Aus dem Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Poliklinik für Zahnerhaltung/Parodontologie
(Komm. Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. habil. M. Waurick)

elektronisches dokument
ULB Sachsen-Anhalt

Entwicklung, Bau und Erprobung eines automatischen pH-cycling-Systems

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Michael Brandt
geboren am 19.10.1971 in Brehna

Gutachter:
1. Prof. Dr. Stiefel
2. Frau PD Dr. Peschke
3. Prof. Dr. Beetke (Rostock)

08.12.1998

Bei Untersuchungen am Zahnhartgewebe und dort eingesetzten zahnärztlichen Füllungsmaterialien sind die Dauer und Häufigkeit der Exposition gegenüber verschiedenen Wirkstoffen wichtige Parameter.
In-vitro-Versuche zum Kristallitwachstum der posteruptiven Maturation des Zahnschmelzes erfordern einen häufigen Wechsel von kurzen De- und Remineralisationsintervallen im Minutenbereich über Zeiträume von Monaten.
Da sich dies manuell nicht realisieren läßt, ist eine automatisierte Versuchsanordnung nötig.
Ziel der vorliegenden Dissertation war es ein automatisches pH-cycling-System zu entwickeln, zu bauen und zu testen.
Funktionstragende Teile des erstellten Gerätes sind Magnetventile, Membranpumpen und Füllstandssensoren, deren Zusammenspiel elektronisch gesteuert wird. In einem durchsichtigen Versuchsbehälter können bis zu 50 Zähne aufgehangen und zwei verschiedenen Spüllösungen sowie Wasser ausgesetzt werden.
Über vier Wochen erfolgte an 33 Zähnen der Test der Apparatur. Als Demineralisationsmedium wurde 4,5%ige Hydroxyethylzelluloselösung genutzt, die mit Milchsäure auf einen pH-Wert von 4,5 eingestellt war. Wirksame Anteile der verwendeten Remineralisationslösung waren Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen.
Die nach Versuchsende durchgeführte polarisationsmikroskopische Auswertung zeigte, daß initialkariöse Veränderungen am Zahnschmelz als klassische subfizielle Läsionen erzeugt werden können. Reifungsmineralisationen und Remineralisationen sind ebenfalls möglich.
Das vorliegende pH-cycling-System kann bei Untersuchungen zur posteruptiven Schmelzreifung und zu De- und (Re)Mineralisationsstudien an menschlichem und tierischem Hartgewebe genutzt werden. Weiterhin ist das Testen sekundärkariesprotektiver Eigenschaften zahnärztlicher Füllungsmaterialien, insbesondere solcher mit Refill-Effekt, möglich.

Brandt, Michael: Entwicklung, Bau und Erprobung eines automatischen pH-cycling-Systems. Halle, Univ., Med.Fak., Diss., 79 Seiten, 1998

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	**Einleitung**	**1**
2.	**Zielstellung**	**3**
3.	**Modellformen zur Untersuchung biologischer Vorgänge an und in Zahnhartsubstanz**	**4**
3.1.	Grundlagen und verschiedene Möglichkeiten zur Erzeugung subfizieller Läsionen	6
3.2.	Laborversuche	8
3.2.1.	Demineralisation durch manuelle, einmalige Säureexposition	8
3.2.2.	Demineralisation durch bakteriell produzierte Säuren	8
3.2.3.	PH-cycling	9
3.2.4.	Artificial-mouth-Systeme	12
3.3.	In-situ-Modelle	14
3.4.	In-vivo-Verfahren	15
3.5.	Mathematische Modelle	16
3.6.	Tierversuche	17
4.	**Material**	**18**
4.1.	Material zum Bau des pH-cycling-Systems	18
4.1.1.	Zeitrelais CX 36	18
4.1.2.	Vierkammermembranpumpe "Quad Diaphragm"	20
4.1.3.	Magnetventile	20
4.1.4.	Kapazitiver Füllstandssensor KNK 025	22
4.2.	Untersuchungsmaterial	22
5.	**Ergebnisse**	**24**
5.1.	PH-cycling-System	24
5.1.1.	Aufbau	24
5.1.2.	Gerüst	29
5.1.3.	Versuchsbehälter, Reservoirbehälter, Schlauchverbindungen	30
5.1.4.	Funktionsprinzip	35
5.1.5.	Volumenverlust und integrierter Zeitverzögerungsbaustein	38

5.2. Versuchsdurchführung 39
5.2.1. Aufbau und Durchführung des Versuches 39
5.2.2. Aufgetretene Probleme und Maßnahmen zu deren Beseitigung 44
5.2.3. Messungen während des Betriebes 47
5.3. Untersuchung der behandelten Zähne und Auswertung 51
5.3.1. Herstellung der Schliffpräparate 51
5.3.2. Polarisationsoptisch darstellbare Veränderungen 51
5.3.3. Biostatistische Auswertung 54
6. Diskussion 58
6.1. Diskussion der Ergebnisse 58
6.2. Fehlerdiskussion 60
6.3. Diskussion und Schlußfolgerungen 62
7. Zusammenfassung 68
8. Literaturverzeichnis 69
9. Thesen 78

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
BZÄK	Bundeszahnärztekammer
bzw.	beziehungsweise
Ca^{2+}/PO_4^{3-}	Kalzium- und Phosphationen als wirksame Komponente des in Wasser gelösten Kalzium-β-glycerophosphates
$Ca^{2+}/PO_4^{3-}/F^-$	Kalzium- Phosphat- und Fluoridionen als wirksame Komponente des in Wasser gelösten Kalzium-β-glycerophosphates und Natriumfluorid
d.	des
Dem.	Demineralisationen
Dem.tiefe	Demineralisationstiefe
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
DMFT	DMFT-Index (decayed, missing, filled tooth)
et al.	et alii
Geschl.	Geschlecht
ggf.	gegebenenfalls
H_2O	Wasser aus dem Hausleitungsnetz
Hez	Hydroxyethylzelluloselösung
i.	im
LxBxH	Länge mal Breite mal Höhe
max.	maximal
MTA	medizinisch-technische Assistentin
m	männlich
o.	oder
PC	Personalcomputer
SPSS	"Statistical Package for the Social Sciences"
Tab.	Tabelle
w	weiblich

1. Einleitung

Die derzeit stattfindende Orientierung der Strategie der zahnärztlichen Versorgung von restaurativ-rehabilitativ dominierten Konzepten hin zur präventiv ausgerichteten Betreuung läßt einen steigenden Bedarf an wirksamen Prophylaxemaßnahmen erwarten.

Die derzeitig angewendeten Fluoridierungen zielen auf die Erhöhung des Anteils an Fluorid im oberflächlichen Zahnschmelz und damit einhergehender höherer Säureresistenz (Binus et al. 1987a) sowie auf die Förderung der Remineralisation und Hemmung der Demineralisation ab (Hellwig et al. 1995).

Der epidemiologisch zu verzeichnende Rückgang des Primärkariesbefalls um das 20. Lebensjahr ist in erster Linie nicht auf einen geringeren Zuckerkonsum, sondern auf einen posteruptiv ausgereifteren Zahnschmelz zurückzuführen (Stiefel und Binus 1991). Ein Abschluß der tertiären Schmelzreifung und ein Übergang der Mineraleinlagerung in die intraoral lebenslang stattfindenden Austauschvorgänge an der Zahnoberfläche ist erst fünf bis acht Jahre nach dem Zahndurchbruch zu erwarten (Binus et al. 1987b; Stiefel und Binus 1988).

Noch nicht durchgebrochene Zähne weisen eine 300-500 µm breite hypomineralisierte, poröse äußere Schmelzschicht auf (Binus und Stiefel 1988), in die Säuren entlang von Mikrospalten eindringen können. Durch ein Wachstum der Kristallite während der posteruptiven Schmelzreifung können diese Porenkanäle im Idealfall vollständig eliminiert werden (Stiefel et al. 1990). Zweifellos spielen dabei Fluoride eine maßgebliche Rolle. Bei in-vivo-Remineralisationen von white-spots mit Fluor-Protector® ist rasterelektronen-mikroskopisch eine Abnahme der Oberflächenrauhigkeit nach drei Monaten festzustellen (Binus et al. 1985), die durch ein Kristallitwachstum mit Einengung der intern Spalträume in Zusammenhang stehen könnte.

Auch im freiliegenden Dentin ist eine Mineraleinlagerung möglich (Stiefel und Binus 1985).

Die sehr komplexe Biomineralisation des reifenden Zahnschmelzes und damit einhergehende Veränderungen der organischen Matrix sowie die Verkettung von organischen und anorganischen Molekülen müssen weiter aufgeklärt werden. Die Kenntnis von Voraussetzungen und Bedingungen für eine beschleunigte

posteruptive Schmelzreifung könnte die Basis für die Entwicklung eines praktischen Konzeptes zu deren Forcierung sein.

Eine dabei interessierende Frage ist, ob eine "unendlich" oft wiederholte De- und Remineralisation von porösem, unausgereiftem Zahnschmelz langsam einen Vorwärtstrend zu qualitativ neuen, hochwertigeren Mineralien (z.B. Fluor-hydroxylapatit) und einer dichteren Prismenstruktur bewirkt. Auch Arends et al. (1983) vermuteten aufgrund von Vergleichen der Schmelzkristallitdurchmesser reifer und nicht durchgebrochener Zähne, daß im oralen Milieu durch Auf- oder Anlösung kleiner Kristallite und einer anschließenden Neu- oder Umkristallisation mit insgesamt etwas größerem Durchmesser ein Wachstum mit Einengung und gegebenenfalls Schließung der interkristallinen Räume erfolgt.

Ein in-vitro-Nachweis und die Untersuchung des Einflusses von Dauer und Häufigkeit der De- und Remineralisation sind bisher nicht bekannt.

Diese wichtigen Parameter können im in-vitro-Versuch nur automatisiert in entsprechenden Frequenzen über längere Zeit realisiert werden. Ziel und Inhalt der vorliegenden Dissertation ist es, eine Versuchsanordnung zu konzipieren, zu bauen und zu erproben, mit welcher solche Versuche zur tertiären Schmelz-reifung durchgeführt werden können.

2. Zielstellung

Eine zu entwickelnde Apparatur soll eine möglichst große Anzahl von Zähnen (etwa 50), die in einem durchsichtigen Versuchsbehälter angeordnet sind, nacheinander zwei verschiedenen Lösungen aussetzen. Somit sollen Initialkaries und Mineralisationen bzw. Remineralisationen an menschlichen und tierischen Zahnhartsubstanzen erzeugbar sein. Die Einwirkzeiten müssen für jedes Medium separat einstellbar sein und zwischen wenigen Sekunden und mehreren Stunden betragen können. Es soll möglich sein, Zyklen festzulegen, innerhalb derer die Medien in unterschiedlicher, variierbarer Reihenfolge, gegebenenfalls dasselbe auch mehrere Male hintereinander, die Versuchskörper umgeben. Nach einmaligem Programmieren der Reihenfolge und Dauer der Durchläufe sollen diese selbstständig und beliebig oft nacheinander ablaufen. Die Bedienung muß von einem größeren Personenkreis ohne spezielle Vorkenntnisse (MTA, Doktoranden) nach kurzer Einweisung erfolgen können. Ein automatisches Ausspülen mit Wasser zur Reinigung nach jeder Passage soll möglich, aber nicht nötig sein. Die eingesetzten Flüssigkeiten sollen wiederverwendet werden, um den Aufwand des ständigen Nachfüllens und hohe Kosten zu vermeiden. Eine Durchmischung im Versuchsbehälter und die daraus resultierende Verunreinigung der Lösungen ist zu minimieren.

Eine möglichst platzsparende Bauausführung, die ein unkompliziertes Aufstellen und Transportieren ermöglicht, ist ebenso wichtig wie eine übersichtliche, bedienerfreundliche Anordnung der Bauelemente, die ihrerseits leicht zugänglich und austauschbar sein müssen. Ein Stromausfall darf nicht das unkontrollierte Ablaufen bzw. Vermischen der Flüssigkeiten zur Folge haben. Die Möglichkeit des einfachen und schnellen Wechselns der Versuchskörper ist erforderlich. Die flüssigkeitsführenden Bauteile müssen zu Reinigungszwecken leicht de- und remontierbar sein.

Die dem Testversuch unterzogenen Zähne sollen polarisationsoptisch ausgewertet werden, um die Eignung der Apparatur zur Erzeugung von De- und (Re)Mineralisationen nachzuweisen.

3. Modellformen zur Untersuchung biologischer Vorgänge an und in Zahnhartsubstanz

Es existieren verschiedenste Modellformen, die zum einen grob nach Ort und Art ihrer Durchführung in Labor-, Tier-, in-situ/in-vivo-(im menschlichen Mund)-Versuche und in mathematische Modelle eingeteilt werden können. Eine speziellere Untergliederung, insbesondere der Labormethoden, ist im Hinblick auf die Konstruktions- und Funktionsweise des Versuchsaufbaues möglich, deren Unterschiede sich durch die jeweilige wissenschaftliche Fragestellung und dabei berücksichtigter Parameter bedingen. Die überwiegende Zahl der in-vitro-Versuche bedient sich der Kombination von De- und Remineralisationen (Featherstone et al. 1990; Chow et al. 1992), die aber als eigenständiges Prinzip zu betrachten sind und nach verschiedenen Grundsätzen im Modell vertreten sein können.

I. Volumenkonstanz

I.l. Volumenkonstante (Re)Mineralisation

Hierbei sind die Versuchskörper einer mineralionenhaltigen Lösung ausgesetzt, die während des Versuches mengenmäßig nicht verändert und in der Regel auch nicht ausgewechselt wird (Kraft und Gängler 1984). Die Mineralisation wird durch eine entsprechend hohe Ausgangsionenkonzentration im Medium vorangetrieben (ten Cate et al. 1982). Je nach Versuchsaufbau ist das Gewebe (z.B. Zahnschmelz) primär gesund oder initialkariös verändert, ganz oder nur teilweise exponiert (Fenstertechnik), abradiert oder nicht abradiert (Herkströter 1991) und kann entsprechend mehr oder weniger Ionen aus dem umgebenden Medium inkorporieren. Mit fortlaufender Zeit verarmt die Lösung an den wirksamen Stoffen, und die übersättigungsgetriebene Reaktion läuft langsamer und geht bei Unterschreiten eines Schwellenwertes in ein Gleichgewicht über.

Der besondere Vorteil der Methodik liegt in der indirekten Meßbarkeit der Mineralisation durch Bestimmung der Ionenkonzentrationen in der Lösung am Beginn und Ende des Versuches. Als nachteilig ist anzusehen, daß die Mineralisationsgeschwindigkeit mit sinkender Ionenkonzentration ebenfalls abfällt und nie konstant ist (White 1995). Versuche, dies durch Zugabe hoher

Konzentrationen auszugleichen, könnten den Ort des Remineralisationseffektes im Zahnschmelz derart verändern, daß schon oberflächennah interkristalline Poren durch Präzipitate verstopfen, und ein tieferes Eindringen von Ionen verhindert wird (Silverstone et al. 1981).
Außerdem ist die Mineralionenkonzentration ein wichtiges Parameter, das nicht beliebig verändert werden kann.

I.II. Volumenkonstante Demineralisation

Bei längerdauernder Demineralisation einer großen gesamten Zahnoberfläche in einer kleinvolumigen Lösung ist wahrscheinlich, daß durch akkumulierende Ionen eine Verlangsamung der Dissolution eintritt.

II. Konzentrationskonstanz (Verfahren mit gleichbleibender Konzentration)

II.I. Hochvolumige Durchflußtechnik für De- und Remineralisation

Hierbei wird angestrebt, annähernd gleichbleibende Konzentrationen an wirksamen Stoffen durch den Einsatz besonders hoher Volumina zu erreichen. Ein ständiges konstantes Fließen soll bei Demineralisationen die aus dem Gewebe diffundierten Ionen sofort abtransportieren bzw. bei Mineralisationen einer Verarmung an entsprechenden Stoffen durch ständigen Nachschub vorbeugen. Buskes et al. (1985) verwendeten zur Realisierung dieses Konzeptes eine Apparatur, die bis zu 60 Liter entsprechender Lösungen fassen kann. Kalzium- und phosphatsensitive Elektroden machten eine Kontrolle von Konzentrationsänderungen in den Medien im Bereich von 0,1 Millimol möglich.
Das Problem hierbei besteht im Festlegen der Fließmenge und -geschwindigkeit, die das Auftreten von Erosionen sicher ausschließt. Buskes et al (1985) beschreiben, daß bei ihren Versuchen mit einem Durchfluß von 300 ml min^{-1} und einem pH-Wert von 5,0 an den Probenoberflächen kein meßbarer Materialverlust aufgetreten ist

II.II.Titrationssysteme

Ein weiterer Versuch, nahezu gleichbleibende Konzentrationen sicherzustellen, wurde durch die Konstruktion von Titrationssystemen unternommen. Eine im Thermostat befindliche, von Demineralisationslösung geringer Pufferkapazität umspülte Zahnhartsubstanzprobe (Chow und Takagi 1989) gibt vorwiegend

Phosphat- und Hydroxylionen ab, die einen Anstieg des pH-Wertes verursachen. Diese Änderung wird von einer Elektrode erfaßt, die mit einer automatischen Bürette verbunden ist, welche Säure nachtitriert (Chow und Takagi 1989). Bei Remineralisationsstudien sind zusätzliche Elektroden an der Aufrechterhaltung der Mineralionenkonzentration beteiligt (ten Cate und Arends 1977).
Das Grundprinzip besteht also in der Sicherung bestimmter Konzentrationen im Medium durch stetige Messung und gesteuertes automatisches Nachgeben der jeweiligen Stoffe.

3.1. Grundlagen und verschiedene Möglichkeiten zur Erzeugung subfizieller Läsionen

Um bei in vitro Demineralisationen eine durch ungehinderte Diffusion bewirkte Dissolution der Schmelzkristallite und die dadurch bedingte Entstehung eines Substanzdefektes in Form einer Erosion/Kavitation zu verhindern, müssen Diffusionsbarrieren geschaffen werden, welche die Funktion des intraoral vorhandenen Pellikels und der Plaque simulieren.
Prinzipiell bestehen auf chemischem Weg zwei Möglichkeiten (gel- und lösungs-präparierte Läsionen), die Basis unterschiedlicher Modifikationen sind.
Grundlagen für Gele sind hochmolekulare Stoffe, wie z.B. Hydroxyethylzellulose (Sato und Yamamoto 1986) oder Methylzellulose (Ingram und Silverstone 1981), die in gelöster Form die Funktion einer Diffusionsbarriere, in erster Linie für Kalzium- und Phosphationen der Zahnhartsubstanz, übernehmen.
Zur Erzeugung von lösungspräparierten Läsionen werden dem wässrigen Demineralisationsmedium hingegen Kalzium- und Phosphationen zugesetzt, um eine diffusionshemmende Konzentration in Umgebung der Proben zu erreichen und eine "subsurface dissolution" zu fördern (White 1987b). Eine genaue Berechnung der Sättigung gegenüber Hydroxylapatit, dem hauptsächlich vorkommenden Schmelzmineral, ist nötig (Theuns et al. 1983), da bei Übersättigung die Demineralisation zum Erliegen käme.
Magrolis et al. (1985) konnten durch Variation des Sättigungsgrades der Pufferlösung Kavitationen und initialkariöse Veränderungen mit intakter Oberflächenschicht in der selben Zeit erzeugen sowie einen Mineralverlust aus dem Zahnschmelz ganz verhindern. Grundsätzlich gilt: Je höher der

Sättigungsgrad der Demineralisationslösung ist, entsprechend niedriger fällt die Diffusionsrate der Ionen aus der Zahnhartsubstanz aus.

Ten Cate und Duijsters (1983) setzten einer untersättigten Kalzium-Phosphationenlösung noch Fluorid bei und konnten in Abhängigkeit von dessen Konzentration (0 bis 10 ppm) Erosionen, white spots und einen kompletten Schutz der Schmelzoberfläche erreichen. Auch Theuns et al. (1984b) messen dem Fluoridgehalt in der Demineralisationslösung entscheidende Bedeutung im Bezug auf den Zustand der Läsionsoberfläche und deren Mineralgehalt bei. Einen weiteren Einfluß hat der pH-Wert (Theuns et al. 1984a).

Mit einem Hydroxyethylzellulosepuffer (pH 4; 6 Gew.% Zellulose) sind durch Variation der Einwirkzeit ebenfalls unterschiedliche Resultate, white spots bei 24 Stunden und initialkariöse Veränderungen mit intakter Oberflächenschicht bei 96 Stunden Demineralisation, möglich (Groeneveld et al. 1975).

Vorteile gelpräparierter Läsionen sind laut Groeneveld et al. (1975) eine hohe Reproduzierbarkeit und ein paralleler Verlauf zur Zahnoberfläche.

Feagin et al. (1985) machten darauf aufmerksam, daß die Gele unbekannte Konzentrationen an Ionen so z.B. auch an Kalzium-, Phosphat- und Fluoridionen enthalten, die das histologische Erscheinungsbild der Demineralisation modifizieren, indem sie seine Ausprägung hemmen. Deshalb wurde von ihnen der Vorschlag unterbreitet, durch Dialyse die Fremdionen zu entfernen und gegebenenfalls bekannte Mengen wieder zuzusetzen.

Damato et al. (1988) stellten bei Vergleichen von gel- und lösungspräparierten Läsionen fest, daß letztere eine größere Ausdehnung haben. Die Ursache vermuten sie darin, daß in undialysierten Gelen Fluoridkonzentrationen um ca. 0,15 ppm F^- vorhanden sind, die eine Demineralisation hemmen.

3.2. Laborversuche

Unter Nutzung der beschriebenen grundsätzlichen Prinzipien sind eine Vielzahl von Laborversuchen mit Hilfe unterschiedlichster Apparaturen und Versuchsabläufe unternommen worden. Eine Zuordnung läßt sich vornehmen in:

1. Demineralisationen: a) durch Zugabe von Säuren
   b) durch bakteriell produzierte Säuren
2. pH-cycling
3. artificial mouth

Fontana et al. (1996) nahmen eine übergeordnete Einteilung vor. Danach existieren Modelle mit Nutzung von Bakterien (Demineralisation durch bakteriell produzierte Säuren, artificial mouth, in-situ/in-vivo-Verfahren) und rein chemische Systeme (Demineralisation durch Säuren, pH-cycling).

3.2.1. Demineralisation durch manuelle, einmalige Säureexposition

Das am wenigsten aufwendige Verfahren zur Erzeugung kariöser Initialläsionen ist das konstante, Stunden (Collys et al. 1993) bis Wochen (Kidd et al. 1984) dauernde Aussetzen von Zahnhartsubstanzkörpern in einem Medium (Gel oder Lösung), welches durch Zugabe von Säure auf einen niedrigen pH-Wert, oft bei 4,5 (White und Nancollas 1990; Sato und Yamamoto 1986), aber auch niedriger (Liske 1988, Creanor et al. 1989) eingestellt wurde.

Ein ausreichender Abstand der Proben zueinander muß beachtet werden, um eine gegenseitige Beeinflussung durch Akkumulation von aus der Oberfläche diffundierten Ionen zu minimieren. Erneuerungen der Lösungen sind je nach freiliegender Probenoberfläche und Expositionsdauer in Erwägung zu ziehen.

Aufgrund der Unkompliziertheit und des günstigen Aufwand-Nutzen-Verhältnisses wird dieses Verfahren häufig eingesetzt.

3.2.2. Demineralisation durch bakteriell produzierte Säuren

Zur Durchführung dieser Methode der Läsionserzeugung dient als Grundlage ein mit bestimmten Bakterienstämmen beimpftes, niedrigmolekulare Kohlenhydrate enthaltendes Kulturmedium, dem die Zahnhhartsubstanzkörper ausgesetzt werden. Eine Inkubation bei 37°C erfolgt anschließend z.B. für insgesamt 15 Tage mit Erneuerung des Kulturmediums alle 24 Stunden (Gilmour et al. 1993).

Hardie et al. (1971) sehen insbesondere darin einen Vorteil, daß von Bakterien produzierte extrazelluläre polymere Oberflächenschichten, speziell Dextran, die Säureeinwirkung modifizieren und "subsurface lesions" liefern, die denen in vivo ähnlicher sind als die anderer Verfahren.
Dummer et al. (1982) führen diese Methode gar als Alternative zur künstlichen Mundhöhle (Kapitel 3.2.4., Seite 12 bis 13) an, da jene kostenintensiv und schwierig zu sterilisieren ist.

3.2.3. PH-cycling

Der Begriff des pH-cycling wurde von ten Cate (1982) geprägt und steht für das abwechselnde Aussetzen von Zahnhartsubstanz in oftmals zwei Lösungen verschiedenen pH-Wertes. Bei Remineralisationsstudien initialkariöser Veränderungen war bis dahin folgender Ablauf üblich:

1. Demineralisation zur Erzeugung einer subfiziellen Läsion über Tage bis Wochen
2. Remineralisation ebenfalls Tage bis Wochen (ten Cate et al. 1981)

Der Vorteil eines zirkulierenden pH-Wertes liegt in der besseren Nachahmung der Verhältnisse in vivo. Je nach Häufigkeit des Konsumes kariogener Kost treten mehrere Male täglich saure Phasen unterhalb pH 5,7 auf, denen sich nach Neutralisation Remineralisationsintervalle anschließen.
Die diesen Umstand berücksichtigende pH-cycling-Technik wird in vielen unterschiedlichen Modifikationen angewendet. Eine Tage dauernde Demineralisation kann zur Läsionserzeugung dem eigentlichen pH-cycling vorangehen (Hafström-Björkmann et al. 1992), oder es kommt primär gesunder, nicht vorbehandelter Schmelz zum Einsatz (White 1987a; ten Cate et al. 1988; Featherstone et al. 1988). Das Nachschalten einer zweiten kariesfördernden Phase (ten Cate 1982) stellt eine weitere Modifikation des Versuchsablaufes (Abbildung 2, Seite 12) dar.
Ten Cate erwähnte 1989 erstmals einen experimentellen Ablauf mit Hilfe eines Automaten, den er als "pH-cycling robot" bezeichnete. Die Nachteile der manuellen Methode, die in dem hohen Arbeitsaufwand und damit einer relativen Begrenztheit der Zyklen sowie einer Unterbrechung an den Wochenenden bestanden, wurden umgangen. Almqvist et al. (1990, 1993) nutzten eine automatische Versuchsanordnung, die nach dem Prinzip der hochvolumigen

Durchflußtechnik arbeitet und mit der nahezu identische pH-Kurven wiederholt werden können. Die Proben befinden sich in einem Plastikbecher, in den getrennt zwei unterschiedliche Flüssigkeiten eingepumpt werden können. Bei fließender Remineralisationslösung (17ml min^{-1}) verursacht die für 5 Minuten einlaufende Demineralisationslösung (49ml min^{-1}) einen pH-Abfall von 7 auf 4,5. Durch die weiterhin konstant zufließende Remineralisationslösung wird nach 50 Minuten der ursprüngliche pH-Wert wieder erreicht, und es resultiert insgesamt ein nahezu identisches Abbild der Stephan-Kurve (Stephan 1944). Untersuchungen zum Einfluß des pH-Kurvenverlaufes (Tiefe, Dauer, Frequenz der Kurven) auf Zahnhartgewebe sind somit möglich.

Ein computergesteuertes System haben 1992 Robinson et al. beschrieben. Die Drehscheibe eines histologischen Prozessors ist mit Behältern (Fassungsvolumen ca. 10 ml) verschiedener Lösungen bestückt worden. Zahnhartsubstanzscheiben wurden in einer korbähnlichen Plastikhalterung angebracht und mit einem temperatursteuerbaren Thermozylinder umgeben. Durch Rotation der Drehscheibe werden die einzelnen Behälter unter die Probenhalterung in Position gebracht, die nachfolgend in die Flüssigkeit eintaucht. Da der temperaturkontrollierende Zylinder nur die Zahnaufhängung umgibt, ist nach dem Eintauchen in ein raumtemperaturführendes Medium eine Abkühlung der Zahnhartsubstanz zwangsläufig und das Erreichen von 37°C erst nach einer Akklimatisierungsphase möglich. Der Effekt der Temperaturkontrolle ist somit eingeschränkt und nur bei langen Einwirkzeiten sinnvoll. Um dies auszugleichen, wurde das ganze System mit einer doppelwandigen wasserdurchströmbaren Haube zur Temperaturführung umgeben.

Eine Unterteilung nach netto Mineralgewinn oder -verlust bei Beendigung des pH-cycling-Versuches in kariesreversible Modelle (White 1988) zur Untersuchung der Remineralisation oder kariesprogressive Modelle (Page 1991; Kirkham et al. 1994) ist möglich.

Speziellere Fragestellungen, wie z.B. der Einfluß verschiedener Polymere in Speichelzusätzen auf De- und Remineralisation (van der Reijden et al. 1997), der Effekt von Kollagenase auf die Zahnwurzeldemineralisationen (Kawasaki und Featherstone 1997) und die Entwicklung moderner Fluoridschemata zur Kariesprävention (ten Cate 1990) können beispielsweise durch Anwendung der manuellen oder automatisierten Form der pH-cycling-Technik untersucht werden.

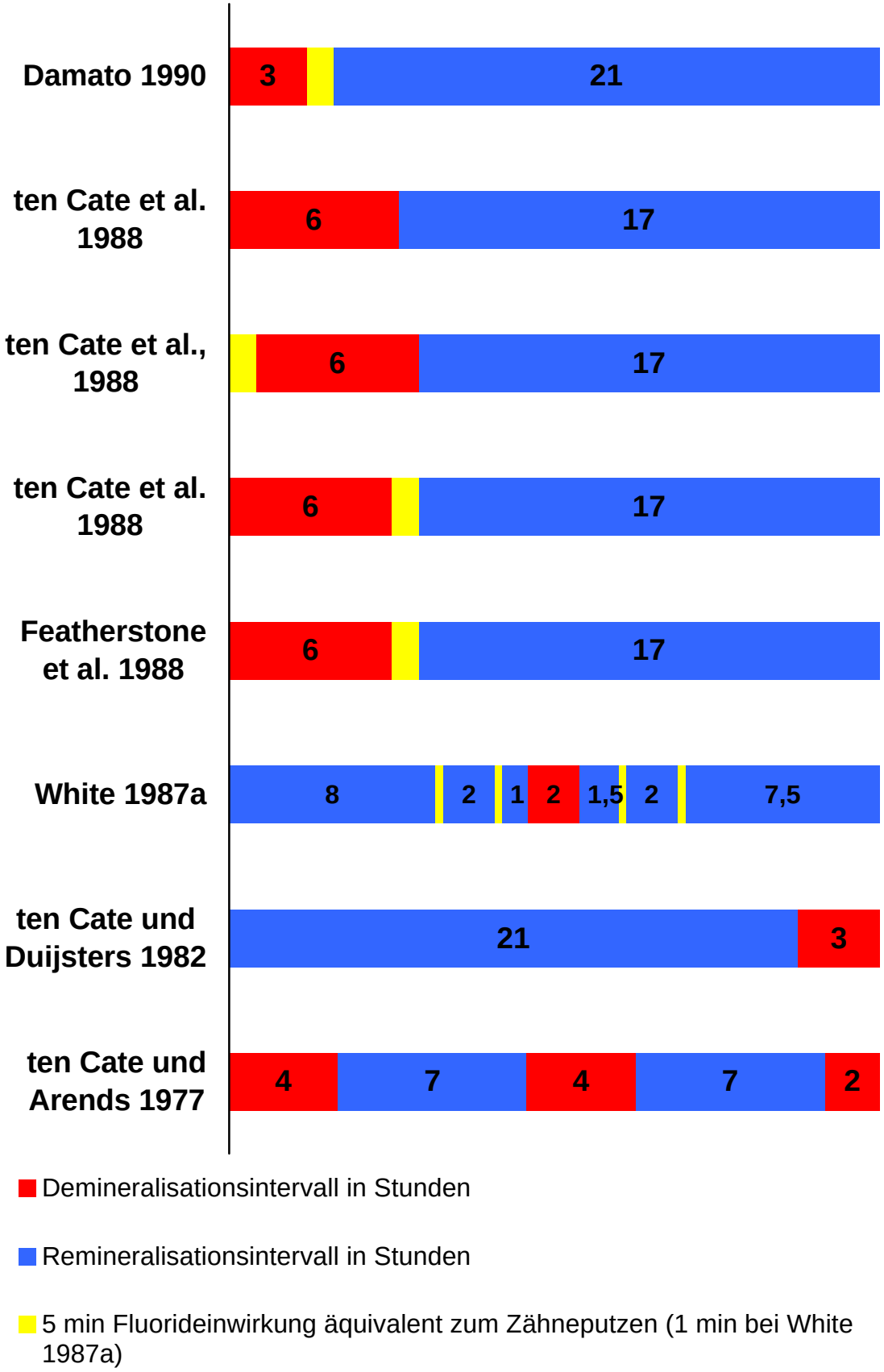


Abb. 1: Tägliche pH-Zyklen mit stündlicher Einwirkdauer verschiedener Medien

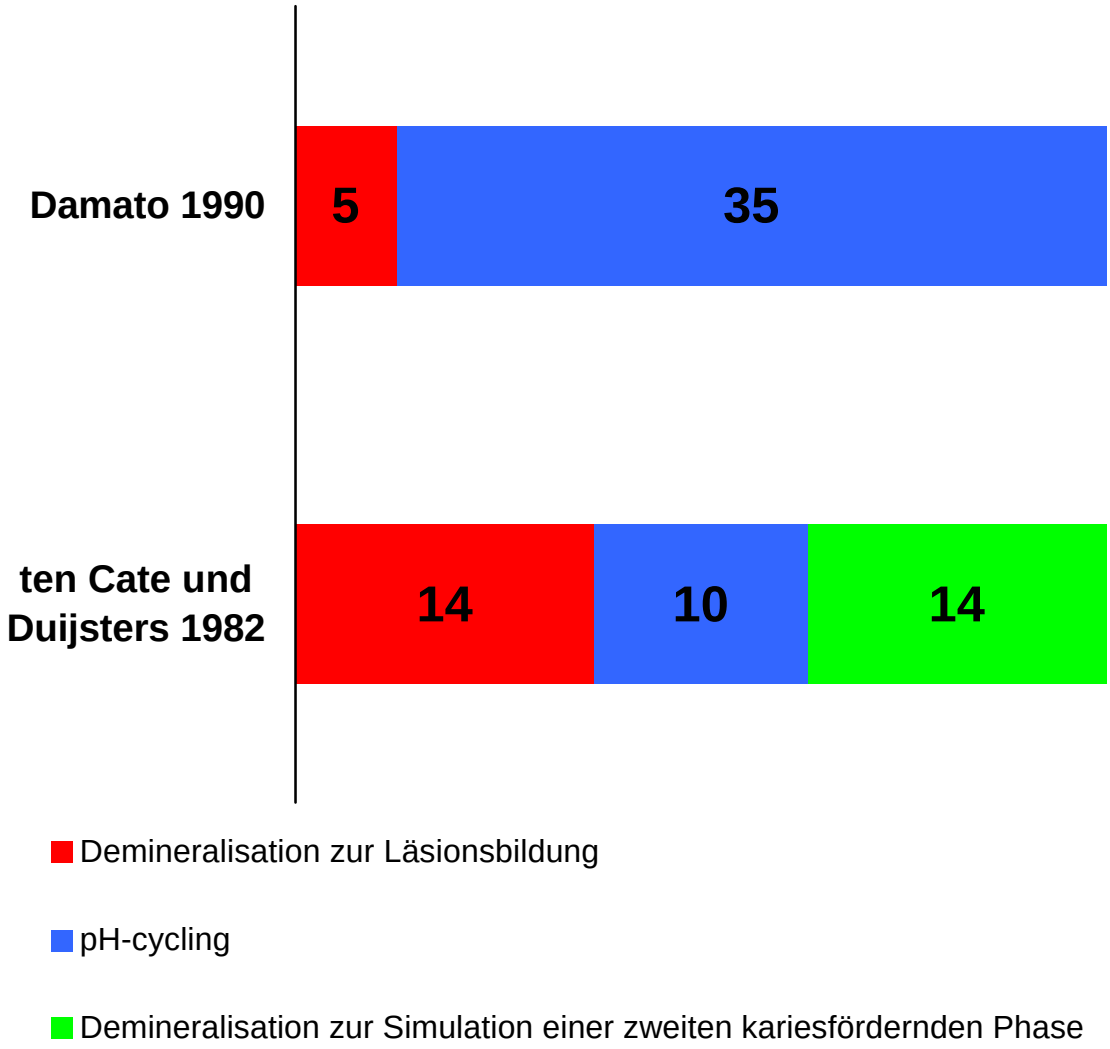


Abb. 2: Gesamtversuchsablauf in Tagen

3.2.4. Artificial mouth Systeme

Als artificial mouth wird eine apparative Versuchsanordnung verstanden, die in der Lage sein soll, das orale Milieu möglichst genau wiederzugeben. Wesentlicher Bestandteil ist eine temperaturführbare Kammer, in der vorwiegend menschliche (Klimek et al. 1982) oder bovine (Hellwig et al. 1993) Zahnhartsubstanz in entsprechenden Halterungen angebracht ist. Plaque auf diesen Proben kann künstlich ausgebildet (Sissons et al. 1985 und 1988; Noorda et al. 1986) oder direkt dem menschlichen Mund entnommen sein (Donoghue et al. 1985). Artefizieller Zahnbelag hat den besonderen Vorteil, daß er mit einem (monobakterielle Plaque, Noorda et al. 1986), speziell interessierenden

Bakterienstamm beimpft werden kann, wohingegen von Probanden gespendete Plaque oder Speichel ein individuelles Keimspektrum repräsentieren (Sissons und Cutress 1987). Auf Durchschnittswerte der Gesamtsekretionsraten gestützt oder abweichend davon festgelegte Mengen an künstlichem (Klimek et al. 1982; Schiffner 1993) oder menschlichem Speichel (Sissons et al. 1985) fließen über die Proben (Durchflußtechnik) und simulieren so die natürliche intraorale Zuckerclearence. Bestimmte, als Nährmedium für Mikroorganismen dienende oder im Mittelpunkt des Versuches stehende Substrate, wie Fruktose oder Glucose, werden nach dem Grundprinzip des Titrationssystemes (Kapitel 3., Seite 5) zugegeben. Experimentelle Abläufe können unter Nutzung dieser Voraussetzungen, den Möglichkeiten der jeweils vorhandenen Apparatur entsprechend, variabel gestaltet werden.

Der mikrobiologischen Komponente der künstlichen Mundhöhle kommt insofern Bedeutung zu, da Bakterienstämme hier in isolierter (Noorda et al. 1986) wie auch in gemischter Form (Donoghue et al. 1985) eingebracht werden können. Untersuchungen hinsichtlich synergistischer Effekte spezieller Keime wie z.B. Streptococcus mutans und Veillonella alcalescens (Noorda et al. 1988) können durchgeführt werden, was in vivo aufgrund der Nichtausschaltbarkeit anderer Arten nicht möglich ist. Gesundheitspolitisch und klinisch bedeutungsvolle Erscheinungen wie das "nursing-bottle-Syndrom" werden in Teilaspekten unter Nutzung von artificial-mouth-Systemen untersucht. Huang et al. (1981) analysierten so den Einfluß verschiedener Süßstoffe, die in unterschiedlichen Konzentrationen in Milch gelöst waren, auf das Ausmaß ihrer Kariogenität im Zusammenhang mit der sogenannten Nuckelflaschenkaries.

Es gibt zahlreiche Abwandlungen des klassischen Aufbaues, die vorgenommen wurden, um den Einsatzbereich zu erweitern. Eine an der Universität von Minnesota entwickelte Variante des artificial-mouth-Systems ist in der Lage, Zähne zueinander in Okklusion zu bringen und Kaubelastungen zu simulieren. Die Erprobung von neu entwickelten Materialien und Produkten ist damit unter gleichzeitiger Berücksichtigung physikalischer, chemischer und mikrobiologischer Faktoren möglich (Sheridan 1986; Reeh et al. 1996; Viazis et al. 1990), bevor der eigentliche klinische Test erfolgt.

3.3. In-situ-Modelle

Dieser experimentelle Ablauf ist durch den besonderen Umstand gekennzeichnet, daß er vorwiegend in der menschlichen Mundhöhle stattfindet. Der als ICT (intra-oral cariogenity test) bezeichnete Versuch wurde von Koulourides und Volker 1964 erstmals durchgeführt (Koulourides und Chien 1992). Trotz vieler Modifikationen kann eine Einteilung in drei grundsätzliche experimentelle Stadien vorgenommen werden (Schäfer et al. 1992):

1. Präparation und Vorbereitung der Proben
2. Tragephase im Mund
3. Analyse der Veränderungen und ggf. Weiterbehandlung der Proben

Halterungen aus Kunststoff oder (Teil-) Prothesen, die für jeden Probanden individuell angefertigt werden (Creanor et al. 1986), nehmen Blöcke oder Scheiben von Zahnhartsubstanz auf und verbleiben so während des Versuches bis zu Monaten im Mund. Eine Herausnahme erfolgt gegebenenfalls nur um Messungen vorzunehmen oder um die Proben Behandlungen zu unterziehen, die aus ethischen und/oder praktischen Gründen im Mund nicht möglich sind, wie z.B. das Einwirken von Zuckerlösungen (Koulourides et al. 1974; Benelli et al. 1993). Ein Anbringen der Zahnscheiben durch Bonden am natürlichen Zahn ist möglich, wenn eine Entnahme vor Abschluß des Versuches nicht notwendig wird (Wefel et al. 1987). Der Vorteil ist ein erhöhter Tragekomfort, ein geringerer Platzanspruch und vor allem der Ausschluß von Fehlern durch unvorgesehene Herausnahme durch den Probanden. Durch auf den Proben befestigte Gaze kann die Plaqueakkumulation gefördert und gleichzeitig deren Dicke durch die Stärke des Kunststoffnetzes festgelegt werden (Manning und Edgar 1992), was im Zusammenhang mit möglichst einheitlichen und reproduzierbaren Versuchsbedingungen von Wichtigkeit ist. Durch den Belag ist die Zahl an säureproduzierenden Bakterien höher, die Speichel- und Fluoridwirkung sowie die Möglichkeit zur Remineralisation geringer, wodurch insgesamt Bedingungen, wie sie im Approximalraum vorkommen, entstehen (Mellenberg et al. 1992). Weiterhin werden dadurch Unterschiede der Position der Proben im Mund nivelliert.

Der Auswahl geeigneter Probanden, deren Zahl aus praktischen Gründen 40 nicht wesentlich übersteigen sollte (Zero 1995), stellt einen entscheidenden Abschnitt in der präexperimentellen Phase dar. Neben der notwendigen hohen

Compliance und der Zugehörigkeit zu einer Altersgruppe gibt es eine Reihe weiterer Faktoren, deren Beachtung Voraussetzung für verwertbare Ergebnisse sind. Dazu zählen unter anderem:

- Zahnstatus (DMFT)
- Parodontaler Zustand
- Plaquebefall/Zahnstein
- Mundhygieneverhalten
- Eßgewohnheiten
- Bevorzugte Nahrungsmittel
- Speichelzusammensetzung
- Speichelfließrate
- Speichelpufferkapazität
- Kariesaktivität
- intraorales Keimspektrum
- Speichelviskosität
- Gesamtgesundheitszustand
- Medikationen

Die Vielzahl zu beachtender Einflüsse, deren eigentliche qualitative und quantitative Erfassung mitunter schon nicht exakt möglich ist (Eßgewohnheiten, bevorzugte Nahrungsmittel), macht deutlich, daß nur Richtwerte berücksichtigt werden können. Absolute Priorität hat jedoch die Compliance, was die Einbeziehung von Kindern und Jugendlichen ausschließt. Stookey (1992) weist darauf hin, daß Erwachsene mit hoher Kariesaktivität zu bevorzugen sind.
Die Kombination einer artifiziell durch pH-cycling erzeugten Karies mit anschließender Remineralisationsbehandlung in situ (Al Katheeb et al. 1997) ist eine Möglichkeit der Kopplung von Labor- mit in-situ-Versuchen.
Die Möglichkeiten der bearbeitbaren Fragestellungen sind äußerst vielfältig. Sie umfassen z.B. die Untersuchung sekundärkariesprotektiver Eigenschaften verschiedener fluoridhaltiger Kompositmaterialien (Dijkman und Arends 1992), den kariesprotektiven Einfluß verschiedener Nahrungs- und Genußmittel (Silva et al. 1986) bzw. deren Einwirkung auf das De- und Remineralisationsgleichgewicht (Lamb et al. 1993) oder das Testen von Kariesprotektiva (Featherstone et al. 1982).

3.4. In-vivo-Verfahren

Der Unterschied zum in-situ-Modell besteht darin, daß intakte Zähne eines natürlichen Gebisses als Untersuchungsobjekte Verwendung finden. Aus ethischen Gründen können dies nur zur Extraktion vorgesehene Zähne sein, wobei die Entfernung nur bei kieferorthopädischer Indikation für einen der Versuchsdauer entsprechenden Zeitraum vorhergesagt werden kann. Deshalb sind die ersten

Prämolaren die im Wesentlichen verwendete Zahnart. Ögaard und Rölla (1992) begründeten die Bezeichnung als in-vivo-Modell durch die Tatsache, daß an vitalen Zähnen, die durch kieferorthopädische Bänder mit Hohlräumen zur Plaqueakkumulation umfaßt sind, experimentiert wird.

Kombinationen mit Laborversuchen sind erst nach Extraktion des Zahnes möglich. Eine weitere Einschränkung resultiert aus der Tatsache, daß nur Untersuchungen am Schmelz möglich sind. In diesem Zusammenhang stellt sich auch die Frage nach dem besonderen Vorteil noch vitaler Versuchsobjekte. Manning und Edgar (1992) führten eine Flüssigkeitsbewegung an, die von der Pulpa ihren Ausgang nimmt, auch den Schmelz durchströmt und somit einen Einfluß auf Demineralisationen haben kann (Linden 1968).

In-situ-Modelle unterliegen wesentlich weniger Einschränkungen, verfügen über ein größeres potentielles Probandenreservoir, lassen eine längere Versuchsdauer zu und sind mit anderen Meß- und Versuchsverfahren flexibler zu kombinieren.

3.5. Mathematische Modelle

Hierunter werden Computerberechnungen verstanden, die unter Einbeziehung von Stoffkonstanten, Korrekturfaktoren, physikalischen und chemischen Gesetzmäßigkeiten, wie z.B. der Michaelis-Menten-Gleichung (Dibidin und Reece 1984), biologische Vorgänge an der Zahnhartsubstanz qualitativ und quantitativ erfassen, und die Auswirkungen der Änderung verschiedener Ausgangszustände prognostizieren.

So sind die Folgen eines zuckerinduzierten kariogenen Angriffes durch einen Plaque-Speichelfilm hindurch, auf den pH-Wert an der Schmelzoberfläche und auf den Mineralverlust berechnet worden (Dibidin 1990). Dabei werden in vivo gewonnene Daten, wie z.B. die intraorale Speichelglucoseclearance (Goulet und Brudevold 1984), genutzt, wobei selbst solche Werte durch Rechenmodelle bei Vorhandensein bestimmter Ausgangswerte, wie Speichelfließrate, intraorales Speichelvolumen usw., gewonnen werden können (Dawes 1983).

Beim Arbeiten mit derartigen Computerrechenprogrammen ist die Änderung der Parameter und die Berechnung des Versuchsergebnisses in kurzer Zeit bei einem minimalen Kostenaufwand möglich. Da unbekannte Reaktionen nicht

einbeziehbar sind, kann der Ersatz experimenteller Abläufe nicht erfolgen, jedoch seine Vorbereitung und Ergänzung.

Es kann aber insgesamt nur eine Annäherung an die tatsächliche intraorale Situation erreicht werden. Die verwendeten Parameter, die aus in-vivo-Versuchen stammen, sind mit den dortigen Ungenauigkeiten, mit Meßfehlern und individuellen Variationen behaftet. Die Untersuchung von Proben mit verschiedenen analytischen Verfahren zur Beurteilung der Oberflächenbeschaffenheit, der Mikrohärte der Schmelzoberfläche, des Mineralgehaltes der Gewebe, der Zonierung und Tiefe einer Initialkaries usw. kann nicht durchgeführt werden, da es sich um ein fiktives Modell handelt, d.h. es kann immer nur das dem Rechenprogramm entsprechende Merkmal als Ergebnis erhalten werden. Bei den beschriebenen Modellen handelt es sich um rein deterministische Modelle, die der Vereinfachung halber die eigentlich notwendigen Stochastischen ersetzen. Ein daraus resultierender Informationsverlust und eine mögliche Abweichung vom natürlich vorhandenen Durchschnitt sind mögliche Folgen (Adam et al. 1992).

Derartige Rechenmodelle gewinnen zunehmend an Bedeutung, insbesondere mit den rasant wachsenden Möglichkeiten der Computertechnik. Eine ausreichende Überprüfung der Ergebnisse entweder durch ein Experiment oder durch Beobachtung des klinischen Zustandes sind laut Adam (1992) Bestandteil der Modellbildung. Eine funktionierende Kooperation zwischen Mediziner und Mathematiker mit entsprechendem Verständnis der Grundlagen der jeweils anderen Fachrichtung sind unabdingbare Voraussetzungen.

3.6. Tierversuche

Im Tierversuch wird z.B. die Auswirkung interner (Tinanoff und Camosci 1984) und externer Fluoridierungsmaßnahmen (Stookey et al. 1995) im Hinblick auf ihre Effizienz bei der Kariesreduktion untersucht.

Auch bei dem Testen von Dentalmaterialien werden Versuche, unter anderem mit Ratten, durchgeführt, die aber aufgrund anderer Mund- und Zahngröße sowie Speichelzusammensetzung der Tiere eine eingeschränkte Aussagefähigkeit haben (Featherstone 1996).

4. Material

Die geplanten Schmelzreifungsversuche sollen vorerst ohne Berücksichtigung diverser in-vivo-Faktoren wie z.B. Bakterienflora, Plaquevorkommen und -zusammensetzung, sondern rein schematisch durch Reduktion auf De- und Remineralisationen erfolgen. Ein pH-cycling-System ist dafür die geeignete Modellform.

Es bestehen mehrere Möglichkeiten der baulichen Realisierung und der Steuerung der Apparatur. Der gewählte Aufbau (Kapitel 5.1.1., Seite 24) kann verschieden gesteuert werden.

Bei Verwendung eines PC ist eine Prozeßkoppelkarte, eine entsprechende Software und Schnittstelle nötig.

Eine selbstprogrammierbare Steuerung würde zusätzlich ein externes Bediengerät erfordern, um einen flexiblen und schnell änderbaren Versuchsablauf zu ermöglichen.

Die Verwendung von elektronischen Zeitrelais war die am meisten geeignete Variante.

4.1. Material zum Bau des pH-cycling-Systems

4.1.1. Zeitrelais CX 36

Technische Daten laut Datenblatt der Firma Multicomat zur Baureihe CX 36:

max. Schaltspannung:	250V/AC
max. Schaltstrom:	6A
Ansprechzeit:	15-35 ms
mech. Lebensdauer:	2x 10^7 Schaltspiele

Hersteller: Comat AG 3076 Worb Schweiz

Vertrieb Deutschland: Turck Beierfeld GmbH Postfach 9 08340 Beierfeld

Zeitrelais sind elektronische Bauteile, die ein Schaltsignal mit einer einstellbaren Verzögerung weiterleiten.

Die verwendeten Zeitrelais erlauben einen einstellbaren Zeitbereich von 0,1 Sekunde bis maximal 15 Stunden, der in 6 wählbare Teilbereiche untergliedert ist (Tabelle 1, Seite 19). Da die Flüssigkeiten beim Einlaufen in den

Versuchsbehälter, je nach justiertem Füllstand, mehrere Sekunden benötigen, ist der Abschnitt 0,1-1,5s nicht praktikabel.
Der besondere Vorteil dieser Bauteile besteht in der Möglichkeit der schnellen und unkomplizierten Einstellung verschiedener Zeiten.

Tab.1

Teilbereiche der Zeiteinstellung		
Sekunden	Minuten	Stunden
0,1 bis 1,5	0,1 bis 1,5	0,1 bis 1,5
1 bis 15	1 bis 15	1 bis 15

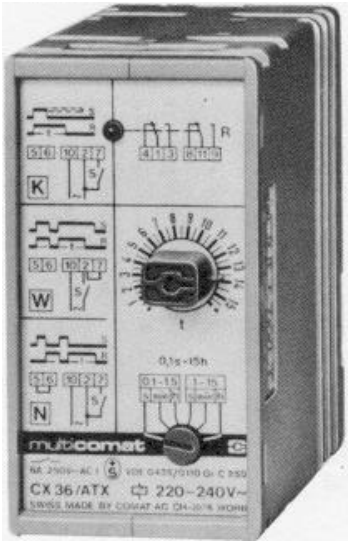


Abb. 3: Zeitrelais CX 36

4.1.2. Vierkammermembranpumpe "Quad Diaphragm"

Technische Daten laut Datenblatt der Flojet Corporation zur Flojet 4405 series:

Betriebsspannung:	12 Volt
Gewicht:	1,8 Kilogramm
Abmessung (LxBxH):	206x160x99 Millimeter
Förderleistung:	12,5 Liter pro Minute

Hersteller: Flojet Corporation
12 Morgan Irvine, CA 92718-2003 USA

Diese Pumpenart besteht aus einer elastischen Membran, die an ihrem Umfang im Pumpengehäuse fest eingespannt ist und in der Mitte durch einen Antrieb vertikal oszillierend bewegt wird. Aufgrund des sich hierdurch abwechselnd vergrößernden und verkleinernden Volumens der Pumpenkammer entsteht der Pumpeffekt (Spengler et al. 1976). Einen gerichteten Flüssigkeitsstrom erzeugen Saug- und Druckventile. Wird durch eine absinkende Membranbewegung der Pumpenarbeitsraum vergrößert, öffnet durch den sinkenden Druck das Saugventil, und das Fördermedium fließt ein. Nach erfolgtem Hubwechsel verkleinert sich das Volumen im Innenraum, das Druckventil öffnet sich, und die Flüssigkeit wird aktiv herausgefördert. Bei dem verwendeten Fabrikat sind vier Membrankammern integriert, was zu einer entsprechenden Erhöhung der Förderleistung führt. Ein problemloses Befördern visköser Hydroxyethylzellulose-lösung wird somit gewährleistet. Die Inbetriebnahme der Pumpe ohne Fördermedium, ein sogenanntes Trockenlaufen, verursacht keine Schäden.

4.1.3. Magnetventile

Technische Daten laut Datenblatt Fa. GSR zur Baureihe 43 - Typ 43:

Druckbereich:	0-16 bar
Medientemperatur:	-10 bis 80°C
Ventilgehäuse:	Messing
Durchflußmedien:	neutrale, gasförmige und flüssige Medien
Bauausführung:	stromlos geschlossen

Hersteller: Gesellschaft für Steuer- und Regeltechnik GmbH & Co. KG
Postfach 2060 D 32595 Vlotho

Das Magnetventil besteht aus einer Kupferdrahtspule (Magnetspule) und einem ferromagnetischen Anker (Magnetanker), der mit einem Ventilsitz mit angebrachter Dichtmembran verbunden ist. Fließt Strom durch die Spule wird der Anker angezogen und der Ventilsitz geöffnet. Das Medium kann so in Strömungsrichtung hindurchfließen.

Bei der verwendeten Bauausführung "stromlos geschlossen" sorgt nach Abschalten des Stromes eine Feder für das Schließen des Ventiles. Einem unkontrollierten Flüssigkeitsdurchlauf bei Stromausfall wird somit vorgebeugt.

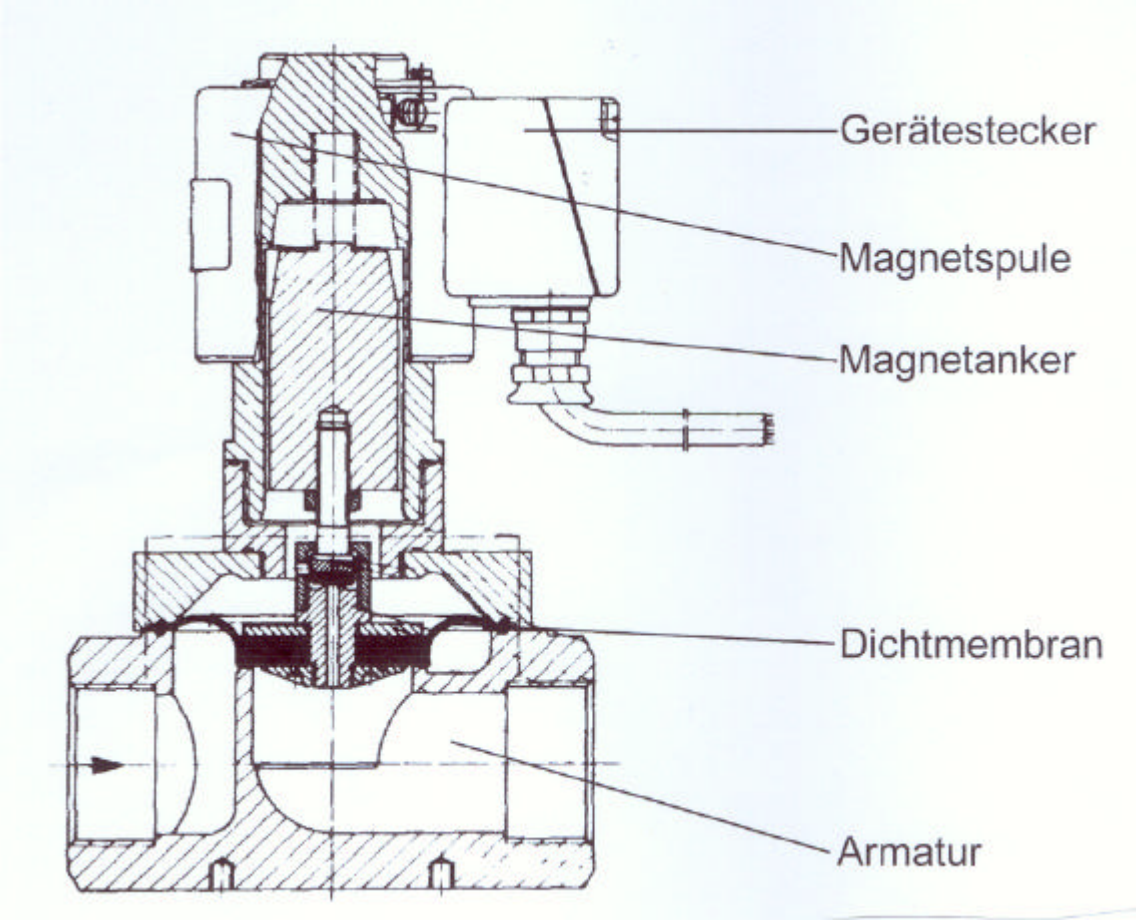


Abb. 4: Magnetventil - Baureihe 43

4.1.4. Kapazitiver Füllstandssensor KNK 025

Technische Daten laut Datenblatt Fa. EGE:

Empfindlichkeit:	einstellbar
Temperaturbereich:	-25°C bis +75°C
Gehäusewerkstoff:	Crastin

Hersteller: EGE-Elektronik Spezial-Sensoren GmbH
Ravensberg 34 D-24214 Gettorf

Die den Füllstand der Flüssigkeiten berührungslos erfassenden Sensoren arbeiten auf Grundlage eines Dielektrizitäts-Meßverfahrens. Ein Medium im Erfassungsbereich des Sensors verändert den auf den Leerzustand des Behälters abgeglichenen dielektrischen Gleichgewichtszustand zwischen integrierter Meßelektrode und Umgebung. Diese Gleichgewichtsstörung löst im Sensor einen Schaltbefehl aus.
Voraussetzung für das Funktionieren ist eine Dielektrizitätskonstante des Mediums, die sich von der der Luft unterscheidet. Ein von der Rückseite des Sensors zugängliches Potentiometer läßt einen Empfindlichkeitsabgleich auf den jeweiligen Stoff bzw. Stoffgemisch zu.

4.2. Untersuchungsmaterial

Als Versuchsobjekte wurden menschliche Zähne verwendet. Es handelt sich dabei vorwiegend um aus kieferorthopädischen Gründen extrahierte Prämolaren und um entfernte (teil-)retinierte Weisheitszähne (Tabelle 2, Seite 23).

Tab. 2: Untersuchungsmaterial

-in unteren Etagen der Zahnaufhängung des Versuchsbehälters plaziert					-in mittleren Etagen der Zahnaufhängung des Versuchsbehälters plaziert					-in oberen Etagen der Zahnaufhängung des Versuchsbehälters plaziert				
Nr. des Zahnes	Zahn	Probandenalter /Jahre	Geschl. m/w	Durchbruchsgrad %	Nr. des Zahnes	Zahn	Probandenalter /Jahre	Geschl. m/w	Durchbruchsgrad %	Nr. des Zahnes	Zahn	Probandenalter /Jahre	Geschl. m/w	Durchbruchsgrad %
1	44	11	m	100	12	28	32	w	0	23	38	26	m	50
2	14	16	m	100	13	38	16	w	0	24	48	19	m	90
3	15	12	m	25	14	48	19	w	90	25	13	31	m	0
4	31	14	m	100	15	18	32	m	0	26	18	17	w	0
5	14	12	w	100	16	38	17	m	0	27	48	60	w	60
6	14	16	w	100	17	34	12	w	100	28	24	16	w	100
7	38	54	m	10	18	24	12	w	100	29	18	17	w	0
8	38	22	w	5	19	14	10	w	100	30	38	19	w	0
9	38	19	w	15	20	24	12	w	100	31	23	51	m	100
10	38	69	w	10	21	18	22	m	100	32	28	18	w	0
11	28	52	w	70	22	22	49	m	100	33	18	22	m	100

5. Ergebnisse

5.1. PH-cycling-System

5.1.1. Aufbau

Die genannten Anforderungen (Kapitel 2, Seite 3) machten die Entwicklung eines elektronisch gesteuerten hydrodynamischen Systems erforderlich. Die Anzahl der Spülsysteme wurde vorerst auf drei festgelegt (Lösung 1, Lösung 2, Spülflüssigkeit Wasser), für die in einem Zyklus 8 Durchläufe in wählbarer Reihenfolge möglich sind. Die Option für das Nachrüsten einer weiteren Komponente ist in der Steuerung vorgesehen.

Die wesentlichen funktionstragenden Bauteile sind Magnetventile, kapazitive Füllstandssensoren, Zeitrelais und Vierkammermembranpumpen.

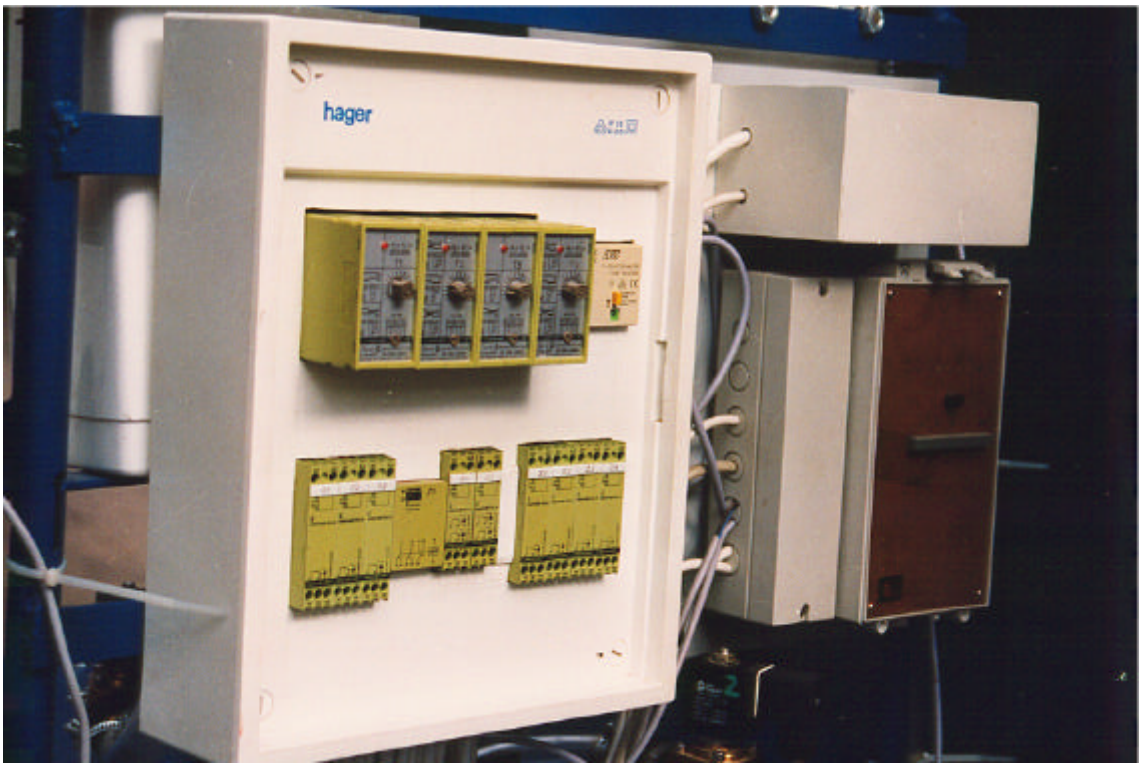


Abb. 5 (Foto): elektronische Steuerung, Relais und Zeitrelais

Der Aufbau wird durch Abbildung 6 (Seite 25)und 9 (Seite 28) veranschaulicht. Die Apparatur wurde zweietagig gestaltet, um einen passiven Zulauf von Lösung 1 und 2 zu ermöglichen. Der Füllstand in den Reservoirbehältern und im Versuchsbehälter wird durch kapazitive Sensoren erfaßt, welche mit der Steuerung verbunden sind. Der Zu- und Ablauf aller Flüssigkeiten wird durch Magnetventile kontrolliert. Zum Spülen wurde vorerst Leitungswasser genutzt und durch einen druckfesten Schlauch dem Magnetventil 5 direkt zugeführt. Der Einsatz von destilliertem Wasser ist bei Einsatz eines entsprechend großen Reservoirbehälters möglich.

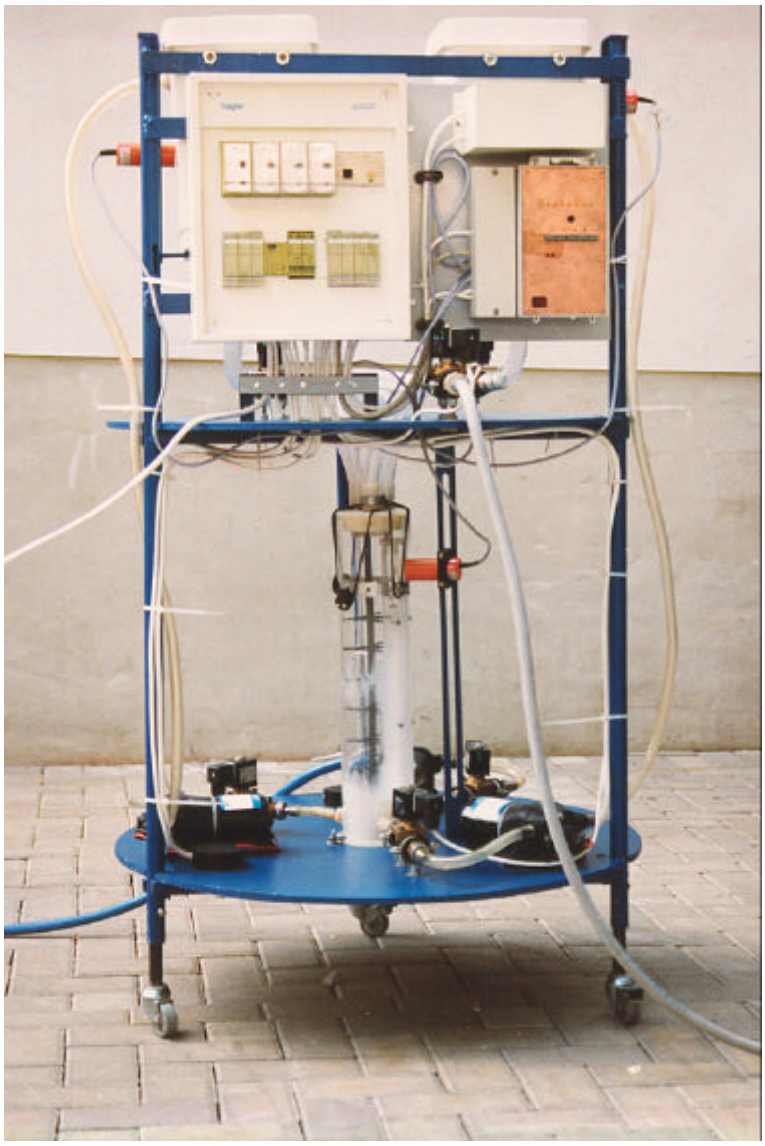


Abb. 6 (Foto): Gesamtansicht des pH-cycling-Systems

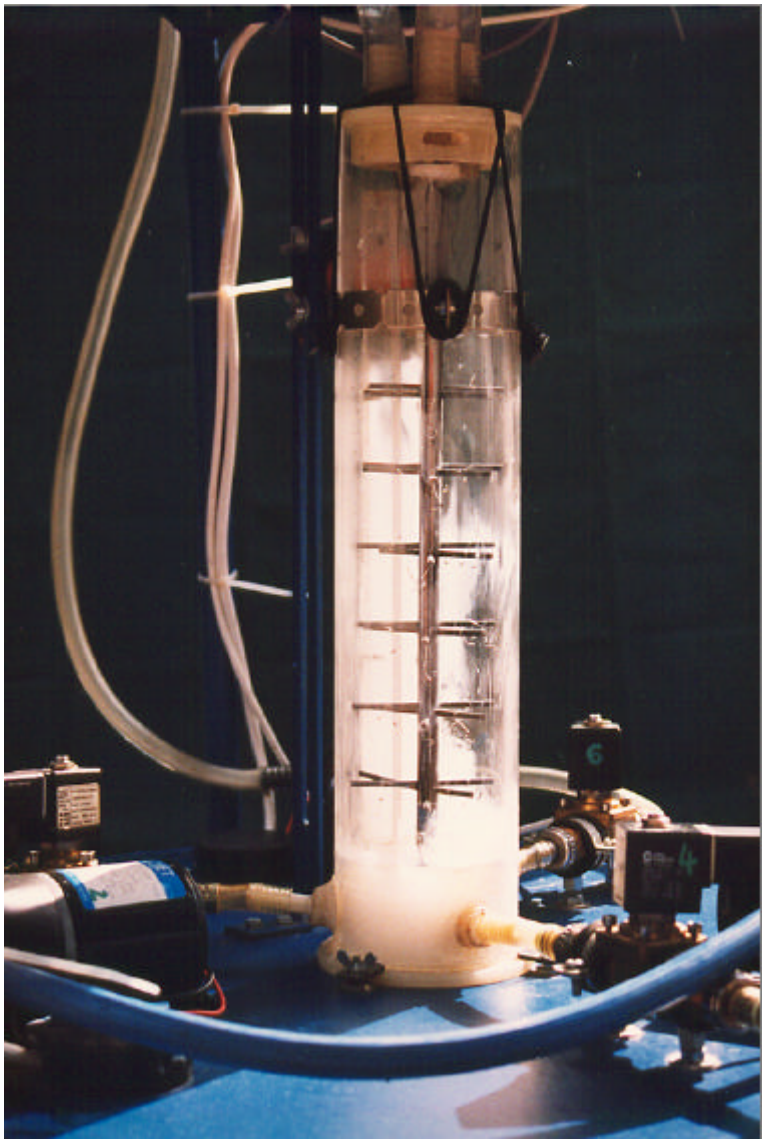


Abb. 7 (Foto): Versuchsbehälter mit Zahnaufhängung (ohne Zähne)

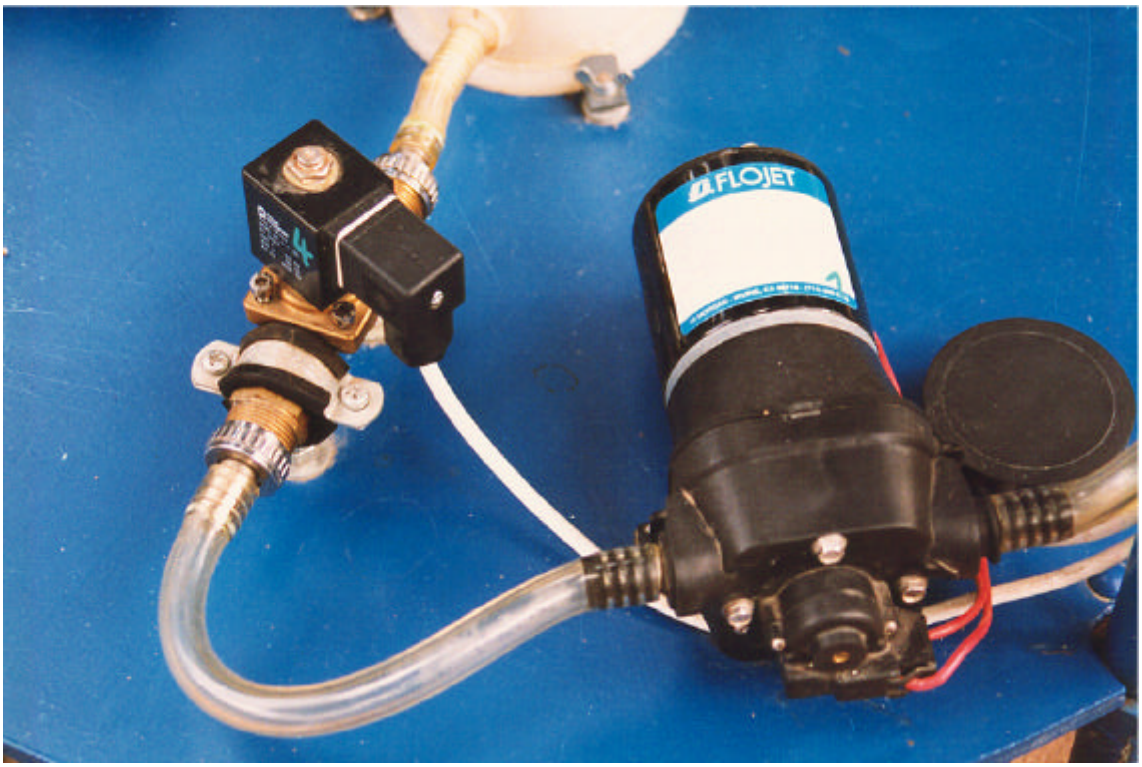
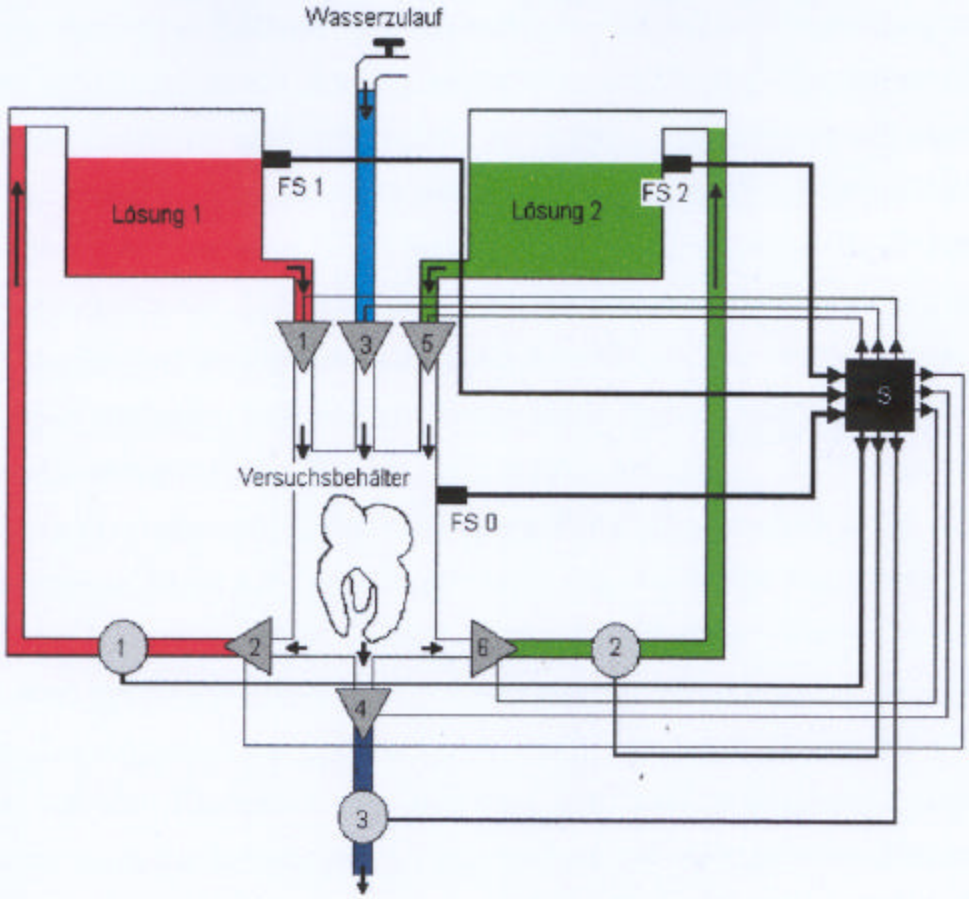


Abb. 8 (Foto): Membranpumpe - Schlauchverbindung - Magnetventil - Schlauchanschluß am Versuchsbehälter



Vierkammermembranpumpe

Magnetventil
Pfeilrichtung=Durchflußrichtung

FS=kapazitiver Füllstandssensor

S elektronische Steuerung

Abb. 9: Schema des pH-cycling-Systems

5.1.2. Gerüst

Um die gesamten Bauteile in einer speziellen räumlichen Lage zueinander fixieren zu können, wurde eine Haltevorrichtung erstellt. Drei Metallrohre bilden hierbei die Eckpfeiler. In einem Abstand von erstens 7 Zentimetern und zweitens 73 Zentimetern von ihrer Unterkante wurden diese durch hochkant angeschweißte Flacheisen (21x5 mm) miteinander verbunden. In der Draufsicht ergibt sich somit das Bild eines gleichschenkeligen Dreiecks. Die Rohre bilden die Eckpunkte und die Flacheisen die Dreiecksseiten. Auf die von den jeweils drei Flacheisen gebildeten zwei Etagen wurden runde Preßspanplattenzuschnitte mit einem Durchmesser von 80 cm angebracht, auf denen die Pumpen und Magnetventile befestigt wurden. Die obere Platte weist zentral einen runden Ausschnitt von 20 cm auf. Durch diesen kann vom in der Mitte der unteren Etage stehenden Versuchsbehälter dessen Deckel mit der daran fixierten Halterung nach oben entnommen werden. Ein Austausch der Versuchskörper ist somit in kurzer Zeit möglich. Zwei der drei Rohre wurden über dem Niveau der oberen Etage mit vier Flacheisen, die hochkant und quer angeschweißt wurden, verbunden, um die Befestigung der elektrischen und elektronischen Steuerung, des Netzteiles sowie der zwei Reservoirbehälter zu ermöglichen (Abb.6, Seite 25). Das dritte Rohr wurde in Höhe der oberen Platte abgetrennt. An den beiden verbliebenen Rohren wurden parallel zu diesen in Höhe der Vorratsbehälter zwei Flacheisen angebracht, die mittig längs aufgefräßt und zum Anbringen der Halterung für jeweils einen Füllstandstaster erstellt sind. Durch die Längsschlitzung der vertikal stehenden Schiene ist eine stufenlose Höhenverstellung des Sensors und somit eine Anpassung an verschiedene Volumina möglich. Ein ebenso gestaltetes Metallteil wurde zwischen oberer und unterer Preßspanplatte befestigt, um die Versuchsbehälterfüllstandsüberwachung anzubringen.

Von unten kann in die Rohre ein Metallvollstab eingeführt werden, an dessen Ende ein Rad angebracht ist. Der Stab wird durch das Anziehen einer in die Rohrmantelfläche eingedrehten Schraube fixiert. Das somit rollbare Gerät kann durch Aktivierung von Stopps an den Rädern an einem Standort positioniert werden. Durch das Gerüst sind die Maße der Apparatur vorgegeben. Die Höhe beträgt 135 cm und die Breite 80 cm.

5.1.3. Versuchsbehälter, Reservoirbehälter, Schlauchverbindungen

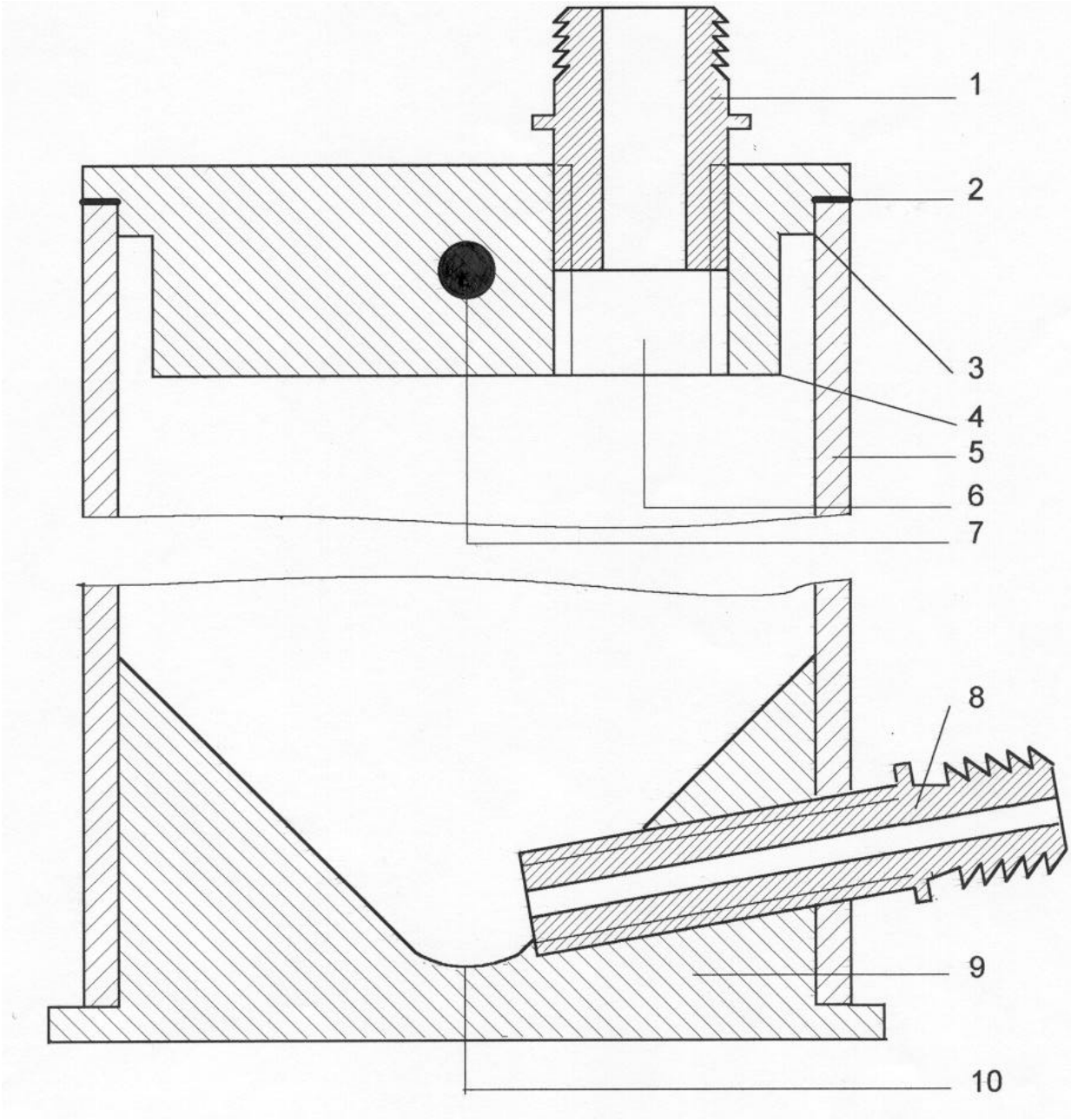
Um eine ständige Beobachtung der angeordneten Versuchsobjekte möglich zu machen, wurde ein Acrylglaszylinder als Mantelfläche des Behälters gewählt. Er hat eine Wandstärke von 5 mm und einen Innendurchmesser von 100 mm. Der runde Querschnitt sichert eine gute Platzausnutzung bei radiärer Anordnung der Versuchskörper. Der Zylinder sitzt einem Drehteil aus Miramid®, einem chemisch mit Dederonfasern identischem Polyamid, auf, das innen v-förmig ausgefräßt ist, um zu gewährleisten, daß sich Flüssigkeitsreste am tiefsten Punkt der Aussparung sammeln (Abb.10, Seite 32). Durch diesen Sockel hindurch wurden insgesamt drei Gewindeschnitte angebracht, die dessen Mantel von außen nach innen leicht abfallend (zirka 5°) in Höhe des Ausfräsungstales nach zentral durchbrechen. Im Acrylglaszylinder sind kongruent zu dem von ihm umschlossenen Miramidteil drei Bohrungen angebracht worden, durch die ebenfalls aus Miramid® gefertigte Schlauchanschlüsse in die dafür vorgesehenen Gewinde eingeschraubt wurden. Somit ist der Plexiglaszylinder fixiert und ein Verdrehen ausgeschlossen. Von den im Sockel befindlichen Stutzen führen 1/2 Zoll PVC-Schläuche über jeweils ein Magnetventil zu den Membranpumpen (Abb. 8, Seite 27), die die jeweilige Flüssigkeit durch ihre Saugleistung (12,5 l/min), die v-förmige Aussparung des Behälterbodens und die am tiefsten Punkt ansetzenden Absaugkanäle (Innendurchmesser 7 mm) fast vollständig entfernen. Von den Pumpen, denen jeweils ein Magnetventil vorgeschaltet ist, das einen dichten, nur auf Schaltkontakt öffnenden Abschluß des Versuchsbehälters bildet, führen Schläuche direkt zum zugehörigen Reservebehälter zurück. Eine Ausnahme bildet der Kreislauf des Spülwassers, der direkt ins Abwassernetz mündet, um eine schleichende Verunreinigung mit Bestandteilen der Spüllösungen auszuschließen.

Der Deckel des Versuchsbehälters ist ebenfalls aus Miramid® hergestellt. Er liegt der Zylinderwand von oben auf und von innen 5 mm an. Nach unten ist an der Mantelfläche eine 19 mm lange Abstufung eingearbeitet (Abb.10, Seite 32), an der insgesamt vier Kanäle mit einem Durchmesser von 7 mm münden, die vom Grund einer nach unten blind im Deckel endenden Gewindebohrung abgehen (Abb.11 (Ziffer 8), Seite 33). In diese Bohrung ist ein 3/4 Zoll Schlauchanschluß aus Miramid eingedreht, an dem die Zuleitung des Spülwassers, das der

Hauswasserleitung oder einem Behälter entnommen werden kann, angebracht ist. Das Wasser gelangt mit dem Druck des Hausnetzes oder dem hydrostatischen Druck der Flüssigkeit im Speicher in die Bohrung und verteilt sich in die vier Kanäle, durch die es senkrecht gegen die Acrylglaswand geleitet wird. Durch die Umleitung des parallel zur Längsachse des Zylinders in die Blindbohrung einfließenden Spülwassers in das senkrecht dazu verlaufende vierkanalige System wird erreicht, daß die separaten Flüssigkeitssäulen mit der Behälterwand einen Winkel von ca. 90° einschließend auf diese auftreffen, und die Flüssigkeit an ihr herabfließt. Eine Verwirbelung der Versuchskörper durch einen zentralen Strahl wird somit umgangen. Da Lösung 1 und 2 passiv, also mit geringerem Druck zulaufen, ist aus Platzgründen auf eine solche Lösung verzichtet worden. Die Zuleitung durchbricht den Zylinderdeckel in Längsachsenrichtung. Es wurden 3/4 Zoll große Schläuche eingesetzt.

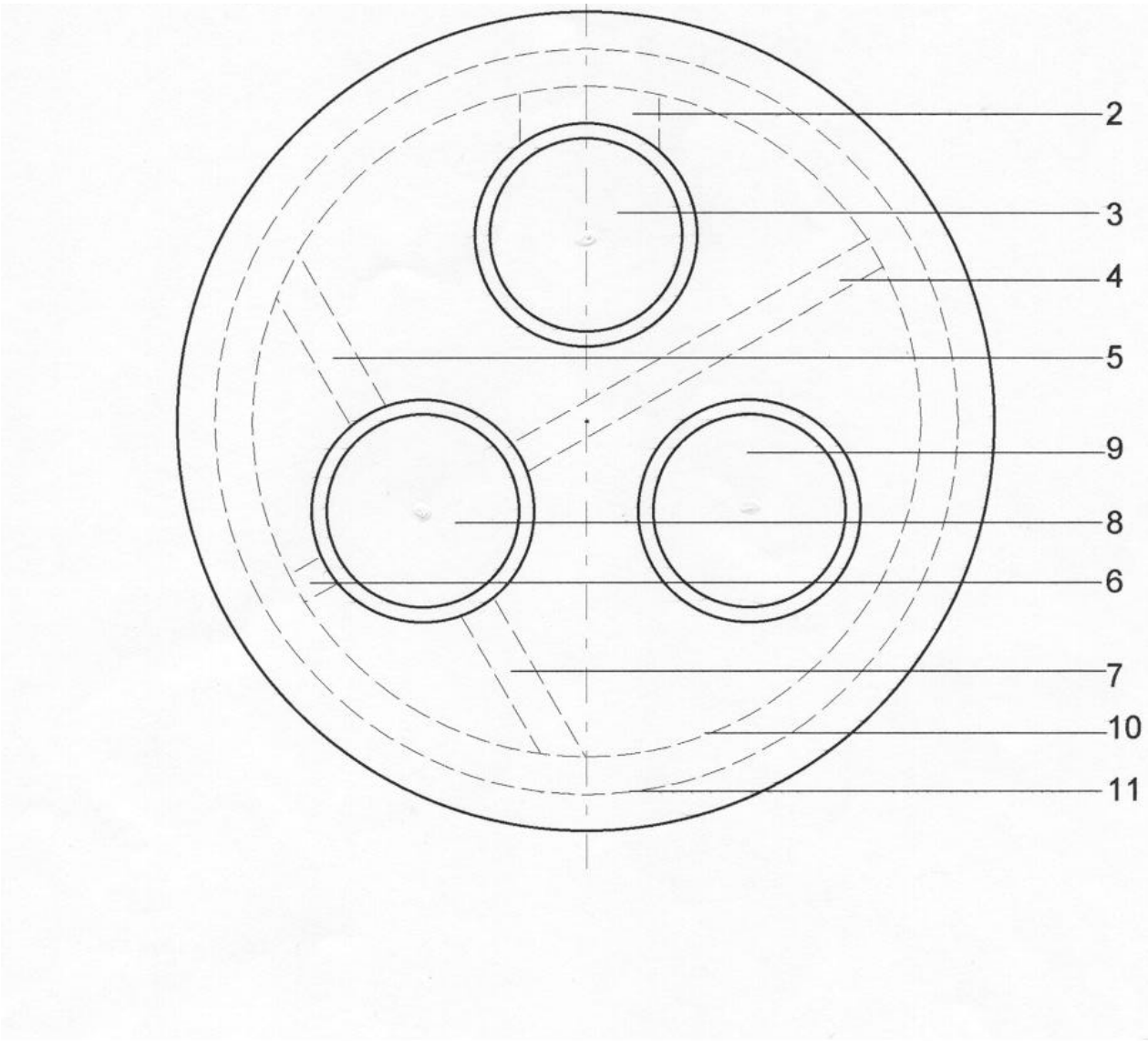
Eine Entlüftungsbohrung ermöglicht einen Druckausgleich bei Zufluß und Abpumpen der Flüssigkeiten. Am Miramiddeckel ist nach innen, d.h. in den Acrylglaszylinder hineinragend, die Vorrichtung zur Aufnahme der Versuchskörper angebracht. Sie besteht aus einem runden PVC-Stab von 10 mm Durchmesser, der senkrecht zur Deckelunterfläche verläuft und durch Lösen einer Schraube einfach entfernt werden kann. Dieses Vollrohr wird senkrecht von PVC-Stäben eines Durchmessers von 1 mm durchbohrt, an denen die Versuchskörper aufgehangen werden können (Abb.12, Seite 34).

Die beiden Reservoirbehälter für Lösung 1 und 2 bestehen aus weißem PVC, haben ein Fassungsvermögen von 6 Litern und sind mit einem Klappdeckel luftundicht verschlossen. An ihrem Boden sind 3/4 Zoll Miramidanschlüsse angebracht, von denen jeweils ein Laborschlauch zu einem Magnetventil führt, welches den Abfluß steuert. Der hiervon abgehende Schlauch führt direkt zum Versuchsbehälterdeckel.



1 Schlauchanschlußstutzen in Gewindebohrung eingeschraubt
2 Dichtung
3 Kante - entspricht 11 in Abb.11
4 Kante - entspricht 10 in Abb.11
5 Acrylglaszylinder
6 deckeldurchbrechende Bohrung für direkten Zulauf der Spülflüssigkeit - entspricht 3 in Abb.11
7 Spülwasserkanalanschnitt des Spülwasserkanal 4 in Abb.11
8 Schlauchanschluß
9 Behältersockel aus Miramid®
10 tiefster Punkt der v-förmigen Ausfräsung

Abb.10: Schnitt durch den Versuchsbehälter (Schittebene des Deckels in Abb.11)



1 Schnittebene in Abb.10 und Abb.16 (Kapitel 5.2.2., Seite 44)
2 Fräsung (nachträglich angebracht) - entspricht 1 in Abb.16
3 Gewindebohrung für Einlauf der Lösung 1 (Hez)
4,5,6,7 Kanäle für Spülwasser
8 blind endende Gewindebohrung, von der Kanäle 3, 4, 5, 6 abgehen
9 Gewindebohrung für den Einlauf von Lösung 2 - den Behälterdeckel durchbrechend
10 Kante - entspricht 4 in Abb.10
11 Kante - entspricht 3 in Abb.10

Abb.11: Draufsicht Versuchsbehälterdeckel

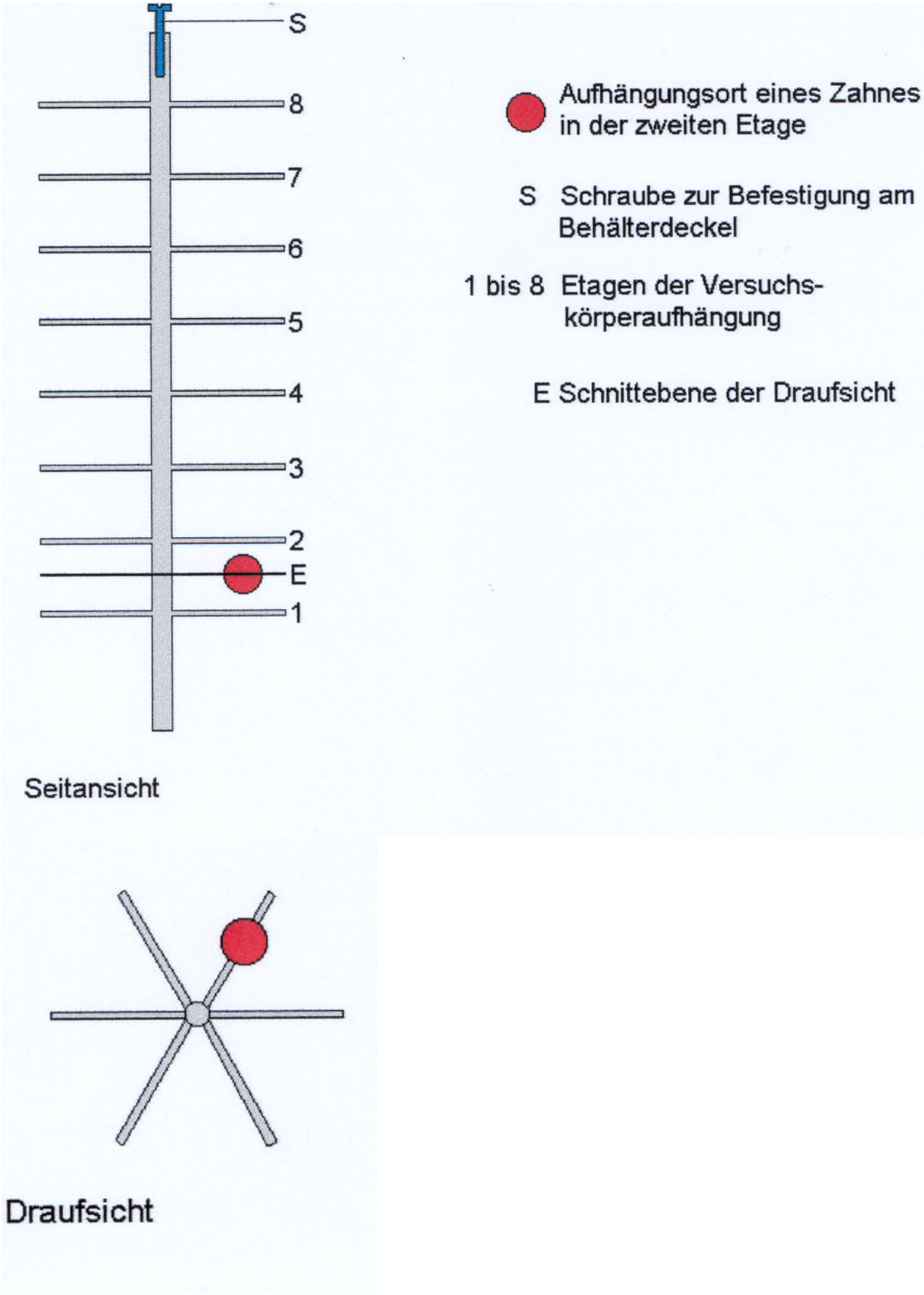


Abb.12: Seitansicht und Draufsicht der Versuchskörperaufhängung

5.1.4. Funktionsprinzip

Es besteht die Möglichkeit, zwischen dem Betriebszustand "manuell" und "automatisch" zu wählen. Das Betreiben per Hand erfolgt durch willkürliches Drücken einer von drei Tasten, die jeweils einem Spülsystem zugeordnet sind, worauf nach Öffnung des entsprechenden Magnetventiles die Lösung in den Versuchsbehälter passiv einläuft und für die am Zeitrelais eingestellte Dauer dort verbleibt. Nach erfolgtem Rückpumpen ist erneutes Drücken einer Taste erforderlich, um das nächste Medium zufließen zu lassen. Bei langen Einwirkzeiten bzw. beim Einstellen und Abgleichen der Füllstandstaster ist diese Arbeitsweise erforderlich.

Im automatischen Betriebszustand laufen die Zyklen, die jeweils 8 Durchläufe individuell festlegbarer Reihenfolge mit Einwirkzeiten, die für jedes Medium zwischen ca. 10 Sekunden (Mindesteinlaufzeit eines Mediums zum Erreichen des Füllstandes) und 15 Stunden umfassen, automatisch nacheinander ab.

Das Funktionsprinzip ist nachfolgend unter Zuhilfenahme der Abbildung 9 (Kapitel 5.1.1., Seite 28) und der Steuerschaltung des pH-cycling-Systems (Abb.13, Seite 37) erläutert.

1.) - Taste "Ein" betätigt

2.) - Steuerung S schaltet Relais RZ1

3.) - Magnetventil MV 1 öffnet - Flüssigkeit 1 läuft passiv in den Versuchsbehälter

4.) - wenn dort justierter Füllstand erreicht ist, schaltet Füllstandstaster FS0 über Relais RF0 den Kontakt F0 - Magnetventil 1 schaltet ab, Einschaltung von Zeitrelais RT1

5.) - Nach Ablauf der Zeit t1 (an RT1 eingestellt) schaltet RT1 den Kontakt t1. - Magnetventil MV4 öffnet, Relais RS1 aktiviert Pumpe 1 - Flüssigkeit 1 wird in den Vorratsbehälter zurückgepumpt

6.) - wenn im Vorratsbehälter der Lösung 1 justierter Füllstand erreicht schaltet FS1 Zeitverzögerung ein - nach Ablauf der Latenzzeit schaltet F1 Magnetventil MV4 und Pumpe 1 aus

- gleichzeitiger Schaltkontakt zur Steuerung S

7.) - Steuerung S schaltet weiter auf Relais RZ2 - Kontakt Z2 schließt - Kreislauf "Spülung mit Wasser" beginnt mit Öffnung des Magnetventiles MV2

8.) - wenn Füllstand im Versuchsbehälter erreicht, gibt FS0 Impuls über RF0 - MV2 schließt - gleichzeitige Aktivierung von RT2

- nach Ablauf von Zeit 2 (an RT2 eingestellt) schaltet t2 RT4 ein, worauf t4 schließt (RT4 ist einschaltwischend), und daraufhin Magnetventil MV5 öffnet und Relais RS3 den Schalter S3 schließt und damit Pumpe 3 einschaltet

- nach Ablauf von Zeit 4 (an RT4 eingestellt) öffnet t4 und inaktiviert so Pumpe 3 und schließt MV5 - gleichzeitiges Weiterschalten der Steuerung durch t4

9.) - RZ3 schaltet Z3 - Magnetventil MV3 öffnet - Lösung 2 fließt passiv ein bis Füllstand erreicht ist - dann schaltet FS0 RF0 - daraufhin schließt MV3 und RT3 wird aktiviert

10.) - nach Ablauf von Zeit 3 (an RT3 eingestellt) schließt t3 - Magnetventil 6 öffnet und RS2 schließt S2 woraufhin Pumpe 2 aktiviert wird und die Lösung in den Vorratsbehälter zurückpumpt

11.) - wenn im Vorratsbehälter 2 Füllstand erreicht, aktiviert FS2 die Zeitverzögerung, die nach Ablauf der Latenzzeit über F2 MV6 und Pumpe 2 ausschaltet und gleichzeitig einen Impuls zur Steuerung zu deren Weiterschaltung sendet

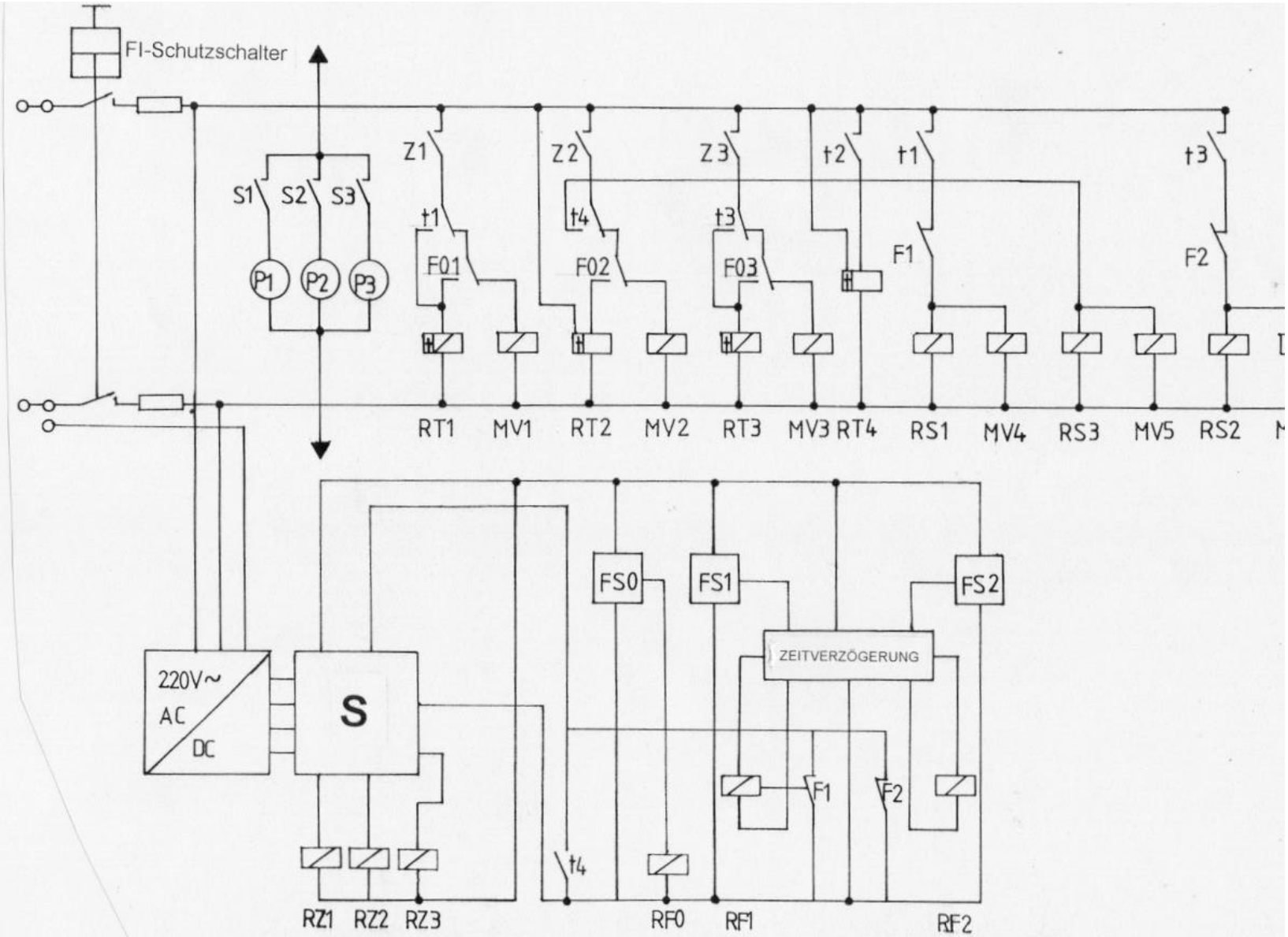


Abb. 13: Steuerschaltung des pH-cycling-Systems

5.1.5. Volumenverlust und integrierter Zeitverzögerungsbaustein

Bei längerer Betriebsdauer mit kurzen Einwirkzeiten der Lösungen und demnach in hoher Frequenz ablaufenden Zyklen ist mit einem Volumenverlust der Spüllösungen aufgrund von im Versuchsbehälter verbleibenden Restmengen zu rechnen. Dadurch kommt es in den Vorratsbehältern zu einem niedrigeren Füllstand als bei Inbetriebnahme, was ein Nichtansprechen der Füllstandssensoren beim Rückpumpen zur Folge hätte. Um dem entgegenzuwirken, ist ein von 5 bis 10 Sekunden einstellbarer Zeitverzögerungsbaustein in die Steuerung integriert worden, der von den Sensoren 1 und 2 , die an den Reservoirbehältern angebracht sind, die Impulse bei Erreichen des Füllstandes erhält. Die Signale werden erst nach Ablauf der Verzögerungszeit weitergegeben. Dadurch ist es möglich, einen Füllpegel im Vorratsbehälter einzujustieren, der soweit über dem Erfassungspunkt des Sensors liegt, wie in maximal 10 Sekunden von den Membranpumpen in die Vorratsbehälter zurückgepumpt werden kann, was bei einer Förderleistung von 12,5 Litern pro Minute etwa 2 Litern entspricht. Es kann somit schon beim Start der Spülzyklen ein Überschuß an Flüssigkeit in den Vorratsbehältern vorhanden sein, der den eintretenden Verlust kompensiert. Bei sinkendem Gesamtvolumen der Spüllösung würde ein zunehmendes Trockenlaufen der Pumpen (max. 10 s) auftreten, was jedoch keine nachteiligen Folgen hat (Kapitel 4.1.2., Seite 20). Bei Flüssigkeitsverlusten über 2 Liter kommt es durch das Einpumpen von Luft zu einer Blasenbildung, die durch ihre Aufwirbelungen den Sensors aktiviert. Nach Abschalten der Pumpe und versiegen der Blasen kann bei entsprechend eingestellter Empfindlichkeit des Tasters noch ein Pegel registriert werden, der etwa 3 Liter weniger beträgt als der anfänglich eingestellte überschüssige Füllstand. Also ergibt sich durch das Aufschäumen beim Rückpumpen der Hydroxyethylzellulose nochmals ein Liter Latenzvolumen zusätzlich zur Zeitverzögerung.

5.2. Versuchsdurchführung

5.2.1. Aufbau und Durchführung des Versuches

Die Feststellung der Kariesfreiheit des Untersuchungsmateriales erfolgte mit einer Lupe. Die Vorbehandlung belief sich auf die Bohrung eines Loches im Bereich der Wurzelspitze zur Aufnahme eines Polyamidfadens, der zur Aufhängung des jeweiligen Objektes an der Vorrichtung im Versuchsbehälter diente.

Es wurden insgesamt 33 Zähne, die zufällig ausgewählt in **1. Gruppe** 17 und **2. Gruppe** 16 Stück unterteilt wurden, verwendet. Die der **ersten Gruppe** wurden mit säurefestem Lack überzogen, der auf der oralen und vestibulären Seite im koronalen, zervikalen und mittleren Teil in einem rechteckigen Areal von ca. 3x1 mm wieder entfernt wurde, so daß insgesamt pro Zahn 6 Fenster existierten (Abbildung 15, Seite 42). Anschließend erfolgte die Aufhängung im Versuchsbehälter und nachfolgende einwöchige Exposition in 4,5 %iger Hydroxyethylzelluloselösung mit einem pH von 4,5, die stündlich in den Vorratsbehälter zurückgepumpt wurde und dann wieder einlief, um eine Akkumulation der aus dem Schmelz diffundierten Ionen an den Fenstern zu verhindern. Die Anwendung der Methode gelpräparierter Läsionen (Kapitel 3.1., Seite 6 und 7) erfolgte, um ein Testen des pH-cycling-Systems auf die Eignung für visköse Medien vorzunehmen.

Zu Beginn der zweiten Versuchswoche wurde die in gleicher Weise vorbehandelte **Gruppe 2** (16 Zähne) zusätzlich im Versuchsbehälter plaziert, und es folgte eine weitere Woche Einwirkung von Hydroxyethylzelluloselösung (mit stündlichem Umpumpen zur Erzeugung einer Initialkaries.

Nach Ablauf der zweiwöchigen Phase wurden die mittleren Fenster aller 33 Zähne mit Lack verschlossen, um den Ausprägungsgrad der Initialkaries am jeweiligen Zahn zu diesem Zeitpunkt festzuhalten.

Die oberen Fenster wurden nach zervikal um ihre eigene Größe erweitert, um ein unbehandeltes Schmelzareal in den nachfolgenden Ablauf einzubeziehen. Anschließend kam eine Woche zirkulierend Hydroxyethylzellulose im Wechsel mit 1 %iger Kalzium-β-glycerophosphatlösung zur Einwirkung (Tabelle 3, Seite 43). Danach wurden die koronalen Fenster komplett verschlossen und das zervikale Fenster nach apikal hin um etwa 3x1 mm erweitert. Es folgte eine

zirkulierende Exposition in Hydroxyethylzelluloselösung (pH 4,5) und Kalzium-β-glycerophosphatlösung, der noch Natriumfluorid zugesetzt wurde (Tabelle 3, Seite 43). Nach Ablauf einer weiteren Woche wurde der Versuch beendet und die unteren Fenster mit Lack verschlossen. Die Zähne waren bis zur Herstellung der Schliffpräparate in 1%igem Formalin gelagert.

Nach Ablauf der zweiten und dritten Woche wurde die Hydroxyethylzelluloselösung komplett erneuert. Die in der dritten Woche verwendete Kalzium-β-glycerophosphatlösung wurde nach siebentägigem Einsatz ebenfalls verworfen und das danach eingesetzte Mineralisationsmedium neu angesetzt.

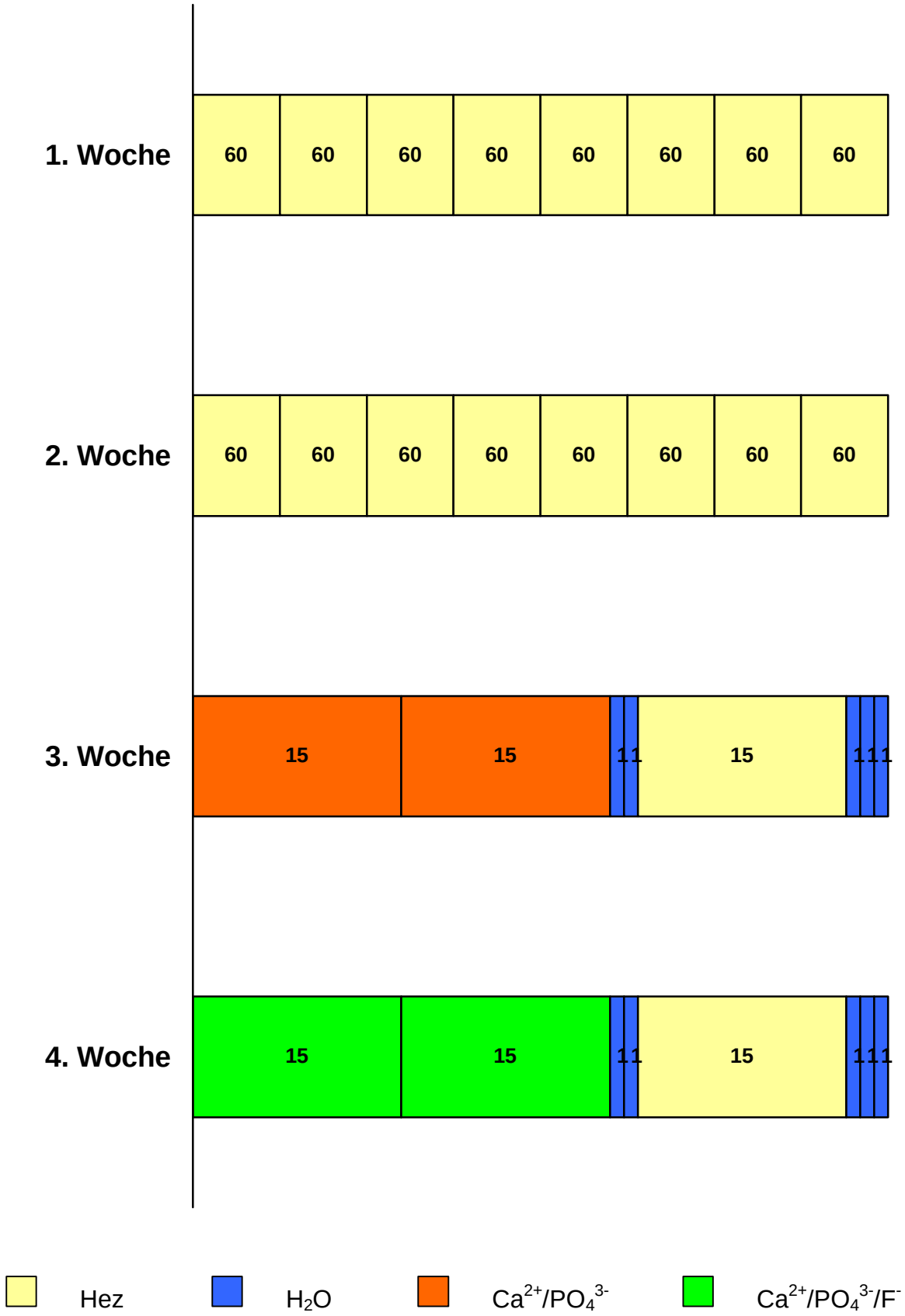
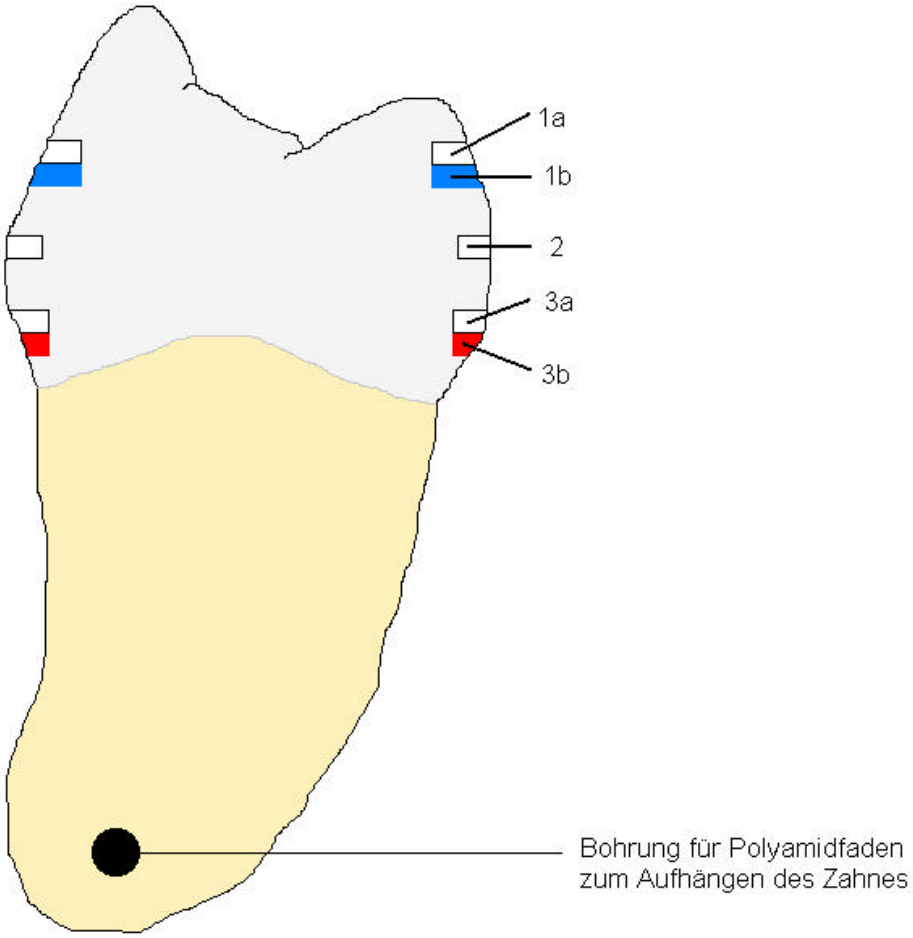


Abb. 14: Dauer (in Minuten) und Reihenfolge des Einwirkens verschiedener Medien pro Zyklus in den einzelnen Wochen des Testversuchs



zu Versuchsbeginn vorhanden:	Fenster 1a, 2, 3a
nach zweiter Woche geschlossen:	Fenster 2
Fenstererweiterung zu Beginn der dritten Woche:	1b geschaffen
nach dritter Woche geschlossen:	Fenster 1a und 1b
Fenstererweiterung zu Beginn der vierten Woche	3b geschaffen
nach vierter Woche geschlossen:	Fenster 3a und 3b

Abb. 15: Versuchsobjekt Zahn mit Fenstern

Tab. 3: Zusammenfassung des Versuchsablaufes

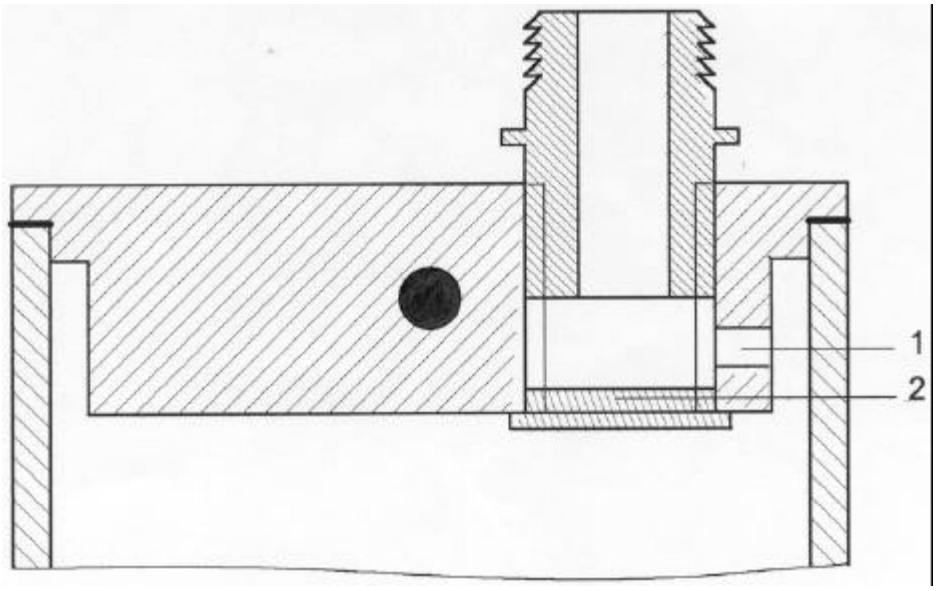
Gesamtzeit des Versuchsteiles	Versuchs-objekte	Abfolge des Einwirkens der Lösungen pro Zyklus	Zeit des Einwirkens	Konzentration und Zusammensetzung der Lösungen
1. Woche 7 Tage	17 Zähne= Gruppe 1	Hez Hez Hez Hez Hez Hez Hez Hez	1h 1h 1h 1h 1h 1h 1h 1h	Hez:Hydroxyethyl-zelluloselösung 4,5 %ig mit Milchsäure auf pH 4,5 eingestellt
2. Woche 7 Tage	Gruppe 1 und Gruppe 2 (16 Zähne)	Hez Hez Hez Hez Hez Hez Hez Hez	1h 1h 1h 1h 1h 1h 1h 1h	Hez: siehe 1. Woche
3. Woche 7 Tage	Gruppe 1 und Gruppe 2	Ca^{2+}/PO_4^{3-} Ca^{2+}/PO_4^{3-} H_2O H_2O Hez H_2O H_2O H_2O	15 min 15 min 1 min 1 min 15 min 1 min 1 min 1 min	Hez: siehe 1. Woche Ca^{2+}/PO_4^{3-}: Kalzium-β-glycero-phosphat 1%ig H_2O:Leitungswasser
4. Woche 7 Tage	Gruppe 1 und Gruppe 2	$Ca^{2+}/PO_4^{3-}/F^-$ $Ca^{2+}/PO_4^{3-}/F^-$ H_2O H_2O Hez H_2O H_2O H_2O	15 min 15 min 1 min 1 min 15 min 1 min 1 min 1 min	Hez: siehe 1. Woche $Ca^{2+}/PO_4^{3-}/F^-$: Kalzium-β-glycero-phosphat 1%ig NaF 0,2%ig H_2O:Leitungswasser

5.2.2. Aufgetretene Probleme und Maßnahmen zu deren Behebung

1. Schaumbildung durch Zulaufen des Mediums

Gleich zu Beginn des Arbeitens traten funktionelle Beeinträchtigungen ein, die infolge des direkten Zulaufes der Hydroxyethylzelluloselösung durch die Bohrung im Deckel des Versuchsbehälters hindurch verursacht wurden. Durch den am Boden bzw. auf den Flüssigkeitsspiegel direkt auftreffenden Strahl kam es zur Schaumbildung bis 6 cm überhalb des eigentlichen Füllstandes, was ein vorzeitiges Ansprechen des kapazitiven Sensors nach sich zog. Infolgedessen waren die auf der sechsten Etage der Zahnaufhängung befindlichen Zahnproben nicht vollständig von der Spüllösung umgeben.

Die naheliegendste Lösung war eine Konstruktionsänderung im Deckel (Abb. 16). Der Durchlauf wurde durch einen aus Polytetrafluorethylen gefertigten Stopfen verschlossen. Über dem Boden der jetzt entstandenen Blindbohrung wurde eine schlitzförmige Fräsung seitlich zur Behälterwand hin angebracht, welche die Flüssigkeit passiert dann senkrecht auf die Behälterwand auftrifft und an ihr herunterläuft. Durch diesen Mechanismus wird eine Schaumbildung weitestgehend vermieden.



1 Fräsung zum Umlenken der Flüssigkeit senkrecht gegen die Behälterwand

2 PTFE-Stopfen zum Verschluß des Durchlaufs

Abb. 16: Schnitt durch den Versuchsbehälterdeckel

2. Einschränkungen durch die Art der Füllstandserfassung

Die generelle Schwierigkeit, die sich bei der Anwendung der kapazitiven Füllstandsmessung ergab, ist durch die Unterschiedlichkeit der Medien in ihrer Viskosität bedingt.

Beim Leerpumpen des Versuchsbehälters sank die Hydroxyethylzelluloselösung wegen ihrer hohen Viskosität an der Behälterinnenwand langsamer ab als der eigentliche Füllstand. Die ursprünglich eingebauten Sensoren des Typs KNK 015 konnten erst ca. 30 bis 40 Sekunden nach vollständigem Abpumpen der Flüssigkeit und weiterem Absinken des Hydroxyethylzellulosefilms den Füllungszustand "leer" erkennen. Eine empfindlichere Einstellung am Potentiometer hatte wiederum ein vorzeitiges Ansprechen beim Flüssigkeitszulauf zur Folge, mit dem Resultat, daß ein Abschalten des regulierenden Magnetventiles vor Erreichen des einjustierten Füllstandes eintrat.

Der KNK 015 (entspricht FS0 in Abb. 9, Seite 28 und in Abb.13, Seite 37) wurde gegen den KNK 025 mit einer kompensierten Meßelektrode ausgetauscht. Bei entsprechend genauer Einstellung des Sensors war jetzt ein zuverlässiges Ausschalten möglich, daß jedoch auch erst verspätet bei etwa zwei Drittel des ursprünglichen Füllstandes von etwa 40 cm erfolgte. Dies steht mit der Benetzung der Behälterinnenwand durch einen Hydroxyethylzellulosefilm in Zusammenhang, den der Sensor solange identifiziert, bis er aus dessen Erfassungsbereich abgelaufen ist.

3. Ansprechen der Füllstandstaster bei Spülwassereinlauf

Durch die Konstruktion des Behälterdeckels (Kapitel 5.1.3., Seite 30 und 31) und seine nachfolgende Änderung (Seite 44) bedingt, laufen das Spülwasser und die Hydroxyethylzellulose an der Behälterinnenwand hinab und aktivieren somit den Füllstandserfasser, woraufhin das zuführende Magnetventil abschaltet. Da der auslösende Flüssigkeitsfilm dann wieder fehlt, lautet der Erkennungszustand "Füllstand noch nicht erreicht", und die Steuerung öffnet den Zulauf. Folge dieses Mechanismus ist ein stoßweises Einlaufen der Flüssigkeiten. Bei einer einjustierten Füllhöhe von 40 cm konnten zwischen 8 bis 13 solcher Impulse gezählt werden.

Da eine Verminderung der Empfindlichkeit des Sensors ein unzuverlässiges Erkennen des tatsächlichen Füllpegels zur Folge hatte, mußte eine mechanische

Vorrichtung ein korrektes Funktionieren sichern. Diese bestand aus je einer 40 cm langen und 2,5 cm tiefen Plexiglasschiene, die rechts und links vom Sensor an der Behälterinnenwand angebracht wurden, und die ein Abhalten des Flüssigkeitsfilmes von Erfassungsbereich des Sensors durch Abschirmung des von ihnen eingeschlossenen Raumes bewirkten (Abb. 17).

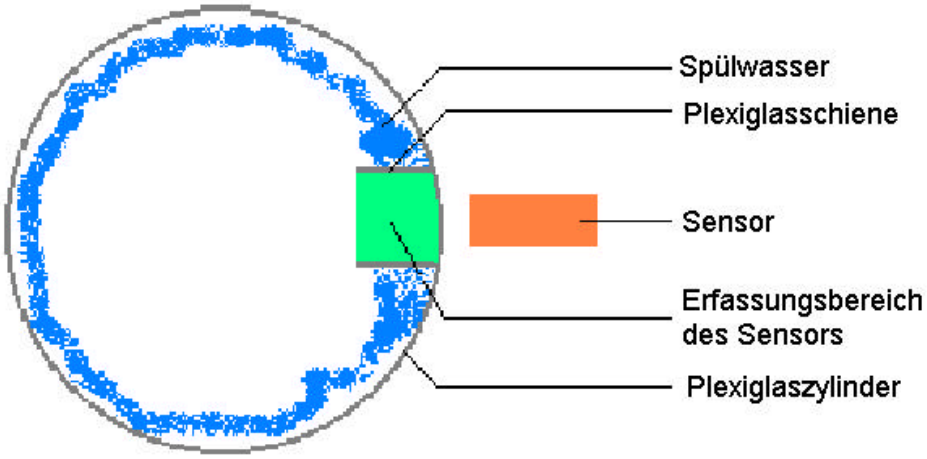


Abb.17: horizontaler Schnitt durch Versuchsbehälter und Füllstandssensor

4. Herausspritzen der rückgepumpten Flüssigkeiten aus den Vorratsbehältern

Die Leitung für die von den Membranpumpen zurückbeförderten Medien mündet am oberen Rand in die Vorratsbehälter. Es traten hierdurch jedoch erhebliche Volumenverluste und Verunreinigungen durch Herausspritzen von Flüssigkeit durch den an die gegenüberliegende Behälterwand auftreffenden Strahl ein. Das Problem wurde durch Anbringen eines zusätzlichen Schlauches gelöst, der die zurückgepumpte Lösung bis vor den Behälterboden leitet. Hierdurch wird außerdem eine Schaumbildung vermieden, die ein vorzeitiges Ansprechen des Füllstandssensors zur Folge hätte.

5. Auslösung von Schaltkontakten durch Zelluloseklumpen

Bei festgestellter Verdünnung der Hydroxyethylzelluloselösung muß entsprechend Konzentrat nachgegeben werden, um einer Erosionsentstehung vorzubeugen. Es ist empfehlenswert, dies nicht durch bloßes Einstreuen von Pulver zu tun, da sich hierbei Klumpen bilden. Diese haften an der Innenwand des Versuchsbehälters. Wenn in diesem nun der Füllstand beim Einlauf des

Mediums in den Versuchsbehälter sinkt, rutschen die noch nicht aufgelösten Zellulosepräzipitate zeitlich verzögert nach unten ab. Dies wirkte sich so aus, daß der erfassende Sensor am Vorratsbehälter aufgrund des gesunkenen Füllstandes schon abschaltet, der Fühler am Versuchsbehälter durch den noch nicht erreichten Pegel jedoch noch nicht aktiviert ist. Wenn dann eine ausreichende Menge unvollständig gelöster Zellulose bei entsprechend empfindlicher Füllstandstastereinstellung an der Vorratsbehälterinnenwand zeitlich verzögert herabsinkt, kann ein neuer Erfassungszustand "Füllstand im Reservoirbehälter erreicht", der sonst erst beim Rückpumpen der Lösung aus dem Versuchsbehälter ausgelöst würde, das Resultat sein. In der automatischen Steuerung würde daraufhin ein Weiterschalten in den nächsten Durchgang, der in der Regel Spülen mit Wasser beinhaltet, erfolgen. Die schon im Versuchsbehälter befindliche Zellulose vermischt sich mit dem Wasser, und ein Abpumpen in das Abwassernetz hat zur Folge, daß die verlustig gegangene Demineralisationslösung nicht in ihren Vorratsbehälter zurückgepumpt werden kann. Sind dort die schadensverursachenden Präzipitate mittlerweile unter den Erfassungsbereich des Sensors abgesunken, signalisiert dieser dann wieder "Füllstand im Reservoirbehälter nicht erreicht" und blockiert somit die automatische Steuerung. Ein Stillstand des gesamten Ablaufes ist die Folge.
Um die geschilderte Fehlfunktion zu vermeiden, sollte nur schon aufgelöste Zellulose nachgegeben und diese gründlich verrührt werden.

5.2.3. Messungen während des Betriebes

Bestimmung des Restvolumens und der Verdünnung

Bei der zweiwöchigen Erprobung zeigte sich, daß die Remineralisationslösung, die in ihrer Viskosität Wasser entsprach, keine Füllstandserniedrigung aufwies. Das ist offensichtlich darauf zurückzuführen, daß die vorangegangene Wasserspülung genau so viel Restvolumen zurückließ und somit einer Volumenverringerung der Ionenlösung entgegenwirkte, aber auch eine schleichende Verdünnung verursachte.
Um die im Versuchsbehälter verbleibende Menge zu bestimmen, wurde der Betrieb nach dem Auspumpen des Spülwassers unterbrochen, die

Schlauchverbindungen zu den Magnetventilen gelöst, und der somit isolierte Zylinder mit 33 aufgehangenen Zähnen auf einen zahntechnischen Rüttler gestellt, um die an der Behälterwand und den Zähnen befindlichen Wassertropfen am Boden des Behälters zu sammeln. Die Flüssigkeit wurde mit einer medizinischen Spritze mit einem Fassungsvermögen von 10 ml aufgezogen und das Volumen abgelesen. Diese Messung wurde zehnmal, jeweils an anderen Tagen, wiederholt und aus den Ergebnissen (Tab. 4) der Mittelwert gebildet. Dieser belief sich auf 5,8 ml.

Tab. 4: Restvolumen im Versuchsbehälter - gemessen an verschiedenen Tagen

Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
gemessenes Volumen in ml	5,7	4,9	6,2	5,9	6,3	5,4	5,7	4,7	6,9	6,4

Es kann also davon ausgegangen werden, daß die in den Versuchsbehälter einlaufende Ionenlösung jedesmal mit ca. 6 ml Wasser verdünnt wird. Bei einem Ausgangsvolumen von 6 Litern mit einer Ionenkonzentration von 1,2% entspricht das einer Konzentrationsverringerung um 0,0012 % auf 1,1988 %.
Je nach Häufigkeit des Einsatzes des Mineralisationszyklus und Toleranzbreite der Konzentration ergibt sich die Notwendigkeit der Korrektur durch Zugabe von Mineralionen.

Überprüfung und Aufrechterhaltung der Hydroxyethylzellulosekonzentration

Eine Verdünnungsreihe von 1%iger, 2%iger, 3%iger, 4%iger, 5%iger, und 6%iger Hydroxyethylzelluloselösung wurde hergestellt und die jeweilige Kugelfallzeit in einem Höppler-Viskosimeter (Prüfgeräte-Werk Medingen/Dresden) gemessen. Eine Glaskugel (Durchmesser 14,5 mm) sinkt in einem Glasrohr (Innendurchmesser 16 mm), welches mit aus dem Vorratsbehälter entnommener Demineralisationslösung gefüllt ist, ab. Die Fallzeit zwischen zwei Markierungen am Glaszylinder (Abstand 110 mm) wird mit einer Stoppuhr gemessen. Der

Vorgang wird dreimal wiederholt und der Mittelwert gebildet, um den Einfluß von Meßfehlern möglichst gering zu halten.
Die graphische Darstellung der korrespondierenden Meßwerte erfolgte in einem Diagramm (Abbildung 18, Seite 50).
Bei einer Kontrollmessung wird nun die der Kugelfallzeit entsprechende Konzentration abgelesen. Über eine Bruchgleichung kann die derzeitig gelöste Zellulosemenge in Gramm berechnet werden. Die Differenz zur Ausgangsmenge muß dann lediglich nachgegeben werden. Voraussetzung ist das Vorhandensein des gleichen Volumens an Zelluloselösung wie zu Versuchsbeginn.

Rechenbeispiel:
Zur Herstellung einer 4,5%igen Hydroxyethylzelluloselösung werden 6 Litern Wasser 270 Gramm Zellulosepulver zugegeben.
Ein in der Verdünnungskurve abgelesener aktueller Wert, z.B. 3,9% wird dazu ins Verhältnis gesetzt.
270g : 4,5% = xg : 3,9% x=234g
270g - 234g = 36g
36 Gramm Zellulosepulver müssen zugegeben werden, um wieder eine 4,5%ige Lösung zu erhalten.

Während der durchgeführten Versuche mußten während der zweiten und dritten Woche (etwa 29 Demineralisationen täglich) durchschnittlich 27 Gramm Zellulosepulver nachgegeben werden. Das entspricht einer Menge, die notwendig ist, um ein Verdünnung von 4,5% auf 4% auszugleichen.

Messung des Volumenverlustes der Demineralisationslösung

Durch das Ankleben eines Maßbandes an den Versuchsbehälter war das Ablesen des durchscheinenden Füllstandes möglich.
Der Volumenverlust der Hydroxyethylzelluloselösung betrug bei 29 Durchläufen am Tag durchschnittlich 0,7 Liter. Das entspricht etwa 12% des Gesamtvolumens.

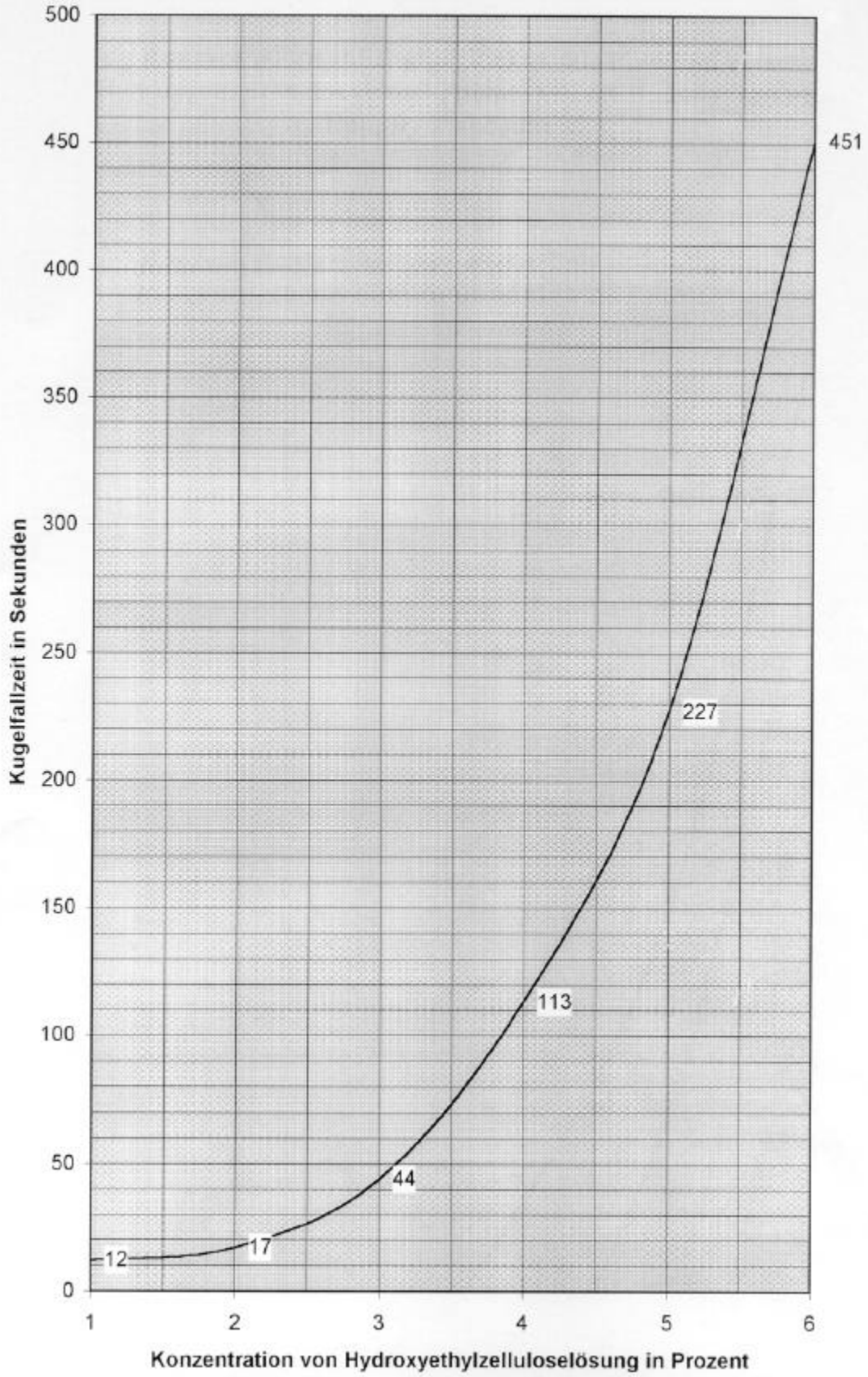


Abb. 18: konzentrationsabhängige Viskositätsänderung von Hydroxyethylzelluloselösung gemessen als Kugelfallzeit im Höppler-Viskosimeter

5.3. Untersuchung der behandelten Zähne und Auswertung

5.3.1. Herstellung der Schliffpräparate

Um eine polarisationsmikroskopische Beurteilung zu ermöglichen, ist es nötig, Dünnschliffe des Zahnes anzufertigen, die die Fensterbereiche enthalten. Eine genaue Beschreibung der Schliffherstellung kann der Dissertation Huster (1991) entnommen werden.

5.3.2. Polarisationsoptisch darstellbare Veränderungen

Die polarisationsmikroskopische Auswertung zeigte unterschiedliche Kombinationen von Mineralisationen und Demineralisationen von denen einige beispielhaft abgebildet sind.

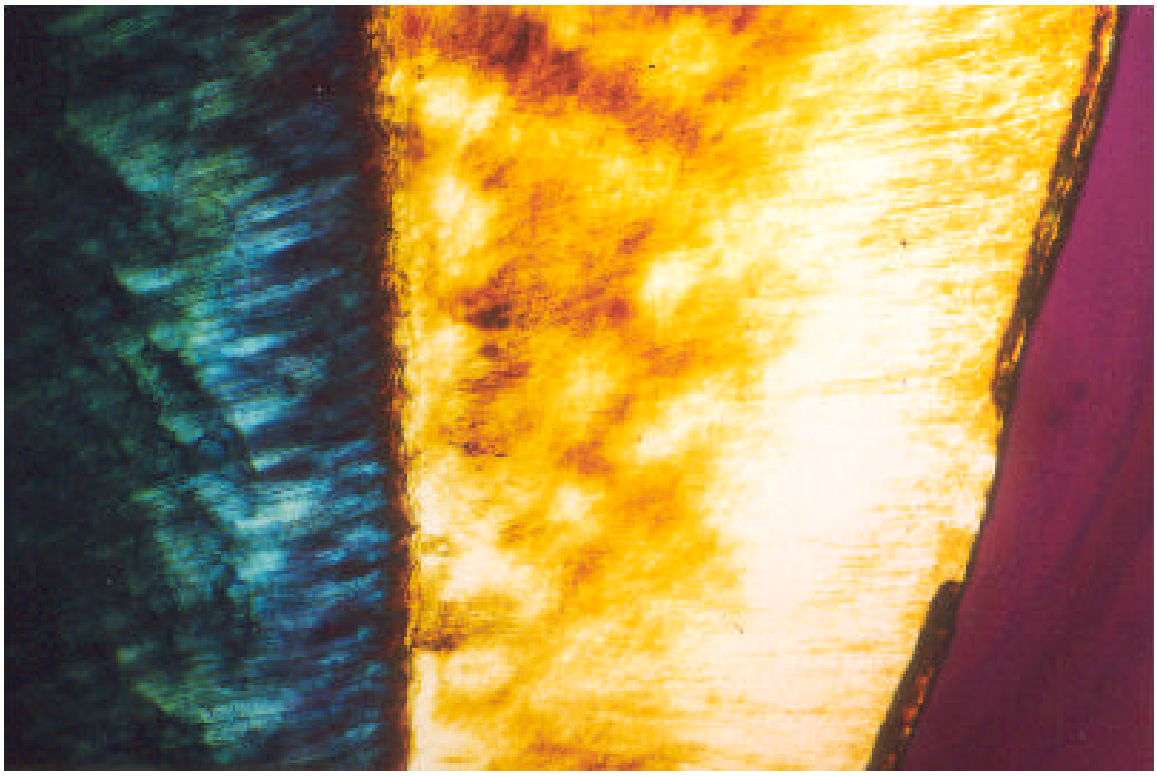


Abb. 19 (Foto): typische subfizielle Läsion, zwischen den beiden Fenstern ist ein unbehandelter, von Lack geschützter Schmelzabschnitt zu erkennen, Imbibitionsmedium Xylol

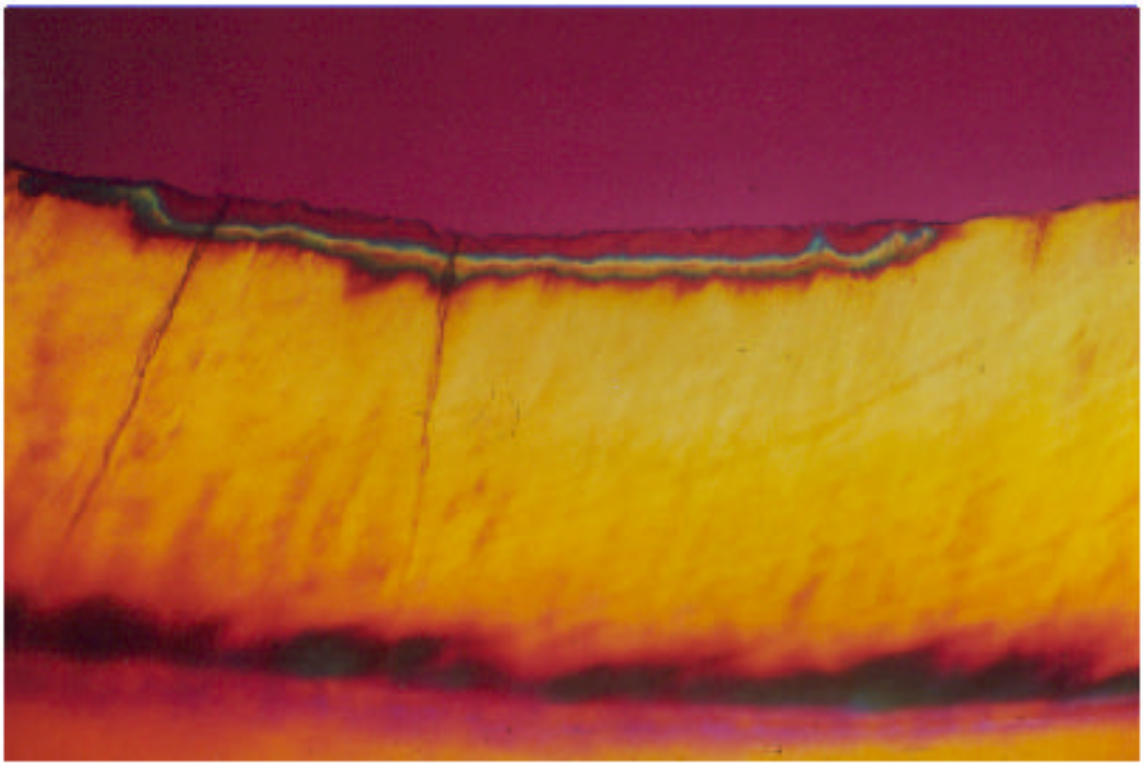


Abb. 20 (Foto) Initialkariöse Veränderung mit erosiver Oberfläche am Zahn 22, mittleres Fenster oral, Imbibitionsmedium Xylol

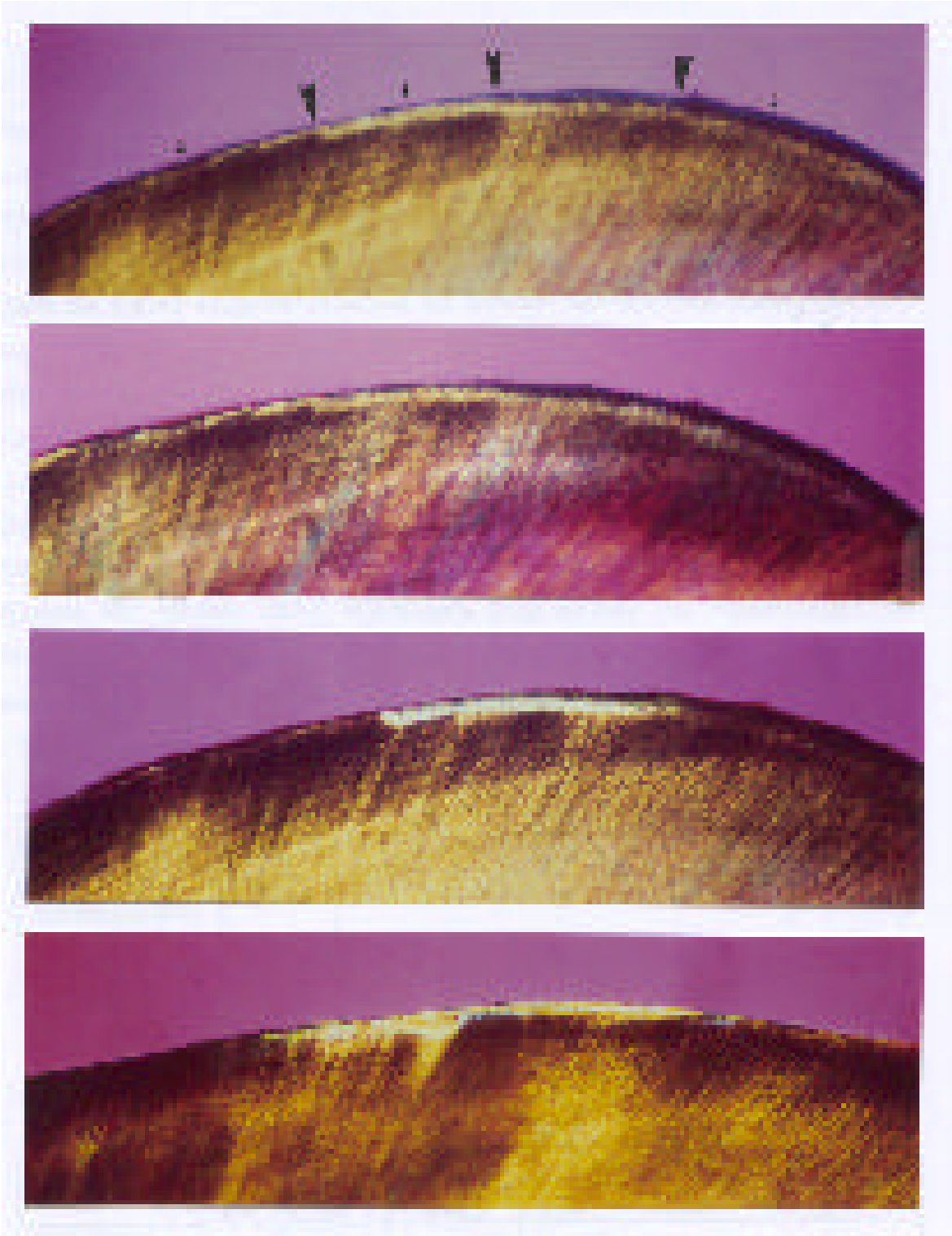


Abb. 21 (Foto): im oberen Fensterteil (1) - artifizielle Karies
im unteren Fensterteil (2) - Reifungsmineralisation
koronal (0) und nach zervikal (3) - unbehandelter, unreifer Schmelz
Imbibitionsmedien von oben nach unten: Äthanol (96%), Wasser, Xylol, Chinolin

5.3.3. Biostatistische Auswertung

Das Computerprogramm SPSS wurde zur statistischen Auswertung genutzt. Es sollte geklärt werden, ob die Merkmalsausprägung von dem Aufhängungsort der Zähne im Versuchsbehälter abhängig ist. Die maximal mögliche Anzahl auswertbarer Manifestationen belief sich auf insgesamt fünf, da nur die orale Seite der Zähne ausgewertet wurde. Es könnten also pro Zahn beispielsweise 3 De- und 2 Remineralisationen vorhanden sein. Die Anzahl der Merkmale pro Versuchskörper wurde ausgezählt und nach dessen Position im Versuchsbehälter in unten, mittig und oben in einer Kreuztabelle (Tab. 7, Seite 55) dargestellt. Die Beschränkung auf eine Ausprägung, in diesem Fall auf die Demineralisation, ist ausreichend, weil immer eine Ergänzung zu 5 erfolgt.

Die Signifikanzbestimmung erfolgte nach dem Chi-Quadrat-Test auf dem 95% Niveau. Es konnten keine signifikante Unterschiede der Manifestation der Merkmale in Abhängigkeit vom Aufhängungsort im Versuchsbehälter festgestellt werden (Tab. 6).

Tab. 5 Anzahl der ausgewerteten Fälle

Verarbeitete Fälle

	Fälle					
	Gültig		Fehlend		Gesamt	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
Aufhängungsort im Versuchsbehälter * Zahl der Demineralisationen am Zahn	33	100,0%	0	,0%	33	100,0%

Tab. 6 Signifikanz der Unterschiede in der Merkmalsausprägung nach dem Chi-Quadrat-Test

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)	Punkt-Wahrscheinlichkeit
Chi-Quadrat nach Pearson	10,571[a]	8	,227	,177		
Likelihood-Quotient	10,746	8	,217	,300		
Exakter Test nach Fisher	9,314			,234		
Zusammenhang linear-mit-linear	,624[b]	1	,429	,519	,260	,077
Anzahl der gültigen Fälle	33					

a. 12 Zellen (80,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,33.

b. Die standardisierte Statistik ist ,790.

Tab. 7 Ortsabhängigkeit der Merkmalsausprägung

Aufhängungsort im Versuchsbehälter * Zahl der Demineralisationen am Zahn Kreuztabelle

			Zahl der Demineralisationen am Zahn					
			1Dem	2Dem	3Dem	4Dem	5Dem	Gesamt
Aufhängungsort im Versuchsbehälter	oben	Anzahl	1	1	7	1	1	11
		% von Aufhängungsort im Versuchsbehälter	9,1%	9,1%	63,6%	9,1%	9,1%	100,0%
		% von Zahl der Demineralisationen am Zahn	100,0%	14,3%	38,9%	16,7%	100,0%	33,3%
		% der Gesamtzahl	3,0%	3,0%	21,2%	3,0%	3,0%	33,3%
	mittig	Anzahl		1	7	3		11
		% von Aufhängungsort im Versuchsbehälter		9,1%	63,6%	27,3%		100,0%
		% von Zahl der Demineralisationen am Zahn		14,3%	38,9%	50,0%		33,3%
		% der Gesamtzahl		3,0%	21,2%	9,1%		33,3%
	unten	Anzahl		5	4	2		11
		% von Aufhängungsort im Versuchsbehälter		45,5%	36,4%	18,2%		100,0%
		% von Zahl der Demineralisationen am Zahn		71,4%	22,2%	33,3%		33,3%
		% der Gesamtzahl		15,2%	12,1%	6,1%		33,3%
Gesamt		Anzahl	1	7	18	6	1	33
		% von Aufhängungsort im Versuchsbehälter	3,0%	21,2%	54,5%	18,2%	3,0%	100,0%
		% von Zahl der Demineralisationen am Zahn	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% der Gesamtzahl	3,0%	21,2%	54,5%	18,2%	3,0%	100,0%

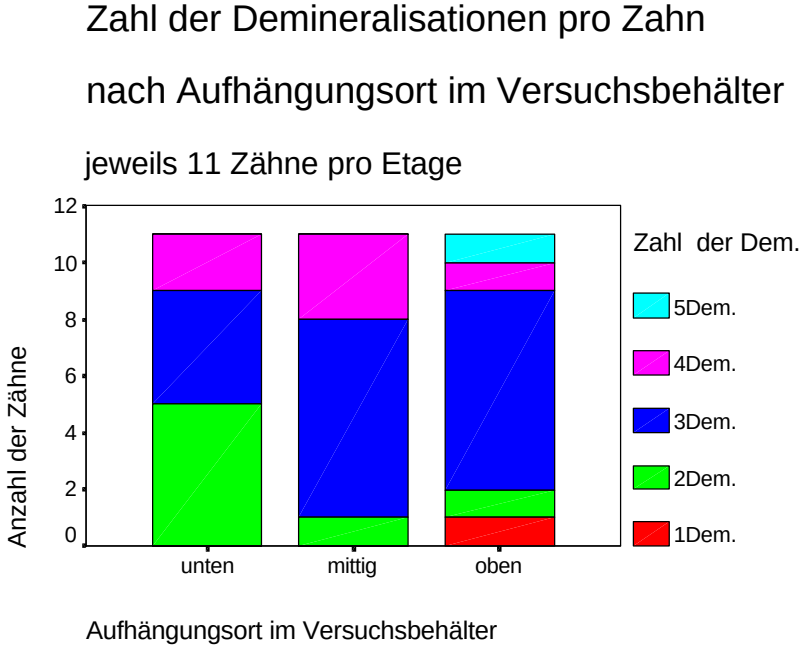


Abb. 22: Stapelbalkendiagramm

Die erste Gruppe von 17 Zähnen wurde insgesamt während zwei Wochen demineralisiert. Bei den übrigen 16 Versuchsobjekten betrug die Einwirkzeit der Hydroxyethylzellulose zur Ausprägung einer Initialkaries in den drei bei Versuchsbeginn geöffneten Fenstern (oben, mittig, unten) hingegen nur eine Woche. Eine getrennte Betrachtung der Tiefe der Läsionsausprägung ist somit erforderlich.

Abbildung 23 zeigt die Verteilung der Demineralisationstiefe getrennt für die jeweils 3 Fenster der beiden Gruppen (1 und 2 Wochen demineralisiert). Deutlich wird dabei der geringere Medianwert der Läsionstiefe (Tab. 8, Seite 57) im oberen und unteren Fenster, die nach Verschluß des mittleren mit Remineralisationslösung weiterbehandelt wurden. Dies deutet auf eine Reduktion der Läsionstiefe durch teilweise Remineralisation der Initialkaries, die aufgrund der gleichen Vorbehandlung gleich tief sein müßte, hin.

Da die zweiwöchig exponierten Zähne die untere Hälfte und die einwöchig demineralisierten die obere Hälfte der Zahnaufhängung einnahmen, ergibt sich aus diesem Versuchsablauf im Gegensatz zur willkürlich gewählten Dreiteilung des Aufhängungsortes in Tabelle 7 (Seite 55) eine Zweiteilung. Auch hier besteht kein grundsätzlicher Unterschied hinsichtlich der Tendenz der Tiefenentwicklung der Läsion.

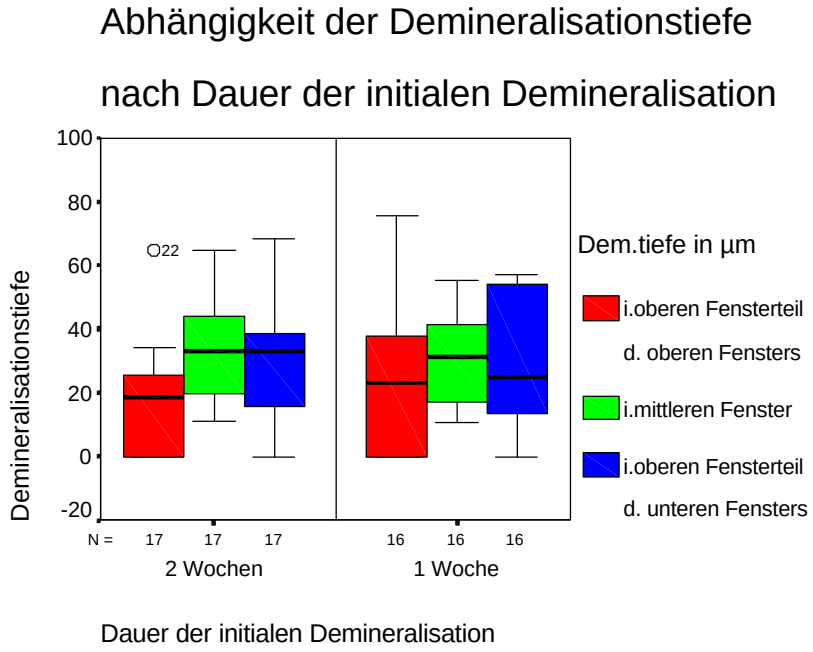


Abb. 23: Boxplots

Tab.8: Werte der Demineralisationstiefen in Abhängigkeit von Dauer der

Demineralisation

Bericht

Zeit der initialen Demin. 1 o. 2 Wochen		Tiefe der Demineralisation im oberen Fensterteil des oberen Fensters	Tiefe der Demineralisation im mittleren Fenster	Tiefe der Demineralisation im oberen Fensterteil des unteren Fensters
2,00	Mittelwert	18,3118	34,2824	28,7176
	N	17	17	17
	Standardabweichung	16,7984	16,9117	19,8761
	Median	18,4000	33,2000	33,0000
1,00	Mittelwert	22,5313	30,2188	29,3563
	N	16	16	16
	Standardabweichung	22,0504	13,7488	22,1122
	Median	22,9500	31,4000	24,8500
Insgesamt	Mittelwert	20,3576	32,3121	29,0273
	N	33	33	33
	Standardabweichung	19,3286	15,3579	20,6599
	Median	21,2000	32,2000	27,9000

Erosive Oberflächen traten an sieben von 98 initialkariös veränderten Fensterteilen auf. Das entspricht einem Anteil von 7,1%. Eine Zuordnung zu einem Aufhängungsort oder anderen Merkmalen ließ sich nicht vornehmen.

6. Diskussion

6.1. Diskussion der Ergebnisse

Der Bau eines funktionierenden pH-cycling-Systems, welches bis zu 50 Zähne fassen kann, wurde erfolgreich realisiert. Sehr kurze, im Sekundenbereich liegende oder auch bis zu 15 Stunden lange De- und/oder Remineralisations-intervalle sind einprogrammierbar, was einen Einsatz bei der Klärung der unterschiedlichsten wissenschaftlichen Aufgaben, wie z.B. der Durchführung von Reifungsstudien am Zahnschmelz oder der Arbeit an kariologischen Problemen ermöglicht.

Zwei verschiedene Lösungen und Wasser zu Reinigungszwecken können eingesetzt werden.

Die Wiederverwendung der Spülflüssigkeiten wird durch das Zurückpumpen in den Vorratsbehälter ermöglicht. Durch diesen Mechanismus kann wirtschaftlich gearbeitet und der Kostenaufwand reduziert werden, der durch häufiges Nachfüllen der Komponenten nicht nur eine erhebliche materielle sondern auch personelle Beanspruchung darstellen würde. In Abhängigkeit von der Häufigkeit des Einsatzes ist ein Auffrischen bzw. komplettes Erneuern der Lösung nötig.

Ein mögliches Volumen von 6 Litern pro Spülsystem (Kapitel 5.1.3., Seite 31) sichert eine relativ konstante Konzentration gegenüber den aus den Proben gelösten Ionen, die zum größten Teil ohnehin durch das Spülwasser entfernt werden. Verunreinigungen durch das Hausleitungswasser sind ausgeschlossen, wenn eine Umstellung auf destilliertes Wasser durch Anbringen eines Reservebehälters von ausreichendem Fassungsvermögen (mindestens 100 Liter) erfolgt. Dies ist jederzeit problemlos, bei genügend langer Zuleitung, auch an einem separaten Ort möglich.

Aufgrund des passiven Zulaufes der Lösungen aus den Reservoirbehältern ist ein zweietagiger Aufbau nötig. Weiterhin bedingte das Vorsehen der Möglichkeit des Nachrüstens eines weiteren Spülsystems einen relativ großen Platzbedarf des Gerätes. Ein problemloser Austausch der Speicherbehälter gegen höhervolumige ist dadurch auch möglich. Das kann bei einer größeren Gesamtoberfläche der Versuchskörper bei Nichtanwendung der Fenstertechnik oder zum Herstellen eines betreuungsextensiveren Arbeitsmodus notwendig werden.

In der Erprobungsphase konnte eine Beeinträchtigung der Funktion durch die Viskosität der Hydroxyethylzellulose festgestellt werden (Kapitel 5.2.2., Seite 45). Eine Eliminierung der Störfaktoren erfolgte durch bauliche Veränderungen am Acrylglaszylinder, durch Änderung der Konstruktion des Flüssigkeitszulaufes sowie den Austausch der drei ursprünglich verwendeten Füllstandserfasser KNK 015 gegen KNK 025. Daraufhin war ein fehlerfreies Funktionieren möglich. Eine Betreuung mußte lediglich täglich in Form der Einstellung des pH-Wertes und des Füllstandes der Demineralisationslösung erfolgen.

Bei Anwendung der Methode der lösungspräparierten Läsionsausprägung (Kapitel 3.1., Seite 6) könnte ein nach mehreren Durchläufen durch die Viskosität der Zellulose eingetretener Flüssigkeitsverlust vermieden werden. Es ist zu erwarten, daß auch der pH-Wert dann nicht mehr so oft korrigiert werden muß. Insgesamt würde sich daraus eine weitere Minimierung des Betreuungsaufwandes ergeben.

Das vorliegende pH-cycling-System arbeitet in erster Linie nach dem Prinzip der Volumenkonstanz (Kapitel 3., Seite 4) unter Einsatz von jeweils 6 Litern Spülflüssigkeit, die eine relativ konstante Konzentration durch Verdünnung der aus den Proben gelösten Ionen sichern.

Je hochfrequenter die Durchläufe einander abwechseln, und je kürzer die Einwirkzeiten sind, verschiebt sich auch das Funktionsprinzip von dem der Volumenkonstanz in Richtung der hochvolumigen Durchflußtechnik für De- und Remineralisation (Kapitel 3., Seite 5). Die einlaufenden Lösungen werden dann entsprechend der Zeiteinstellung möglicherweise schon Sekunden nach Erreichen des Füllstandes gleich wieder abgepumpt. Somit findet ein stetiges Zu- und Abfließen statt. Die Ionenakkumulation in Probennähe und eine damit einhergehende Beeinflussung der Diffusionsvorgänge wird so verhindert.

Die Zähne wurden nach Ende des Versuches einer polarisationsoptischen Auswertung unterzogen, die ein gängiges diagnostisches Verfahren zur Feststellung von Mineralisationen und Demineralisationen darstellt (Schmidt und Keil 1958). Die Eignung des pH-cycling-Systems zur Erzeugung initialkariöser Läsionen und (Re)Mineralisationen konnte damit nachgewiesen werden (Kapitel 5.3.2., Seite 51 bis 53; Kapitel 5.3.3., Seite 56)).

Die Anforderungen (Kapitel 2., Seite 3) sind damit erfüllt worden.

6.2. Fehlerdiskussion

Die Entwicklung und der Bau des pH-cycling-Apparates und der geplante hochfrequente Wechsel der Spülflüssigkeiten waren ein Pilotprojekt ohne vorhersehbare Eignung. Beim Bau ist vorerst auf relativ preiswerte Materialien aus dem Industriesektor zurückgegriffen worden. Das Gehäuse der Magnetventile besteht aus Messing. Von hier können Metallionen in Lösung gehen. Aus den flüssigkeitsführenden Kunststoffschläuchen können chemische Stoffe, wie z.B. Weichmacher, die Medien verunreinigen und die Versuchsergebnisse beeinflussen. Ein Austausch dieser Bauteile gegen solche aus chemisch inertem Material, wie PTFE, ist geplant, um bessere Ausgangsbedingungen zu prüfen.

Die Einbringung von Fremdionen und Verschmutzungen durch das Hausleitungswasser ist zum Testen des Gerätes in Kauf genommen worden. Eine Umstellung auf andere Flüssigkeiten wie destilliertes Wasser zum Ausspülen des Versuchsbehälters ist bei nachfolgenden Versuchen möglich.

Bei der Konzeption des pH-cycling-Systems wurde eine Temperatursteuerbarkeit nicht berücksichtigt, da Reservoir- und Versuchsbehälter gleichermaßen temperiert werden müßten, was eine erhebliche Aufwands- und Kostensteigerung bedeutet, die den möglichen Rahmen gesprengt hätte.

Robinson (1992) umgab sein beschriebenes System mit einer doppelwandigen, wasserdurchströmbaren Haube, um eine Temperaturführung zu ermöglichen. Bei einer Größe von 80x80x135 cm (LxBxH) ist dies nur schwer zu realisieren. Bei Bedarf wäre ein Nachrüsten denkbar, indem spezielle doppelwandige, wasserdurchströmbare Behälter eingesetzt werden.

Auf Schmelzreifungsversuche dürfte der Ablauf bei Zimmertemperatur in erster Linie einen Effekt durch Senkung der Diffusions- und Reaktionsgeschwindigkeiten und geringerer Löslichkeitsprodukte der verwendeten Mineralsalze haben.

Eine stetige Verdünnung der Lösungen durch Rückstände hat zur Folge, daß die Konzentrationen an wirksamen Stoffen in den jeweiligen Medien sinken und Reaktionsgeschwindigkeiten nie konstant sondern fallend sind.

Einschränkungen der Methodik

Mit kürzeren Einwirkzeiten der De- und Remineralisationslösung, d.h. bei höherer Frequenz deren Einfließens in den Versuchsbehälter, nähert sich das Funktionsprinzip dem der hochvolumigen Durchflußtechnik (Kapitel 3., Seite 5) an.

Eine signifikante Abweichung dieses Prinzips von der intraoralen Situation ergibt sich aus der Tatsache, daß in vivo ein ständiger und konstanter Speichelfluß, dem Remineralisationsmedium entsprechend, nie vorkommt, sondern von zirkadianen Rhythmen und dem Schluckvorgang abhängt. Weiterhin ist für die verschiedenen Zahnflächen in Abhängigkeit der Lage zu Speicheldrüsen-ausführungsgängen, von dem Kontakt mit Restaurationen bzw. Weichteilen und für die Approximalflächen je nach Gestalt des Interdentalraumes der Kontakt zur Mundflüssigkeit sehr unterschiedlich. Die Sicherung einer konstanten Konzentration soll hier durch hohes Volumen und ständiges Strömen erreicht werden, wodurch die am Zahn ablaufenden Diffusionsvorgänge der ursprünglichen Situation nicht identisch sind. Bei schematisierten und isolierten Untersuchungen ist eine Annäherung an die intraorale Situation jedoch oft nicht nötig und nicht gewollt.

Bei stetigem Fluß der Medien besteht außerdem die erhöhte Gefahr der Erosionsbildung, die durch einen oberflächlichen Substanzverlust demineralisierten Schmelzes verursacht wird.

Durch die Konstruktion des Behälterdeckels, der das Wasser und die Demineralisationslösung gegen die Behälterinnenwand lenkt (Kapitel 5.1.3., Seite 31 bis 33; 5.2.2., Seite 44), so daß diese nicht über die Zähne fließen, verringert den Einfluß der Strömung. Es resultiert dann aber noch immer eine Verwirbelung der einlaufenden Lösung.

Bei den Versuchen von Buskes et al. 1985 traten keine Erosionen bei einer ständigen Fließrate von 300 ml/min und einem pH von 5,0 auf. Da keine Angaben über die Strömungsgeschwindigkeit, deren Überwachung und Regulierung durch moderne Entwicklungen von Strömungssensoren im Bereich von 1 bis 150 cm/s möglich wäre (EGE-Elektronik Spezial-Sensoren GmbH, ifm electronic GmbH), gemacht wurden und durch die grundsätzlichen Unterschiede im Apparateaufbau sowie bei den verwendeten De- und Remineralisationslösungen in

Zusammensetzung und Konzentration, ist ein direkter Vergleich mit dem vorliegenden Gerät und den aufgetretenen Erosionen nicht möglich.
Bei dem Test des hier gebauten Apparates liefen das Demineralisationsmedium einmal und die übrigen Lösungen siebenmal innerhalb von 50 Minuten in den Versuchsbehälter. Ein überwiegendes Strömen kam also nicht vor. Trotzdem traten an 7 Fenstern erosiv veränderte Oberflächen auf. In diesem Zusammenhang kommt dem pH-Wert möglicherweise eine bedeutsame Rolle zu, der bei Buskes et al. (1985) bei 5,0 lag. Außerdem war der Demineralisationspufferlösung unter anderem 3 mM Kalziumchlorid und 3 mM Kaliumphosphat zugesetzt, was einer Erosion infolge übermäßiger Dissolution vorbeugt.
Es ist ersichtlich, daß die äußerst komplexen in-vivo-Bedingungen im Laborversuch nur in begrenztem Maße und unter Vernachlässigung anderer Faktoren simuliert werden können. Bei der Methode des pH-cycling bleiben Faktoren wie Speichel, Plaque, Mikroorganismen und deren Interaktionen unberücksichtigt. Es ist nicht möglich, die komplexen Bedingungen des oralen Biotopes in einem Modell umfassend zu berücksichtigen. Es besteht somit die Notwendigkeit, Ergebnisse von in-vitro-Untersuchungen durch geeignete in-situ-Modelle bzw. klinische Studien zu überprüfen (ten Cate 1992).
Da bei den geplanten Schmelzreifungsversuchen nur einzelne Faktoren variiert und geprüft werden sollen, ist das vorgestellte pH-cycling-System durchaus zum Einsatz geeignet.

6.3. Diskussion und Schlußfolgerungen

Es existiert eine Vielzahl verschiedener Modellformen in vitro, in situ, mathematische Methoden und Tierversuche, um kariologische Probleme, Prophylaxestrategien und dentale Materialien zu untersuchen.
Mit der Reduktion der intraoralen Einflüsse auf eine experimentelle Methode ist zwangsläufig eine Einschränkung der Aussagekraft verbunden.
Dijkmann et al (1994) verwendeten das Verfahren der Demineralisation durch manuelle einmalige Säureexposition (Kapitel 3.2.1., Seite 8) und untersuchten damit den Unterschied zwischen fluoridfreisetzenden und nicht fluoridfreisetzenden Kompositmaterialien hinsichtlich deren Einflußes auf die Herausbildung von Sekundärkaries und demineralisierten dafür mit Füllungen

entsprechender Materialien versehene Zähne 8 Wochen bei 37° Celsius und pH 5.

Die lange Dauer der konstanten Säureeinwirkung läßt aus der Zahnsubstanz gelöste Ionen in der unmittelbaren Umgebung der Probekörper akkumulieren, wodurch eine teilweise Rückdiffusion und Verringerung der Demineralisation resultiert.

Die Nichtbeachtung der intraoral stattfindenden pH-Fluktuationen und der Präsenz mineralhaltigen Speichels und Plaque sind methodische Schwachpunkte, die je nach Ziel der Untersuchung mehr oder weniger ins Gewicht fallen.

Insbesondere Neuentwicklungen zahnärztlicher Werkstoffe, denen eine langzeitige kariesprotektive Eigenschaft durch einen wiederaufladbaren Fluoridspeicher zugeschrieben wird, können solche Methoden nicht gerecht werden. Dieser sogenannte Refill-Effekt plastischer Füllungsmaterialien, wie Degufill® mineral oder Definite®, basiert auf einem synthetischen Fluorapatit im Werkstoff, der Fluoridionen an den umgebenden Zahnschmelz abgibt und z.B. aus Speichel, Nahrung und Mundpflegeprodukten wieder aufnehmen kann. Hier empfehlen sich zur Überprüfung der Wirksamkeit Labormethoden wie pH-cycling, die aus Demineralisationsphasen bestehen, während derer Fluoride aus dem Material diffundieren. In der nachgeschalteten Remineralisationsphase kann der Speicher die Ionen wieder aufnehmen.

Bei der bisherigen industriellen Prüfung des Refill-Effektes von Degufill® mineral kam eine manuelle Form des pH-cycling zur Anwendung (Rosin und Rentsch 1997). Diese bestand aus nur vier Demineralisationen von Probekörpern des Materials in künstlichem Speichel bei pH 5, die von dreimaligem Einbringen in eine 1500 ppm Natriumfluorid enthaltende Lösung unterbrochen wurden. Nach dieser Remineralisationsphase wurde die Fluoridabgabe in den künstlichen Speichel gemessen, die dann wieder höher als bei Ende des vorangegangenen Demineralisationszyklus war.

Daraus folgerten die Autoren, das ein Refill-Effekt besteht. Es ist jedoch zu hinterfragen, ob die erhöhte Fluoridabgabe nicht durch oberflächlich in den Mikrorauhigkeiten der Probenkörperoberfläche haftende Fluoridionen verursacht ist. Die langzeitkariesprotektive Eigenschaft des Materials bleibt bei vier Zyklen

und ausschließlicher Verwendung von Probekörpern des Füllungsmaterials als Versuchsobjekte weiterhin ungeklärt.

Durch den Einsatz des entwickelten automatischen pH-cycling-Systems wäre eine Überprüfung der Wirksamkeit des Refill-Effektes und der Fluoridionenabgabe aus dem Füllungswerkstoff möglich, die von anderen Autoren bezweifelt wird (Knappwost 1998). Zähne mit Füllungen aus Material mit und ohne Wiederaufladeffekt könnten über Wochen oder Monate hochfrequent de- und remineralisiert werden. Die Untersuchung des oberflächennahen Überganges Schmelz/Füllung, wo Auswirkungen zu erwarten wären, könnte Hinweise zur tatsächlichen Wirkung bringen. Eine Sicherung des Ergebnisses in situ und in klinischen Studien wären anzuschließen (ten Cate 1992).

Das pH-cycling ist eine anerkannte und rationelle Methode des Materialtestes (Featherstone 1996) und der kariologischen Forschung (ten Cate 1990), die jedoch einer beschränkte Aussagekraft hat und deshalb durch andere Verfahren ergänzt werden muß, die ihrerseits wiederum anderen Einschränkungen unterliegen.

Bei in-situ-Versuchen machen eine limitierte Probengröße und -anzahl pro Mundhöhle mehrere Testpersonen nötig, was wiederum zu einer Abweichung der Ausgangsbedingungen aufgrund der individuellen Unterschiede führt. Weiterhin sind der hohe Zeitaufwand und die Abhängigkeit von einer entsprechenden Compliance der Probanden nachteilig.

Bei intraoralen Modellen ist die Mundhöhle sowohl Experimentierfeld als auch tatsächlicher Ort des Einsatzes des Testmateriales oder des biologischen Vorganges. Es gibt keine identischeren, aber auch keine komplexeren Ausgangsbedingungen. Die umfassenden intraoralen Einflüsse machen in-situ-Modelle für bestimmte Untersuchungen ungeeignet. Die Bildung stabilen Apatits im Zahnschmelz, katalysiert durch Fluorid, kann so nicht untersucht werden. Speichel und Plaque lassen bekannte, konstante Ausgangsbedingungen nicht zu und komplexe organische, an der Zahnoberfläche adsorbierte, Ionen und Moleküle modifizieren die Diffusionsvorgänge (Wefel 1990). Die Strategie zur Überwindung dieses Umstandes kann also nur in einer Simplifikation bzw. Isolation der Vorgänge in in-vitro-Modellen bestehen, die zwangsläufig den Nachteil einer eingeschränkten Aussagekraft mit sich bringt.

In-situ-Modelle haben in der dentalen Grundlagenforschung überwiegend in der Phase vor dem klinischen Test einen festen Platz (Featherstone 1996). Sie schließen eine Lücke in der Methodik, denn es ist möglich, die exakt definierten, aber modellhaften Laborbedingungen dem weitestgehend natürlichen aber unkontrollierten klinischen Zustand anzupassen. Dabei kann ein relativ hohes Maß an Übersicht behalten werden. Es ist eine wesentliche Aufgabe dieser Methode die Ergebnisse klinischer Studien bei geringerem Zeit- und Kostenaufwand vorab einschätzen zu können (Stephen et al. 1992). Das umfaßt unter anderem das Testen von Zahnpflegemitteln (Rädle 1994) und zahnärztlichen Füllungswerkstoffen. Ein Beispiel für eine konsequente Versuchskette zum Materialtest ist Ariston pHc®. Es wurden in-vitro-Verfahren, wie Demineralisationen, Untersuchungen in einer künstlichen Mundhöhle im Hinblick auf Sekundärkariesentwicklung und in-situ-Studien vor den eigentlichen klinischen Tests durchgeführt (Appert 1998).

Ein eindeutiger Vorteil der künstlichen Mundhöhle gegenüber in-situ-Modellen besteht in der Unabhängigkeit von mehr oder weniger zuverlässigen Probanden und der exakten Steuerbarkeit des Zeitablaufes. Die relative Kompliziertheit der Apparate bedingt, daß sich Techniker mit deren Herstellung teilweise über Jahre beschäftigen, der praktische Umgang mit ihnen trotzdem noch problembehaftet ist und sich mit in-situ-Verfahren in der Regel leichter Resultate erzielen lassen (Featherstone 1996).

Bei der Durchführung der vierwöchigen Testreihe mit dem entwickelten pH-cycling-Apparat konnte ein wesentlich höherfrequenter Wechsel der Spüllösungen realisiert werden (Abb. 14, Seite 41), als bei anderen Autoren (Abb. 1, Seite 11), was im Hinblick auf den geplanten Einsatz in der Schmelzreifungs-forschung notwendig ist.

Die von Almqvist et al. 1990 genutzte Apparatur (Kapitel 3.2.3., Seite 9 und 10) ist auf zirka fünfzigminütige Demineralisationsintervalle festgelegt, simuliert aber nahezu identisch die Stephan-Kurve. Infolgedessen eignet sie sich vorwiegend für die Untersuchung der Variationen des Kurvenverlaufes (Tiefe, Dauer, Frequenz) auf das Zahnhartgewebe. Beim vorliegenden pH-cycling-Gerät werden hingegen rechteckige pH-(Kurven)Verläufe erzeugt.

Almqvist et al. verwendeten 1990 für 6 Zahnhartsubstanzproben insgesamt 460 Liter De- und Remineralisationslösung innerhalb von 16 Tagen. Da sich bei der

dortigen Versuchsanordnung die Flüssigkeiten vermischen, ist eine Wiederverwendung ausgeschlossen. Auch im Hinblick auf die geringe Probenzahl, die eine statistische Sicherung der Ergebnisse schwierig erscheinen läßt, ist das Aufwand-Nutzen-Verhältnis eher als unvorteilhaft einzuschätzen.

Bei dem von Robinson 1992 beschriebenen System tauchen 18 Schmelzscheiben in Becher mit einem Fassungsvermögen von 10 ml ein. Durch diese kleinen Volumina ist eine Ionenakkumulation in der Lösung wahrscheinlich. Das dadurch notwendige häufige Erneuern der Medien bedeutet einen hohe personelle Beanspruchung, wodurch das Aufwand-Nutzen-Verhältnis ungünstiger ausfällt.

Andere Autoren praktizieren das Eintauchen einzelner Proben in ebenfalls kleine Volumina von z. B. 3 ml (ten Cate 1995). Ein tägliches Erneuern der Flüssigkeiten wird dann empfohlen.

Buskes et al. (1985) verwendeten eine Apparatur, die bis zu jeweils 60 Liter zwei verschiedener Flüssigkeiten fassen kann, brachten aber nur 10 Liter Demineralisationslösung zum Einsatz, was für eine exponierte Probenoberfläche von 8 Quadratzentimetern und insgesamt 120 Stunden Demineralisationszeit als ausreichend erachtet wurde.

Bei den zum Test des hier gebauten Gerätes durchgeführten Versuchen wirkten auf ca. 9 Quadratzentimeter Zahnoberfläche jeweils 6 Liter der verschiedenen Flüssigkeiten ein, die wöchentlich erneuert wurden (Kapitel 5.2.1., Seite 40).

Das im Rahmen der vorliegenden Dissertation entwickelte, gebaute und getestete pH-cycling-System soll vorwiegend in der Schmelzreifungsforschung eingesetzt werden. Eine Eignung besteht jedoch auch zum Testen von Füllungswerkstoffen und zur Durchführung von De- und/oder Remineralisationsstudien im Zusammenhang mit kariologischen Problemen, bei denen die pH-cycling-Technik häufig angewendet wird (Almqvist und Lagerlöf 1993; Almqvist et al. 1990; Chow et al. 1992; Damato et al. 1990; Featherstone et al. 1988; Herkströter et al. 1991; Robinson et al. 1992).

Es ist machbar, mit geringem materiellen und personellen Aufwand über längere Zeiträume einen häufigen Wechsel von den die Versuchsobjekte umgebenden Medien vorzunehmen, der manuell so nicht möglich wäre. Dadurch kann man völlig neue Versuchsabläufe planen und durchführen, die bis jetzt nicht möglich waren.

Die Gewinnung neuer Erkenntnisse über die posteruptive Maturation des Zahnschmelzes, die einen langjährigen Forschungsschwerpunkt des Arbeitsbereiches für Orale Strukturbiologie der Poliklinik für Zahnerhaltung/Parodontologie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg darstellt, wird hierdurch erwartet.

7. Zusammenfassung

Um in der Schmelzreifungsforschung ein häufig wechselndes Einwirken de- und remineralisierender Lösungen auf Probekörper über längere Zeiträume realisieren zu können, wurde ein pH-cycling-System entwickelt und gebaut.

Dieses kann bis zu 50 Zähne oder bis zu 100 Zahnschliffe zwei verschiedenen Lösungen in variabler Reihenfolge jeweils zwischen zehn Sekunden und fünfzehn Stunden lang aussetzen. Selbst der Einsatz höhervisköser Lösungen, wie 4,5%ige Hydroxyethylzelluloselösung, sowie Klarspülgänge mit Wasser sind möglich.

Die funktionstragenden Bauteile sind Magnetventile, Vierkammermembran-pumpen und kapazitive Füllstandssensoren, welche durch eine elektronische Steuerung koordiniert werden.

Unter Anwendung der Fenstertechnik wurde zum Testen des Gerätes die Erzeugung artifizieller Karies und deren Mineralisation unter variierenden Bedingungen angestrebt. Eine Reduktion der Tiefe der kariösen Läsion durch pH-cycling ist möglich.

Weiterhin konnte eine Verdichtung oberflächlichen Zahnschmelzes polarisationsoptisch nachgewiesen werden.

Dieses pH-cycling-System kann nicht nur bei Untersuchungen zur Schmelzreifung, sondern auch zum Testen zahnärztlicher Füllungswerkstoffe z.B. zur Prüfung deren langzeitkariesprotektiver Eigenschaften im Füllungsrandbereich eingesetzt werden.

8. Literaturverzeichnis

1. Adam J, Deutschmann C, Enke H, Haerting J, Lautenschläger C, Wortha H-P: Einführung in die medizinische Biometrie. Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 1992, S.20-24
2. Al-Khateeb S, Oliveby A, de Josseline de Jong E, Angmar-Mansson B: Laser fluorescence quantification of remineralisation in situ of incipient enamel lesions: influence of fluoride supplements. Caries Res 31 (1997) 132-140
3. Almqvist H, Lagerlöf F, Angmar-Mansson B: Automatic pH-cycling caries model applied on root hard tissue. Caries Res 24 (1990) 1-5
4. Almqvist H, Lagerlöf F:Influence of constant fluoride levels in solution on root hard tissue de- and remineralization measured by ^{125}J absorptiometry. Caries Res 27 (1993) 100-105
5. Appert C: Wissenschaftliche Dokumentation Ariston pHc. Wiss. Dienst, F&E Vivadent,Schaan, Lichtenstein (1998)
6. Arends J, Jongebloed WL, Schuthof J: Crystallite Diameters of enamel near the anatomical surface - an investigation of mature, deciduous and non-erupted human enamel. Caries Res 17 (1983) 97-105
7. Benelli EM, Serra MC, Rodrigues Jr AL, Cury JA: In situ anticariogenic potential of glass ionomer cement. Caries Res 27 (1993) 280-284
8. Binus W, Czerepak C, Stiefel A: Zum Reifegrad des Fissurenschmelzes durchbrechender Zähne. Zahn- Mund- Kieferheilkd. 75 (1987b) 657-664
9. Binus W, Pilz MEW, Stiefel A: Initialkaries: präventiv-therapeutische Alternativen eines pathobiologischen Phänomens. Johann Ambrosius Barth, Leipzig, 1987a, S.16
10. Binus W, Stiefel A, Grube M: Zur Remineralisation initialkariöser Veränderun- gen. Wiss. Z. Univ. Rostock, Sonderheft 1985, 58-60
11. Binus W, Stiefel A: Enamel surface maturity and possibilities of caries prevention. Profilaktyka 1988, Poznan 16.-18. Mai 1988
12. Buskes JAKM, Christoffersen J, Arends J: Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. Caries Res 19 (1985) 490-496

13. Chow LC, Takagi S, Shih S: Effect of a two-solution fluoride mouthrinse on remineralization of enamel lesions in vitro. J Dent Res 71 (1992) 443-447
14. Chow LC, Takagi S: A quasi-constant composition method for studying the formation of artificial caries-like lesions. Caries Res 23 (1989) 129-134
15. Collys K, Cleymaet R, Coomans D, Michotte Y, Slop D: Rehardening of surface softened and surface etched enamel in vitro and by intraoral exposure. Caries Res 27 (1993) 15-20
16. Creanor SL, Strang R, Stephen KW: Demineralization in acidified gelatin at different sites on the same enamel surface. Caries Res 23 (1989) 345-347
17. Creanor SL, Strang R, Telfer S, MacDonald I, Smith MJ, Stephen KW: In situ appliance for the investigation of enamel de- and remineralisation. Caries Res 20 (1986) 385-391
18. Damato FA, Strang R, Stephen KW: Comparison of solution- and gel-prepared enamel lesions - an in vitro pH-cycling study. J Dent Res 67 (1988) 1122-1125
19. Damato FA, Strang R, Stephen KW: Effect of fluoride concentration on remineralization of carious enamel: an in vitro pH-cycling study. Caries Res 24 (1990) 174-180
20. Dawes C: A mathematical model of salivary clearance of sugar from the oral cavity. Caries Res 17 (1983) 321-334
21. Dibdin GH: Effect on a cariogenic challenge of saliva/plaque exchange via a thin salivary film studied by mathematical modelling. Caries Res 24 (1990) 231-238
22. Dibidin GH, Reece GL: Computer simulation of diffusion with reaction in dental plaque. Caries Res 18 (1984) 191
23. Dijkman GEHM, Arends J: Secondary caries in situ around fluoride-releasing light-curing composites: a quantitative model investigation on four materials with a fluoride content between 0 and 26 vol%. Caries Res 26 (1992) 351-357
24. Dijkman GEHM, deVries J, Arends J: Secondary caries in dentine around composites: a wavelength-independent microradiographical study. Caries Res 28 (1994) 87-93
25. Donoghue HD, Perrons CJ, Hudson DE: The role of H_2O_2 and the lactoperoxidase-SCN-H_2O_2 system on the interaction between two bacteria

originating from human dental plaque, streptococcus rattus (mutans) BHT and streptococcus mitior LPA-1, grown on human teeth in an artificial mouth. Archs oral Biol 30 (1985) 519-523

26. Dummer PMH, Edmunds DH, Green RM: Demineralisation of human enamel by Streptococcus mutans NCTC 10832 using a sequential batch culture technique. Caries Res 16 (1982) 193-196
27. EGE-Elektronik Spezial-Sensoren GmbH Ravensberg 34 D-24214 Gettorf: Katalog Strömungswächter. 1998, S1.08-1.11
28. Feagin FF, Clarkson BH, Wefel JS: Chemical and physical evaluation of dialyzed-reconstituted acidified gelatin surface lesions of human enamel. Caries Res 19 (1985) 219-227
29. Featherstone JDB, Cutress TW, Rodgers BE, Dennison PJ: Remineralization of artificial caries-like lesions in vivo by a self-administered mouthrinse or paste. Caries Res 16 (1982) 235-242
30. Featherstone JDB, Glena R, Shariati M, Shields CP: Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralisation of dental enamel on fluoride concentration. J Dent Res 69 (Spec Iss 1990) 620-625
31. Featherstone JDB, Shariati M, Brugler S, Fu J, White DJ: Effect of an anticalculus dentifrice on lesion progression under pH cycling conditions in vitro. Caries Res 22 (1988) 337-341
32. Featherstone JDB: Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. Dent Mater 12 (1996) 194-197
33. Flojet Corporation 12 Morgan Irvine, CA 92718-2003 USA: Automatic water system pump "quad diaphragm" flojet 4405 series
34. Fontana M, Dunipace AJ, Gregory RL, Noblitt TW, Li Y, Park KK, Stookey GK: An in vitro microbial model for studying secondary caries formation. Caries Res 30 (1996) 112-118
35. Gilmour ASM, Edmunds DH, Newcombe RG, Clark MF: An in vitro study into the effect of a bacterial artificial caries system on the enamel adjacent to composite and amalgam restorations. Caries Res 27 (1993) 169-175
36. Goulet D, Brudevold F: Salivary glucose clearance after rinsing with solutions of different concentrations of glucose. Caries Res 18 (1984) 481-487

37. Groeneveld A, Purdell-Lewis DJ, Arends J: Influence of the mineral content of enamel on caries like lesions produced in hydroxyethyl cellulose buffer solutions. Caries Res 9 (1975) 127-138
38. GSR - Gesellschaft für Steuer- und Regeltechnik GmbH & Co. KG Im Meisenfeld 1 32602 Vlotho: Datenblatt zur Baureihe 43 - Type 43; Stand 08/91
39. Hafström-Björkman U, Sundström F, de Josselin de Jong E, Oliveby A, Angmar-Mansson B: Comparison of laser fluorescence and longitudinal microradiography for quantitative assessment of in vitro enamel caries. Caries Res 26 (1992) 241-247
40. Hardie JM, Silverstone LM, Bowden GH: Modification of acid attack on enamel surfaces in vitro by aggregations of bacteria. Caries Res 5 (1971) 290-304
41. Hellwig E, Attin T, Metke W: Beeinflusst eine Fluoridlackapplikation die De- und Remineralisation von kariösen Initialläsionen in vitro? Schweiz Monatsschr Zahnmed 103 (1993) 150-155
42. Hellwig E, Klimek J, Attin T: Einführung in die Zahnerhaltung. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1995, S.101
43. Herkströter FM, Witjes M, Arends J: Demineralization of human dentine compared with enamel in a pH-cycling apparatus with a constant composition during de- and remineralization periods. Caries Res 25 (1991) 317-322
44. Huang CT, Little MF, Johnson R: Influence of carbohydrates on in vitro lesion production. Caries Res 15 (1981) 54-59
45. Huster K: In-vitro-Studien zur Beeinflussung der Sekundärkaries-entwicklung durch Fluoride. Halle, Univ., Med.Fak., Diss., S. 38-40, 1991
46. ifm electronic GmbH Teichstraße 4 45127 Essen: Katalog Strömungssensoren efector 300®. 1997/98
47. Ingram GS, Silverstone LM: A chemical and histological study of artificial caries formation. Caries Res. 15 (1981) 198
48. Kawasaki K, Featherstone JDB: Effects of collagenase on root demineralization. J Dent Res 76 (1997) 588-595

49. Kidd EAM, Richards A, Thylstrup A, Fejerskov O: The susceptibility of young and old human enamel to artificial caries in vitro. Caries Res 18 (1984) 226-230
50. Kirkham J, Robinson C, Strong M, Shore RC: Effects of frequency and durations of acid exposure on demineralization/remineralization behavior of human enamel in vitro. Caries Res 28 (1994) 9-13
51. Klimek J, Hellwig E, Ahrens G: Fluoride taken up by plaque, by the underlying enamel and by clean enamel from three fluoride compounds in vitro. Caries Res 16 (1982) 156-161
52. Knappwost A: Cu-dotierte Tiefenfluoridierung der Kavitäten statt Fluoridabgabe aus Kunststoffüllungen. ZMK 1-2/1998 6-9
53. Koulourides T, Chien MC: The ITC in situ experimental model in dental research. J Dent Res 71 (Spec Iss 1992) 822-827
54. Koulourides T, Phantumvanit P, Munksgaard EC, Housch T: An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. J oral Pathol 3 (1974) 185-195
55. Kraft U, Gängler P: Die mikroanalytische Bestimmung des Ca/P-Verhältnisses bei De- und Remineralisation des menschlichen Zahnschmelzes. Zahn-, Mund- u. Kieferheilkd. 72 (1984) 305-310
56. Lamb WJ, Corpron RE, More FG, Beltran ED, Strachan DS, Kowalski CJ: In situ remineralization of subsurface enamel lesion after the use of a fluoride chewing gum. Caries Res 27 (1993) 111-116
57. Linden L-A: Microscopic observations of fluid flow through enamel in vitro. Odontol Revy 19 (1968) 349-356
58. Liske P: Der Einfluß unterschiedlicher Formen der lokalen Fluoridierung auf die Entstehung und das Ausmaß kariesähnlicher Läsionen in vitro. Halle, Univ., Med. Fak., Diss. S. 36, 1988
59. Magrolis HC, Murphy BJ, Moreno EC: Development of carious-like lesions in partially saturated lactate buffers. Caries Res 19 (1985) 36-45
60. Manning RH, Edgar WM: Intra-oral models for studying de- and remineralization in man: methodology and measurement. J Dent Res 71 (Spec Iss 1992) 895-900
61. Mellberg JR: Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. J Dent Res 71 (Specc Iss 1992) 913-919

62. Multicomat Bernstraße 4 CH-3076 Worb: Technisches Datenblatt Programmierbare Zeitrelais CX 36
63. Noorda WD, Purdell-Lewis DJ, van Montfort AMAP, Weerkamp AH: Monobacterial and mixed plaques of Streptococcus mutans and Veillonella alcalescens in an artificial mouth: development, metabolism, and effect on human dental enamel. Caries Res 22 (1988) 342-347
64. Noorda WD, van Montfort AMAP, Purdell-Lewis DJ, Weerkamp AH: Developmential and metabolic aspects of a monobacterial plaque of Streptococcus mutans C 67-1 grown on human enamel slabs in an artificial mouth model. Caries Res. 20 (1986) 300-307
65. Ögard B, Rölla G: The in vivo orthodontic banding model for vital teeth and the in situ orthodontic banding model for hard-tissue slabs. J Dent Res 71 (Spec Iss 1992) 832-835
66. Page DJ: A study of the effect of fluoride delivered from solution and dentifrices on enamel demineralization. Caries Res 25 (1991) 251-255
67. Rädle E: High-Tech-Produkt Zahnpasta. ZMK 6 (1994) 34-36
68. Reeh ES, Douglas WH, Levine MJ: Lubrication of saliva substitutes at enamel-to-enamel contacts in an artificial mouth. J Prosthet Dent 75 1996 649-656
69. Robinson C, Kirkham J, Baverstock AC, Shore RC: A flexible and rapid pH cycling procedure for investigations into the remineralization and demineralization behaviour of human enamel. Caries Res 26 (1992) 14-17
70. Rosin M, Rentsch H: Eine präventiv orientierte Füllungstherapie. ZM 20 (1997) 37-43
71. Sato K, Yamamoto H: Studies on the formation of laminations within artificial caries-like lesions of enamel. Caries Res 20 (1986) 40-47
72. Schäfer F, Raven SJ, Parr TA: The effect of lesion charakteristic on remineralization and model sensitivity. J Dent Res 71 (Spec Iss 1992): 811-813
73. Schiffner U: Der Einfluß von Speichelproteinen auf die Demineralisation von Zahnschmelz: Untersuchungen in einer künstlichen Mundhöhle. Carl Hanser Verlag, München, Wien, 1993, S. 59

74. Schmidt WJ, Keil A: Die gesunden und die erkrankten Zahngewebe des Menschen und der Wirbeltiere im Polarisationsmikroskop. Carl Hanser Verlag, München, 1958 S.5-13
75. Sheridan P: Artificial mouth reproduces enviroment for evaluation of new materials. J Amer Dental Assoc 112 (1986) 238-239
76. Silva MFA, Jenkins GN, Burgess RC, Sandham HJ: Effects of cheese on experimental caries in human subjects. Caries Res 20 (1986) 263-269
77. Silverstone LM, Wefel JS, Zimmermann BF, Clarkson BH, Featherstone MJ: Remineralization of natural and artificial lesions in human dental enamel in vitro. Caries Res 15 (1981) 138-157
78. Sissons CH, Cutress TW, Pearce EIF: Kinetics and product stoichiometry of ureolysis by human salivary bacteria and artificial mouth plaques. Archs oral Biol 30 (1985) 781-790
79. Sissons CH, Cutress TW: In-vitro urea-dependent pH-changes by human salivary bacteria and dispersed, artificial mouth, bacterial plaques. Archs oral Biol 32 (1987)181-189
80. Sissons CH, Hancock EM, Cutress TW: The source of variation in ureolysis in artificial plaques cultured from human salivary bacteria. Archs oral Biol 33 (1988) 721-726
81. Spengler H: Technisches Handbuch Pumpen. VEB Verlag Technik, Berlin, 1976 S. 13
82. Stephan RM: Intra-oral hydrogenion concentrations associated with dental caries activity. J Dent Res 23 (1944) 257
83. Stephen KW, Damato FA, Strang R: An in situ enamel section model for assessment of enamel re/demineralization potential. J Dent Res 71 (Spec Iss 1992) 856-859
84. Stiefel A, Binus W, Cobet U: Zum Fluorgehalt im Zahn nach verschiedenen Fluoridierungsmaßnahmen. Wiss. Zeitschrift der Humbold-Universität zu Berlin, R. Med. 39 (1990) Heft 3 288-290
85. Stiefel A, Binus W: Der Einfluß der Abrasion auf Mikrostruktur und Elementgehalt von Zahnhartsubstanzen. Wiss. Z. Univ. Rostock, Sonderheft 1985, 25-26
86. Stiefel A, Binus W: Fluoride content of dental enamel after different caries-preventive applications. Profilaktyka 1988, Poznan 16.-18. Mai 1988

87. Stiefel A, Binus W: Schmelzreifung und Zahndurchbruch. Dtsch. Stomatol. 41 (1991) 337-340
88. Stookey GK, Warrick JM, Miller LL, Greene AL: Animal caries models for evaluating fluoride dentifrices. Adv Dent Res 9/3 (1995) 198-207
89. Stookey GK: Reactor paper concerning patient selection and appliance design in intra-oral models. J Dent Res 71 (Spec Iss 1992) 911-912
90. ten Cate JM, Arends J: Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. Caries Res 11 (1977) 277-286
91. ten Cate JM, Buijs MJ, Damen JJM: PH-cycling of enamel and dentin lesions in the presence of low concentrations of fluoride. Eur J Oral Sci 103 (1995) 362-367
92. ten Cate JM, Duijsters PPE: Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. Caries Res 16 (1982) 201-210
93. ten Cate JM, Duijsters PPE: Influence of fluoride in solution on tooth demineralization II. microradiographic data. Caries Res. 17 (1983) 513-519
94. ten Cate JM, Jongebloed WL, Arends J: Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. IV. Influence of fluorides and diphosphonates on short- and long-term remineralization. Caries Res 15 (1981) 60-69
95. ten Cate JM, Simons YM: PH cycling : a useful technique now being automated. Caries Res 23 (1989) 114-115
96. ten Cate JM, Timmer K, Shariati M, Featherstone JDB: Effect of timing of fluoride treatment on enamel de- and remineralization in vitro: a pH-cycling study. Caries Res 22 (1988) 20-26
97. ten Cate JM: In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralisation. J Dent Res 69 (Spec Iss 1990) 614-619
98. ten Cate JM: Patient selection and appliance design in intra-oral models. J Dent Res 71 (Spec Iss 1992) 908-910
99. Theuns HM, van Dijk JWE, Driessens FCM, Groeneveld A: Effect of the pH of buffer solutions on artificial carious lesion formation in human tooth enamel. Caries Res 18 (1984a) 7-11
100. Theuns HM, van Dijk JWE, Driessens FCM, Groeneveld A: Effect of time and degree of saturation of buffer solutions on artificial carious lesion formation in human tooth enamel. Caries Res 17 (1983) 503-512

101. Theuns HM, van Dijk JWE, Driessens FCM, Groeneveld A: The influence of the composition of demineralizing buffers on the surface layers of artificial carious lesions. Caries Res 18 (1984b) 509-518
102. Tinanoff N, Camosci DA: Effect of NaF and SnF_2 in drinking water on hamster dental caries (short communication) Caries Res 18 (1984) 71-73
103. van der Reijden WA, Buijs MJ, Damen JJM, Veerman ECI, ten Cate JM, Nieuw Amerongen AV: Influence of polymers for use in saliva substitutes on de- and remineralization of enamel in vitro. Caries Res 31 (1997) 216-223
104. Viazis AD, deLong R, Bevis RR, Rudney JD, Pintado MR: Enamel abrasion from ceramic orthodontic brackets under an artificial oral environment. Am J Orthod Dentofac Orthop 98 (1990) 103-109
105. Wefel JS, Maharry G, Jensen ME, Harless JD: Development of an intra-oral single-section remineralization modell. J Dent Res 66 (1987) 1485-1489
106. Wefel JS: Effects of fluoride on caries development and progression using intra-oral models. J Dent Res 69 (Spec Iss 1990) 626-633
107. White DJ, Nancollas GH: Physical and chemical considerations of the role of firmly and loosely bound fluoride in caries prevention. J Dent Res 69 (Spec Iss 1990) 587-594
108. White DJ: Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries II. Effects on subsurface lesions: F uptake, F distribution, surface hardening and remineralization. Caries Res 22 (1988) 27-36
109. White DJ: Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries I. Effects on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. Caries Res 21 (1987a) 126-140
110. White DJ: The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. Adv Dent Res 9/3 (1995) 175-193
111. White DJ: Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. Caries Res 21 (1987b) 228-242
112. Zero DT: In situ caries models. Adv Dent Res 9/3 (1995) 214-230

Thesen

1. Ursächlich sind für den Primärkariesbefall bei Kindern und Jugendlichen nicht in erster Linie deren Ernährungsgewohnheiten oder Defizite in der Mundhygiene verantwortlich, sondern ein posteruptiv noch unreifer Zahnschmelz.

2. Während der tertiären Schmelzreifung erfolgt eine Verdichtung der äußeren Schmelzschicht, die nach dem Zahndurchbruch in einer Breite von 300-500 µm von interkristallinen Porenkanälen durchsetzt und dadurch porös ist.

3. Mit der allmählichen Einengung der Spalträume und Kompaktierung der äußeren Schmelzschichten können Säuren nicht mehr so leicht eindringen; es resultiert eine höhere Kariesresistenz von Zähnen mit ausgereiftem Schmelz.

4. Der häufige Wechsel von De- und Remineralisation über lange Zeiträume von Jahren kann ein Schmelzverdichtung bewirken, indem während der Demineralisation Kristallite an- bzw. aufgelöst werden, um während einer nachfolgenden Remineralisation mit insgesamt höherer substantieller Qualität und etwas größerem Durchmesser um- oder neuzukristallisieren.

5. Ein in-vivo-Nachweis ist bisher aufgrund methodischer Schwierigkeiten nicht erbracht worden, da es nötig ist, Probezähne mindestens zwei verschiedenen Medien im häufigen Wechsel über längere Zeiträume von Monaten aussetzen zu können.

6. Vor diesem Hintergrund war es Ziel der vorliegenden Dissertation, eine geeignete Versuchsanordnung zu entwickeln, zu bauen und zu testen.

7. Unter Nutzung der pH-cycling-Technik wurde ein entsprechendes Gerät erstellt, welches bis zu 50 Zähne oder 100 Zahnschliffe zwei verschie-

denen Lösungen zwischen 10 Sekunden und 15 Stunden in einstellbarer Reihenfolge aussetzen kann.

8. Selbst der Einsatz höhervisköser Substanzen, wie z.B. 4,5%ige Hydroxyethylzellulose sowie Wasserspülungen zu Reinigungszwecken, sind möglich.

9. Wesentliche funktionstragende Bauteile sind Magnetventile, Membranpumpen und Füllstandssensoren, die durch eine elektronische Steuerung koordiniert werden.

10. In einem vierwöchigen Versuch zum Gerätetest konnten an 33 Zähnen subfizielle initialkariöse Läsionen, Mineralisationen und Remineralisationen erzeugt und anschließend polarisationsoptisch nachgewiesen werden.

11. Das vorliegende pH-cycling-System ist sehr gut zum Einsatz in der Schmelzreifungsforschung und zur Untersuchung von Mineralisations-und Remineralisationsvorgängen geeignet, da Probezähne über längere Zeiträume in häufigem Wechsel verschiedenen Medien exponiert werden können.

12. Eine weitere Einsatzmöglichkeit ist das Testen der kariesprotektiven Eigenschaften von Füllungsmaterialien mit Refill-Effekt bzw. von "smart restorative materials" im Hinblick auf die an die Restauration grenzende Zahnhartsubstanz.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name:	Brandt
Vorname:	Michael
Geburtsdatum/-ort:	19.10.1971, Brehna
Familienstand:	ledig

Schulbildung:

1978-1988	Allgemeinbildende Polytechnische Oberschule
1988-1990	Erweiterte Oberschule (Gymnasium) Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

Wehrdienst:

1990-1991	Artillerieregiment 11, Wolfen

Hochschulbildung:

1991-1996	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Studiengang Zahnmedizin
1996	Approbation als Zahnarzt

Berufliche Tätigkeit:

1996-1997	Assistenzzahnarzt in Praxis Dr. Schlegel, Teuchern
seit 10.1997	wissenschaftlicher Mitarbeiter der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in der Poliklinik für Zahnerhaltung/ Parodontologie

Halle, 15.11.1998

Michael Brandt

Ich erkläre an Eides Statt, daß ich die vorliegende Dissertation selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Halle, den 15.11.1998

Michael Brandt

Publikation von Ergebnissen dieser Arbeit

Mit der Vorstellung wesentlicher Ergebnisse der Arbeit im Rahmen des BZÄK/ DGZMK Dentsply-Förderpreises während der 122. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde vom 15.-17. Oktober 1998 in Bremen konnte der dritte Preis erzielt werden.

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, daß ich bisher keine Promotionsversuche unternommen habe. Weder diese noch eine andere Dissertation wurde von mir an anderer Stelle zu Promotionszwecken eingereicht.

Halle, den 15.11.1998

Michael Brandt