um die Studien von Vano et al., 2014 und Vano et al., 2018. Hier stellt sich die Frage, ob diese Ergebnisse in der Zukunft Bestand haben werden.

Die genannten klinischen Studien behandeln allesamt n-HA-Zahnpasten. Die verwendeten n-HA-haltigen Zahnpasten unterscheiden sich hauptsächlich im n-HA-Gehalt. Alle n-HA-haltigen Zahnpasten führten zur Reduktion von Dentin-Hypersensitivität. Es eröffnet sich die Frage, ob die Menge an n-HA in einer Zahnpasta irrelevant für die Reduktion der Dentin-Hypersensitivität ist. Diese Fragestellung wurde in keiner klinischen Studie schwerpunktmäßig untersucht.

Gemäß der Brännströmschen Theorie besteht ein Zusammenhang zwischen Dentintubuli und Reizempfindlichkeit der Zähne (Brännström et al., 1968). Welche Wirkung das Hydroxylapatit und das Fluorid in Kombination haben, wurde bisher in keiner klinischen Studie untersucht. Der Einfluss der Konzentration von n-HA in Zahnpasten auf die Dentin-Hypersensitivität wurde bisher nicht ausreichend untersucht. Hierzu bedarf es weiterer klinischer Untersuchungen.

#### 5.4.2 *In-situ*-Vergleich:

In einer *in-situ* Studie wurden Dentin-Prüfkörper von Probanden 14 Tage getragen, 2x täglich geputzt und anschließend im REM untersucht (Amaechi et al., 2015). Zum Einsatz kamen eine 10 % und eine 15 % n-HA-haltige Zahnpasta, eine Natrium-Monofluorophosphat-haltige Zahnpasta und eine Novamin-Zahnpasta. Die Probenanalyse im REM erfolgte bei 1500facher Vergrößerung, die Beschreibung des Tubuliverschlusses erfolgte in vier Kategorien. Die n-HA-haltigen Zahnpasten und Novamin-Zahnpasta erwiesen sich als tubuliverschließend bei zunehmender Anwendung und als gleichwertig.

Eine weitere *in-situ* Studie untersuchte vier Zahnpasten mit Dentin-Hypersensitivität reduzierenden Eigenschaften (Engel, 2019). Eine der Zahnpasten enthielt n-HA und entsprach der Apatit-Paste. Dentin-Prüfkörper wurden von Probanden 5 Tage getragen, alle 12 Stunden geputzt und anschließend im REM untersucht. Bei allen Zahnpasten waren die Auf- und Einlagerungen in den Dentintubuli gering. Die Unterschiede zwischen den Zahnpasten waren nicht signifikant. Die Zuordnung der Tubuliverschlüsse erfolgte in 5 Kategorien.

Die Kategorisierung der Tubuliverschlüsse in den beiden *in-situ* Studien ähnelten der Score-Zuordnung der Tubuliverschlüsse in der hier vorliegenden *in-vitro* Untersuchung. Qualitative Untersuchungen fanden nicht statt.

#### 5.4.3 *In-vitro*-Vergleich:

Eine 2012 veröffentlichte *in-vitro* Studie untersuchte den Verschluss von Dentintubuli durch eine Calciumcarbonat-Zahnpasta (fluoridfrei) einmal mit und einmal ohne zugesetztem Hydroxylapatit (3 %). Eine weitere Gruppe wurde mit destilliertem Wasser geputzt (Yuan et al., 2012). Eine Verdünnung wurde nicht durchgeführt. Die Untersuchung fand anhand von REM-Bildern mit 5000facher Vergrößerung statt. Die Beimischung des Hydroxylapatits wirkte

sich tubuliverschließend aus. In der vorliegenden Studie wurden die Tubuliverschlüsse quantitativ bei 1000facher Vergrößerung untersucht. Das hatte den Vorteil, dass ein repräsentatives Areal mit möglichst vielen Tubuli untersucht werden konnte.

In einer Studie von Farooq et al., 2015, wurden destilliertes Wasser und drei Zahnpasten auf Dentinproben aufgezupft. In jener Studie zeigte das Putzen mit Wasser auf den REM-Bildern keinen Tubuliverschluss. Eine fluoridhaltige, jedoch hydroxylapatitfreie Zahnpasta wies nach dem Putzversuch verschlossene Tubuli auf, jedoch in geringerem Ausmaß und weniger resistent gegen Säure als eine Zahnpasta mit Bioactive Glass. Eine hydroxylapatithaltige Zahnpasta aus England wies einen hohen Tubuliverschlussgrad und eine hohe Säureresistenz auf. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Säureresistenz des Tubuliverschlusses nicht überprüft.

Jena et al. 2017 untersuchten fünf Zahnpasten, davon drei mit n-HA-Zahnpasta: Eine experimentelle Zahnpasta mit 15 % n-HA, eine handelsübliche Zahnpasta mit n-HA und F (Remin Pro) und eine weitere handelsübliche Zahnpasta mit n-HA und ohne F. Der n-HA-Gehalt wurde bei den beiden handelsüblichen Zahnpasten nicht angegeben. Die Kombination n-HA und F in einer Studie zu Tubuliverschlüssen ist kaum anzutreffen. Die experimentelle Zahnpasta und die n-HA-F-Zahnpasta ergaben Tubuliverschlüsse von 65 %. Die dritte n-HA-Zahnpasta folgte mit über 56 %. Die in der hier vorliegenden *in-vitro* Studie verwendete Apatit-Paste führte zu hohen Tubuliverschlüssen, die Apatit-Fluorid-Paste dagegen nicht. Aus dem Artikel zur Studie von Jena et al., 2017 geht nicht hervor, ob auch teilweise offene oder teilweise geschlossene Tubuli berücksichtigt wurden. Beschrieben wird, dass die Anzahl geschlossener Tubuli mit der Gesamtzahl der Tubuli in einer Aufnahme dividiert und mit 100 multipliziert wurde. Folglich wurde nur der Prozentsatz aus ganz geschlossenen Tubuli berücksichtigt. Diese quantitative Auswertung unterscheidet sich von der hier vorliegenden *in-vitro* Studie. Eine qualitative Beurteilung des Tubuliverschlusses wurde nicht erwähnt. Eine Verdünnung der Zahnpasten wurde nicht beschrieben.

Es wurde keine Studie zum Verschluss von Dentintubuli gefunden, die sich auf elementarer Ebene mit dem Tubulusinhalt auseinandersetzt. Die EDX-Analyse ist in diesem Zusammenhang einzigartig.

Die Fragestellung, ob die Menge an n-HA in einer Zahnpasta irrelevant für die Reduktion der Dentin-Hypersensitivität ist, wurde bisher *in-vitro* und *in-situ* ebenfalls nicht schwerpunktmäßig untersucht.

### 5.5 Schlussfolgerung

Die Nullhypothese, wonach **es zwischen den untersuchten Zahnpasten keinen Unterschied für den Verschluss der Dentintubuli nach dem Putzen gibt**, konnte in dieser *in-vitro* Studie nicht bestätigt werden. Es gab verschiedene Verschlussgrade der Dentintubuli durch Putzen mit unterschiedlichen Zahnpasten. Es zeigten sich Unterschiede zwischen den einzelnen Zahnpasten in der Häufigkeit des Verschlusses und dem Verschlussgrad von Dentintubuli. Dabei spielten Hydroxylapatit und Silizium eine wichtige Rolle. Die Erhöhung des Anteils von Hydroxylapatit in der Zahnpasta führte zu einem stärkeren Eintrag von Hydroxylapatit in die Dentintubuli. Für die klinische Situation kann abgeleitet werden, dass Erfolg versprechende Ergebnisse für die Reduktion der Dentin-Hypersensitivität in den Ergebnissen dieser Untersuchung eine Erklärung finden. Gleichwohl muss festgestellt werden, dass ein vollständiger Tubulverschluss durch Aufputzen einer Zahnpasta nicht erreicht werden kann.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Addy M, West NX (2015) The role of toothpaste in the aetiology and treatment of dentine hypersensitivity. *Monographs in Oral Science* 23: 75-87
2. Amaechi BT, van Loveren C (2013) Fluorides and non-fluoride remineralization systems. *Monographs in Oral Science* 23: 15-26
3. Amaechi BT, Mathews SM, Ramalingam K, Mensinkai PK (2015) Evaluation of nanohydroxyapatite-containing toothpaste for occluding dentin tubules. *Am J Dent*. 28: 33-9
4. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften: S2k-Leitlinie: Kariesprophylaxe bei bleibenden Zähnen – grundlegende Empfehlungen. (19.10.2016) AWMF-online
5. Arnold WH, Gröger Ch, Bizhang M, Naumova EA. (2016) Dentin abrasivity of various desensitizing toothpastes. *Head & Face Medicine* 12: 16
6. Aykut-Yetkiner A, Attin T, Wiegand A (2014) Prevention of dentine erosion by brushing with anti-erosive toothpastes. *Journal of Dentistry* 42: 856-861
7. Bartold PM (2006) Dentinal hypersensitivity: a review. *Australian Dental Journal* 51: 212-218
8. Benatti Justino A, Roland Teixeira R, Gomes Peixoto L., Bocanegra Jaramillo OL, Salmen Espindola F (2017) Effect of saliva collection methods and oral hygiene on salivary biomarkers. *Scand J Clin Lab Invest* 77: 415-422
9. Bertassoni L E, Habelitz S, Kinney J H, Marshall S J, and Marshall G W Jr (2009) Biomechanical Perspective on the Remineralization of Dentin. *Caries Research* 43: 70-7
10. Bertassoni LE, Habelitz S, Pugach M (2010) Evaluation of surface structural and mechanical changes following remineralization of dentin. *Scanning* 32: 312–319
11. Brännström M, Linden LA, Johnson G (1968) Movement of dentinal and pulpal fluid caused by clinical procedures. *J Dent Res* 47: 679-682
12. Choël M, Deboudt K, Osán J, Flament P, Van Grieken R (2005) Quantitative determination of low-Z elements in single atmospheric particles on boron substrates by automated scanning electron microscopy-energy-dispersive X-ray spectrometry. *Anal Chem* 77: 5686-92
13. Creeth J, Zero D, Mau M, Bosma ML, Butler (2013) The effect of dentifrice quantity and toothbrushing behaviour on oral delivery and retention of fluoride *in vivo*. *Int Dent J* 63: 14-24

14. Dr-Wolff-group (05.03.2021, 18:30 Uhr) Inhaltsstoffe mit bewiesener Wirkung, Hydroxylapatit. (<https://www.drwolffgroup.com/forschung/>)
15. Ecke G (06.04.2020, 16:00 Uhr) Mikro- und Nanoanalytik; TU Ilmenau, FG Nanotechnologie, Zentrum für Mikro- & Nanotechnologien. ([https://www.tu-ilmenau.de/fileadmin/media/mne\\_nano/Lehre/Vorlesung/Nanoanalytik/MikroNanoAnalytikSkript.pdf](https://www.tu-ilmenau.de/fileadmin/media/mne_nano/Lehre/Vorlesung/Nanoanalytik/MikroNanoAnalytikSkript.pdf)) 25
16. Eliades G, Mantzourani M, Labella R, Mutti B, Sharma D (2013) Interactions of dentine desensitisers with human dentine: morphology and composition. *Journal of dentists* 4: 28-39
17. Engel J (07.03.2021, 16:00) In-situ Untersuchung zur nicht-invasiven Behandlung der Dentinhypersensibilität. Friedrich Schiller Universität Jena 2019 ([https://www.db-thueringen.de/servlets/MCRFileNodeServlet/dbt\\_derivate\\_00044680/dissengel.pdf](https://www.db-thueringen.de/servlets/MCRFileNodeServlet/dbt_derivate_00044680/dissengel.pdf))
18. Farooq I, Moheet IA, AlShwaimi E (2015) In vitro dentin tubule occlusion and remineralization competence of various toothpastes. *Arch Oral Biol* 60: 1246-1253
19. Ganss C, Schlueter N, Hardt M, von Hinckeldey J, Klimek J (2007) Effects of toothbrushing on eroded dentine. *European Journal of Oral Sciences* 115: 390-6
20. Ganss C, Hardt M, Blazek D, Klimek J, Schlueter N (2009) Effects of toothbrushing force on the mineral content and demineralized organic matrix of eroded dentine. *Eur J Oral Sci* 117: 255-60
21. Ganss C, Lussi A, Scharmann I, Weigelt T, Hardt M, Klimek J, Schlueter N. (2009) Comparison of calcium analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosion in dentine. *Caries Res* 43: 422-9
22. Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N. (2011) Conventional and anti-erosion fluoride toothpastes: effect on enamel erosion and erosion-abrasion. *Caries Res* 45: 581-589
23. Ganss C, von Hinckeldey J, Tolle A, Schulze K, Klimek J, Schlueter N (2012) Efficacy of the stannous ion and a biopolymer in toothpastes on enamel erosion/abrasion. *Journal of Dentistry* 40: 1036–1043
24. Ganss C, Schulze K, Schlueter N (2013) Toothpaste and erosion. *Monographs in oral* 23: 88-99
25. Ganss C, Klimek J, Schlueter N (20014) Erosion/Abrasion-Preventing Potential of Fluorid-Paste and F/Sn/Chitosan Toothpastes in Dentine and Impact of the Organic Matrix. *Caries Res* 48: 163-169

26. 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. *Microscopy and Microanalysis* 19: 587-595
27. Gühring W (1992) Barth: Anatomie: Spezielle Biologie des Kausystems. Verlag Neuer Merkur GmbH, München
28. Hannig M, Hannig C (2010) Nanomaterials in preventive dentistry. *Nature Nanotechnology* 5: 565-569
29. Jena A, Shashirekha G (2015) Comparison of efficacy of three different desensitizing agents for in-office relief of dentin hypersensitivity: A 4 weeks clinical study. *J Conserv Dent.* 18: 389-93
30. Jena A, Kala S, Shashirekha G (2017) Comparing the effectiveness of four desensitizing toothpastes on dentinal tubule occlusion: A scanning electron microscope analysis. *J Conserv Dent* 20: 269-272
31. Jin J, Xu X, Lai G, Kunzelmann KH (2013) Efficacy of tooth whitening with different calcium phosphate-based formulations. *European Journal of Science* 121: 382-8
32. Joiner A, Schäfer F, Naeeni MM, Gupta AK, Zero DT (2014) Remineralisation effect of a dual-phase calcium silicate/phosphate gel combined with calcium silicate/phosphate toothpaste on acid-challenged enamel in situ. *Journal of Dentistry* 42: 53-59
33. Junevičius J, Žilinskas J, Česaitis K1, Česaitienė G, Gleiznys D, Maželienė Ž (2015) Antimicrobial activity of silver and gold in toothpastes: A comparative analysis. *Stomatologija* 17: 9-12
34. Kishen A, Tan KB, Asundi A (2006) Digital moiré interferometric investigations on the deformation gradients of enamel and dentine: as insight into non-carious cervical lesions. *J Dent* 34: 12-18
35. Klinke R & Silbernagl S (2005) Lehrbuch der Physiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
36. Meng-Long H, Gang Z, Hong L, Meng Y, You-Dong Z, Jian-Min H (2019) Network meta-analysis on the effect of desensitizing toothpastes on dentine hypersensitivity. *J Dent* 88: 103170
37. Moron BM, Miyazaki SS, Ito N (2013) Impact of different fluoride concentrations and pH of dentifrices on tooth erosion/abrasion in vitro. *Australian Dental Journal* 58: 106-111
38. Orsini G, Procaccini M, Manzoli L, Giuliadori F, Lorenzini A, Putignano A (2010) A double-blind randomized-controlled trial comparing the desensitizing efficacy of a new

- dentifrice containing carbonate/hydroxyapatite nanocrystals and a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice. *J Clin Periodontol* 37: 510-7
39. Orsini G, Procaccini M, Manzoli L, Sparabombe S, Tiriduzzi P, Bambini F, Putignano A (2013) A 3-day randomized clinical trial to investigate the desensitizing properties of three dentifrices. *J Periodontol* 84: 65-73
40. Pascaretti-Grizon F, Mabileau G, Chappard D (2013) Abrasion of 6 dentifrices measured by vertical scanning interference microscopy. *J Appl Oral Sci* 21: 475-81
41. Philpotts C J, Weader E, Joiner A (2005) The measurement in vitro of enamel and dentine wear by toothpastes of different abrasivity. *Int Dent J* 55: 183- 187
42. Psychrembel: (2002) *Klinisches Wörterbuch*. Walter De Gruyter Verlag, Berlin
43. Reynolds EC (2008) Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Australian Dental Journal* 53: 268-273
44. Richards TM, Hurley T, Grove L, Harrington KJ, Carpenter GH, Procor GB, Nutting CM (2017) The effect of parotid gland-sparing intensity-modulated radiotherapy on salivary composition, flow rate and xerostomia measures. *Oral Dis* 23: 990-1000
45. Roblegg E, Coughran A, Sirjani D (2019) Saliva: an allrounder of our body. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 939-6411: 30370-4
46. Rossete Melo R, Rezende JS, Gomes VE, Ferreira E, Oliveira AC (2013) Sociodemographic, biological and behavioural risk factors associated with incidence of dental caries in schoolchildren's first permanent molars: a 3-year follow-up study. *Eur J Paediatr Dent* 14: 8-12
47. Rupf, S, Idlibi AN, Al Marrawi F, Hannig M, Schubert A, von Mueller L, Spitzer W, Holtmann H, Lehmann A, Rueppell A, Schindler A (2011) Removing Biofilms from Microstructured Titanium Ex Vivo: A Novel Approach Using Atmospheric Plasma Technology; *PLoS One* 6
48. Scheel J, Hermann M (2011) Integrated risk assessment of a hydroxyapatite-protein-composite for use in oral care products: a weight-of-evidence case study. *Regul Toxicol Pharmacol* 59: 310-23
49. Schemehorn BR, Moore MH, Putt MS (2011) Abrasion, polishing, and stain removal characteristics of various commercial dentifrices in vitro. *J Clin Dent* 22: 11-18
50. Schlueter N, Glatzki J, Klimek J, Ganss C (2012) Erosive-abrasive tissue loss in dentin under simulated bulimic conditions. *Arch Oral Biol* 57: 1176-1182

51. Scimea M, Bischetti S, Lamsira HK, Bonfiglio R, Bonanno E (2018) Energy Dispersive X-Ray (EDX) microanalysis: A powerful tool in biomedical research and diagnosis. *Eur. J. Histochem* 62: 2841
52. Sevon L, Laine MA, Karjalainen S, Dorokuinskaja A, Helenius H, Kiss E, Lethonen-Veromaa M (2008) Effect of age on flow-rate, protein and electrolyte composition of stimulated whole saliva in healthy, non-smoking women. *Open Dent Journal* 2: 89-92
53. Shellis RP, Wilson RM (2004) Apparent solubility distributions of hydroxyapatite and enamel apatite. *J Colloid Interface Sci* 278: 325-332
54. Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A (2011) Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Research* 45: 69-77
55. Shimazaki Y, Fu B, Yonemoto K, Akifusa S, Shibata Y, Takeshita T, Ninomiya T, Kiyohara Y, Yamashita Y (2017) Stimulated salivary flow rate and oral health status. *J Oral Sci* 31; 59: 55-62
56. SCCNFP (2003) The safety of fluorine compounds in oral hygiene products for children under the age of 6 years. p 13
57. Sun Y, Li X, Deng Y, Sun JN, Tao D, Chen H, Hu Q, Liu R, Liu W, Feng X, Wang J, Carvell M, Joiner A (2014) Mode of action studies on the formation of enamel minerals from a novel toothpaste containing calcium silicate and sodium phosphate salts. *Journal of Dentistry* 42: 30-38
58. Takano N, Ando Y, Yoshihara A, Miyazaki H (2003) Factors associated with root caries incidence in an elderly population. *Communit Dental Health* 20: 217-222
59. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM (2011) Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent* 39: 430–437
60. Vano M, Derchi G, Barone A, Covani U (2014) Effectiveness of nano-hydroxyapatite toothpaste in reducing dentin hypersensitivity: a double-blind randomized controlled trial. *Quintessence Int* 45: 703-11
61. Vano M, Derchi G, Barone A, Pinna R, Usai P, Covani U (2018) Reducing dentine hypersensitivity with nano-hydroxyapatite toothpaste: a double-blind randomized controlled trial. *Clin Oral Investig* 22: 313-320
62. Wang L, Magalhães AC, Francisconi-Dos-Rios LF, Calabria MP, Araújo D, Buzalaf M, Lauris J, Pereira JC (2016) Treatment of Dentin Hypersensitivity Using Nano-Hydroxyapatite Pastes: A Randomized Three-Month Clinical Trial. *Oper Dent* 41: 93-101

63. Wang Z, Jiang T, Sauro S, Pashley DH, Toledano M, Osorio R, Liang S, Xing W, Sa Y, Wang Y (2011) The dentine remineralization activity of a desensitizing bioactive glass-containing toothpaste: an in vitro study. *Australian Dental Journal* 56: 372-381
64. Weir A, Westerhoff P, Fabricius L, Hristovski K, von Goetz N (2012) Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environ Sci Technol* 46: 2242-2250
65. West NX, Joiner A (2014) Enamel mineral loss. *Journal of dentistry* 42: 2-11
66. Wiegand A, Kuhn M, Sener B, Roos M, Attin T (2009) Abrasion of eroded dentin caused by toothpaste slurries of different abrasivity and toothbrushes of different filament diameter.; *Journal of Dentistry* 37: 480-484
67. Wiegand A., Burkhard JP, Eggmann F, Attin T (2013) Brushing force of manual and sonic toothbrushes affects dental hard tissue abrasion. *Clinical Oral Investigations* 17: 815-822
68. Yadav R K, Verma U P, Tiwari R (2019) Comparative evaluation of neodymium-doped yttrium aluminum garnet laser with nanocrystalline hydroxyapatite dentifrices and herbal dentifrices in the treatment of dentinal hypersensitivity. *Natl J Maxillofac Surg* 10: 78-86
69. Yuan P, Shen X, Liu J, Hou Y, Zhu M, Huang J, Xu P (2012) Effects of dentifrice containing hydroxyapatite on dentinal tubule occlusion and aqueous hexavalent chromium cations sorption: a preliminary study. *PLoS One* 7: 45283
70. Zimmer S, Kirchner G, Bizhang M, Benedix M (2015) Influence of various acidic beverages on tooth erosion. Evaluation by a new method. *PLoS One* 10: 1-8

## 7 Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Stefan Rupf für das Überlassen dieses spannenden Themas, für die fachliche Unterstützung und die intensive Betreuung. Die aufschlussreichen Gespräche mit ihm und seine Ratschläge waren unentbehrlich zur Fertigstellung dieser Dissertation. Herrn Prof. Dr. Matthias Hannig, Direktor der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde des Universitätsklinikums des Saarlandes gilt ebenfalls mein Dank. Durch ihn war die Nutzung der erforderlichen Geräte möglich. Schwierige Sachverhalte konnte ich mit seiner Hilfe klären. Herrn Norbert Pütz danke ich für die intensive Unterstützung bei der Rasterelektronenmikroskopie. Das Labor-Team der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde des Universitätsklinikums des Saarlandes lehrte mich die Methodik der Prüfkörperherstellung. Dafür möchte ich mich ebenfalls bedanken. Ein großer Dank geht an meine Frau, Sabrina Bloss, und an meine Tante, Adelheid Bantel, für ihre Unterstützung. Zuletzt bedanke ich mich bei meiner Familie und bei meinen Freunden, die mich in dieser Zeit begleitet haben.

## 8 Lebenslauf