

Aus der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar  
(Direktor: Prof. Dr. Matthias Hannig)

**Ultrastrukturelle Analyse von Bioadhäsions- und Erosionsprozessen am  
Dentin**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde der  
Medizinischen Fakultät  
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES  
2011**

vorgelegt von: Christina Bauer  
geb. am: 30.01.1983 in Würzburg

## **Widmung**

Diese Arbeit widme ich meinem Vater und meiner Mutter

## Inhaltsverzeichnis

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| <b>1.</b> | <b>Zusammenfassung / Summary</b>                        | <b>1</b>  |
| <b>2.</b> | <b>Einleitung</b>                                       | <b>6</b>  |
| 2.1       | Entstehung der Pellikel                                 | 6         |
| 2.2       | Ultrastruktur der Pellikel                              | 8         |
| 2.3       | Bedeutung der Pellikel                                  | 9         |
| 2.4       | Bakterielle Adhärenz auf der Pellikel                   | 10        |
| 2.5       | Forschungsstand zur Biofilm-Bildung speziell auf Dentin | 11        |
| 2.6       | Rolle der Pellikel bei erosiven Prozessen               | 12        |
| 2.7       | Fragestellung   | 14        |
| <b>3.</b> | <b>Material und Methode</b>                             | <b>14</b> |
| 3.1       | Prinzipieller Versuchsaufbau                            | 14        |
| 3.2       | Probanden   | 15        |
| 3.3       | Material  | 15        |
| 3.3.1     | Probekörpertrageschienen                                | 15        |
| 3.3.2     | Prüfkörper aus Rinderdentin                             | 15        |
| 3.3.3     | Montage der Prüfkörper auf Probekörpertrageschienen     | 19        |
| 3.3.4     | Zitronensäure   | 19        |
| 3.3.5     | Magnetrührer  | 19        |
| 3.4       | Versuche zur Biofilmbildung und Erosion der Prüfkörper  | 19        |
| 3.4.1     | Versuchsbedingungen                                     | 24        |
| 3.4.2     | Versuchsreihen mit Säureexposition                      | 24        |
| 3.5       | Fixierung der Probekörper                               | 25        |

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| 3.6       | Osmierung der Probekörper                        | 26        |
| 3.7       | Entwässerung der Probekörper                     | 26        |
| 3.8       | Einbettung                                       | 26        |
| 3.9       | Herstellung der Ultradünnschnitte                | 27        |
| 3.10      | Transmissionselektronenmikroskopische Auswertung | 27        |
| <b>4.</b> | <b>Ergebnisse der Versuche</b>                   | <b>27</b> |
| 4.1       | Versuche ohne Zitronensäureexposition            | 27        |
| 4.1.1     | Ultrastruktur der bukkal gebildeten Pellikel     | 27        |
| 4.1.2     | Ultrastruktur der palatinal gebildeten Pellikel  | 34        |
| 4.2       | Versuche mit Zitronensäureexposition             | 39        |
| 4.2.1     | Versuchsreihe A                                  | 40        |
| 4.2.2     | Versuchsreihe B                                  | 44        |
| 4.2.3     | Versuchsreihe C                                  | 49        |
| 4.2.4     | Versuchsreihe D                                  | 52        |
| <b>5.</b> | <b>Diskussion</b>                                | <b>56</b> |
| 5.1       | Material und Methode                             | 56        |
| 5.1.1     | Prüfkörper                                       | 56        |
| 5.1.2     | Prüfkörpertrageschienen                          | 57        |
| 5.1.3     | Versuchsbedingungen                              | 58        |
| 5.1.4     | Transmissionselektronenmikroskopische Analyse    | 58        |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| 5.2       | Diskussion der Ergebnisse   | 59        |
| 5.2.1     | Versuche ohne Zitronensäureexposition   | 59        |
| 5.2.1.1   | Ultrastruktur der bukkal gebildeten Pellikel  | 59        |
| 5.2.1.2   | Ultrastruktur der palatinal gebildeten Pellikel   | 61        |
| 5.2.2     | Versuche mit Zitronensäureexposition  | 63        |
| 5.2.2.1   | Diskussion einer Schutzfunktion gegen Dentindemineralisation durch eine 30min-Pellikel oder eine Säureexposition in vivo                | 64        |
| 5.2.2.1.1 | Diskussion einer Schutzfunktion gegen Dentindemineralisation durch eine 30min-Pellikel  | 64        |
| 5.2.2.1.2 | Diskussion einer Schutzfunktion gegen Dentindemineralisation durch eine Säurespülung in vivo  | 68        |
| 5.2.2.2   | Diskussion der unterschiedlichen Dentindemineralisation durch 0,1%ige und 1%ige Zitronensäure   | 70        |
| 5.2.2.3   | Diskussion der Pellikelzerstörung durch Zitronensäure und einer Schutzfunktion gegen Pellikelzerstörung durch eine Säurespülung in vivo | 71        |
| 5.2.2.3.1 | Diskussion der Pellikelzerstörung durch Zitronensäure   | 71        |
| 5.2.2.3.2 | Diskussion einer Schutzfunktion gegen Pellikelzerstörung durch eine Säurespülung in vivo  | 75        |
| 5.2.2.4   | Diskussion einer Pellikelregeneration nach einem Säureangriff durch eine Nachtragezeit  | 77        |
| 5.2.2.5   | Diskussion einer Dentinremineralisation nach einem Säureangriff durch eine Nachtragezeit  | 80        |
| 5.3       | Schlussfolgerung  | 83        |
| <b>6.</b> | <b>Literaturverzeichnis</b>   | <b>86</b> |
| <b>7.</b> | <b>Danksagung</b>   | <b>94</b> |

|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| <b>8.</b> | <b>Lebenslauf</b>  | 95  |
| <b>9.</b> | <b>Anhang</b>  | 96  |
| 9.1       | Übersichtstabelle Nr. 1: Katalogisierung ultrastruktureller transmissionselektronenmikroskopischer Befunde anhand von 11 Mustern | 96  |
| 9.2       | Übersichtstabellen Nr. 2   | 102 |
| 9.2.1     | Übersichtstabelle 1: Übersicht der transmissionselektronenmikroskopischen Befunde mit Berücksichtigung der einzelnen Probanden   | 102 |
| 9.2.2     | Übersichtstabelle 2: zusammenfassende Übersicht der transmissionselektronenmikroskopischen Befunde                               | 105 |
| 9.3       | Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen  | 107 |

## 1. Zusammenfassung

Innerhalb weniger Minuten bildet sich auf jeglicher intraoral vorkommender Oberfläche ein Film aus Biopolymeren, adsorbiert aus dem Speichel, die sogenannte Pellikel. Abhängig von der Lokalisation der Oberflächen in der Mundhöhle erfolgt nun die bakterielle Besiedlung des mehr oder weniger stark entwickelten Biopolymerfilms, der in diesem Stadium jetzt nicht mehr Pellikel genannt wird, sondern Plaque. Die durch Zellteilung immer zahlreicher werdenden Bakterien der Plaque verstoffwechseln aufgenommenen Zucker zu Säure, welche der Zahnhartsubstanz zwecks Neutralisation Calcium entzieht und so die Entwicklung einer Karies bewirken kann.

Das Ziel der Erforschung der Plaque ist aus präventiver Sicht die Inhibition ihrer pathogenen Eigenschaften, um Erkrankungen des Zahnhalteapparates und der Zahnhartsubstanz zu verhindern oder zumindest zu minimieren bzw. die protektiven Eigenschaften der Pellikel vor Attrition, Abrasion und Erosion auszunutzen, um Schäden an der Zahnschmelz vorzubeugen. Voraussetzung hierfür ist eine profunde Kenntnis der intraoral ablaufenden Bioadhäsionsprozesse nicht nur auf Schmelz, sondern auch auf Dentin. Daher war die primäre Zielstellung dieser Arbeit die Darstellung und Analyse unterschiedlich lang gereifter Pellikel auf Rinderdentin. Der zweite Schwerpunkt hinterfragte die Schutzfunktion der Pellikel für Dentin vor einem erosiven Agens (Zitronensäure). Die zentralen Fragen lauteten hierbei, wie sowohl die Pellikel als auch das Dentin auf 0,1%ige bzw. 1%ige Zitronensäure reagieren und ob und wie sich im Folgenden eine durch einen Säureangriff zerstörte Pellikel bzw. durch einen Säureangriff demineralisiertes Dentin wieder regenerieren.

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden auf partielle Minioplastschienen Dentinbruchkörper mit Hilfe eines dünnflüssigen Silikons montiert und die Schienen über Zeiträume zwischen drei und 360 Minuten intraoral getragen. In bestimmten Versuchsreihen wurde das Dentin, mit oder ohne eine 30 Minuten alte Pellikel, der Einwirkung von Zitronensäure in verschiedenen Konzentrationen in vivo oder in vitro exponiert. Nach Aufarbeitung der Proben in diversen Arbeitsschritten konnten charakteristische Aufnahmen der Pellikel und des Dentins unter dem Transmissionselektronenmikroskop angefertigt werden.

Im ersten Teil der Studie wurde die drei, 30, 120 sowie 360 Minuten alte Pellikel beurteilt. Die bukkale und palatinale Entwicklung der Pellikel bzw. des Biopolymerfilms steigerte sich vom 3min-Präparat mit einzelnen, unverbundenen, homogen granulären Proteinagglomeraten hin zu einem im Durchschnitt 1  $\mu\text{m}$  (bukkal) bzw. 200 nm (palatinal) dicken heterogen, d.h. mit

granulären und globulären Agglomeraten, strukturierten Biopolymerfilm mit zahlreichen Kokkenkolonien nach 360minütiger intraoraler Exposition.

Auf einer elektronendichten Basis bildeten sich bukkal nach wenigen Minuten locker strukturierte, granuläre Agglomerate. Durch Anlagerung größerer Agglomerate aus den Speicheldrüsen wuchs die Pellikel weiter an. Nach 120 Minuten lag die durchschnittliche Pellikelstärke bereits bei 400 nm. Nach weiteren 240 Minuten zog die heterogene, globulär-granuläre 360min-Pellikel mit zahlreichen Kokken ohne Unterbrechung mit durchschnittlich 1 µm Dicke über das Dentin.

Die palatinale Pellikel, hingegen, zeigte keinen kontinuierlichen Verlauf über das Dentin. Auf einer elektronendichten Basis steigerte die lockere, granuläre Pellikel ihre Schichtdicke von 50 nm auf mehrere 100 nm im 360 Minutenpräparat. Vereinzelt tauchten in der palatinalen Pellikel globuläre Agglomerate auf. Bakterien besiedelten die palatinale Pellikel schneller und in den Tubuli zahlreicher als bukkal.

Im zweiten Teil der Arbeit erfolgte die Beurteilung des in Zitronensäure exponierten Dentins bzw. der in Zitronensäure exponierten Pellikel.

In der Versuchsreihe A wurde Dentin 0,1%iger oder 1%iger Zitronensäure für eine Minute in vivo oder in vitro ausgesetzt. Die Stärke der Demineralisation verdoppelte bis verzehnfachte sich im Präparat mit 1%iger Zitronensäure im Vergleich zu 0,1%iger Zitronensäure. Im gleichen In-vitro-Versuch kam es nur zu einer kappen Verfünffachung der Demineralisation.

Die Versuchsreihe B befasste sich mit einer ein-minütigen Zitronensäurespülung mit 0,1%iger oder 1%iger Säure in vivo oder in vitro nach einer intraoralen Tragezeit der Dentinproben von 30 Minuten. Die Demineralisation unter dem Einfluss von 1%iger Zitronensäure im Vergleich zu 0,1%iger Zitronensäure ergab in vivo eine Verdreifachung, in vitro stieg die Stärke der Demineralisation auf das Zwei- bis Zehnfache an. Bei Betrachtung der Pellikel nahm ihre Dicke, wie zu erwarten, nach einer 1%igen Zitronensäurebehandlung stärker ab als nach einer Spülung bzw. Exposition mit 0,1%iger Zitronensäure. Die Pellikel insgesamt war homogen strukturiert, mit niedriger Dichte und meist granulärem Aufbau.

In den In-vivo-Versuchsreihen C und D sollte das regenerative Potential für Pellikel und Dentin durch eine intraorale Nachtragezeit von 30 Minuten bzw. 60 Minuten nach einer Zitronensäurebehandlung mit 0,1%iger oder 1%iger Säure untersucht werden. Die geringste Entkalkung, wie zu erwarten, entfiel auf das Dentin mit 60-minütiger Nachtragezeit nach einer Spülung mit 0,1%iger Zitronensäure. Die höchste Demineralisation war im Präparat mit 60-minütiger Nachtragezeit und 1%iger Säureexposition zu verzeichnen. Die Entwicklung der durchschnittlichen Pellikelstärke war bei der 60-minütigen Nachtragezeit und Spülung mit

0,1%iger Zitronensäure erstaunlicherweise am geringsten und im Präparat mit 30 minütiger Nachtragezeit und Spülung mit 0,1%iger Zitronensäure am höchsten. Meist war die Pellikel homogen granulär strukturiert mit einer niedrigen Dichte.

Bei der Auswertung der Versuche mit Zitronensäureexposition wurden einzelne Versuchsreihen miteinander verglichen. Ein eingeschränkt protektiver Effekt für Dentin konnte für eine 30 Minuten alte Pellikel bei einer Säurespülung in vivo belegt werden. Der gleiche In-vitro-Versuch hingegen widerlegte die schützende Funktion der Pellikel. Genauso konnte kein protektiver Effekt für das Dentin durch eine 30 Minuten alte Pellikel beim Vergleich des In-vivo mit dem In-vitro-Versuchen gefunden werden. Eine Verdünnung der Säure durch Speichel und eine Abschwächung der Zitronensäure durch die Pellikel fand, wenn überhaupt, dann nur in geringem Ausmaß statt.

Bei einer Verzehnfachung der Zitronensäurekonzentration von 0,1% auf 1% kam es in dem entsprechenden Vergleich nicht automatisch auch zu einer Verzehnfachung der Demineralisation, sondern präparatabhängig nur zu einer Verdopplung bis Verneunfachung der Entkalkung.

Probandenabhängige Faktoren waren auch bei der Auswertung der Pellikelzerstörung unter dem Einfluss der Zitronensäure zu beachten. Die Pellikel nahm sowohl in ihrer Struktur als auch in ihrer Dicke enormen Schaden.

Für die 30 Minuten alte Pellikel existierte ebenso kein protektiver Effekt in vivo im Vergleich zu in vitro bei einer Spülung mit Zitronensäure. Sowohl in vivo als auch in vitro war die Pellikel aufgelockert, granulär strukturiert und teilweise vom darunterliegenden Dentin abgelöst.

Die letzten beiden Fragestellungen nach einer Pellikel- und Dentinregeneration durch eine Nachtragezeit lieferten ein eindeutiges Ergebnis: weder durch eine 30-minütige noch durch eine 60-minütige Nachtragezeit konnte sich die durch Zitronensäure angegriffene Pellikel oder die demineralisierte Dentinoberfläche, hervorgerufen durch 0,1%ige bzw. 1%ige Zitronensäure, regenerieren. Die Pellikel blieb, egal ob 30 oder 60 Minuten zusätzlicher Tragezeit, dünn, homogen, granulär strukturiert. Auch das demineralisierte Dentin zeigte keine Zunahme seiner Dichte und stagnierte im Hinblick auf die Demineralisationsbreite.

## **Summary**

Within a few minutes, on each intraoral surface a film of biopolymers, called pellicle, will be adsorbed from saliva. Depending on the localisation of the surface in the oral cavity, the bacterial colonisation of the more or less developed film of biopolymers, which is now not called any

more pellicle, but plaque, begins. The bacteria in the plaque, getting more and more numerous via cell division, are metabolising sugar to acid, which is dissolving calcium from the teeth in order to neutralise. This way caries can develop.

From the preventive point of view, the goal of biofilm research is the inhibition of the plaque's pathogenic character to prevent or at least to minimise the affection of the parodontium and the teeth respectively, as well as the use of the protective properties of the pellicle against attrition, abrasion and erosion, in order to prevent damage of the teeth. A precondition for this is the profound knowledge of the intraoral bioadhesion processes, not only on enamel, but also on dentine. Thus the prime goal of this dissertation is the ultrastructural analysis of different stages of the pellicle on bovine dentine. The second focus is the potential protective effect of the pellicle for dentine in front of an erosive agent (citric acid). The essential question in this context is, how the pellicle and dentine are reacting on 0,1% respectively 1% citric acid challenges and, if and how the acid affected pellicle or the demineralised dentine can regenerate subsequently.

To answer these questions, fractured pieces of bovine dentine were mounted with thin fluid silicone on acrylic minisplints. The splints were worn intraorally between three and 360 minutes. In certain experimental series, dentine, with or without 30 minutes old pellicle, was exposed to citric acid in different concentrations in vivo or in vitro. After processing of the specimen in several procedures, characteristic micrographs of pellicle and dentine were taken in the transmission electron microscope.

In the first part of the study, the three, 30, 120 and the 360 minutes old pellicle were evaluated. The formation of the buccal and palatinal pellicle, respectively the film of biopolymers, increased from the 3 minute pellicle with single, loosely arranged, homogeneous granular protein agglomerates to an 1  $\mu\text{m}$  (buccal) or 200 nm (palatinal) thick heterogeneously, structured film of biopolymers with granular and globular agglomerates, as well as coccoid colonies after an intraoral exposure time of 360 minutes.

After a few minutes, loosely structured, granular agglomerates were accumulating buccally on an electron dense layer. Via adsorption of large agglomerates from the salivary glands the pellicle was continuing to grow. After 120 minutes the average pellicle thickness was already 400 nm. After further 240 minutes the heterogeneous, globular-granular 360-min buccal pellicle with numerous coccoid bacteria was covering continuously with an average thickness of 1  $\mu\text{m}$  the dentine.

The palatinal pellicle, in contrast, showed no continuous covering of the dentine. On an electron dense layer the loosely structured, granular pellicle was increasing in thickness from 50 nm up to several hundred nanometres in the 360 minutes specimen. Sporadically, globular agglomerates

were appearing in the palatinal pellicle. Bacteria were colonising the palatinal pellicle faster and in the tubuli more numerous than on buccal localisation.

In the second part of the dissertation, the dentine and pellicle, respectively, exposed to citric acid were evaluated.

During the experimental series A, dentine was exposed to 0,1% or 1% citric acid for one minute in vivo or in vitro. The intensity of demineralisation doubled to decupled comparing the specimen exposed to 0,1% and 1% citric acid. The same in vitro specimen showed only a just under five times higher demineralisation.

The experimental series B dealt with an 1-min rinse using citric acid in 0,1% or 1% concentrations in vivo or in vitro after a 30-min in situ pellicle formation on the dentine slabs. The demineralisation under the influence of 1% citric acid in comparison to 0,1% citric acid was in vivo three times higher, in vitro the intensity of demineralisation grew to double till decuple. Examining the pellicle, its thickness, as expected, diminished after an 1% citric acid treatment in comparison to an intraoral rinse respectively an ex-vivo exposure to 0,1% citric acid. The pellicle on the whole was homogeneously structured, with a low density and mostly with a granular appearance.

The in vivo experimental series C and D should examine the regenerative potential for pellicle and dentine due to an intraoral re-exposure time of 30 or 60 minutes after an intraoral rinse with 0,1% or 1% citric acid. The lowest demineralisation was found, as expected, on the dentine with an intraoral re-exposure time of 60 minutes after an intraoral rinse with 0,1% citric acid. The highest demineralisation was found in the specimen with a re-exposure time of 60 minutes after an intraoral rinse with 1% citric acid. Surprisingly, the average pellicle thickness was the lowest in the specimen with 60 minutes re-exposure time after an intraoral rinse with 0,1% citric acid, and highest in the specimen with 30 minutes re-exposure time after an intraoral rinse with 0,1% citric acid. Mostly, the pellicle was homogeneously granular structured with a low density.

In order to evaluate the experimental series with citric acid exposition, single experimental series were compared to each other. A limited protective effect for dentine was found for a 30 minutes old pellicle exposed to acid in vivo. The same in vitro experiment, in contrast, was disproving a protective function. The same way, no protective effect for dentine was found by a 30 minutes old pellicle comparing the in vivo experiment with the in vitro experiment. A dilution of acid by saliva and a decreasing effect of citric acid by the pellicle were, if at all, taking place only in a low dimension.

With a ten times higher citric acid concentration, from 0,1% to 1%, an automatically ten times

higher demineralisation in the conform experiment comparison could not be found, but depending on the specimen, a doubling till nearly a tenfold of demineralisation was taking place. Subject depending factors had to be considered when evaluating the destruction of the pellicle by citric acid. The pellicle was damaged enormously in its structure as well as in its thickness.

For the 30 minutes old pellicle, no protective effect could be detected in vivo in comparison to in vitro when rinsing with citric acid. As well as in vivo as in vitro, the pellicle was loosely, granular structured and in parts dissolved from the underlying dentine.

The last both questions concerning the regeneration of pellicle and dentine due to an additional exposure time showed a clear result: neither through a 30-min nor through a 60-min intraoral re-exposure the acid-destroyed pellicle or the demineralised dentine, could regenerate. After 30-min or 60-min re-exposure time, the pellicle stayed as a thin, homogeneous and granular structured layer on the dentine. Also the demineralised dentine showed no increase in electron density and revealed no changes in the dimension of the demineralised surface layer.

## **2. Einleitung**

### **2.1 Entstehung der Pellikel**

Unter der Pellikel versteht man den Biopolymerfilm, der sich auf allen Festkörperoberflächen in der Mundhöhle innerhalb kürzester Zeit bildet (Hannig M. und Hannig C., 2007). Die Entstehung der Pellikel ist ein selektiver Prozess (Hay, 1967, Yao et al., 2003), an dem Proteine aus den Speicheldrüsen, der Sulkusflüssigkeit und sogar aus Bakterien beteiligt sind (Hannig M. und Joiner, 2006, Armstrong, 1967, Leach et al., 1967, Mayhall, 1970, 1975, 1977, Sönju und Rölla, 1973, Sönju et al., 1974, Kousvelari et al., 1980, Bennick et al., 1983, Embery et al., 1986, Rykke et al., 1990, Vacca-Smith und Bowen, 2000). Die beherrschenden Komponenten bei der oralen Biofilm-Bildung gehören zu der Gruppe der Glycoproteine, Muzine und Proteine, welche etliche Enzyme der Pellikel stellen wie zum Beispiel Amylase und Lysozym (Hannig C. et al., 2005, Gibbons und Hay, 1988, Rykke et al., 1990). Zusätzlich werden im Verlauf der Adsorption der organischen Biopolymere intraoral auftretende Lipide in die Pellikel eingebaut (Hannig M. und Joiner, 2006, Slomiany et al., 1986). Einzelne Proteine aus den oben genannten Gruppen formieren sich zu einer, je nach Alter der Pellikel, mehr oder weniger dichten und dicken Biopolymerschicht, die sich ausgehend von ihrem Initialstadium aus Proteinaggregationen geringer Größe zu einer ausgereiften Pellikel mit Proteinagglomeraten und ersten adhären

Bakterien entwickelt. Hierbei ist anzumerken, dass diese Adsorption von Proteinen nicht nur an den natürlichen Zahnoberflächen stattfindet, sondern sich genauso an künstlichen Oberflächen, wie Füllungsmaterialien und Prothesenwerkstoffen, feststellen lässt (Hannig M. et al., 2007, Hannig M., 1997). Einzige Ausnahme hierbei bildet das epithelialisierte intraorale Gewebe, welches durch eine kontinuierliche Desquamation die anhaftenden Proteine und Bakterien mit samt seinen abgestorbenen Epithelzellen abstößt und so keine ausgeprägte Biofilm-Bildung an seiner Oberfläche erlaubt (Schlagenhauf, 2006). Auf Grund ihres amphiphilen Charakters neigen die sich im Speichel frei befindlichen Proteine zu einer spontanen Adsorption an allen Festkörperoberflächen des cavum oris (Hannig M. et al., 2007). Neben hydrophoben Wechselwirkungen (Pruitt, 1977, Glantz und Larsson, 1981, Gorbunoff und Tuimasheff, 1984, Norde, 1984), hervorgerufen durch die polaren und unpolaren Gruppen der intraoralen Proteine, sind die bei der Biofilm-Bildung dominierenden Kräfte elektrostatischen Anziehungskräfte (Juriaanse et al., 1981, Moreno et al., 1979, 1982, Kousvelari et al. 1988), Wasserstoffbrückenbindungen und van-der-Waalskräfte (Hannig M. et al., 2007, Vassilakos et al., 1982).

Die Adsorption von Biopolymeren an Festkörperoberflächen der Mundhöhle lässt sich grundsätzlich in zwei Phasen unterteilen (Hannig M. und Hannig C., 2007, Skjörland et al., 1995). Die erste Phase der Biofilm-Bildung beruht auf der Tatsache, dass sich die an der Schmelzoberfläche befindlichen Calcium-Ionen schneller aus ihrem Verband lösen als die vorhandenen Phosphat-Ionen (Hannig M. und Hannig C., 2007, Vacca Smith und Bowen, 2000). Bestimmte Speichelproteine, sogenannte Pellikelpräkursoren (Hannig M. und Joiner, 2006, Lendenmann et al., 2000, Vitkov et al., 2004), interagieren mit den zurückbleibenden Phosphat-Ionen (Bennick et al., 1979, Hay, 1973) und werden schließlich über Calcium-Brücken an die Zahnoberfläche gebunden (Hannig M. und Hannig C., 2007, Embery et al., 1986, Hay, 1967, 1973). Die so entstandene, sehr dünne initiale Pellikel ist bereits nach einem Zeitraum von 30 Sekunden bis drei Minuten nachweisbar (Hannig M. und Joiner, 2006). In der zweiten Phase der Biofilm-Bildung lagern sich weitere Makromoleküle aus dem Speichel an die initiale Pellikel an, und die bereits absorbierten Proteine sind in der Lage, eine Bindung mit Proteinaggregationen aus dem Speichel einzugehen (Hannig M. und Joiner, 2006). Die Biofilm-Bildung ist jedoch nicht nur als eine reine Adsorption von Proteinen aus dem cavum oris zu verstehen, sondern entsteht durch einen dynamischen Prozess aus Adsorption und Desorption von Biopolymeren (Hannig M. und Joiner, 2006, Vacca Smith und Bowen, 2000).

## 2.2 Ultrastruktur der Pellikel

Bei der Betrachtung unter dem Transmissionselektronenmikroskop erscheint die Pellikel in großer ultrastruktureller Vielfalt, welche abhängig ist von ihrer Bildungszeit, ihrer Lokalisation intraoral bis hin zu probandenspezifischen Eigenheiten, die das gesamte Pellikelbild prägen können (Deimling et al., 2007, Sönju et al., 1974, Hannig M., 1997). Generell lässt sich die Pellikel jedoch als eine strukturierte, bakterienfreie Schicht beschreiben (Hannig M. et al., 2007, Hannig M., 2002, Hannig M. et al., 2003, Hannig M. und Joiner, 2006), die durch einen Aufbau aus zwei Schichten charakterisiert ist. Direkt der Oberfläche aufgelagert findet sich eine elektronendichte Basisschicht (Hannig M. und Hannig C., 2007, Berthold, 1979, Müller, 1987, Müller et al., 1988, Nyvad und Fejerskov, 1987), die durch ihren starken, dunklen Kontrast im Vergleich zur restlichen Pellikel deutlich hervortritt und sich kontinuierlich über die darunterliegende Oberfläche hinwegzieht (Hannig M. und Hannig C., 2007). Dieser elektronendichten Basisschicht folgt die zweite Schicht der Pellikel, die in zahlreichen Variationen mit granulären und globulären Biopolymerenstrukturen in Erscheinung tritt. Das gesamte Erscheinungsbild der Pellikel ist hinsichtlich seiner Ultrastruktur zusätzlich probandenabhängig. Einige Probanden stellen sich als starke Pellikelbilder heraus und lassen sich von anderen Probanden abgrenzen.

Der zweite, die Morphologie der Pellikel beeinflussende Faktor ist die Lokalisation der Pellikel in der Mundhöhle. An geschützten Zahnoberflächen, wie zum Beispiel approximal, bildet sich die Pellikel stärker und dichter aus (Tinanoff et al., 1976) als an ungeschützten Flächen oder Glattflächen wie okklusal (Leach und Saxton, 1966, Tinanoff et al., 1976), die einer ständigen Reinigung durch Wange, Zunge und Antagonisten unterliegen (Hannig M., 1998, Joiner et al., 2008).

Eine dritte Schicht entsteht durch die Anhaftung von Bakterien an die bereits an der Zahn- oder Festkörperoberfläche absorbierten Biopolymere, die in ihrer Gesamtheit eine gewisse Schichtdicke erreicht haben. Diese ausgereifte Form der Pellikel wird nun Biofilm genannt (Hannig M. und Hannig C., 2007). Zu Beginn dieses Stadiums befinden sich in der Pellikel nur einzeln verteilte Bakterien. Durch Zellteilung vervielfältigen sich die einzelnen Bakterien und entwickeln sich, nur über einen geringen Zeitraum hinweg, zu einer eindrucksvollen Kolonie. Mehrere neben einander liegende, aber von einander völlig unabhängige entstandene Kokkenkolonien können sich so über den gesamten Biofilm erstrecken und diesen von wenigen 100 Nanometern auf viele Mikrometer anwachsen lassen. Dieser einige Mikrometer dicke

Plaquefilm ist durch seine raue Oberfläche bereits deutlich mit der Zunge auf den Zahnoberflächen tastbar.

### **2.3 Bedeutung der Pellikel**

Die Pellikel in ihren unterschiedlichen Reifungsstadien erfüllt sowohl eine physiologische als auch eine pathophysiologische Funktion (Hannig M. und Hannig C., 2007). Die wichtigste zu den pathophysiologischen Eigenschaften der Pellikel gehörende Eigenschaft ist die Ermöglichung des Haftenbleibens einzelner Bakterien (Hannig M. et al., 2007, De Jong et al., 1982, van Pelt et al., 1983), die sich wie bereits geschildert, in kürzester Zeit zu ganzen Kolonien im Biofilm entwickeln können. Bei Aufnahme von Zucker mit der Nahrung verstoffwechselt die bakterielle Plaque diesen in geringen Anteilen zu Ameisensäure und den großen Rest in Milchsäure, zu deren Neutralisierung der Zahnschmelz das zweifach positiv geladene Calcium entzogen wird. Zurück bleibt die entmineralisierte Zahnschmelzsubstanz (Hannig M. und Joiner., 2006). Die Pellikel an sich hat also direkt keine pathophysiologische Funktion, ist aber eine Voraussetzung für das Ausbilden von bakteriellen Kolonien (Hannig M. und Hannig C., 2007). Die eigentliche Pellikel, bestehend aus Proteinaggregaten, erfüllt im Gegenteil mehrere protektive Funktionen für die Zahnhartsubstanz. Der Pellikelfilm ist in der Lage eine Lubrikationsschicht zu bilden (Hannig M. und Hannig C., 2007, Kraus et al., 1973, Kuboki et al., 1987, Kuramitsu, 1974). Diese auf den Zähnen haftende Schmierschicht reduziert die Reibung zwischen den antagonistischen Zähnen, zwischen Zähnen und Mukosa, aber auch die mechanische Abnutzung der Zahnhartsubstanz bei der Nahrungsaufnahme oder der täglichen Mundhygiene (Aguirre et al., 1987, Hannig M. und Joiner, 2006, Joiner et al., 2008). Die Pellikel schützt jedoch nicht nur vor Abrasion und Attrition (Hannig M. et al., 2007, Mayhall, 1980, Nikiforuk, 1985). Kauen und Sprechen gestalten sich durch Speichel und die daraus gebildete Pellikel angenehmer (Hannig M. und Joiner., 2006, Konradsson et al., 2006, Kousvelari et al. 1980). Auf physikalisch-chemischer Ebene bildet die Pellikel eine semipermeable Membran, welche die Löslichkeit des Schmelzes herabsetzt, in dem sie den Ionenfluss von Calcium- und Phosphationen verringert und so dem Calciumentzug aus der Zahnhartsubstanz entgegenwirkt (Hannig M. und Joiner, 2006, Zahradnik et al., 1976, 1977, 1978, Rytömaa et al., 1988, Meurman und Frank, 1991). Zusätzlich ist die Pellikel in der Lage, die Säurediffusion an der Zahnoberfläche zu erniedrigen und so die Zahnhartsubstanz teilweise vor Demineralisation zu schützen (Hannig M. und Joiner, 2006). Hat nun bereits eine Demineralisation stattgefunden, kann die Pellikel eine Remineralisation entkalkter Zahnschmelzsubstanz ermöglichen, in dem sie den

Calcium- und Phosphationenaustausch zwischen Zahn und Speichel entsprechend reguliert (Hannig M. und Hannig C., 2007, Leinonen et al., 1999, Lenander-Lumikari et al., 1993). Gleichzeitig verhindert die Pellikel über Glykoproteine ihrer Matrix eine Ablagerung von überschüssigem Mineral an die Zahnoberfläche und verhindert so ein kontinuierliches, unnatürliches Wachsen der Schmelzoberfläche (Hannig M., 1998, Moreno et al., 1979, Bennick, 1989). All diese Schutzmechanismen sind jedoch zu wenig ausgeprägt, als dass auf eine mechanische Entfernung der Plaque und eine Fluoridierung der Zahnhartsubstanz, um einen kariesprotektiven Effekt zu erreichen, verzichtet werden könnte. Bisher ist es nicht möglich, die Anhaftung von Bakterien an die Pellikel zu unterbinden und damit die Ausbildung einer karieshervorrufenden Plaque zu verhindern.

## **2.4 Bakterielle Adhärenz auf der Pellikel**

Der bestimmende Faktor für die Pathogenität des Biofilms ist die irreversible Adhäsion der Bakterien an die Pellikel und die folgende bakterielle Proliferation (Hannig M., 1998). Da jedes odontopathogene Bakterium als ein Säureproduzent anzusehen ist, spielt vor allem die Anzahl der kariogenen Bakterien in der Pellikel eine maßgebliche Rolle bei der Entmineralisierung der Zahnhartsubstanz, deren Ergebnis auf lange Sicht eine kariöse Zerstörung des Zahns ist. Voraussetzung für die Anlagerung eines Bakteriums ist die Pellikel (Hannig M. und Hannig C., 2007).

Über physiko-chemische Kräfte erfolgt eine Annäherung der Bakterien an die Pellikeloberfläche, so dass ihnen die Möglichkeit geboten wird, an der Pellikel irreversibel haften zu bleiben (Hannig M. und Hannig C., 2007). *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. mutans*, die ersten Besiedler des Biofilms (Hannig M. und Hannig C., 2007, Socransky et al. 1977, Liljemark et al. 1986, Mansson-Rahemtulla et al., 1988), und grampositive Stäbchen, wie zum Beispiel *A. viscosus* (Socransky et al., 1977, Liljemark et al., 1986), benötigen für die Adhärenz spezielle Rezeptoren, welche im Laufe der Pellikel-Bildung in den Biofilm eingebaut werden (Gibbons und Hay, 1988). Diese speziellen Rezeptoren für die Adhäsion der Bakterien an die Pellikel werden von den Speicheldrüsen gebildet und gehören zu der Gruppe der sauren, prolinreichen Proteine (Gibbons und Hay, 1988), die im Speichel in einer inaktiven Form vorliegen. Erst mit der Adsorption an der Zelloberfläche und dem Einbau in die Pellikel erfolgt eine Konformationsänderung, welche die zur bakteriellen Bindung fähigen Anteile der Proteine demaskiert (Hannig M. und Hannig C., 2007 Gibbons und Hay, 1988). Ein in die Pellikel eingebauter Rezeptor ist jedoch erst von Bedeutung, wenn die erste Phase der bakteriellen

Adhärenz statt gefunden hat. Van-der-Waals-Kräfte und hydrophobe Wechselwirkungen binden die vorbeischwimmenden Mikroorganismen reversibel an die Pellikel (Rutter und Abbott, 1978). Diese erste Annäherung ist die Voraussetzung für die zweite irreversible Phase der bakteriellen Adhärenz (Hannig M. und Hannig C., 2007, Rosenberg et al., 1983) in der neben den Fimbrien der Bakterien die rezeptorvermittelte Bindung über bakterielle Adhäsine eine Rolle bei der Adhäsion der Bakterien am Biofilm spielt (Hannig M. und Hannig C., 2007). Die Mikroorganismen haften jedoch nicht nur an der gereiften Pellikel, sondern auch untereinander, ohne die Vermittlung von Proteinen aus dem Speichel zu benötigen (Hannig M. und Hannig C., 2007, Lie, 1979, Brex et al., 1981, Nyvad und Fejerskov, 1987). Die bakteriellen Erstbesiedler ebneten auf diese Weise den Weg für andere Bakterienarten. So wandelt sich mit zunehmender Plaquedicke und zunehmender Entwicklungszeit der Pellikel das Bakterienspektrum von gram-positiven Aerobiern zu gram-negativen Anaerobiern (Hannig M. und Joiner, 2006). Ein weiterer wichtiger Faktor für die bakterielle Adhärenz ist, neben den oben beschriebenen physiologischen Prozessen, die Beschaffenheit der Oberfläche. Eine unregelmäßige, raue Oberfläche begünstigt die Ausbildung eines Biofilms, weil dieser so besser vor mechanischer Irritation oder Flüssigkeitsbewegungen des Speichels geschützt wird (Hannig M. et al., 2007, Hannig M., 1999a). Dabei spielt es keine Rolle, welches zahnärztliche Material besiedelt wird, da auch eine körperfremde Oberfläche, wie z.B. Füllungsmaterialien oder andere dentale Werkstoffe (Hannig M. 1997, Hannig M. 1999a), mit einer elektronendichten Basisschicht bedeckt werden und so nicht mehr vom Organismus als fremd erkannt werden kann (Hannig M. et al., 2007, Hannig M., 1999a, Shahal et al., 1998).

## **2.5 Forschungsstand zur Biofilm-Bildung speziell auf Dentin**

Die meisten Autoren, die sich in ihren Forschungsarbeiten mit der Ausbildung einer Pellikel auf verschiedenen körpereigenen oder auch körperfremden dentalen Materialien und Werkstoffen beschäftigen, stellen fest, dass bisher kaum Veröffentlichungen zur Adhäsion von Proteinen auf Dentin vorliegen (Hannig C. et al., 2007, Hara et al., 2006, Welton et al., 2006, Meurmann und Frank, 1996, Abbas et al., 1985), obwohl dieses Thema von großer klinischer Bedeutung, zum Beispiel für freiliegende Zahnhälse oder durch Attrition freigelegtes Dentin, ist. Die wenigen veröffentlichten Forschungsergebnisse beschreiben die Pellikel auf Dentin als eine lose angeordnete, globulär strukturierte Schicht mit einer basalen, elektronendichten Auflagerung von 30-60 nm (Hannig C. et al., 2007). Das Interesse der Autoren, die sich mit Biofilm-Bildung und Dentin beschäftigen, gilt hauptsächlich der Erarbeitung des protektiven Effektes der

Dentinpellikel vor erosiven Agenzien (Hannig C. et al., 2007, Hara et al., 2006, Welton et al., 2006, Hall et al., 1999, West et al., 2000).

Der Artikel "The protective nature of pellicle towards toothpaste abrasion on enamel and dentin" von A. Joiner et al. belegt die Schutzfunktion der Pellikel vor Abrasion der Zahnhartsubstanz bei der täglichen Mundhygiene. In diesem Artikel wird kurz die Ultrastruktur der zwei Stunden alten Pellikel auf Dentin beschrieben und mit einigen Bildern belegt. Die Pellikel stellt sich als einige hundert Nanometer dicke, globulär strukturierte Schicht dar, die einer 30-60 nm breiten elektronendichten Basisschicht aufsitzt (Joiner et al., 2008). Auch in diesem Zusammenhang wird festgehalten, dass der Pellikel auf Dentin bisher kaum Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Die Untersuchungen von Joiner et al. (2008) zeigen außerdem, dass die Pellikel zwar während des Putzprozesses völlig abgelöst wird, aber dennoch das Dentin signifikant vor einer mechanischen Abrasion schützt.

## **2.6 Rolle der Pellikel bei erosiven Prozessen**

Bereits im Jahr 1892 belegt Darby den Einfluss von Lebensmitteln auf den Mineralverlust der Zähne (Darby 1892) ohne einen Einfluss von Mikroorganismen. Insbesondere seit Erfindung der Softdrinks steigt die Rate der Erosion stetig an (Office of population censuses and surveys, 1994, West et al., 2000). So zeigen die Forschungsergebnisse von West et al. (2000), die sich mit der Thematik der Erosion von Schmelz und Dentin im Zusammenhang mit dem Konsum von Softdrinks beschäftigen, deutlich, dass das Risiko einer Erosion der Zahnhartsubstanz bei Getränken mit niedrigem pH-Wert, hoher Temperatur, hoher Säurekonzentration, aggressivem Säuretypus und hohem Chelatbindungspotential steigt (West et al., 2000, McClure und Ruzicka, 1946). Jedoch spielen bei der Erosion nicht nur die eben genannten exogenen Faktoren, die Frequenz der Einnahme und der Verbleib des erosiven Agens in der Mundhöhle eine Rolle. Ebenso wichtig ist, die individuelle Zahnstruktur mit ihrem variablen Fluoridgehalt und ihrer aufgelagerten Pellikel zu berücksichtigen (West et al., 2000). Gemäß Welton et al. (2006) besteht der maximal erreichbare Schutz vor Erosion durch eine Pellikel mit einer Bildungszeit von einer Stunde auf Schmelz. Dies bedeutet, dass die maximale Schutzfunktion der Pellikel eintritt, wenn Säureangriffe mindestens eine Stunde auseinander liegen. Eine eine Stunde alte Pellikel ist in der Lage, die Erosionstiefe des Zahnschmelzes um 44% und die des Dentins um 14% zu senken (Welton et al., 2006). Dies soll aber nicht bedeuten, dass nur eine 60 Minuten alte Pellikel die Zahnhartsubstanz schützen kann. Ein erster Schutz der Zahnhartsubstanz tritt bereits mit einer zwei Minuten alten Pellikel ein (Welton et al., 2006), jedoch steigert sich der protektive Effekt mit der

Maturation der absorbierten Proteine. Die Forschungsergebnisse von Hara et al. (2006) bestätigen ebenso einen teilweisen Schutz des Schmelzes vor Erosion durch eine zwei Stunden alte Pellikel, allerdings nur für schwache Säuren. Als Ursache wird vermutet, dass nach einer anhaltenden Demineralisation von zehn Minuten die auf der Schmelzoberfläche absorbierten Proteine sich mit den Mineralien vom Zahn lösen oder dass bei einem niedrigen pH-Wert die Bindung zwischen den Proteinen der Pellikel und des Schmelzes geschwächt werden (Hara et al., 2006). Für Dentin, hingegen, kann in dieser Forschungsarbeit kein protektiver Effekt nachgewiesen werden. Die Begründung hierfür liegt in der Porosität und dem geringeren Mineralgehalt des Dentins (Hara et al., 2006). Die Ergebnisse von Hall et al. (1999) zeigen jedoch, dass Speichel sehr wohl einen protektiven Effekt für Dentin besitzt. Im gleichen Versuchsaufbau ist der erosive Mineralverlust von Schmelz und Dentin unterschiedlich. Diese Aussage wird aber relativiert mit der Argumentation, dass Schmelz und Dentin physiologisch bedingt von vorneherein einen unterschiedlichen Mineralgehalt besitzen (Creanor, 1987). Schmelz verliert so mengenmäßig zwar mehr Mineral als Dentin (Hall et al., 1999), verfügt aber gleichzeitig über 35 Volumenprozent mehr Mineral in seiner Ausgangssituation (Hall et al., 1999, Creanor, 1987). Auch die Ergebnisse von Hannig C. et al. (2007) bestätigen einen limitierten protektiven Effekt der Pellikel auf Dentin (Hannig C. et al., 2007). Weiter wird festgehalten, dass nach einer fünfminütigen Säureexposition mit Salzsäure Agglomerate der elektronendichten Schicht zwischen den Kollagenfibrillen des demineralisierten Dentins nachweisbar sind. Die Pellikel auf dem Dentin wird durch den Säureangriff in ihrer Struktur zerstört und teilweise abgelöst, so dass nur noch Pellikelreste mit einer granulären und erhöhten elektronendichten Struktur von einer Dicke zwischen 100-300 nm sichtbar sind (Hannig C. et al., 2007). Dies belegt, dass die Pellikel eher als eine semi-permeable Membran funktioniert als eine Barriere (Wiegand et al., 2008), denn obwohl die Pellikel nicht vollständig zerstört war, konnte eine gleichmäßige Entkalkung des Dentins stattfinden (Hannig C. et al., 2007). Dies bedeutet, dass die Pellikel durchlässig für Salzsäure und das gelöste Calcium und Phosphat sein muss (Hannig C. et al., 2007). Weiter wird vermutet, dass die Pellikel als ein Reservoir für Calcium und Phosphat dient. Die bei einer Demineralisation übrigbleibenden elektronendichten Agglomerate könnten Präzipitate des aus dem Dentin herausgelösten Calcium und Phosphates sein (Hannig C. et al., 2007). Der Vergleich dieser Forschungsartikel lässt zu dem Schluss kommen, dass bei weitem keine Einigkeit in der Fachliteratur herrscht, was die Schutzfunktion der Pellikel vor erosiven Prozessen speziell am Dentin betrifft.

## **2.7 Fragestellung**

Bisher liegt das Hauptaugenmerk der Forschung auf der Darstellung und Analyse der Pellikel- und der Plaqueentstehung auf Schmelzoberflächen. Untersuchungen zur Adsorption von Biopolymeren und zur Biofilmbildung auf Dentin sind bis zum heutigen Tag nur spärlich vorhanden, obwohl vor allem die Wurzelkaries bei älteren Patienten mit geschädigtem oder abgebautem Zahnhalteapparat ein häufiges Problem darstellt. Das Dentin verfügt im Vergleich zum Zahnschmelz über ca. 25 Gewichtsprozent weniger an Mineral (Lehmann und Hellwig, 2002) und weist so eine geringere Widerstandsfähigkeit gegen einwirkende Säuren auf. Deshalb ist das zentrale Ziel des Versuchsausbaus herauszufinden, was sich in der Mundhöhle an den Grenzflächen Dentin, Pellikel, Biofilm und Säure abspielt. Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit bestand daher darin, mit Hilfe des Transmissionselektronenmikroskops die nach 3 bis 360 min gebildete Pellikel auf Dentin ultrastrukturell zu analysieren. Der zweite Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit lag, ebenfalls unter der Heranziehung transmissionselektronenmikroskopischen Methoden, auf der Untersuchung des Dentins mit und ohne Pellikel nach einem ein-minütigen Säureangriff.

## **3. Material und Methode**

### **3.1 Prinzipieller Versuchsaufbau**

Der Aufbau des Versuchs gliederte sich in zwei Abschnitte. Im ersten Versuchsteil wurden Rinderdentinbruchkörper 3 min, 60 min, 120 min und 360 min von drei Probanden, jeweils bukkal oder palatinal, getragen und dann zur ultrastrukturellen Analyse herangezogen. Im zweiten Teil des Versuchs wurden die Rinderdentinbruchkörper bukkal 0,1%iger oder 1%iger Zitronensäure in vivo oder in vitro über eine Minute und eine 30min-Pellikel 0,1%iger oder 1%iger Zitronensäure in vivo oder in vitro über eine Minute ausgesetzt. Eine 30min-Pellikel wurde 0,1%iger oder 1%iger Zitronensäure in vivo über eine Minute ausgesetzt und danach weitere 30 oder 60 Minuten getragen. In den zweiten Teil der Versuche waren zwei Probanden involviert.

## **3.2 Probanden**

Die für die Studie ausgewählten drei Probanden befanden sich zur Zeit der Versuche im Alter zwischen 28 und 32 Jahren. Anamnestisch waren die Probanden als gesund einzustufen. Den Speichelfluss beeinflussende Erkrankungen lagen nicht vor. Ebenso wurden der Genuss von Alkohol oder Nikotin sowie eine Einnahme von Medikamenten von allen drei Probanden verneint. Klinisch erschien die Mundschleimhaut unauffällig. Die vollbezahnten Probanden hatten ein unterschiedlich suffizient konservierend versorgtes Gebiss ohne parodontologische Auffälligkeiten, d.h. ein Taschentiefe zwischen 1 und 3 mm und eine durchschnittliche Zahnsteinbildung. Entsprechend der guten Mundhygiene der Probanden lag der Papillenblutungsindex unter 10%. Der gute gesundheitliche Zustand der Probanden war eine zwingende Voraussetzung für das Tragen der Probekörper aus Rinderdentin auf den individuell angefertigten Probekörpertrageschienen.

## **3.3 Materialien**

In den nun folgenden vier Unterpunkten erfolgen nähere Angaben zur Anfertigung der Probekörpertrageschienen, zur Herstellung der Prüfkörper aus Rinderdentin und der Zitronensäure und schließlich im letzten Punkt 3.2.4 zum Aufbau und zur Funktion des Magnetrührers.

### **3.3.1 Probekörpertrageschienen**

Mit Hilfe des Tiefziehverfahrens wurden aus Drufolon E (Dreve Dentamin GmbH) auf Superhartgipsmodellen der Oberkiefer der Probanden Miniplastschienen mit einer Schichtstärke von 0,5 bis 0,7 mm hergestellt. Die individuellen Schienen für den I. und II. Quadranten wurden so bearbeitet, dass sie den Processus alveolaris und alle Zähne vom dens caninus bis zum dritten dens molare umfassten. So konnte eine eindeutige und sichere Positionierung der Probekörpertrageschienen mit den Prüfkörpern aus Rinderdentin sichergestellt werden.

### **3.3.2 Prüfkörper aus Rinderdentin**

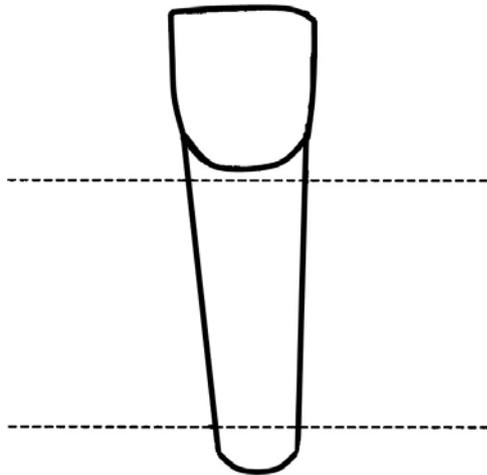
In Thymol gelagerte, frisch extrahierte Rinderfrontzähne dienten zur Präparategewinnung. Hierzu wurden zuerst mit Hilfe einer diamantierten Säge die Zahnkronen abgetrennt und die

oberen zwei Drittel der Wurzeln anschließend in ca. 2 mm breite Scheiben zersägt. Die Scheiben wurden weiter aufgeteilt in sechs gleich große „Kuchenstücke“. Zement und zirkumpulpaes Dentin wurden mit Nassschleifpapier der Körnung „400“ während des Planschleifens entfernt. Die plangeschliffenen Flächen wurden dann mit einer kleinen Diamantkugel gekennzeichnet und das „Kuchenstück“ im äußeren Drittel des Dentins mit einer Bruchkerbe versehen (Abb. 1). Die so vorbereiteten Präparate kamen für fünf Minuten in ein Ultraschallbad mit 70% Ethanol. Erst nach diesem Verfahren zur Reinigung der Proben wurden die „Kuchenstücke“ der Bruchkerbe entlang mit Hilfe von zwei feinbranchigen Zangen gebrochen, ohne die Bruchflächen selbst zu kontaminieren. Diese schmierschichtfreien Dentinbruchflächen stellten die Substratoberflächen für die intraorale Biofilmbildung dar. Zusätzlich bietet diese Bruchmethode den Vorteil, dass Dentintubuli eröffnet werden und offen bleiben, um auch hier eine Untersuchung der Biofilmbildung zu erlauben. Nun konnte die Montage der Dentinproben an den Trageschienen erfolgen.

Abb. 1

## Schemazeichnung für die Anfertigung der Prüfkörper

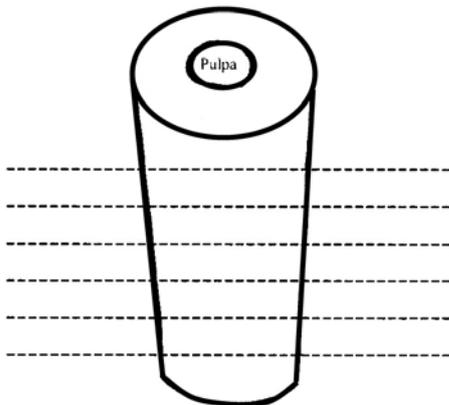
### 1. Schritt



Abtrennen der Zahnkrone

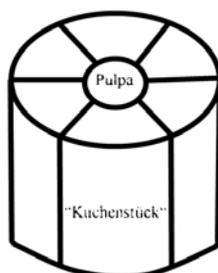
Abtrennen der Wurzelspitze

### 2. Schritt



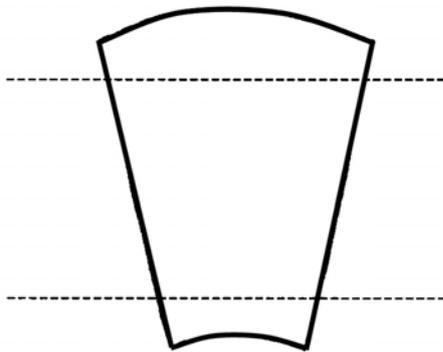
Durchtrennen des Wurzelstocks in mehrere  
2mm dicke Dentinscheiben

### 3. Schritt



Zerteilung einer 2mm dicken Dentinscheibe in  
mehrere „Kuchenstücke“

#### 4. Schritt

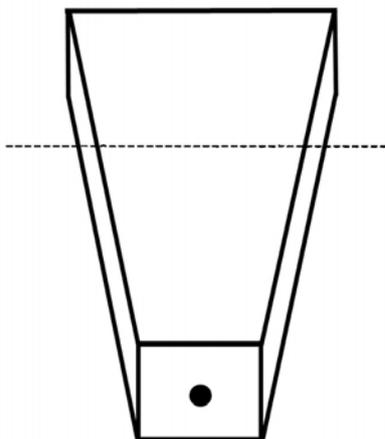


Entfernen von Zement

und

zirkumpulpaalem Dentin

#### 5. Schritt

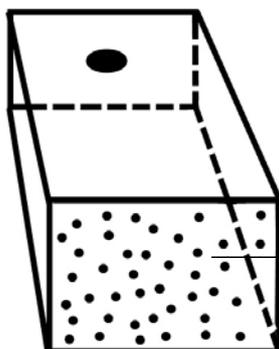


Setzen einer Bruchkerbe im äußeren Dentindrittel

Kennzeichnung der Innenseiten mit einer

Diamantkugel

#### 6. Schritt



Fertiges Präparat mit Dentinbruchflächen

eröffnete Dentintubuli  
auf der Dentinbruchfläche

### **3.3.3 Montage der Prüfkörper auf die Probekörpertrageschienen**

Die wie oben beschrieben vorbereiteten Probekörper wurden mit Hilfe einer Pinzette fast bis zur ihrer Bruchkante in Silikon (President von Fa. Coltène) eingebettet, das oberhalb der dento-gingivalen Grenze mit einer Spritzpistole im Bereich des ersten Molaren aufgetragen wurde, ohne die Okklusion der Probanden zu behindern. Bukkal und palatinal wurden jeweils zwei Probekörper mit der Bruchfläche nach außen weisend in mesio-distaler Richtung nebeneinander im Silikon platziert. Bis zum Einsetzen der Trageschienen mit den Probekörpern wurden diese 24 h in aqua dest. (Aqua B. Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) im Kühlschrank gelagert.

### **3.3.4 Zitronensäure**

Die für die Versuchsreihen A bis D benötigte Zitronensäure wurde durch eine Mischung des Pulvers (Citronensäure, Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn) mit Aqua dest. in der benötigten Konzentration von 0,1% und 1% hergestellt.

### **3.3.5 Magnetrührer**

Für die In-vitro-Versuche wurde ein Schälchen mit 50 ml Zitronensäure gefüllt und mit einem 5 mm langen und 2 mm dicken Magnetstäbchen (Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe) versehen. Die intraoral getragenen Proben wurden samt Silikon in die Zitronensäure gelegt und die Zitronensäure durch das Zusammenspiel des Stäbchens mit dem Magnetrührer (Janke & Kunkel IKA-Labortechnik, Staufen) eine Minute bewegt, um so eine In-vivo-Spülung mit Zitronensäure zu simulieren.

## **3.4 Versuche zur Biofilmbildung und Erosion der Prüfkörper**

Das Studiendesign wurde der Ethik-Kommission der Ärztekammer des Saarlandes zur Begutachtung vorgelegt und mit positiven Voten für die Untersuchung der intraoralen Biofilmbildung auf Rinderdentin und dessen Exposition in Zitronensäure bewertet (AZ 238, AZ 52/05).

Die durchgeführten Versuche untergliederten sich in zwei Versuchsteile. Im ersten Versuchsteil wurden nacheinander verschiedene Prüfkörper aus Rinderdentin jeweils drei, 30, 120 und 360 Minuten palatinal oder bukkal von den Probanden getragen. Im zweiten Versuchsteil wurden die

ausschließlich bukkal montierten Prüfkörper mit oder ohne Pellikel, entweder in vivo oder in vitro, Zitronensäure in 0,1%iger oder 1%iger Konzentration ausgesetzt. Ein Teil der Proben wurde daraufhin weitere 30 oder 60 Minuten intraoral an bukkaler Lokalisation getragen.

3.4 Tabellarische Versuchsübersicht zur Biofilmbildung und Erosion der Prüfkörper

| Präparate ohne Zitronensäure-<br>exposition | Probe<br>bukkal<br>getragen | Probe<br>palatinal<br>getragen | Präparat<br>3 Minuten<br>getragen | Präparat<br>30 Minuten<br>getragen | Präparat<br>120 Minuten<br>getragen | Präparat<br>360 Minuten<br>getragen | Spülung mit /<br>Exposition in<br>0,1%iger<br>Zitronensäure<br>über 1 Minute | Spülung mit /<br>Exposition in<br>0,1%iger<br>Zitronensäure<br>über 1 Minute | zusätzliche<br>Tragezeit von<br>30 Minuten | zusätzliche<br>Tragezeit von<br>60 Minuten | Versuch<br>in vivo | Versuch<br>in vitro |
|---|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|--|--|--|--------------------|---------------------|
| 3min-Pellicel<br>bukkal                     | x                           |                                | x                                 |                                    |                                     |                                     |  |  |  |  | x                  |                     |
| 3min-Pellicel<br>palatinal                  |                             | x                              | x                                 |                                    |                                     |                                     |  |  |  |  | x                  |                     |
| 30min-Pellicel<br>bukkal                    | x                           |                                |                                   | x                                  |                                     |                                     |  |  |  |  | x                  |                     |
| 30min-Pellicel<br>palatinal                 |                             | x                              |                                   | x                                  |                                     |                                     |  |  |  |  | x                  |                     |
| 120min-Pellicel<br>bukkal                   | x                           |                                |                                   |                                    |                                     | x                                   |  |  |  |  | x                  |                     |
| 120min-Pellicel<br>palatinal                |                             | x                              |                                   |                                    |                                     | x                                   |  |  |  |  | x                  |                     |
| 360min-Pellicel<br>bukkal                   | x                           |                                |                                   |                                    |                                     |                                     |  |  |  |  | x                  |                     |
| 360min-Pellicel<br>palatinal                |                             | x                              |                                   |                                    |                                     |                                     |  |  |  |  | x                  |                     |

| Präparate mit Zitronensäure-<br>exposition                                   | Probe<br>bukkal<br>getragen | Probe<br>palatinal<br>getragen | Präparat<br>3 Minuten<br>getragen | Präparat<br>30 Minuten<br>getragen | Präparat<br>120 Minuten<br>getragen | Präparat<br>360 Minuten<br>getragen | Spülung mit /<br>Exposition in<br>0,1%iger<br>Zitronensäure<br>über 1 Minute | Spülung mit /<br>Exposition in<br>1%iger<br>Zitronensäure<br>über 1 Minute | zusätzliche<br>Tragezeit von<br>30 Minuten | zusätzliche<br>Tragezeit von<br>60 Minuten | Versuch<br>in vivo | Versuch<br>in vitro |
|--|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|--|--|--|--------------------|---------------------|
| <b>Versuchsreihe A</b>   |                             |                                |                                   |                                    |                                     |                                     |  |  |  |  |                    |                     |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger<br>Zitronensäure gespült          | x                           |                                |                                   |                                    |                                     |                                     | x  |  |  |  | x                  |                     |
| Probe in vitro über 1 Minute in 0,1%iger<br>Zitronensäure exponiert          | x                           |                                |                                   |                                    |                                     |                                     | x  |  |  |  |                    | x                   |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 1%iger<br>Zitronensäure gespült            | x                           |                                |                                   |                                    |                                     |                                     |  | x  |  |  | x                  |                     |
| Probe in vitro über 1 Minute in 1%iger<br>Zitronensäure exponiert            | x                           |                                |                                   |                                    |                                     |                                     |  | x  |  |  |                    | x                   |
| <b>Präparate mit Zitronensäure-<br/>exposition</b>                           |                             |                                |                                   |                                    |                                     |                                     |  |  |  |  |                    |                     |
| <b>Versuchsreihe B</b>   |                             |                                |                                   |                                    |                                     |                                     |  |  |  |  |                    |                     |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit<br>0,1%iger Zitronensäure gespült | x                           |                                |                                   | x                                  |                                     |                                     | x  |  |  |  | x                  |                     |
| 30min-Pellicel in vitro über 1 Minute in<br>0,1%iger Zitronensäure exponiert | x                           |                                |                                   | x                                  |                                     |                                     |  | x  |  |  |                    | x                   |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit<br>1%iger Zitronensäure gespült   | x                           |                                |                                   | x                                  |                                     |                                     |  | x  |  |  | x                  |                     |
| 30-Pellicel in vitro über 1 Minute in 1%iger<br>Zitronensäure exposition     | x                           |                                |                                   | x                                  |                                     |                                     |  | x  |  |  |                    | x                   |

| Präparate mit Zitronensäure-<br>exposition<br><b>Versuchsreihe C</b>  | Probe<br>bukkal<br>getragen | Probe<br>palatinal<br>getragen | Präparat<br>3 Minuten<br>getragen | Präparat<br>30 Minuten<br>getragen | Präparat<br>120 Minuten<br>getragen | Präparat<br>360 Minuten<br>getragen | Spülung mit /<br>Exposition in<br>0,1%iger<br>Zitronensäure<br>über 1 Minute | Spülung mit /<br>Exposition in<br>1%iger<br>Zitronensäure<br>über 1 Minute | zusätzliche<br>Tragezeit von<br>30 Minuten | zusätzliche<br>Tragezeit von<br>60 Minuten | Versuch<br>in vivo | Versuch<br>in vitro |
|---|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|--|--|--|--------------------|---------------------|
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit<br>0,1%iger Zitronensäure gespült, danach<br>weitere 30 Minuten Tragezeit      | x                           |                                | x                                 |                                    |                                     |                                     | x  |  | x  |  | x                  |                     |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit<br>1%iger Zitronensäure gespült, danach<br>danach weitere 30 Minuten Tragezeit | x                           |                                | x                                 |                                    |                                     |                                     | x  |  | x  |  | x                  |                     |
| <b>Präparate mit Zitronensäure-<br/>exposition<br/><b>Versuchsreihe D</b></b>   | Probe<br>bukkal<br>getragen | Probe<br>palatinal<br>getragen | Präparat<br>3 Minuten<br>getragen | Präparat<br>30 Minuten<br>getragen | Präparat<br>120 Minuten<br>getragen | Präparat<br>360 Minuten<br>getragen | Spülung mit /<br>Exposition in<br>0,1%iger<br>Zitronensäure<br>über 1 Minute | Spülung mit /<br>Exposition in<br>1%iger<br>Zitronensäure<br>über 1 Minute | zusätzliche<br>Tragezeit von<br>30 Minuten | zusätzliche<br>Tragezeit von<br>60 Minuten | Versuch<br>in vivo | Versuch<br>in vitro |
| 30min Pellikel intraoral über 1 Minute mit<br>0,1%iger Zitronensäure gespült, danach<br>weitere 60 Minuten Tragezeit      | x                           |                                | x                                 |                                    |                                     |                                     | x  |  |  | x  | x                  |                     |
| 30min Pellikel intraoral über 1 Minute mit<br>1%iger Zitronensäure gespült, danach<br>weitere 60 Minuten Tragezeit        | x                           |                                | x                                 |                                    |                                     |                                     |  | x  |  | x  | x                  |                     |

### **3.4.1 Versuchsbedingungen**

Alle Versuchreihen begannen vormittags zwischen 8.00 Uhr und 9.00 Uhr. Zu diesem Zeitpunkt hatten alle Probanden bereits gefrühstückt und die morgentliche Mundhygiene mit Zahnbürste und Zahnpasta lag mindestens eine Stunde zurück. Während der Expositionszeiten von drei Minuten und 120 Minuten herrschten Nahrungs- und Mundhygienekarenz. Eine Ausnahme von dieser Regel wurde während der Tragezeit der Proben über 360 Minuten gestattet. Die Schienen konnten in einem Hygrophor mit 100% Luftfeuchtigkeit, während der Einnahme von Speisen und Getränken zwischengelagert werden. Nach der Nahrungsaufnahme wurden die Zähne mit einer Zahnbürste gereinigt und die Schienen wieder unbehandelt repositioniert und die ausgesetzte Zeit nachgetragen.

### **3.4.2 Versuchsreihen mit Zitronensäureexposition**

#### **Versuchsreihe A**

Die zeitlich kürzeste Versuchsreihe setzte sich aus vier Versuchen zusammen.

Erster Versuch: Während der Verweildauer der Probe von nur einer Minute intraoral, wurde diese gleichzeitig mit 0,1%iger Zitronensäure gespült.

Zweiter Versuch: Während der Verweildauer der Probe von nur einer Minute intraoral, wurde diese gleichzeitig mit 1%iger Zitronensäure gespült.

Dritter Versuch: Der Probekörper wurde in einem Schälchen über eine Minute mit 0,1%iger Zitronensäure mit Hilfe des Magnetrührers gespült.

Vierter Versuch: Der Probekörper wurde in einem Schälchen über eine Minute mit 1%iger Zitronensäure mit Hilfe des Magnetrührers gespült.

#### **Versuchsreihe B**

Die Versuchsreihe B setzte sich zusammen aus vier Versuchen:

Erster Versuch: nach einer Tragezeit der Proben von 30 Minuten erfolgte eine ein-minütige Spülung mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo, d. h. intraoral.

Zweiter Versuch: nach einer Tragezeit der Proben von 30 Minuten erfolgte eine ein-minütige Spülung mit 1%iger Zitronensäure in vivo.

Dritter Versuch: nach einer Tragezeit der Proben von 30 Minuten erfolgte eine ein-minütige Spülung mit 0,1%iger Zitronensäure in vitro, d. h. extraoral mit Hilfe des Magnetrührers.

Vierter Versuch: nach einer Tragezeit der Proben von 30 Minuten erfolgte eine ein-minütige Spülung mit 1%iger Zitronensäure in vitro

### **Versuchsreihe C**

Die Versuchsreihe C war eine reine In-vivo-Versuchsreihe und umfasste zwei Versuche.

Erster Versuch: nach einer Tragezeit der Proben von 30 Minuten wurden diese intraoral über eine Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült. Daraufhin wurden die Proben weitere 30 Minuten im Mund getragen.

Zweiter Versuch: nach einer Tragezeit der Proben von 30 Minuten wurden diese intraoral über eine Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült. Daraufhin wurden die Proben weitere 30 Minuten im Mund getragen.

### **Versuchsreihe D**

Das Konzept der letzten Versuchsreihe gleicht der vorhergehenden, nur trugen hier die Probanden nach der Spülung mit Zitronensäure statt 30 Minuten die Probekörper 60 Minuten weiter.

Erster Versuch: nach einer Tragezeit der Proben von 30 Minuten wurden diese intraoral über eine Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült. Daraufhin wurden die Proben weitere 60 Minuten im Mund getragen.

Zweiter Versuch: nach einer Tragezeit der Proben von 30 Minuten wurden diese intraoral über eine Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült. Daraufhin wurden die Proben weitere 60 Minuten im Mund getragen.

### **3.5 Fixierung der Probekörper**

Nach Durchführung der In-vivo-Versuche wurden die Probekörpertrageschienen aus den Mundhöhlen der Probanden entnommen, ohne die Pellikel zu kontaminieren, und die Probekörper, noch auf der Schiene sitzend, gründlich mit aqua dest. abgespült. Mit einer Pinzette wurden die Dentinproben vorsichtig von der Schiene entfernt und zwei Stunden im Kühlschrank in Glutaraldehyd fixiert. Nach Ablauf der zwei Stunden erfolgte die Entnahme der Probekörper

und eine viermal fünf-minütige Spülung mit Phosphatpuffer (PAA Dulbecco's PBS (1x) w/o Ca & Mg, PAA Laboratories GmbH, Pasching und PBS-Dulbecco (1x) w/o Ca & Mg, Biochrom AG, Berlin). Im fünften Puffer verblieben die Proben im Kühlschrank bis zu ihrer Osmierung.

### **3.6 Osmierung der Probekörper**

Nach einer zweistündigen Osmierung mit Osmiumtetroxid in 2% Phosphatpuffer wurden die Probekörper wieder viermal fünf Minuten mit Phosphatpuffer gespült.

### **3.7 Entwässerung der Probekörper**

Bevor die Probekörper mit einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert werden konnten, mussten sie noch zehn Minuten in aqua dest. lagern. Die aufsteigende Alkoholreihe setzte sich zusammen aus folgenden Entwässerungsschritten: zweimal zehn Minuten in 50% Ethanol (Emprove, Merck, Darmstadt), zweimal zehn Minuten in 70% Ethanol, zweimal zehn Minuten in 90% Ethanol, einmal zehn Minuten in 100% Ethanol und schließlich noch einmal 20 Minuten in 100% Ethanol im Rollrandgläschen mit geschlossenem Deckel. Die Entwässerung der Probekörper fand am ersten Tag der Einbettung statt.

### **3.8 Einbettung**

Zu Beginn der Einbettung lagerten die Probekörper noch zweimal 20 Minuten in Propylenoxid (Propylenoxid, Serva, Heidelberg), dann wurden sie in ein 1:1 Gemisch von Propylenoxid und Araldit, bestehend aus 13 Teilen Araldit CY 212 (Serva 13824, Heidelberg) und 12 Teilen 2-Dodecenylsuccinic acid anhydride (Serva 20755, Heidelberg), eingelegt und zogen 24 h durch. Am zweiten Tag der Einbettung kamen die Probekörper in eine zweite Mischung aus Araldit CY 212 und 2-Dodecenylsuccinic acid anhydride und blieben erneut 24 h im Araldit. Am dritten Tag erfolgte die Einbettung wieder in eine Mischung aus Araldit CY 212 und 2-Dodecenylsuccinic acid anhydride. Nach 48 h im Brutschrank (WTC Binder, Tuttlingen) bei 65°C waren die Proben ausgehärtet und bereit, mit Hilfe von Nassschleifpapier (SiC Grinding paper for metallography wet or dry, Bühler Technologies, Ratingen) der Körnung 800 und 4000 zugeschleift zu werden.

### **3.9 Herstellung der Ultradünnschnitte**

Die im Kunststoff gehärteten Proben wurden mit Hilfe eines Ultramikrotoms (Ultracut E, D-Benzheim) und einem Diamantmesser (Diatom 45°, Leica, D-Benzheim) in ultradünne Schnitte (50nm) geschnitten. Zu einer Serie gehörten jeweils immer fünf Schnitte des gleichen Präparates, die auf Pioloform-F beschichtete Kupferlochblenden aufgebracht wurden. Durch Uranylacetat (Uranyl Acetate Dihydrate, Ted Pella Inc., Redding) und Bleicitrat (Merck, Darmstadt) erfolgte die Kontrastierung der Ultradünnschnitte.

### **3.10 Transmissionselektronenmikroskopische Auswertung**

Im Transmissionselektronenmikroskop TECNAI 12 von der Firma FEI wurden die Ultradünnschnitte bei Vergrößerungen von 3.000, 10.000, 30.000, 60.000 und 100.000 analysiert. Die Pellikelstrukturen wurden untersucht und insbesondere auf ihre Dicke, die Kontaktzone zum Dentin und adhärente Mikroorganismen analysiert. Repräsentative und charakteristische Bereiche wurden fotografiert und ausgedruckt, um genaue Vergleiche anstellen zu können.

## **4. Ergebnisse der Versuche**

Im Folgenden werden zuerst an Hand eines Textes die Ergebnisse für die einzelnen Versuche dargelegt. Darhinter folgen zur Ergänzung einige ausgewählte transmissionselektronenmikroskopische Bilder (Abb. 2 – Abb. 93). Die restlichen im Text als Beleg genannten Abbildungen finden sich im Anhang (Abb. A1 – Abb. A278), genauso wie eine tabellarische Zusammenstellung der Ergebnisse.

Dentin **D**, demineralisiertes Dentin **D. dem.**, Pellikel **P**, Araldit **A**, Bakterien **B** werden in den Abbildungen wie angegeben gekennzeichnet.

### **4.1 Versuche ohne Zitronensäureexposition**

#### **4.1.1 Ultrastruktur der bukkal gebildeten Pellikel**

Die erste Versuchsreihe betraf die bukkale 3min-Pellikel. Hier wurde ab einer 10.000fachen Vergrößerung die Pellikel in ihrem Initialstadium sichtbar (Abb. A4, Abb. A8, Abb. A9). Details

konnten aber erst ab einer 60.000fachen Vergrößerung dokumentiert werden (Abb. 2, Abb. 3, Abb. 4, Abb. 5, Abb. A11). Die Pellikel im Initialstadium besaß keine Kontinuität, sondern bestand nur aus einzeln verteilten Proteinagglomeraten (Abb. 2, Abb. 3, Abb. 4, Abb. 5, Abb. A8, Abb. A11). Die Agglomerate erschienen als rundliche, homogene Gebilde (Abb. 2, Abb. 4, Abb. 5, Abb. 6, Abb. A11). Eine elektronendichte Basisschicht, auf der die granulären Agglomerate aufgelagert waren (Abb. 2, Abb. 3, Abb. 4, Abb. 7, Abb. A11), war bei Betrachtung der Präparate nicht erkennbar.

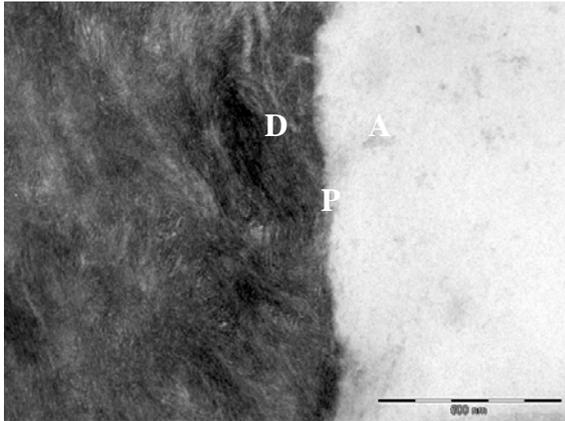


Abb. 2: bukkale 3min-Pellikel (Proband 1)  
60.000fache Vergrößerung

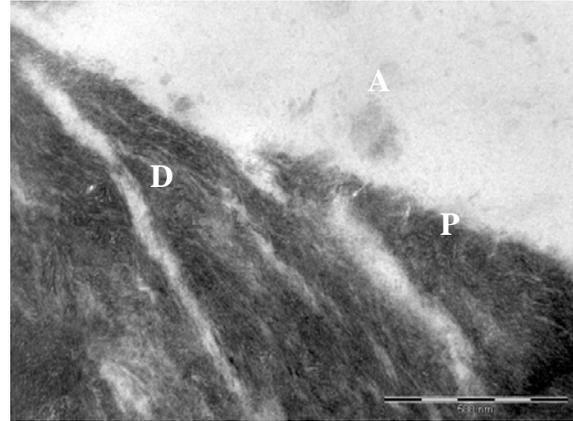


Abb. 3: bukkale 3min-Pellikel (Proband 1)  
70.000fache Vergrößerung

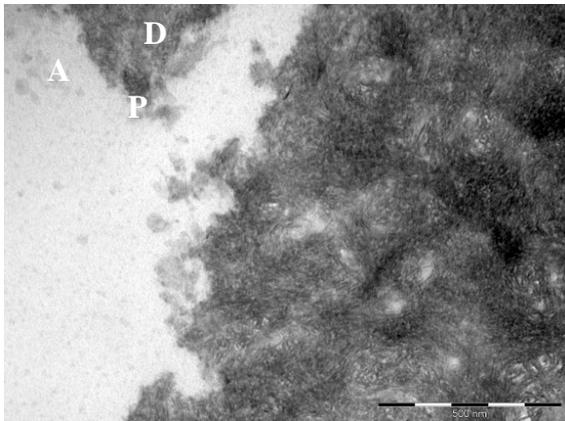


Abb. 4: bukkale 3min-Pellikel (Proband 2)  
70.000fache Vergrößerung

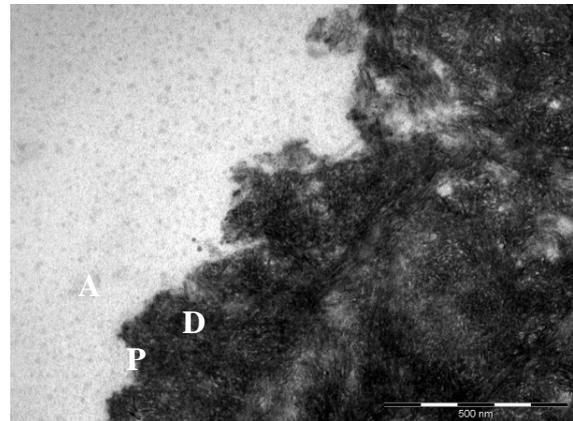


Abb. 5: bukkale 3min-Pellikel (Proband 2)  
70.000fache Vergrößerung

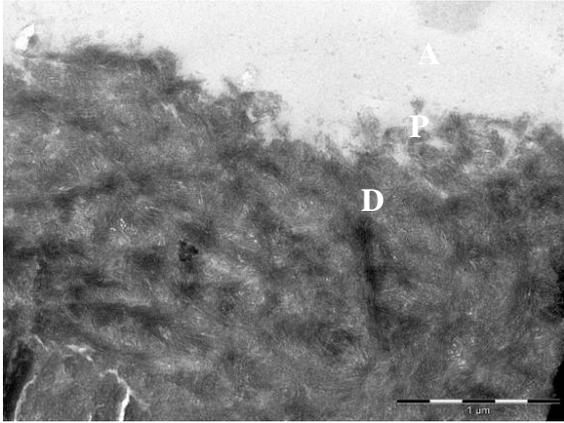


Abb. 6: bukkale 3min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

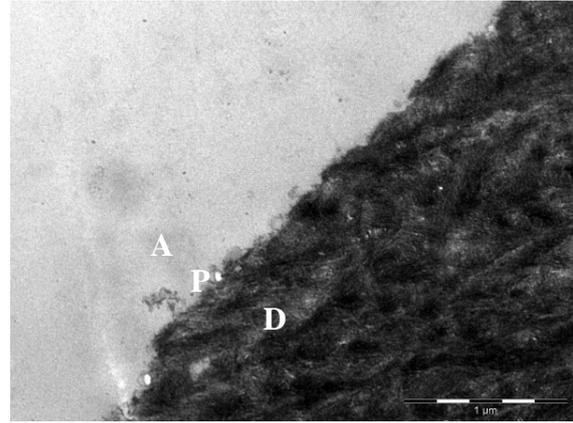


Abb. 7: bukkale 3min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

Die bukkale 30min-Pellikel, ausreichend sichtbar ab einer 10.000fachen Vergrößerung, wies bereits eine kontinuierlichere Struktur auf als die 3min-Pellikel (Abb. 8, Abb. 9, Abb. A14, Abb. 10, Abb. 11, Abb. 12, Abb. A21). Einzelne, homogen dichte Agglomerate waren innerhalb der locker strukturierten Pellikel deutlich erkennbar. Die größeren Proteinagglomerate umfassten eine Größe von 300 nm (Abb. 8, Abb. A14, Abb. 12), die noch sichtbaren kleineren ca. 50 nm (Abb. A19, Abb. 13). Die durchschnittliche Pellikelschichtstärke variierte probandenabhängig zwischen 125 nm und 250 nm (Abb. 8, Abb. A17, Abb. A21). Der gebildete Biopolymerfilm unterschied sich in seiner Struktur bei den drei Probanden deutlich. Während Proband 1 und 3 eine homogene Pellikelultrastruktur besaßen (Abb. 8, Abb. 12), war diese bei Proband 2 eher heterogen (Abb. A14). Bei den drei Probanden mischten sich granuläre mit globulären Agglomeraten (Abb. 8, Abb. A14, Abb. 13).

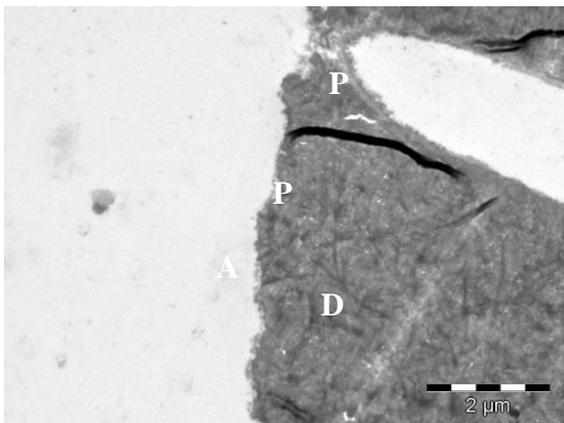


Abb. 8: bukkale 30min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

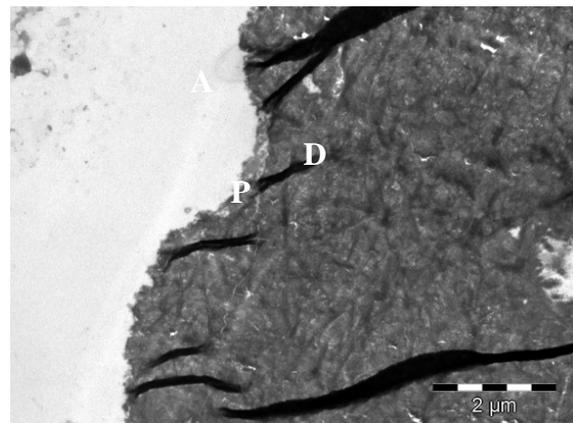


Abb. 9: bukkale 30min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

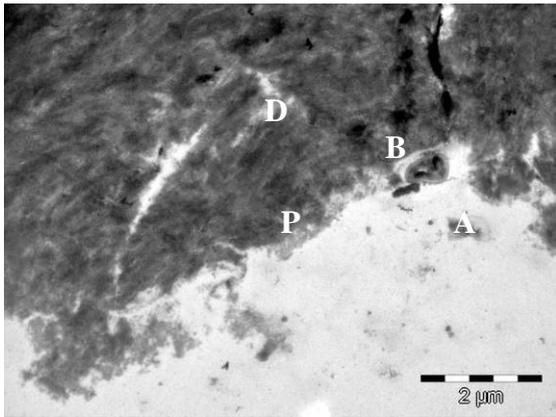


Abb. 10: bukkale 30min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

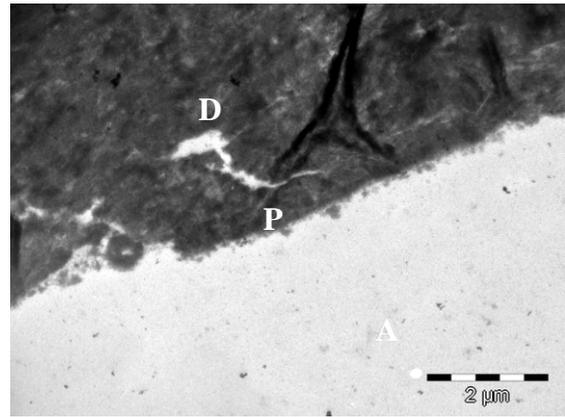


Abb. 11: bukkale 30min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

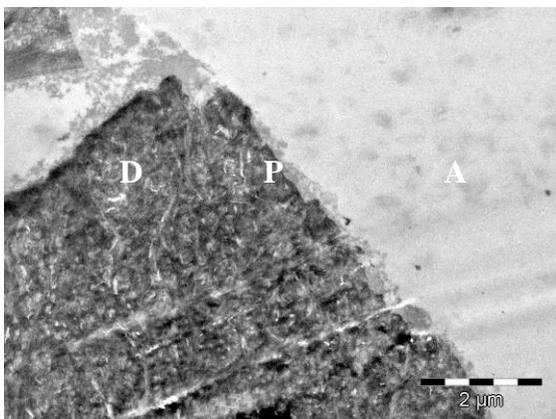


Abb. 12, bukkale 30min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

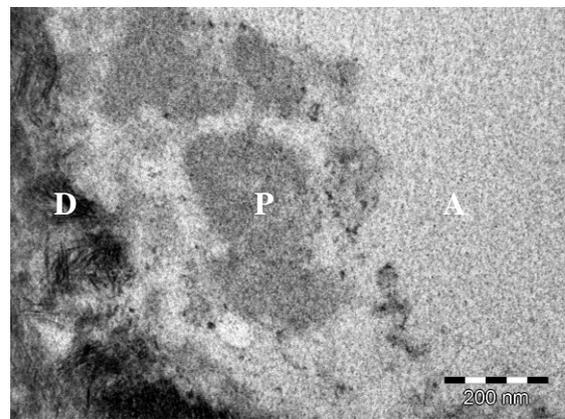


Abb. 13, bukkale 30min-Pellikel (Proband 3)  
100.000fache Vergrößerung

Details der größtenteils locker strukturierten bukkalen 120min-Pellikel ließen sich bereits bei einer 10.000fachen Vergrößerung ausmachen (Abb. 15, Abb. A26, Abb. 18, Abb. 19). Die Pellikel bedeckte kontinuierlich das Dentin. Selbst die Lumina der Dentintubuli wurden gleichmäßig von der Pellikel überzogen (Abb. 17, Abb. 19). Der Aufbau der Pellikel bei Proband 1 und 3 konnte eher granulär als globulär bezeichnet werden (Abb. 14, Abb. 18). Bei Proband 2 jedoch war die Struktur der Pellikel heterogen, bestehend aus granulären und globulären Biopolymeren (Abb. A28, Abb. 17). Die granulären Anteile waren gekennzeichnet durch eine hohe Dichte und die Pellikel konnten hier bis auf einen Durchmesser von 1 µm anwachsen (Abb. 18, Abb. A30). Häufig machten die größten globulären Anteile der Pellikel auch die dicksten Stellen der Pellikel aus (Abb. A28, Abb. 17, Abb. 18). Die Dicke der Pellikel variierte von 100 nm (Abb. 15) bis 5,8 µm (Abb. 19), wobei die durchschnittliche Pellikelchichtstärke 400 nm betrug (Abb. 15, Abb. A26). Das Bakterienvorkommen hatte sich im Vergleich zur 30min-Pellikel gering gesteigert (Abb. 16). Zur Oberfläche geöffnete Tubuli zeigten stellenweise am Tubuluseingang eine Pellikeldicke bis 1 µm (Abb. 17, Abb. 19). Je tiefer man in den Tubulus

vordrang, desto dünner wurde die Pellikel, bis schließlich nur noch ein feiner Saum übrig blieb (Abb. A25, Abb. A26, Abb. A27).

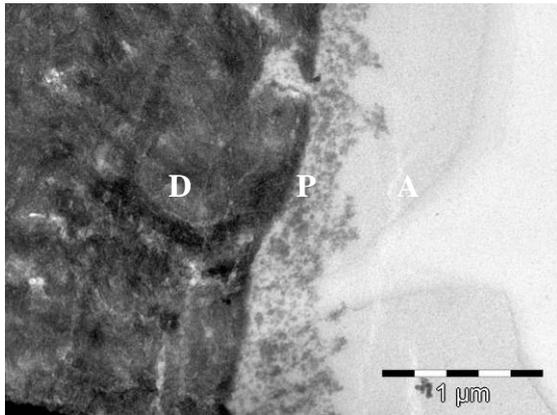


Abb. 14: bukkale 120min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

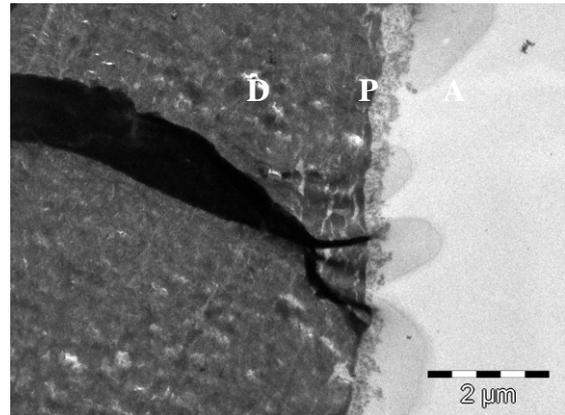


Abb. 15: bukkale 120min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

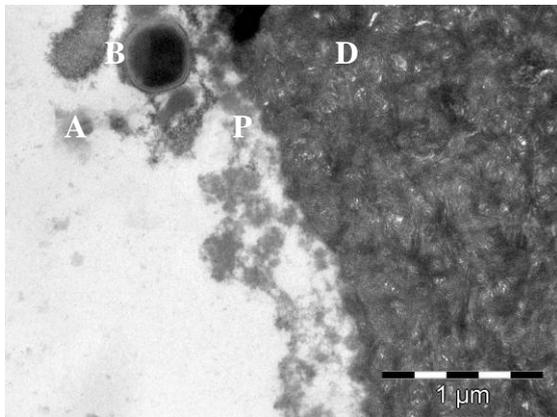


Abb. 16: bukkale 120min-Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

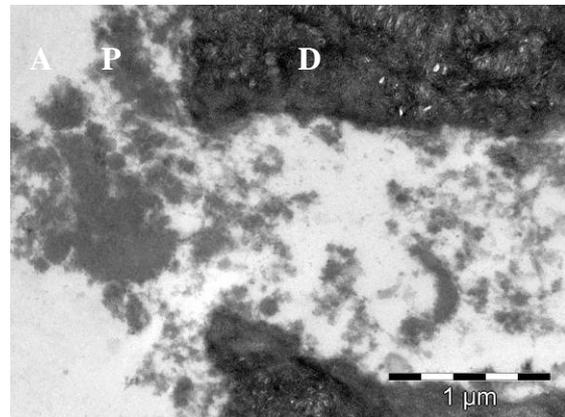


Abb. 17: bukkale 120min-Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

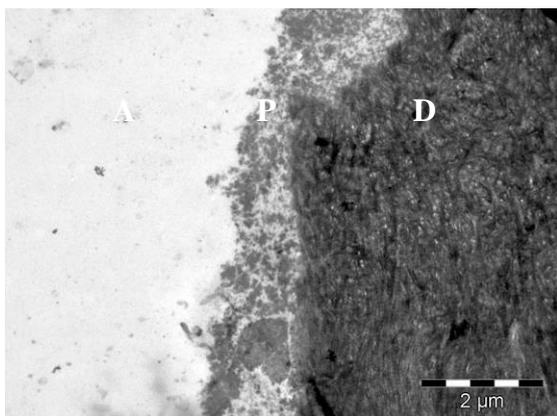


Abb. 18: bukkale 120min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

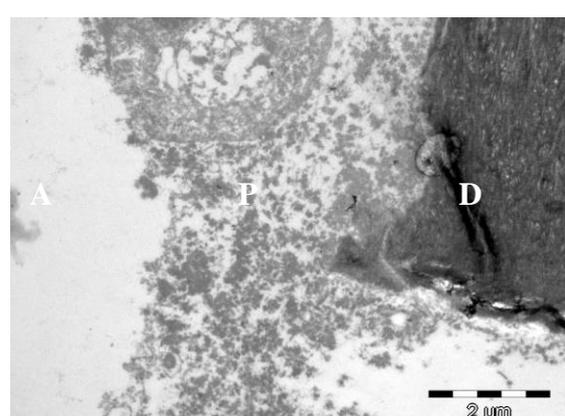


Abb. 19: bukkale 120min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

Diese Feststellung ließ sich auch bei der bukkalen 360min-Pellikel belegen (Abb. 21, Abb. A44), mit dem Unterschied, dass sich hier auch häufiger Bakterien in die Tubulustiefe setzten (Abb. 21,

Abb. 22). Der Tubuluseingang war mit einer bis zu 1  $\mu\text{m}$  in die Tiefe reichenden Pellikel verpfropft (Abb. 21, Abb. 27). An der Dentinoberfläche zog sich die Pellikel ohne Unterbrechung mit einer durchschnittlichen Schichtstärke von 1  $\mu\text{m}$  fort (Abb. A38, Abb. A46, Abb. 27, Abb. A54). An der dicksten Stelle des Biofilms, bis zu 7  $\mu\text{m}$  (Abb. 23), traten Kokken in mehreren Lagen übereinander auf. Kokken waren die einzig feststellbare Bakterienart, nur bei Proband 3 ließen sich einzelne Stäbchen dokumentieren (Abb. A53). Typisch waren die gebildeten Kokkenanhäufungen (Abb. 23, Abb. 24, Abb. 26), seltener waren Kokken einzeln zu entdecken (Abb. A38, Abb. A46, Abb. A50). Innerhalb der Kokkenanhäufungen ließen sich sowohl auseinander liegende (Abb. 20, Abb. Abb. 24) als auch aneinander hängende Bakterien erkennen (Abb. 26). Viele transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten die Kokken im Stadium der Zellteilung (Abb. 24, Abb. 26). Die Pellikel unterlag keiner Veränderung, wenn ein Bakterium mit ihr in Verbindung tritt. Allgemein war die heterogen strukturierte 360min-Pellikel als globulär mit granulären Anteilen zu beschreiben (Abb. 25, Abb. A38, Abb. A46, Abb. A50). Die globulären Proteine wiesen eine hohe Dichte und eine maximale Größe von 500 nm auf (Abb. A38, Abb. A50). Zwischen den globulären und granulären Strukturen waren etliche Hohlräume zu finden. Die Pellikel von Proband 1 war stellenweise mit einem ca. 25 nm dicken Film überzogen, der erst bei der 360min-Pellikel sichtbar wurde (Abb. 20). Jedoch war die Kontinuität dieses Films an mehreren Stellen unterbrochen (Abb. 22).

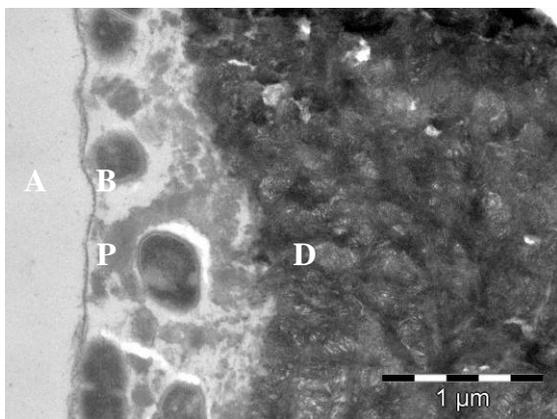


Abb. 20: bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

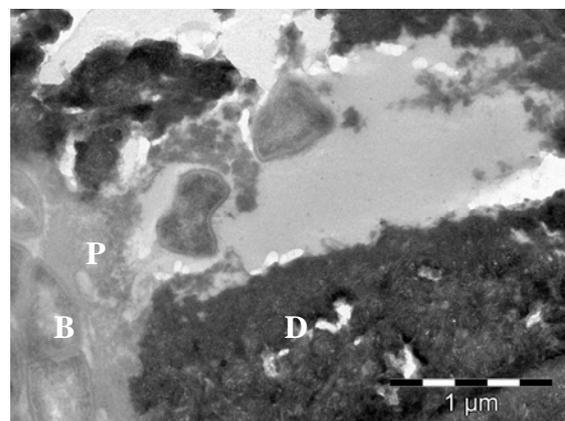


Abb. 21: bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

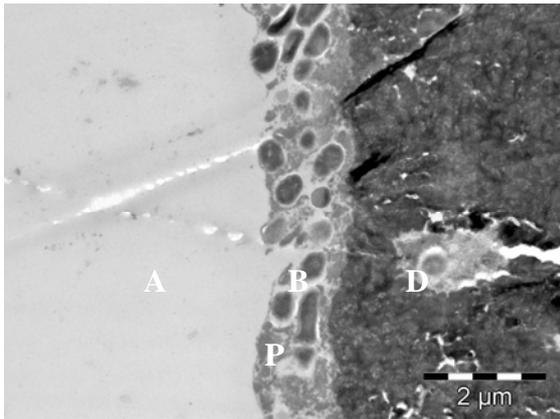


Abb. 22: bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

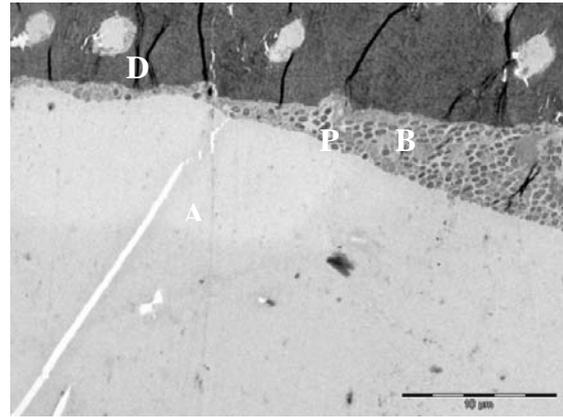


Abb. 23: bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

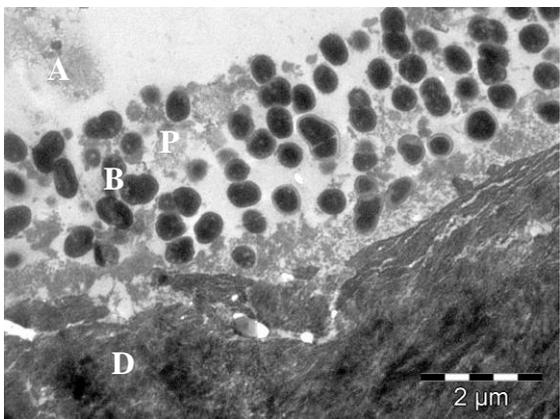


Abb. 24: bukkale 360min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung



Abb. 25: bukkale 360min-Pellikel (Proband 2)  
3.000fache Vergrößerung

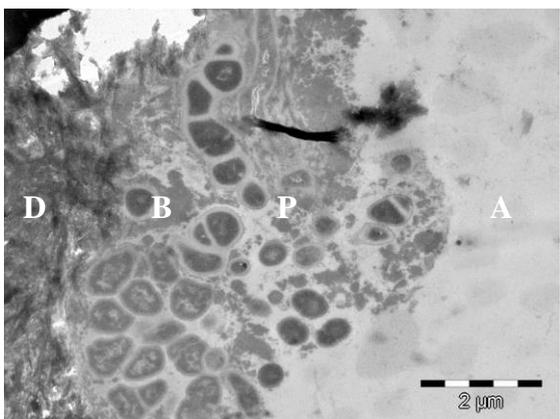


Abb. 26: bukkale 360min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

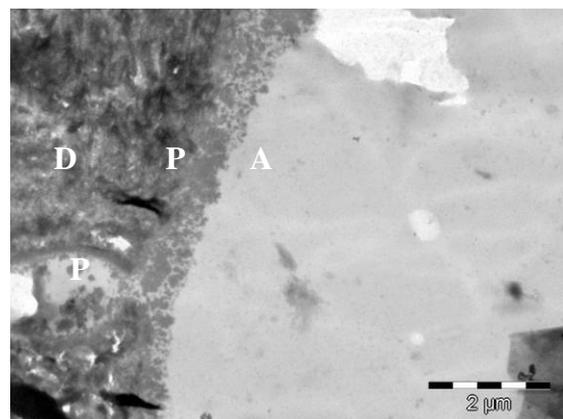


Abb. 27: bukkale 360min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

#### 4.1.2 Ultrastruktur der palatinal gebildeten Pellikel

Die erste Versuchsreihe der palatinal getragenen Proben beinhaltete die 3min-Pellikel. Auch hier wurde, wie bei der bukkal getragenen 3 Minuten Pellikel, der Biofilm erst ab einer 10.000fachen Vergrößerung in seinem Initialstadium sichtbar (Abb. A55, Abb. A61, Abb. A67) und ab einer 30.000 fachen Vergrößerung ließen sich Einzelheiten der palatinalen 3min-Pellikel ausmachen (Abb. A56, Abb. A64, Abb. 32, Abb. 33). Die Pellikel im Initialstadium stellte sich als nicht kontinuierliche Oberflächenbedeckung dar, homogen granulär aufgebaut und ohne eine erkennbare elektronendichte Basisschicht durch die dunkle Bleicitratfärbung des Dentins (Abb. 28, Abb. 30, Abb. 31, Abb. 33). Die noch sichtbaren, singulären, granulären Agglomerate wiesen einen Durchmesser zwischen durchschnittlich 50 nm (Abb. 28, Abb. A65, Abb. 32) und maximalen 350 nm (Abb. A66) auf. Im Gegensatz zur drei Minuten alten bukkalen Pellikel, waren bei Proband 1 einzelne Kokkenbakterien dokumentierbar (Abb. 29).

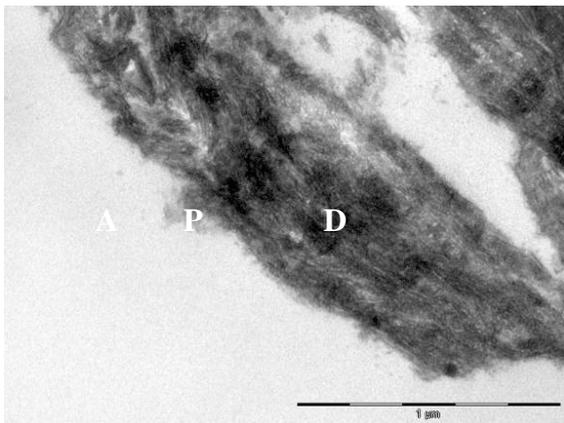


Abb. 28: palatinale 3min-Pellikel (Proband 1)  
50.000fache Vergrößerung

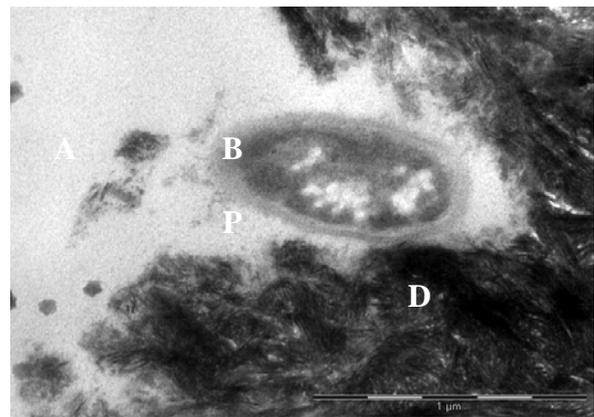


Abb. 29: palatinale 3min-Pellikel (Proband 1)  
50.000fache Vergrößerung

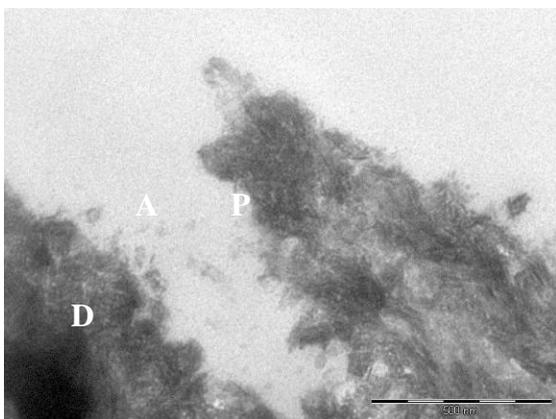


Abb. 30: palatinale 3min-Pellikel (Proband 2)  
70.000fache Vergrößerung

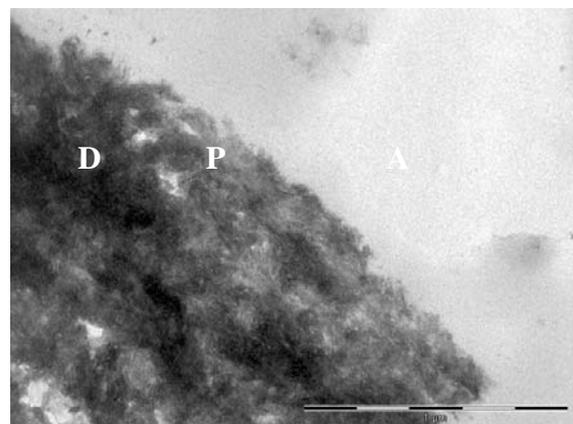


Abb. 31: palatinale 3min-Pellikel (Proband 2)  
50.000fache Vergrößerung

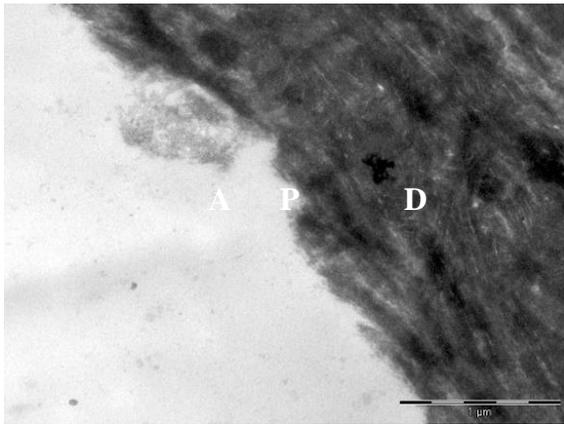


Abb. 32: palatinale 3min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

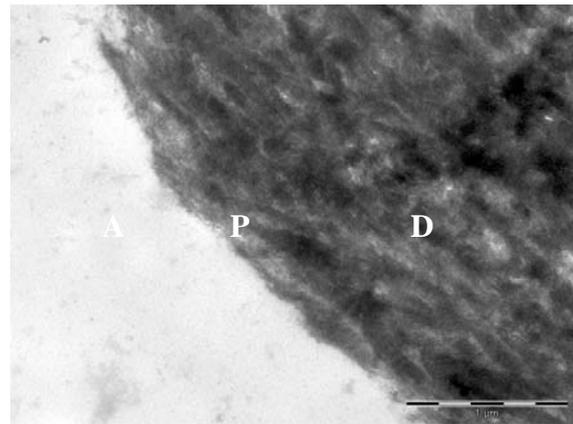


Abb. 33: palatinale 3min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

Die palatinale 30min-Pellikel trat bei den drei Probanden unterschiedlich in Erscheinung. Bei Proband 1 zeigte sich die ausgeprägteste Pellikel, wobei die elektronendichte Basisschicht nur schwer erkennbar war auf Grund der dunklen Färbung des Dentins (Abb. 34, Abb. 37, Abb. 39). Hinsichtlich der Schichtstärke der homogenen Pellikel variierte Proband 1 im Vergleich zu 2 und 3 beträchtlich.

Die dickste Pellikel fand sich bei Proband 1 mit einer Schichtstärke von 1,3  $\mu\text{m}$  (Abb. 34), bei Proband 2 und 3 lag sie nur bei ca. 300 nm (Abb. 37, Abb. 39). Eine durchschnittliche Pellikelschichtstärke konnte bei keinem Probanden detektiert werden, da keine Pellikel eine durchgehende Kontinuität besaß (Abb. A90, Abb. A83, Abb. A78), sondern nur einzelne, von einander unabhängige, in ihrer Schichtstärke varierende Pellikelabschnitte. Allen drei Probanden war aber die locker strukturierte Pellikel gemeinsam. Die einzeln vorkommenden größten globulären Agglomerate hatten einen Durchmesser von ca. 300 nm und waren vom darunterliegenden Dentin gut abgrenzbar (Abb. A77, Abb. 37, Abb. A88). Der Großteil der Pellikel war jedoch granulär aufgebaut (Abb. A73, Abb. A79, Abb. A80, Abb. A86, Abb. 39). Einige zur Oberfläche geöffneten Tubuli waren teilweise mit einer spinnennetzartigen Pellikel angefüllt (Abb. 35, Abb. A80, Abb. A86), andere Tubuli waren pellikelfrei (Abb. 35, Abb. A82) und wurden nur oberflächlich von der Pellikel tangiert (Abb. 35). Bakterien fanden sich in der Mehrzahl in den Lumen der Tubuli, einige sogar im Stadium der Teilung (Abb. A74, Abb. 36, Abb. A85). Bakteriellen Kolonien (Abb. 34, Abb. A85) fanden sich neben einzeln vorkommenden Kokken (Abb. A73, Abb. A80, Abb. A81) nur bei Proband 1 und 2. Im Präparat von Proband 3 ließen sich keine Bakterien feststellen.

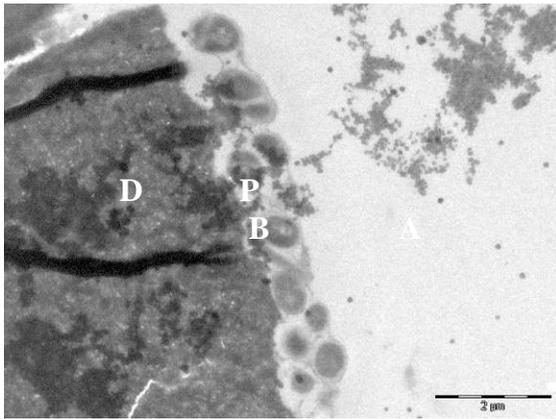


Abb. 34: palatine 30min-Pellicel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

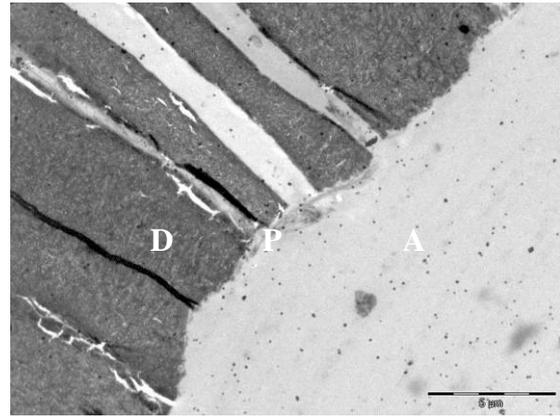


Abb. 35: palatine 30min-Pellicel (Proband1)  
5.000fache Vergrößerung

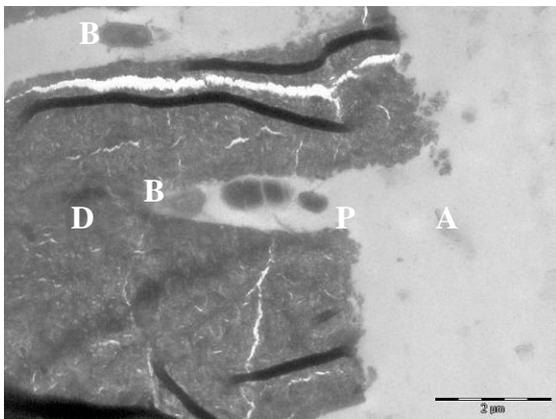


Abb. 36: palatine 30min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

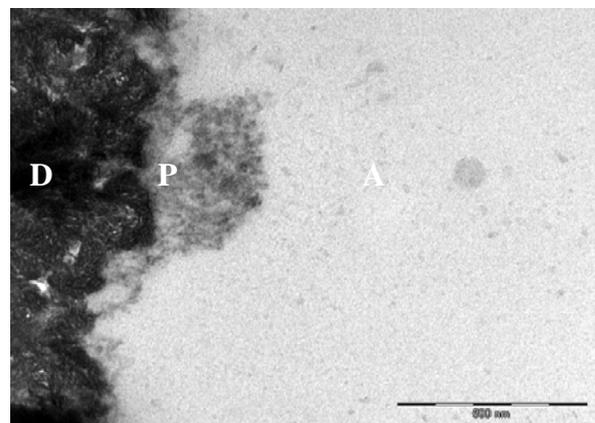


Abb. 37: palatine 30min-Pellicel (Proband2)  
70.000fache Vergrößerung

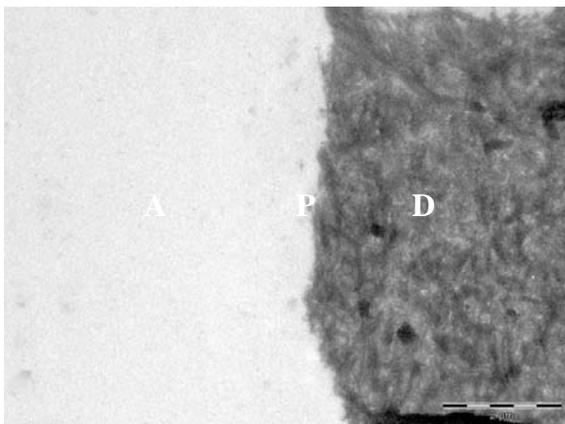


Abb. 38: palatine 30min-Pellicel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

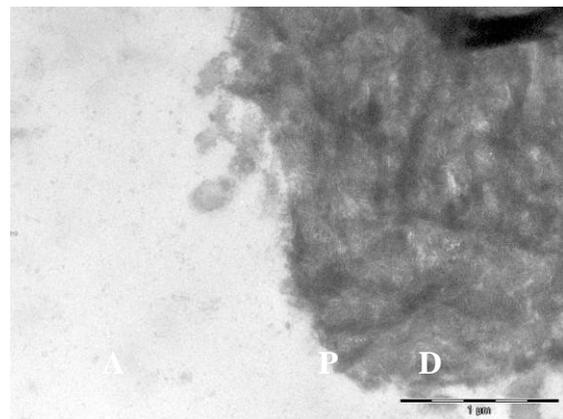


Abb. 39: palatine 30min-Pellicel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

Die palatine 120min-Pellicel wies bei allen drei Probanden Gemeinsamkeiten auf. Die nicht durchgehende Pellicel zeigte nur stellenweise größere globuläre Agglomerate (Abb. A91, Abb. A98, Abb. A111). Daher schwankte die Pelliceldicke stark von 0 nm bis 1 µm (Abb. 40, Abb. 41, Abb. A93, Abb. A110, Abb. A103, Abb. A113).

Eine durchschnittliche Pellikelschichtstärke ließ sich nur bei Proband 2 und bei Proband 3 nur teilweise festhalten. Sie belief sich auf ca. 200 nm und stellte sich bei Proband 2 homogen mit globulären Anteilen dar (Abb. 42). Bei Proband 3 variierte die Struktur des Biofilms zwischen granulär und globulär, war aber weitgehend als homogen anzusehen (Abb. 45, Abb. A111). Proband 3 als geringer Pellikelbildner palatinal zeigte zwar nur eine maximale Pellikelschichtstärke von 800 nm (Abb. A113), wies aber genau wie Proband 2 Proteinagglomerate mit einer Größe von 1 bis 2 µm in seiner Pellikel auf, die sich längs zur Dentinoberfläche zogen (Abb. A113, Abb. A111, Abb. A103).

Was die bakterielle Besiedlung der Zahnoberfläche betraf, ließ sich wieder eine Trennung zwischen dem Proband 3 und den Probanden 1 und 2 ziehen. Proband 3 zeigte in der Pellikel kaum Bakterienansammlungen. Vereinzelt tauchten an der Dentinoberfläche Kokken auf, in den Dentintubuli jedoch so gut wie gar nicht (Abb. A114, Abb. A113, Abb. 44). Die bakterielle Adhäsion bei Proband 1 und 2 war hingegen beträchtlich, vor allem in den Dentintubuli bildeten sich ganze Kokkenkolonien, die sich während des Entnahme- und Fixierungsvorgangs sogar noch in einem Teilungsstadium befanden (Abb. 43, Abb. A99, Abb. A91). Eine andere Bakterienart als Kokken ließ sich nicht dokumentieren. Eine elektronendichte Basisschicht war, wie auch bei den anderen Präparaten, auf Grund der dunklen Färbung des Dentins nicht eindeutig differenzierbar.

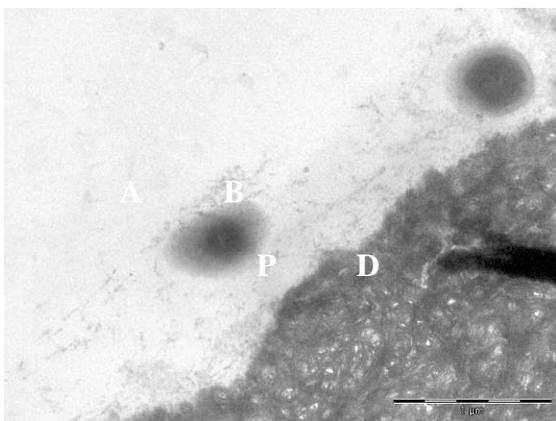


Abb. 40: palatinale 120min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

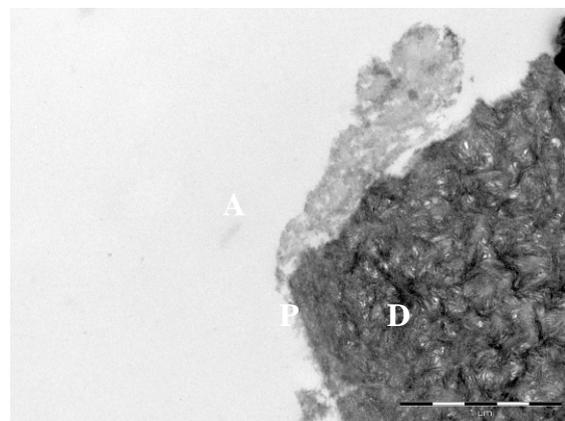


Abb. 41: palatinale 120min-Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

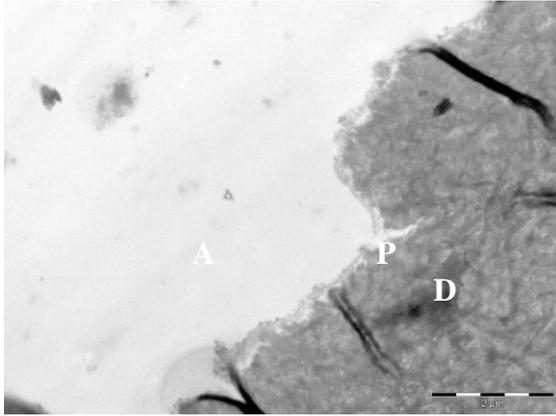


Abb. 42: palatine 120min-Pellikel(Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

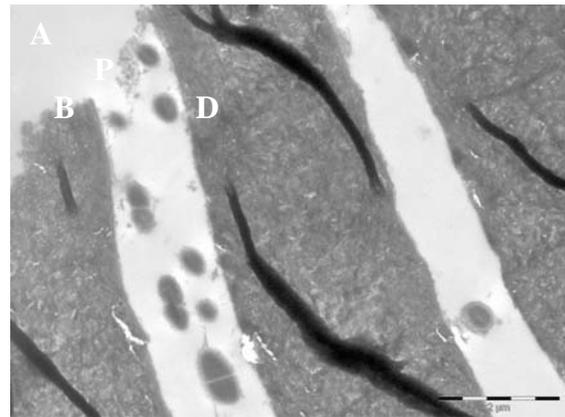


Abb. 43: palatine 120min-Pellikel(Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

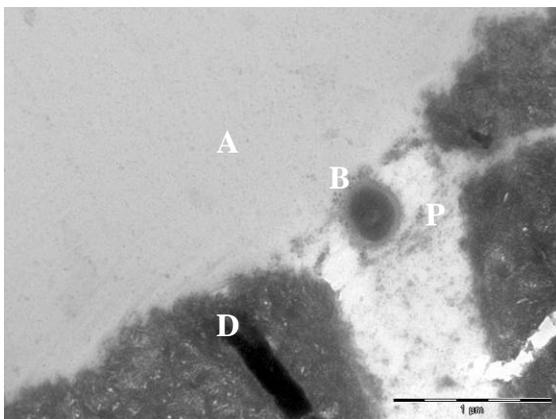


Abb. 44: palatine 120min-Pellikel(Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

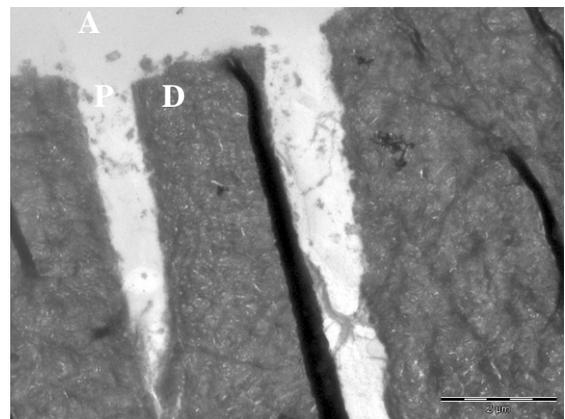


Abb. 45: palatine 120min-Pellikel(Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

Das gleiche Problem der nicht detektierbaren elektronendichten Pellikelbasisschicht bestand auch bei der palatine 360min-Pellikel. Die restliche Pellikel war gut erkenn- und abgrenzbar (Abb. A119, Abb. 48). Das Erscheinungsbild des Biofilms bei Proband 1 und 3 unterschied sich stark voneinander, trotz der annähernd gleichen Schichtstärke der Biopolymerschicht. Mit 1,3 µm war die maximale Pellikelschichtstärke bei Proband 3 200 nm dicker als bei Proband 1 (Abb. A129, Abb. 47). Hingegen war die durchschnittliche Pellikeldicke bei Proband 1 mit 200 nm (Abb. A120) stärker ausgeprägt als bei Proband 3 mit 100 nm (Abb. A130). Die durchschnittlichen 100 nm ergaben sich hier nur stellenweise aus einem diskontinuierlichen Biopolymerfilm; häufig fanden sich auf der Dentinoberfläche auch nur einzelne Proteinagglomerate, die unverbunden nebeneinander lagen (Abb. 49, Abb. A127). Bei Proband 1 erstreckte sich die Pellikel ohne Unterbrechung über die Oberfläche des Dentins und zeigte sich hierbei heterogen (Abb. A121). Der Pellikelultrastruktur war hauptsächlich von granulärer Struktur und verfügte über einige Proteinagglomerate, die im Biopolymerfilm eingebettet waren (Abb. 46, Abb. A124). Einzelne

globuläre Proteinagglomerate bei Proband 3 konnten eine Größe bis 400 nm aufweisen (Abb. 49, Abb. A127).

Die Probanden zeigten ein ähnliches Bild der bakteriellen Adhärenz. Die adhärierenden Bakterien, bei denen es sich ausschließlich um Kokken handelte, traten auf der Dentinoberfläche sowohl einzeln (Abb. A117, Abb. A131) als auch in Kolonien auf (Abb. 47, Abb. 48). Typisch für die palatinalen Präparate waren die im Dentintubulus auftretenden Bakterien, die sich zum Zeitpunkt der Entnahme teilweise immer noch im Teilungsvorgang befanden (Abb. A115, Abb. A128).

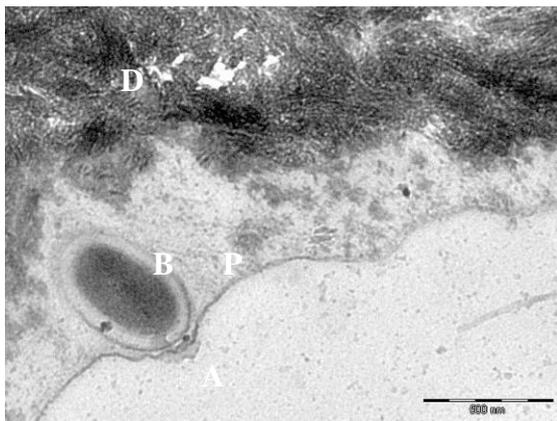


Abb. 46: pal. 360min-Pellikel (Proband 1)  
50.000fache Vergrößerung

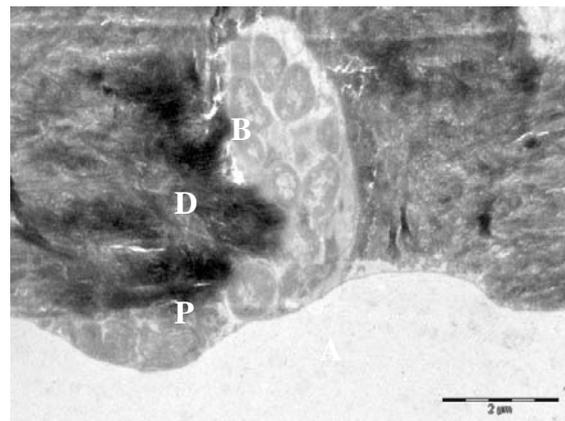


Abb. 47: pal. 360min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

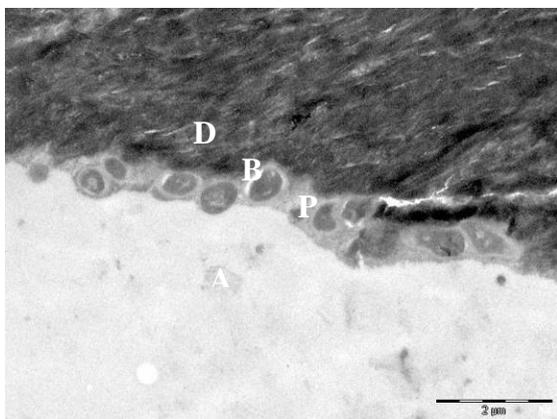


Abb. 48: pal. 360min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

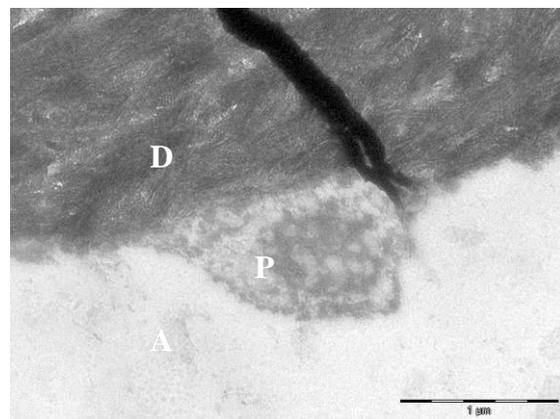


Abb. 49: pal. 360min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

#### 4.2 Versuche mit Zitronensäureexposition

Im zweiten Versuchsteil wurden Dentin und pellicelbedecktes Dentin zwei unterschiedlichen Zitronensäurekonzentrationen für eine Minute ausgesetzt. Ziel dieser Versuchsreihen war die Dokumentation der erosiven Veränderung von Dentin und Pellicel.

#### 4.2.1 Versuchsreihe A

Der erste Versuch der Versuchsreihe A untersuchte die Auswirkung von 0,1 %iger Zitronensäure über eine Minute in vivo auf Dentin. Die dokumentierten Bilder zeigten eine weitgehend gleichmäßige Demineralisation des Dentins auf einer Tiefe von 250 bis 700 nm (Abb. A134, Abb. A141). An den unregelmäßigen Stellen der Präparate konnte die Demineralisation zwischen 0,5 und 1  $\mu\text{m}$  schwanken (Abb. A137, Abb. A143). Die durchschnittliche Demineralisation betrug bei Proband 2 500 nm (Abb. 51) und bei Proband 3 350 nm (Abb. A142). Ab einer 30.000fachen Vergrößerung ließen sich einzelne Kollagenfibrillen ausmachen (Abb. 50, Abb. 53). Der Übergang von mineralisiertem zu demineralisiertem Dentin verlief scharfkantig, ebenso der Übergang von demineralisiertem Dentin zu Araldit (Abb. 51, Abb. A143). Teilweise ließ sich an der Oberfläche des demineralisierten Dentins ein weniger entkalkter Saum feststellen, der in den Bildern dunkel hervorstach (Abb. 52, Abb. A143). Dieser dunklere Saum zog sich sogar bis in die zur Oberfläche geöffneten Tubuli. Entkalkungen mit einer Dicke von 50 bis 100 nm konnten bis in eine Tiefe von 3  $\mu\text{m}$  festgestellt werden (Abb. A142, Abb. A145). Probandenspezifisch war festzuhalten, dass Proband 2 zu einer stärkeren Demineralisation neigte als Proband 3 (Vergleich Abb. 51, Abb. 53).

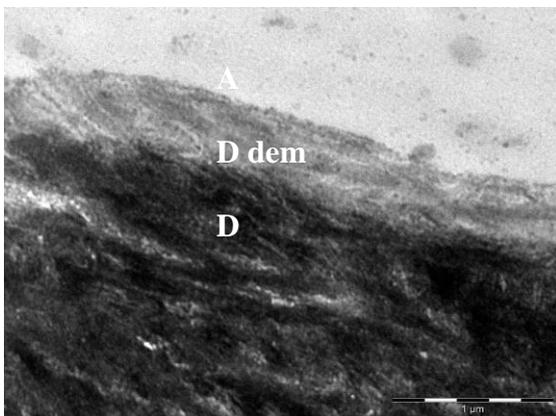


Abb. 50: Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

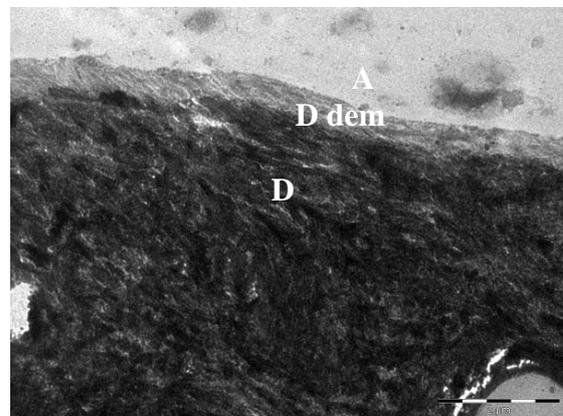


Abb. 51: Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

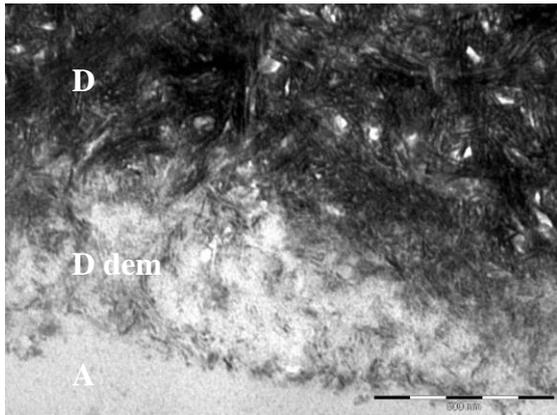


Abb. 52: Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 70.000fache Vergrößerung

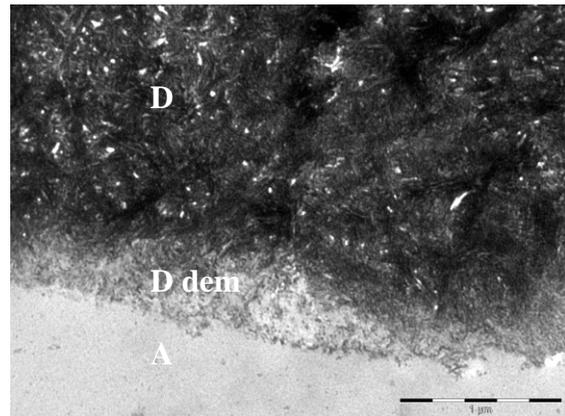


Abb. 53: Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

Im zweiten Versuch der Versuchsreihe A (Probe intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert) war das Erscheinungsbild der Demineralisation bei beiden Probanden sehr unterschiedlich. Bei Proband 2 erschien die Entkalkung auf ganzer Länge des Präparats unregelmäßig. Sie variierte zwischen 0 nm (Abb. A151) und knapp 2 µm (Abb. A146). Stellenweise war kaum ein Säureangriff erkennbar (Abb. A151). Die Dentinoberfläche wirkte in diesen Bereichen jedoch sehr unregelmäßig (Abb. A151, Abb. 55). In den Zonen der Demineralisation waren deutlich die nach dem Säureangriff zurückbleibenden Kollagenfasern zu erkennen (Abb. 54, Abb. 56). Die Dicke der Demineralisation unterschied sich bei Proband 3 deutlich von Proband 2. Die Schichtstärke der Entkalkung variierte bei Proband 3 kaum. Durchschnittlich betrug die Demineralisation 3 µm (Abb. 57). Dies war dreimal so viel wie bei Proband 2 (Abb. A148, Abb. 54). Auch waren hier teilweise die Tubuli und ihre Eingänge sehr stark von der Entkalkung betroffen. Die Säure hinterließ in den Tubuli fast 1 µm breite Spuren (Abb. A148, Abb. 56). Die Zone der Demineralisation selbst wirkte sehr homogen durch ihre gleichmäßige Entkalkung (Abb. 54, Abb. 56).

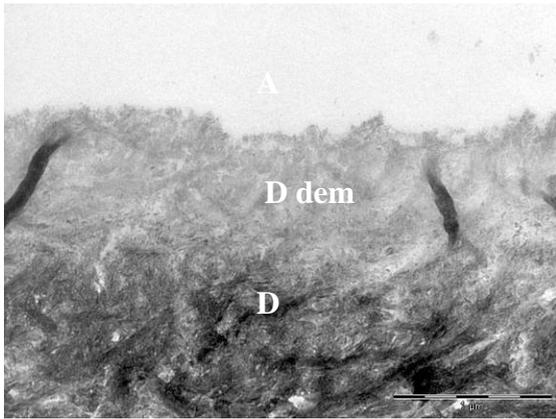


Abb. 54: 1minütige In-vivo-Spülung mit 1%iger Zitronensäure (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

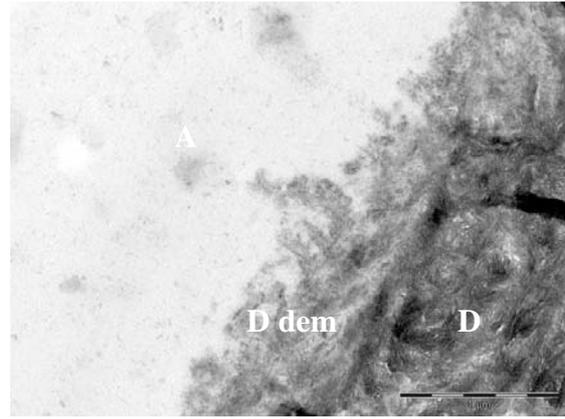


Abb. 55: 1minütige In-vivo-Spülung mit 1%iger Zitronensäure (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

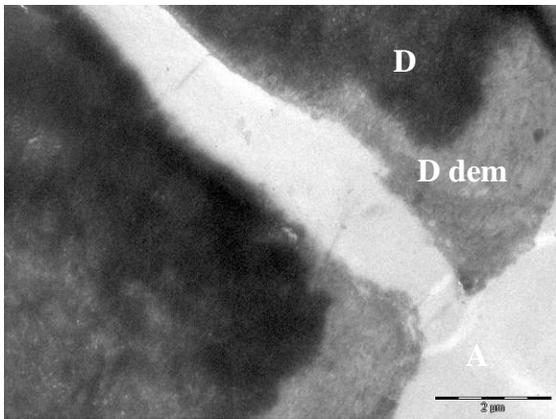


Abb. 56: 1minütige In-vivo-Spülung mit 1%iger Zitronensäure (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

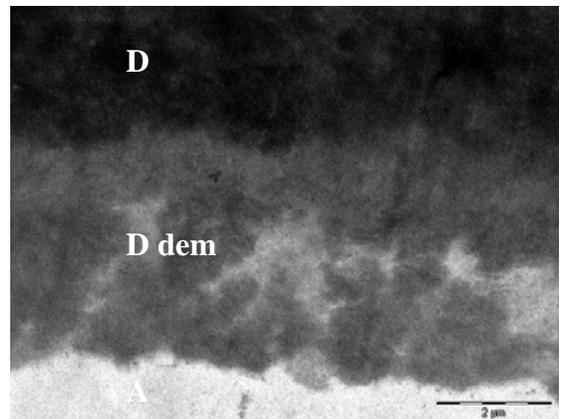


Abb. 57: 1minütige In-vivo-Spülung mit 1%iger Zitronensäure (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

Der dritte und vierte Versuch der Versuchsreihe A waren In-vitro-Versuche. Die Wirkung einer 0,1%igen Zitronensäure über eine Minute auf Dentin hinterließ nur einen unregelmäßig demineralisierten Dentinsaum von 0 bis 400 nm (Abb. A158, Abb. 59). Dieser dünne Saum, sichtbar ab einer 10.000fachen Vergrößerung, bildete eher die Ausnahme. Stellenweise war überhaupt keine Demineralisation erkennbar (Abb. A158, Abb. A159, Abb. A162) oder eine nur sehr geringe, die aber erst ab einer 60.000fachen Vergrößerung sichtbar wurde (Abb. A161, Abb. 58). Die durchschnittliche Entkalkung mit 150 nm (Abb. A163) wies eine dichte Struktur auf. Grundsätzlich ließ sich die Demineralisation als scharfkantig an den Übergängen zum Araldit und zum noch mineralisierten Dentin beschreiben. Die Demineralisation war von der Oberfläche bis zum mineralisierten Übergang gleichmäßig. Mittig ließen sich gelegentlich kleine Löcher ohne Mineralien oder Kollagenfibrillen entdecken (Abb. A161, Abb. 59).

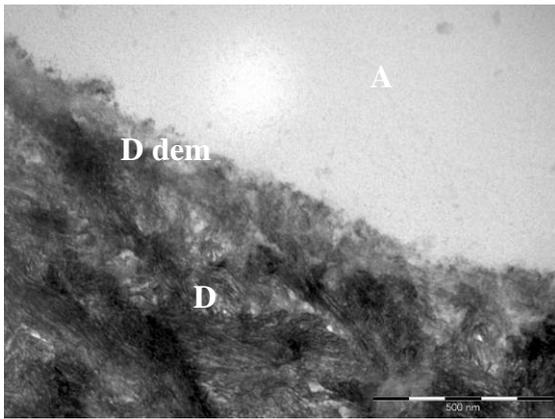


Abb. 58: Probe in vitro über 1 Minute  
in 0,1%iger Zitronensäure exponiert  
70.000fache Vergrößerung

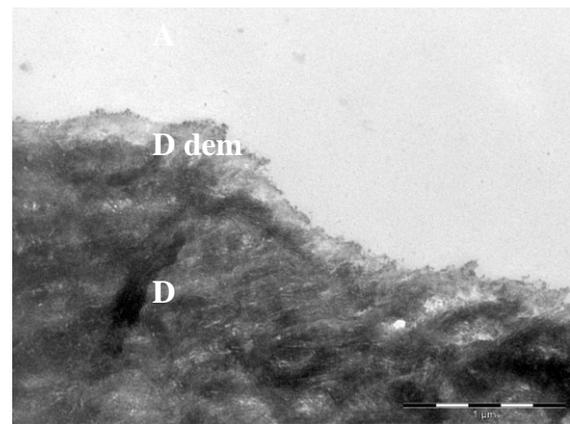


Abb. 59, Probe in vitro über 1 Minute  
in 0,1%iger Zitronensäure exponiert  
30.000fache Vergrößerung

Deutlicher wurde die Entkalkung des Dentins bei einer Exposition in 1%iger Zitronensäure. Eine gleichmäßig demineralisierte Zone zog sich über die gesamte Oberfläche des Dentins (Abb. A164, Abb. 60). Die Breite der Zone variierte zwischen 600 und 800 nm (Abb. A164, Abb. 61), die durchschnittliche Demineralisationsschichtstärke lag mit 700 nm dazwischen. Ab einer 10.000fachen Vergrößerung waren die Kollagenfibrillen im demineralisierten Dentin sichtbar (Abb. A165, Abb. A166). Löcher in der Matrix waren ebenfalls eher mittig zu finden (Abb. A165). Auch hier waren die Übergänge zur demineralisierten Zone scharfkantig. Je tiefer man in einen zur Oberfläche geöffneten Tubulus vordrang, desto weniger ließ sich noch eine Demineralisation feststellen.

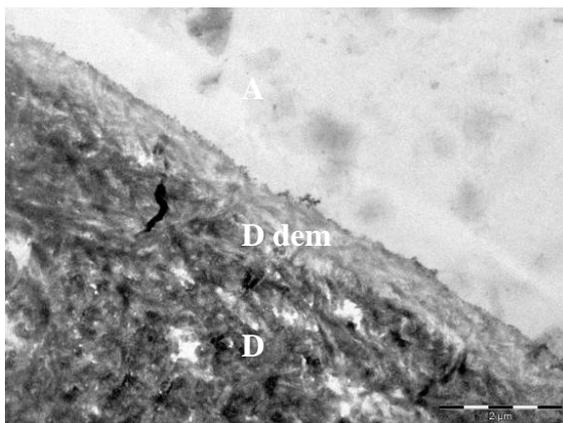


Abb. 60: Probe in vitro über 1 Minute in  
1%iger Zitronensäure exponiert  
10.000fache Vergrößerung

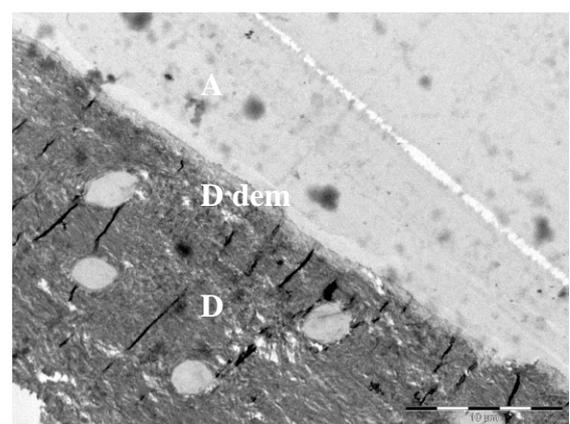


Abb. 61: Probe in vitro über 1 Minute in  
1%iger Zitronensäure exponiert  
3.000fache Vergrößerung

#### 4.2.2 Versuchsreihe B

Der erste Teil der Versuchsreihe B (Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure für eine Minute nach einer Tragezeit der Dentinproben von 30 Minuten) ergab bei den Probanden völlig unterschiedliche Ergebnisse.

Bei Proband 2 waren deutliche Spuren einer Pellikel und weniger deutliche Spuren eines Säureangriffs zu erkennen (Abb. A172, Abb. A171). Die Pellikel war stellenweise stark aufgelockert und zerstört (Abb. 62, Abb. A172). Globuläre Proteinagglomerate mit einem Durchmesser von 500 nm waren vereinzelt zu finden (Abb. A172). Die restliche Pellikel wies eine granuläre Struktur mit einer fadenförmigen Anordnung auf. Die Pellikel war durch die Säure stark durchlöchert und erschien zusammenhangslos (Abb. 62, Abb. A172). Durch die aufgelockerte Struktur der Pellikel konnte diese eine Dicke bis 2,1  $\mu\text{m}$  annehmen (Abb. A172). Stellenweise wirkte die 30min-Pellikel jedoch als sei sie von der Säureexposition kaum berührt. Die Pellikel war zwar locker strukturiert, aber die einzelnen granulären und globulären Agglomerate waren in einen geordneten Pellikelverband eingegliedert, dessen durchschnittliche Dicke zwischen 100 und 200 nm betrug (Abb. A169, Abb. A171, Abb. 63). Eine Schwachstelle für die Demineralisation des Dentins waren die Tubuluseingänge. Nur hier war eine Entkalkung bis 100 nm Breite sichtbar (Abb. 62, Abb. A171). Die Demineralisation reichte bis ca. 1  $\mu\text{m}$  in den Tubulus hinein (Abb. 62, Abb. A171). Das Dentin in der Tiefe des Tubulus war, genau wie das oberflächliche Dentin, von der Säure unangegriffen. In den Tubuli sammelten sich die Überreste der „kollabierten“ Pellikel. Einzelne Proteinagglomerate und Bakterien verpfropften die Tubuluseingänge (Abb. 62, Abb. A171).

Bei Proband 3 war im Gegensatz zu Proband 2 eine gleichmäßige Demineralisation des Dentins von ca. 400 nm zu sehen (Abb. A175). Der schwarze Streifen zwischen dem demineralisierten Dentin und der Pellikel war so deutlich erkennbar wie bei Proband 2 (Abb. A 171, Abb. A177). Die elektronendichte Basisschicht konnte in der drei, 30, 120, 360min-Pellikel auf Grund des sehr dunkel angefärbten Dentins kaum dokumentiert werden. Erst durch die Demineralisation des Dentins wurde die 25 nm dicke elektronendichte Basisschicht hier sichtbar (Abb. A175, Abb. A177, Abb. 62, Abb. A176). Auf der Basis erstreckte sich eine durchschnittlich 100 nm bis maximal 700 nm dicke Pellikel mit granulären und globulären Proteinagglomeraten (Abb. A178, Abb. A177). Auch bei Proband 3 wirkte die Pellikel aufgelockert, aber nicht zerstört (Abb. A177). Die sich in die Tubuli hineinziehende Pellikel war am Tubuluseingang am dicksten und dünnte sich nach unten allmählich aus. Auch bei Proband 3 war das Dentin am Tubuluseingang

anfälliger für Demineralisation (Abb. A179, Abb. A176). Bakterien waren vereinzelt nachweisbar (Abb. 65).



Abb. 62, 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

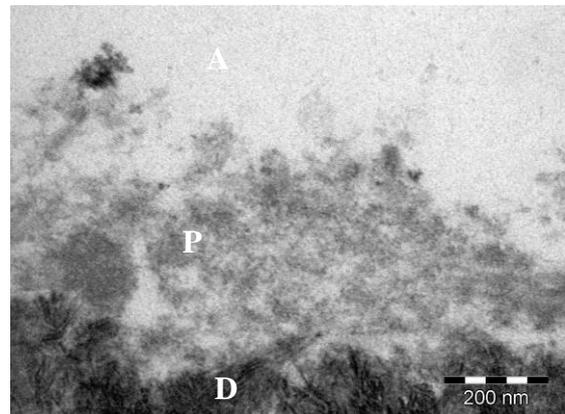


Abb. 63, 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)  
100.000fache Vergrößerung

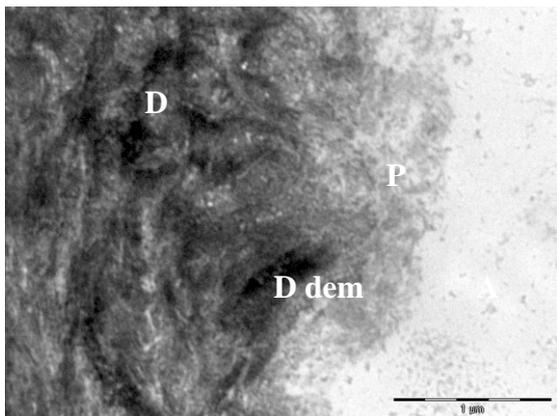


Abb. 64: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

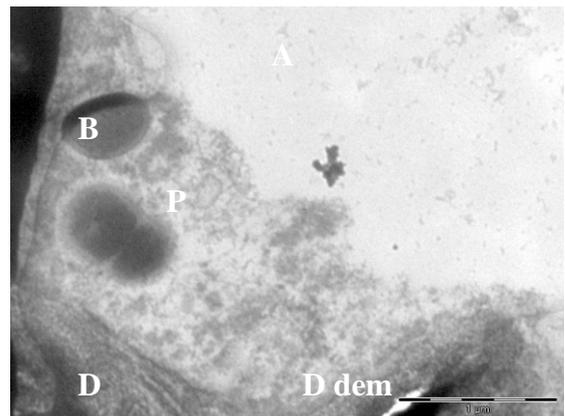


Abb. 65: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

Der zweite Versuchsteil (Spülen mit 1%iger Zitronensäure für eine Minute nach einer Tragezeit der Dentinproben von 30 Minuten) zeigte bei allen zwei Probanden annähernd ähnliche Ergebnisse. Das Dentin wurde auf einer Tiefe zwischen 1 und 2 µm entmineralisiert (Abb. 67, Abb. A187, Abb. 68, Abb. 69). Auf der demineralisierten Matrix befand sich eine 100 bis 500 nm dicke nicht durchgängige Restpellikel, welche stellenweise durch die Säureexposition stark aufgelockert schien, ohne aber in ihrem Zusammenhang völlig aufgehoben zu sein (Abb. A183, Abb. A187, Abb. 69, Abb. A191). Trotz einer durchschnittlichen Demineralisation der Dentinoberfläche blieb aber an manchen Stellen der Präparate von Proband 2 eine fast intakte

Pellikel zurück (Abb. 66). Die homogene Struktur war auf den weitgehend granulären Aufbau der Pellikel zurückzuführen. Vereinzelt traten Bakterien auf (Abb. A182, Abb. 66).

Partiell war die elektronendichte Basisschicht auf dem demineralisierten, Dentin gut erkennbar (Abb. 66, Abb. 69). Ebenso konnten die nach einer Demineralisation zurückbleibenden Kollagenfibrillen bereits bei kleiner Vergrößerung sichtbar gemacht werden (Abb. A185, Abb. 69). Probandenspezifisch waren zwei Auffälligkeiten festzuhalten. Bei Proband 3 brach das bereits geschwächte demineralisierte Dentin von der mineralisierten Matrix (Abb. A191) und teilweise löste sich die Pellikel samt elektronendichter Basisschicht vom demineralisierten Dentin (Abb. A193).

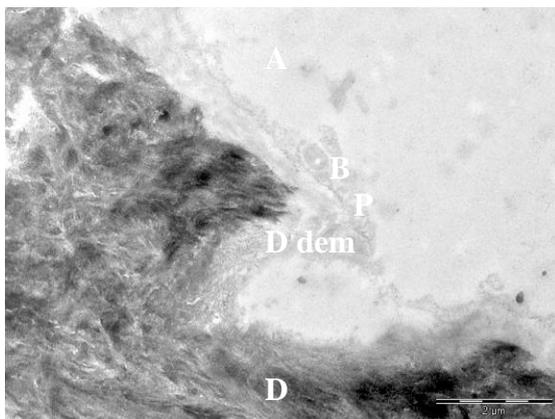


Abb. 66: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)

10.000fache Vergrößerung

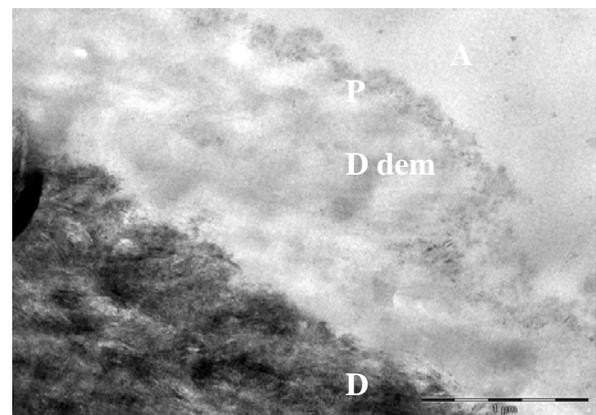


Abb. 67: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)

30.000fache Vergrößerung

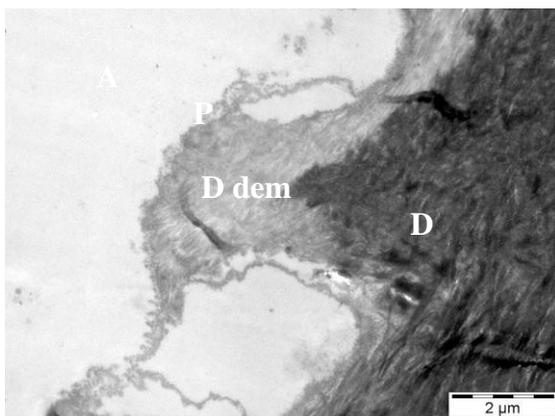


Abb. 68: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)

10.000fache Vergrößerung

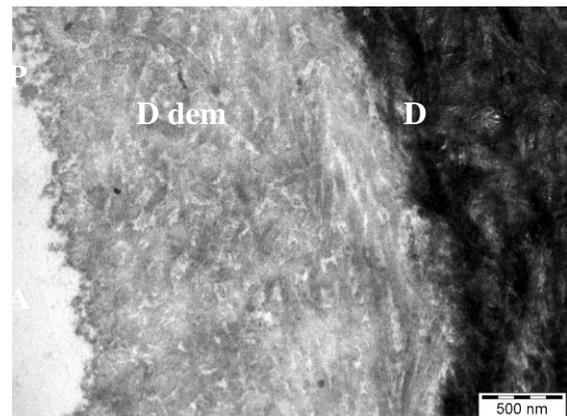


Abb. 69: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)

30.000fache Vergrößerung

Beim ersten In-vitro-Versuch der Versuchsreihe B wurde die 30min-Pellikel extraoral einer 0,1%igen Zitronensäure für eine Minute ausgesetzt. Die Demineralisation schwankte bei den zwei Probanden. Bei Proband 2 betrug die Schichtstärke der Demineralisation durchschnittlich 500 nm (Abb. A195) und bei Proband 3 ist kaum eine Demineralisation zu erkennen (Abb. A199).

Hinsichtlich der Pellikel zeigte Proband 2 eine Schichtstärke von durchschnittlich 100 nm und einen lockeren, homogenen, granulären Aufbau (Abb. 71). Proband 3 unterschied sich nicht nur im Demineralisationsverhalten, sondern auch in seiner heterogenen Pellikelstruktur, die einige globuläre Agglomerate aufwies, die in eine stellenweise bis 500 nm dicke Pellikel eingebettet waren (Abb. 72). Allen zwei Probanden war gemeinsam, dass in dieser Versuchsreihe keine Bakterien gefunden wurden. Auch waren bei beiden Probanden die elektronendichte Basisschicht der Pellikel so wie auch die scharf abgrenzbaren Übergänge von mineralisierter Matrix zu demineralisiertem Dentin festzustellen (Abb. 70, Abb. 72). Hinsichtlich der Tubuli war zu dokumentieren, dass vor allem am Tubuluseingang eine Demineralisation stattfand, die in ihrer Breite zwischen 50 nm und 100 nm variieren konnte (Abb. A198, Abb. 70, Abb. 73). In die Tiefe gehend war die Demineralisation als auslaufend zu beschreiben. Teilweise wurden die Tubuli mit Pellikelmatrix verpfropft (Abb. A195, Abb. A196, Abb. 70) oder enthielten kaum eine Pellikel (Abb. 73).

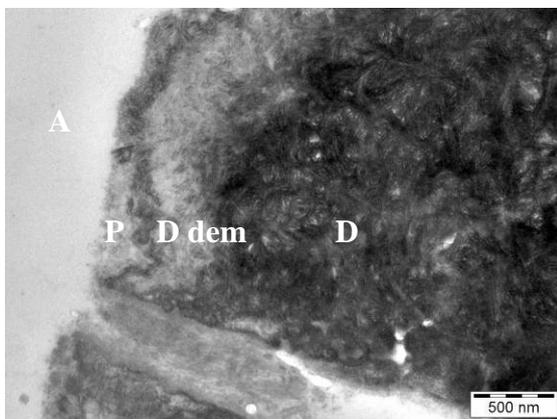


Abb. 70 : 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

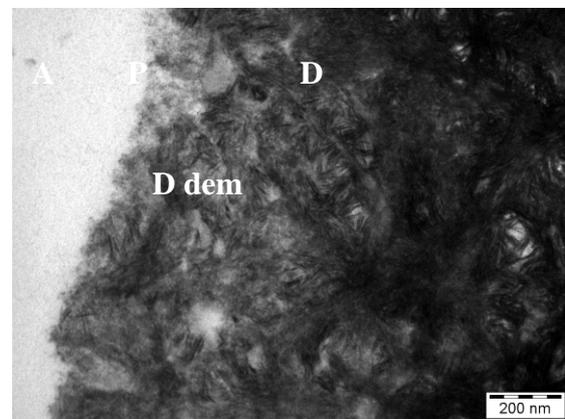


Abb. 71: 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)  
70.000fache Vergrößerung

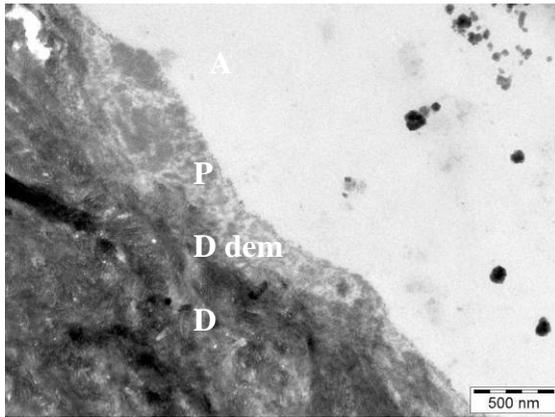


Abb. 72: 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

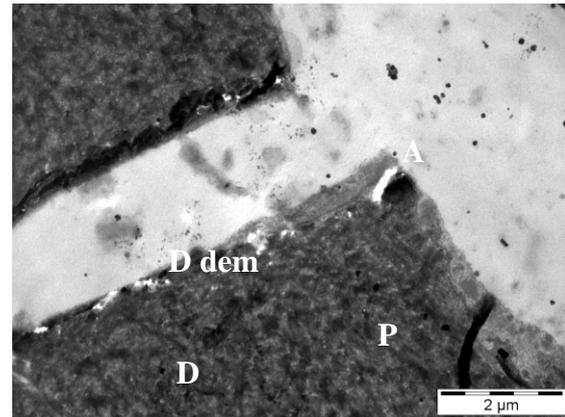


Abb. 73: 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

Im zweiten In-vitro-Versuch mit 1%iger Zitronensäure lag bei beiden Probanden die durchschnittliche Demineralisation mit 1 µm bei Proband 2 (Abb. A201) und mit 800 nm bei Proband 3 (Abb. A209) sehr nahe bei einander. Die Übergänge zur Pellikel und zum mineralisierten Dentin stellten sich scharfkantig dar (Abb. 74, Abb. A201, Abb. A207, Abb. A209). Die entmineralisierte Struktur erschien nicht einheitlich, sondern stellenweise verwaschen oder durchlöchert (Abb. 75, Abb. 77). Die Kollagenfibrillen ließen sich im demineralisierten Dentin gut ausmachen (Abb. A202). Hinsichtlich der Schichtstärke der Pellikel variierte diese bei den zwei Probanden. Bei Proband 2 waren Stellen auffindbar, die nur granuläre Reste einer Pellikel aufwiesen (Abb. 75). Die minimale Dicke der Pellikel bei Proband 3 betrug 100 nm (Abb. A209). Die Struktur der Pellikel war an ihren dünnsten Stellen granulär aufgebaut (Abb. 75, Abb. A210), an den dickeren Stellen bei Proband 3 globulär und granulär (Abb. 76). Auf Grund der Vielzahl der globulären Strukturen war die Pellikel bei Proband 3 als heterogen zu beschreiben. Bei den Proband 2 galt eher das Gegenteil. Die Struktur der Pellikel von Proband 2 ermöglichte vereinzelt Bakterien, ausschließlich zur Familie der Kokken gehörend, die Adhärenz (Abb. A205).

Zusammenfassend bleibt zu bemerken, dass die TEM-Bilder der zwei Probanden hinsichtlich des demineralisierten Dentins Ähnlichkeiten aufweisen. Proband 3 war der stärkere Pellikelbildner. Hier war die Pellikel nicht nur granulär, sondern zeigte die größten globulären Proteinagglomerate im Unterschied zu Proband 2. Die Pellikel dieses Probanden wies nach einem Säureangriff nur noch granuläre Bestandteile auf.

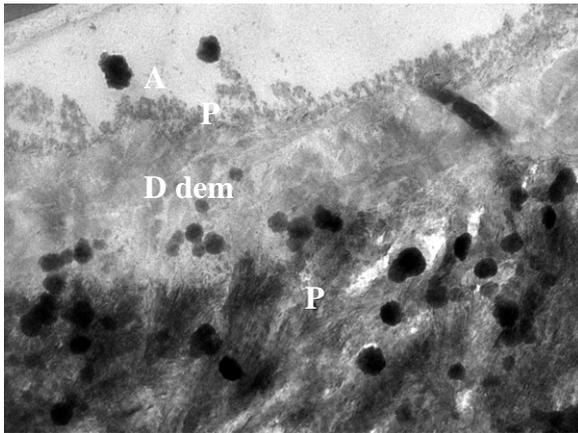


Abb. 74: 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

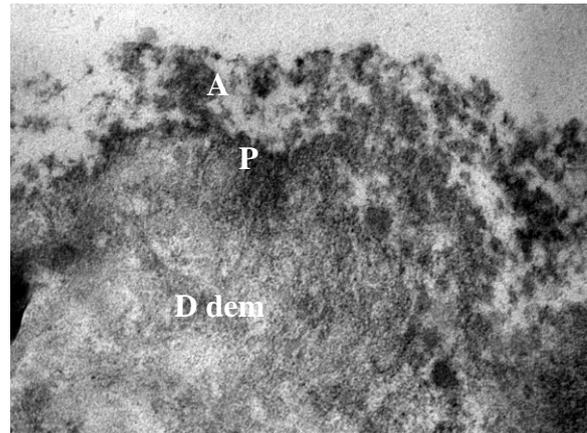


Abb. 75: 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)  
70.000fache Vergrößerung

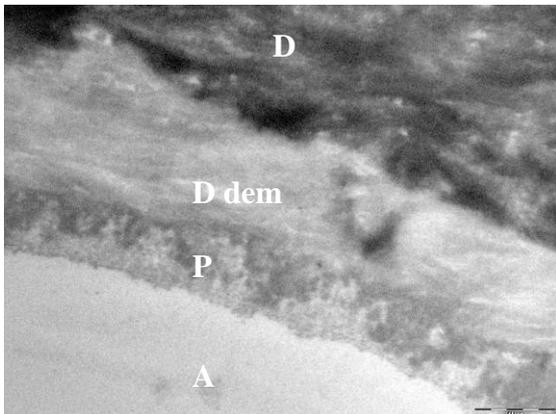


Abb. 76: 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

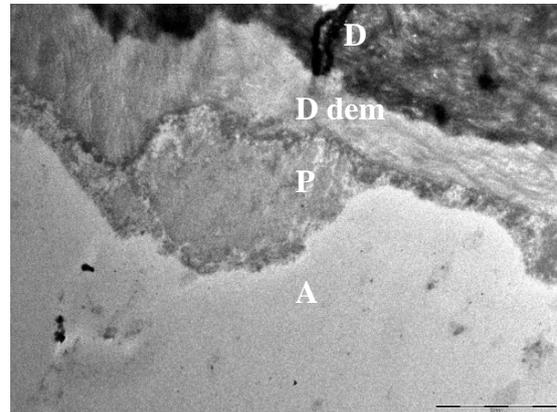


Abb. 77: 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

#### 4.2.3 Versuchsreihe C

Die Versuchsreihen C und D waren reine In-vivo-Versuchsreihen. Auf Grund der Komplexität des Versuchsaufbaus wurden keine In-vitro-Versuche durchgeführt. Nach einer Tragezeit von 30 Minuten spülten die Probanden eine Minute mit 0,1%iger Zitronensäure. Danach wurden die Dentinproben für weitere 30 Minuten intraoral getragen.

Die Demineralisation des Dentins zeigte sich ungleichmäßig. Stellenweise war kaum eine Entkalkung erkennbar (Abb. 79, Abb. A218, Abb. A228, Abb. 80). An anderen Bereichen der Oberfläche ließ sich wiederum eine Demineralisation bis 1  $\mu\text{m}$  feststellen (Abb. A213, Abb. A220, Abb. A215, Abb. A229). Pellicel und Demineralisation konnten jedoch unabhängig von

einander unterschiedlich stark in Erscheinung treten. Eine durchschnittliche Demineralisation zwischen 500 nm und 800 nm trat in Kombination mit einer 250 nm bis 1 µm dicken Pellikel auf (Abb. 78, Abb. A213, Abb. A220, Abb. A215, Abb. A229), genau so wie eine Pellikel von 500 nm ohne Entkalkung (Abb. 79, Abb. 80).

Die eher heterogene Pellikel von Proband 2 mit durchschnittlich 400 nm zeigte mehr globuläre Bestandteile, die in eine granuläre Matrix eingebettet waren (Abb. A215). Bei Proband 3, mit durchschnittlich 100 nm, dominierten granuläre Agglomerate (Abb. A229). Die minimalen und maximalen Schichtstärken der Pellikel lagen bei beiden Probanden mit 20 und 30 nm (Abb. 79, Abb. A230) und 1,5 und 2 µm (Abb. A217, Abb. 81) nahe bei einander. Trotz elektronendichter Basisschicht ließen sich die Schichtstärken der Pellikel manchmal nur schwer beurteilen, da an vielen Stellen die Übergänge von demineralisiertem Dentin zur Pellikel nur schwer erkennbar waren (Abb. A214, Abb. 80).

In den demineralisationsfreien Tubuli der beiden Probanden waren die granulär strukturierten Agglomerate gut vom dunkel gefärbten Dentin abgrenzbar (Abb. A213, Abb. A228). Eine elektronendichte Basisschicht war kaum sichtbar (Abb. A214, Abb. A227).

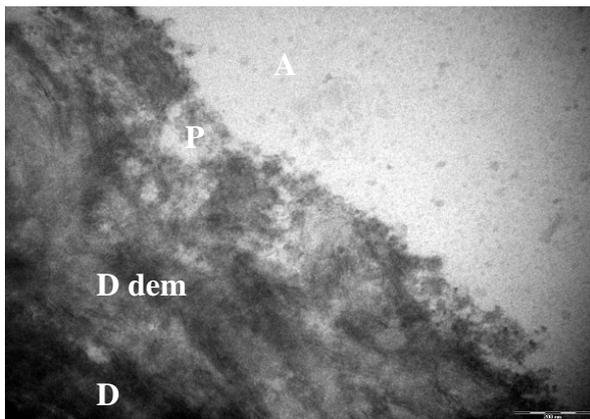


Abb. 78: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

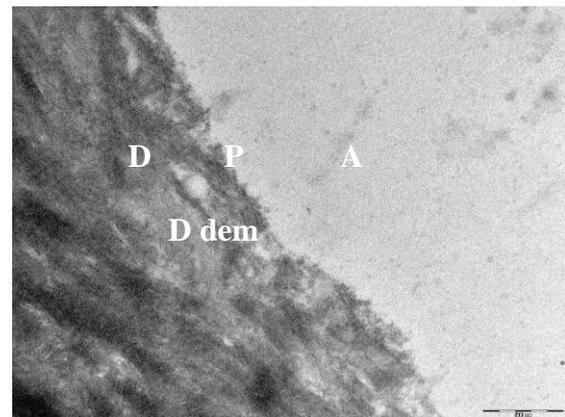


Abb. 79: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

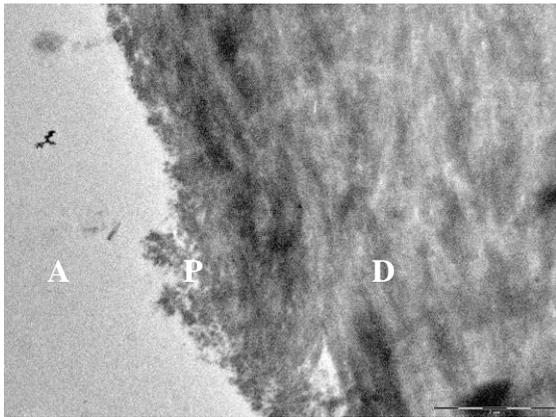


Abb. 80: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

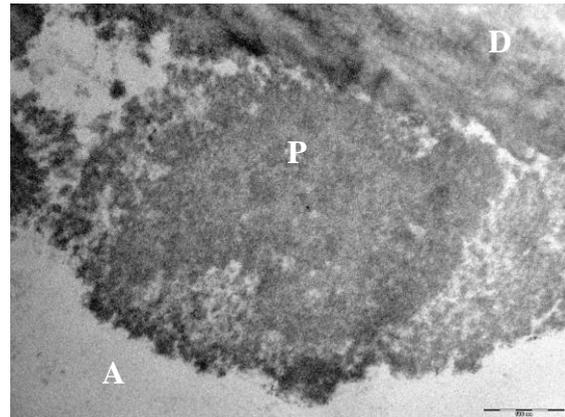


Abb. 81: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

Beim gleichen Versuch unter Spülen mit 1%iger statt 0,1%iger Zitronensäure war die Entkalkung des Dentins bei beiden Probanden gleichmäßig in ihrer Struktur als auch in ihrer Schichtstärke (Abb. A233, Abb. A240). Einzig die bedeckende Pellikel varrierte bei den beiden Probanden deutlich. Die Übergänge von Demineralisation zu elektronendichter Basisschicht und nicht entkalktem Dentin waren eindeutig durch die starke entkalkende Wirkung der 1%igen Zitronensäure zu erkennen (Abb. A235, Abb. A238). Die homogene Demineralisation, bei Proband 3 etwas stärker ausgeprägt als bei Proband 2, ließ sich im Durchschnitt zwischen 1  $\mu\text{m}$  und 2  $\mu\text{m}$  bemessen (Abb. A233, Abb. A235, Abb. A234, Abb. A240, Abb. 84). Darauf aufsitzend fand sich eine durchgängige Pellikel mit elektronendichter Basisschicht und einer durchschnittlichen Dicke von 200 nm bei Proband 2 und deutlich weniger ausgeprägt bei Proband 3 (Abb. 82, Abb. 83, Abb. 85). Die homogene, ausschließlich granulär strukturierte Pellikel konnte auf eine maximale Schichtstärke von ca. 500 nm anwachsen (Abb. A237, Abb. 84).

Im Bereich der Tubuli fand - wie bei allen säurebehandelten Präparaten - hauptsächlich eine Demineralisation am Tubuluseingang statt, welche sich in die Tiefe des Tubulus bis ca. 2  $\mu\text{m}$  verzögerte. Die Pellikel blieb nur sehr locker, zusammenhangslos, granulär strukturiert und füllte die Tubuluseingänge nicht auf (Abb. A240).

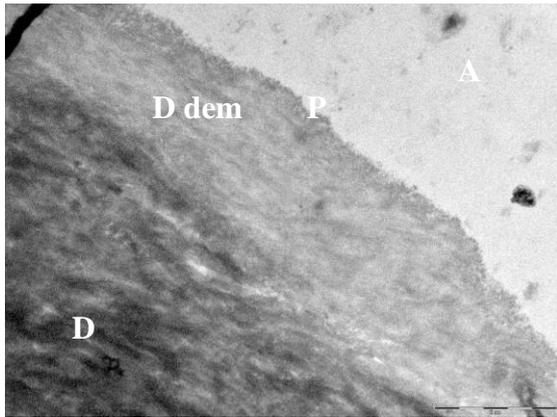


Abb. 82: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)

10.000fache Vergrößerung

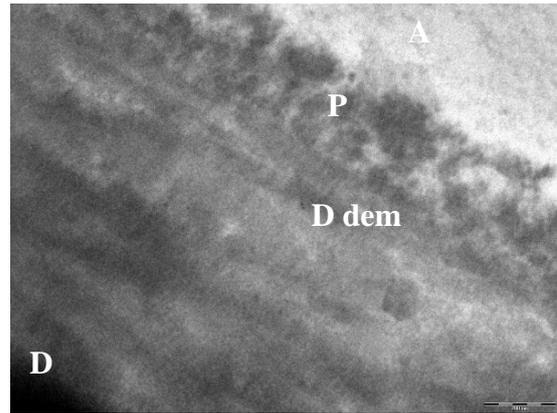


Abb. 83: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)

70.000fache Vergrößerung

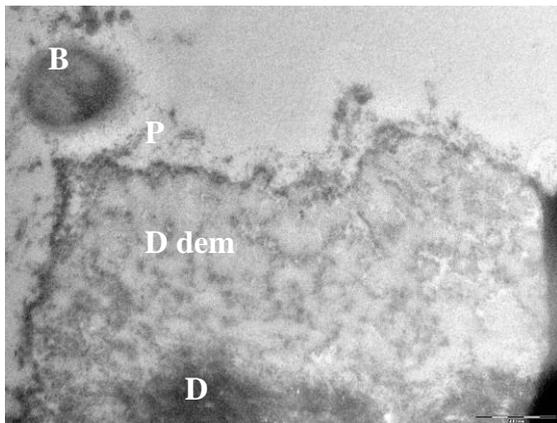


Abb. 84: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3)

30.000fache Vergrößerung

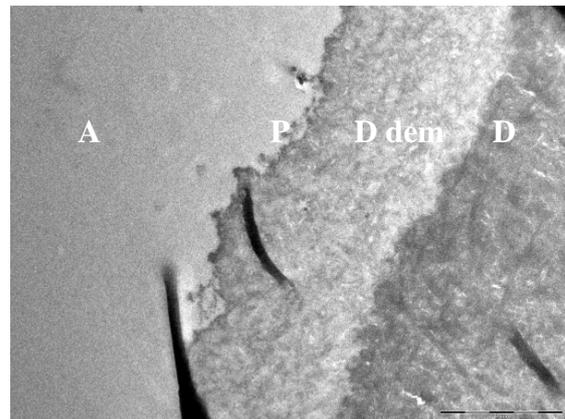


Abb. 85: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3)

10.000fache Vergrößerung

#### 4.2.4 Versuchsreihe D

Im ersten Teil des In-vivo-Versuchs wurden die Dentinproben mit der 30min-Pellikel 0,1%iger Zitronensäure ausgesetzt und daraufhin weitere 60 Minuten intraoral getragen. Die Bilder der beiden Probanden zeigten zwar individuelle Abweichungen, vor allem in der Struktur der Pellikel, dennoch ließen sich viele Gemeinsamkeiten feststellen.

Durch die Säureexposition wurde das Dentin bei beiden Probanden sichtbar entkalkt. Die Demineralisation schwankte zwischen 200 nm (Abb. 86, Abb. A244) und 700 nm (Abb. A256,

Abb. 89). Im Durchschnitt lag sie aber bei 500 nm (Abb. A242, Abb. A243, Abb. A246, Abb. A256, Abb. A253). Die Demineralisation hatte bei beiden Probanden einen ähnlichen strukturellen Aufbau und zeigte kaum eine Durchlöcherung, verfügte aber über dichte und weniger dichte Bereiche (Abb. A245, Abb. A246, Abb. A247, Abb. A253). Auffallend bei Proband 3 waren die zahlreichen mineralisierten Kollagenfibrillen in der oberen Hälfte der demineralisierten Zone, die durch ihren dunklen Kontrast deutlich hervortraten (Abb. A253, Abb. 89). Bei Proband 2 erschien die Demineralisation etwas ausgeprägter und die elektronendichte Basisschicht der Pellikel war klarer erkennbar als bei Proband 3 (Abb. A244, Abb. A253).

Die Pellikel stellte sich bei beiden Probanden unterschiedlich dar. Die granuläre Pellikel von Proband 2 war sehr locker strukturiert und variierte zwischen ca. 200 nm (Abb. A247) und 2 µm (Abb. A245). Bakterien traten hier vereinzelt in den dickeren Stellen der Pellikel auf (Abb. 86, Abb. A245, Abb. A249). Die demineralisierten Tubuluseingänge waren „überwachsen“ und verschlossen durch eine granuläre zusammenhängende Pellikel mit einer Schichtstärke von fast 1 µm (Abb. A250). Entlang der Tubuluswände formierte sich ein Pellikelsaum, bestehend aus einzelnen Proteinagglomeraten (Abb. A251).

Bei Proband 3 war bei einer 3.000fachen Vergrößerung keine Pellikel erkennbar (Abb. A254). Erst ab einer 10.000fachen Vergrößerung zeichnete sich an einigen Stellen eine sehr dunkle Pellikel ab (Abb. A255), welche streckenweise nur aus einzelnen granulären Agglomeraten bestand und eine nur sehr dünne durchschnittliche Schichtstärke umfasste (Abb. A253). Anderen Orts konnte die Pellikel eine maximale Dicke von 500 nm annehmen (Abb. 89). Innerhalb der Pellikel befanden sich vereinzelt Bakterien, die von einer hellen Zone umgeben waren (Abb. A257).

Es bleibt anzumerken, dass aber auch Bereiche existierten, in denen keine Demineralisation des Dentins erkennbar war (Abb. A257). Diese Erscheinungen bildeten jedoch eine Ausnahme.

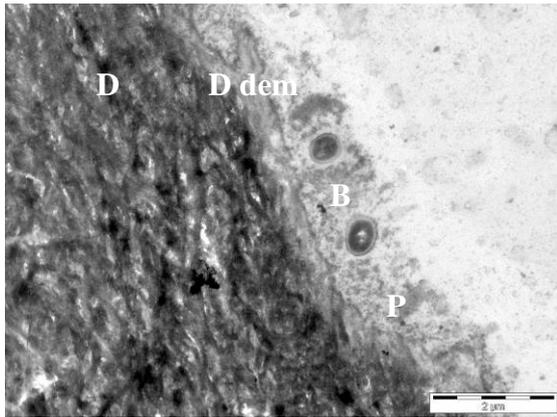


Abb. 86: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2)

10.000fache Vergrößerung

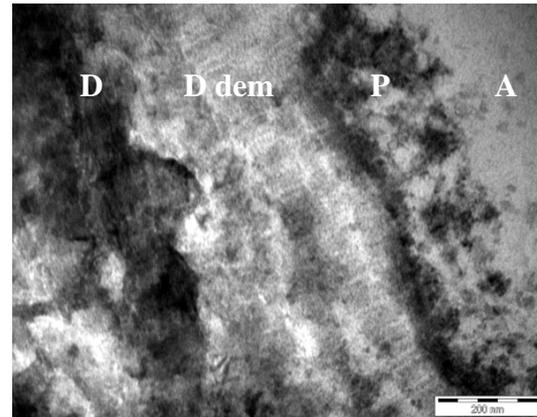


Abb. 87: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2)

100.000fache Vergrößerung

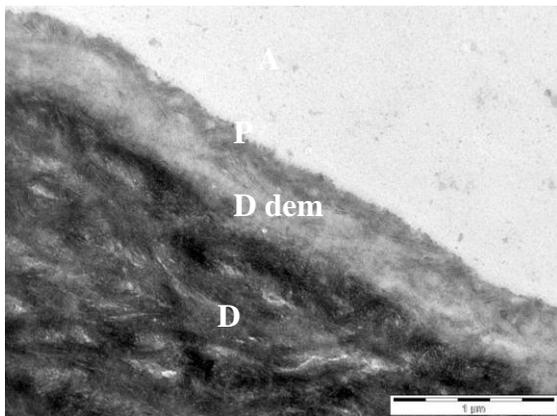


Abb. 88, 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3)

30.000fache Vergrößerung

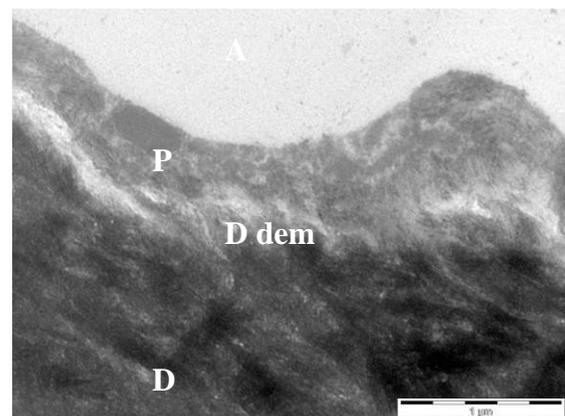


Abb. 89, 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3)

10.000fache Vergrößerung

Im zweiten Teil des In-vivo-Versuchs wurde statt der 0,1%igen Zitronensäure 1%ige Zitronensäure verwendet. Die Demineralisation fiel hier bei beiden Probanden wesentlich deutlicher aus als im vorhergehenden Versuch. Sie lag zwischen 2  $\mu\text{m}$  (Abb. A270) und 15  $\mu\text{m}$  (Abb. A272), wobei die Extreme dieser Spanne nur einmalig vorlagen (Proband 3). Der Durchschnitt lag bei ca. 2,5  $\mu\text{m}$  (Abb. A259, Abb. A262, Abb. A266, Abb. A270, Abb. A274). Die Grenze zwischen entkalktem und noch mineralisiertem Dentin war, wie bei fast allen mit Zitronensäure behandelten Präparaten, gut erkennbar (Abb. A259, Abb. 90, Abb. A266, Abb. A270, Abb. A274, Abb. A273, Abb. 92). Eine weitere Gemeinsamkeit mit vorhergehenden

Präparaten war die stärkere Entkalkung des Dentins der Tubuluseingänge (Abb. 90, Abb. A274, Abb. A273, Abb. 92). Die Lumina der Tubuli waren bei beiden Probanden bis in eine Tiefe von 2 bis 3  $\mu\text{m}$  mit Pellikel ausgefüllt (Abb. A259, Abb. 90, Abb. A277). Bakterien waren bei Proband 3 nach einer Nachtragezeit von 60 Minuten vereinzelt nachweisbar (Abb. 93, Abb. A277). Die oberflächliche Pellikel unterschied sich bei Proband 2 und 3 in ihrer Schichtdicke - aber nicht in ihrer Struktur - sehr stark von einander. Die Bilder von Proband 2 zeigten kaum eine Biofilmbildung auf dem demineralisierten Dentin. Sichtbar blieben nur einige zusammenhanglose granuläre Pellikelreste mit einer durchschnittlichen Schichtstärke von 200 nm (Abb. A262, Abb. A264). Klar strukturiert war die homogene Pellikel nur im Tubulus, den sie mit granulären und globulären Proteinagglomeraten stellenweise ausfüllte (Abb. 90).

Bei Proband 3 fand sich eine deutlich sichtbare granuläre, ebenfalls homogene Pellikel mit einzelnen Kokken (Abb. 93, Abb. A277). An ihrer dicksten Stelle maß sie 2,6  $\mu\text{m}$  (Abb. A277) und an ihrer dünnsten nur wenige Nanometer (Abb. A269). Durchschnittlich ergab sich aber, wie auch bei Proband 2, ein 200 nm starker Biofilm (Abb. A274).

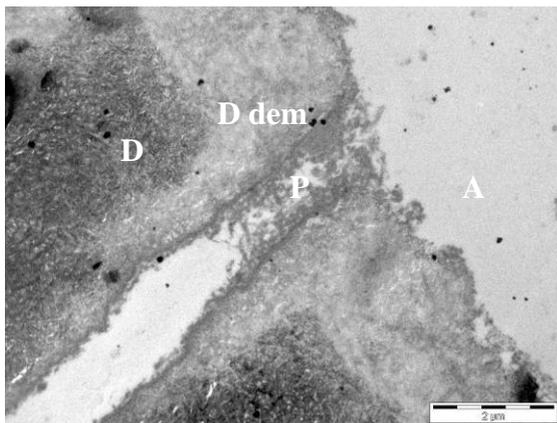


Abb. 90: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

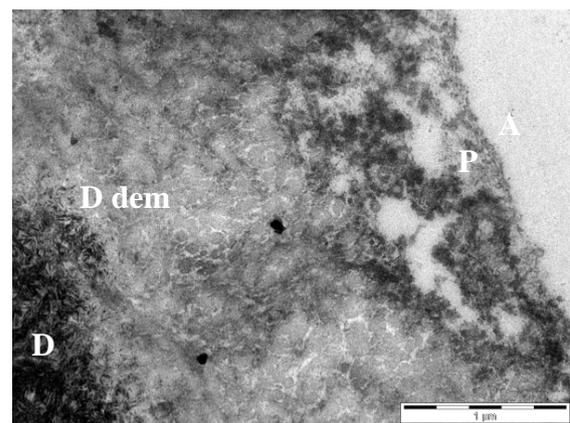


Abb. 91: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

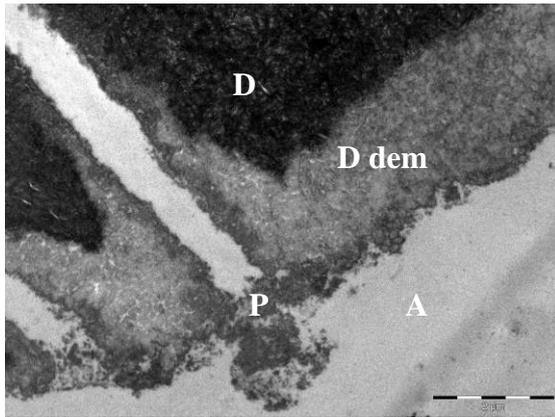


Abb. 92: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

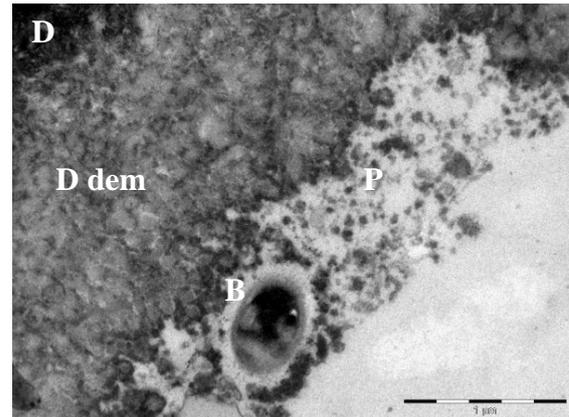


Abb. 93: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

## 5. Diskussion

### 5.1 Material und Methoden

In den vier Unterpunkten der Diskussion von „Material und Methode“ sollen die verwendeten Materialien und die praktizierten Methoden diskutiert werden. Zu den verwendeten Materialien gehörten die Prüfkörper aus Rinderdentin und die Miniplastschienen. Unter den Punkt der Methoden fielen die Versuchsbedingungen und die transmissionselektronenmikroskopische Auswertung.

#### 5.1.1 Die Prüfkörper

Für die vorliegende Studie zur Untersuchung der Pellicelstruktur auf Wurzel dentin wurde als Ersatz für Humandentin Rinderdentin aus frisch extrahierten Rinderfrontzähnen verwendet. Die Größe der Rinderfrontzähne, die Rarität humanen Materials und die strukturelle Ähnlichkeit der Rinderzähne mit menschlichen Zähnen sprachen für die Verwendung des tierischen Materials (Hannig M. et al., 2004b). Aus einer Rinderwurzel ließen sich je nach Größe des Zahns bis zu fünf zwei Millimeter dicke Scheibchen herstellen, aus denen wiederum sechs „Kuchenstücke“ und damit sechs Bruchpräparate ohne Schmierschicht gewonnen werden konnten. Ausgewählt wurden nur Zähne, die eine ausreichende Dentinbildung aufwiesen, um das Präparat mit zwei

Zangen fassen und brechen zu können. So ergab sich als durchschnittliche Bruchpräparatgröße eine ca. zwei mal zwei Millimeter Oberfläche, ausreichend groß, um leicht auf die Prüfkörpertrageschienen montiert zu werden. In der vorliegenden Studie wurden Dentinbruchpräparate als Substratoberflächen für die Untersuchung der Pellikelbildung und der Erosion an Dentin herangezogen. Dadurch konnte jedwede Kontamination der Dentinoberflächen durch präparations- und polierbedingte Schmierschichten, die potentiell zu einer Beeinflussung der Bioadhäsions- und Erosionsprozessen am Dentin beitragen würden, ausgeschlossen werden.

### **5.1.2 Die Prüfkörpertrageschienen**

Die Minioplastschiene als Trageschiene ist ein unkompliziertes, kostengünstiges und schnell herstellbares Mittel, um Probekörper einer intraoralen Speichalexposition auszusetzen (Hannig M., 1998, Tinanoff et al., 1976, Hannig M., 1997, Balz, 1999). Da die Schiene nur die Zähne und einen Teil des Processus alveolaris bedeckt, ist eine ungehinderte Salivation der Speicheldrüsen möglich, die für den In-vivo-Versuch unerlässlich war. Ein großer Vorteil der partiellen Minioplastschiene ist ihre wiederholte Anwendungsmöglichkeit während der verschiedenen Versuchsreihen (Hannig M., 1998, Tinanoff et al. 1976, Hannig M., 1997, Balz, 1999). Die Probekörper wurden dem Speichel immer in der regio 16 und 26 exponiert, um eine Biofilmbildung unter gleichen örtlichen Bedingungen gewährleisten zu können. (Deimling et al., 2004, Sönju et al., 1974, Hannig M., 1997). Während der Tragezeit von sechs Stunden wurde den Probanden gestattet, die Minioplastschienen für kurze Zeit während des Essens und Trinkens zu entnehmen. Dies war nur möglich, weil die Probekörper sicher auf den Schienen montiert waren und ohne Kontamination der bereits gebildeten Pellikeloberfläche entnommen und wieder reponiert werden konnten. Die partielle Minioplastschiene behindert die Biofilm-Bildung auf den exponierten Probekörpern in Dicke und Ultrastruktur nicht (Hannig M., 1998, Mac Pherson et al., 1991) und erweist sich so als geeignetes nicht invasives Verfahren (Hannig M., 1998, Tinanoff et al. 1976, Hannig M., 1997, Balz, 1999). Mit Hilfe des Silikons President konnten die Probekörper schnell und sauber auf den Trageschienen montiert und ebenso problemlos mit einer Pinzette nach Ablauf der intraoralen Expositionszeit wieder entnommen werden, ohne die Pellikelstruktur zu beschädigen. Während der intraoralen Tragedauer haftete das Silikon sowohl sicher an der Minioplastschiene als auch an den Probekörpern. um eine Freisetzung von Silikonbestandteilen während des Tragens in die Mundhöhle und damit eine mögliche Beeinflussung der Pellikelstruktur zu vermeiden, werden die Trageschienen samt

Befestigungssilikon und Probekörpern vor dem Einsetzen 24 Stunden in aqua dest. gelagert (Orstavik et al., 1978, Hannig M., 1998).

### **5.1.3 Die Versuchsbedingungen**

Um Vergleiche zwischen den Proben anstellen zu können, mussten alle Dentinbruchstücke unter denselben Voraussetzungen und Bedingungen gehandhabt werden. Reproduzierbarkeit wurde im Versuchsaufbau erzielt durch die gleichbleibende Positionierung der Probekörper am ersten molare bukkal und palatinal (Sönju et al., 1974, Quirynen et al., 1989, Hannig M., 1997). Durch die gleiche Lokalisation der Präparate blieben Speichelfluss, Speichelzusammensetzung und Abscherkräfte durch Wange und Zunge, die auf die Proben einwirken, konstant (Hannig M. und Joiner, 2006). um eine ähnliche Zusammensetzung des Speichels zu garantieren, begannen alle Versuchsreihen zwischen 8 Uhr und 9 Uhr morgens (Hannig M. und Joiner, 2006, Morge et al., 1989), nach dem die Probanden ihre Zähne gründlich mit einer Zahnbürste ohne fluoridhaltige Zahnpasta, auf die wegen ihres Einflusses auf die Biofilm-Bildung verzichtet wurde (Hannig M. und Joiner, 2006, Glantz, 1969, De Jong et al., 1984b, c, Perdok et al., 1988), gereinigt hatten. Aus denselben Gründen der Pellikelveränderung wurde während den Expositionszeiten eine strenge Nahrungs- und Getränkerekarenz eingehalten, da Bestandteile aus der Nahrung in die Pellikel mit eingebaut werden (Hannig M. et al., 2007, Nyvad und Fejerskov, 1984, Müller, 1987, Müller et al., 1988, Hannig M., 1998). Die einzige Ausnahme bestand bei der Tragedauer von sechs Stunden. Während dieser Zeit war den Probanden erlaubt, Wasser zu sich zu nehmen und für die Dauer einer Mahlzeit die Schienen samt den Probekörper in einem Hygrophor mit 100% Luftfeuchtigkeit aufzubewahren (Hannig M., 1998).

### **5.1.4 Die transmissionselektronenmikroskopische Analyse**

Mit Hilfe des Transmissionselektronenmikroskops erfolgte eine Begutachtung der Pellikelultrastruktur (Hannig M. und Joiner, 2006, Berthold, 1979, Brex et al., 1981, Nyvad und Fejerskov, 1984, 1987, Hannig M. et al., 1989, Hannig et al., 1997, Balz, 1999). Untersucht wurden insbesondere Pellikeldicke und Pellikelultrastruktur. Dies wurde erst möglich durch die hohe Vergrößerung und das hohe Auflösungsvermögen des Transmissionselektronenmikroskops. Als einziger Nachteil bleibt jedoch, dass trotz der seriellen Präparatschnitte nur ein sehr begrenzter Teil des Probekörpers beurteilbar ist.

## **5.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **5.2.1 Versuche ohne Zitronensäureexposition**

Angesichts der bereits festgehaltenen Tatsache, dass zur Zeit für die Pellikelbildung auf Dentin nur sehr wenige Forschungsarbeiten vorliegen (Hannig C. et al., 2007, Hara et al., 2006, Welton et al., 2006, Meurmann und Frank, 1996, Abbas et al., 1985), wird für die folgende Diskussion der Ergebnisse Fachliteratur herangezogen, welche die Pellikelbildung auf Schmelz oder dentalen Werkstoffen untersucht.

#### **5.2.1.1 Ultrastruktur der bukkal gebildeten Pellikel**

Aufgrund der Elektronendichte des Dentins ist bei den Präparaten mit bukkaler 3min-Pellikel keine elektronendichte Basis detektierbar. Ebenso schwer ist es, selbst bei 70.000facher Vergrößerung, eine dünne, kontinuierliche Pellikel festzustellen, jedoch können einzelne locker strukturierte, granuläre, homogene Agglomerate gefunden werden (Abb. 2, Abb. 3, Abb. 4, Abb. 5, Abb. A8, Abb. A11). Bakterien adhäreren in diesem Initialstadium der Pellikel nicht.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den in der Literatur festgehaltenen Ergebnissen für die Pellikelbildung auf Schmelz, lassen sich einige Unterschiede, aber auch Parallelen feststellen. In der Literatur wird eine wenige Minuten alte Pellikel als kontinuierlich, homogenes, granuläres Netz aus Partikeln mit einem Durchmesser von 10-20 nm beschrieben, welches aus einer elektronendichten Basis aufsitzt (Joiner et al., 2008, Hannig M., 2006, Hannig C. et al., 2005). Bereits nach wenigen Minuten lassen sich Bakterien dokumentieren (Hannig M. und Hannig C., 2007). Der Bakterienbefund lässt sich basierend auf der vorliegenden Untersuchung bukkal getragener Dentinprobekörper nicht bestätigen. Auch kann keine elektronendichte Basis, welche direkt dem Dentin aufsitzt, sichtbar gemacht werden. Da in jeder wissenschaftlichen Arbeit zur Pellikelbildung auf Schmelz bisher eine elektronendichte Basis dokumentiert werden kann, ist davon auszugehen, dass sich diese auch auf Dentin, wenn auch nicht sichtbar, im Initialstadium bildet. Das gleiche Problem tritt auf, sucht man eine kontinuierliche Pellikel aus Agglomeraten mit einem Durchmesser von 10-20 nm.

Für die bukkale 30min-Pellikel kann in dieser Studie eine kontinuierliche Oberflächenbedeckung des Dentins festhalten werden (Abb. 8, Abb. 9, Abb. A14, Abb. 10, Abb. 11, Abb. 12, Abb. A21). Einzelne, homogene, dichte Agglomerate von 50 nm (Abb. A19, Abb. 13) bis 300 nm

(Abb. 8, Abb. A14, Abb. 12) waren in der locker strukturierten Pellikel erkennbar, wobei die durchschnittliche Pellikelschichtstärke 125-250 nm betrag (Abb. 8, Abb. A17, Abb. A21). An einzelnen Stellen ist eine elektronendichte Basisschicht erkennbar, v.a. im geschützten Dentintubulus (Abb. A21).

In der Literatur wird die 30min-Pellikel mit einer ähnlichen Schichtdicke zwischen 20 nm und 300 nm angegeben (Deimling et al., 2007, Hannig C. et al., 2005). Hierbei wird festgehalten, dass die Pellikel nicht durch Adsorption einzelner Proteine, sondern durch die Anlagerung größerer Agglomerate aus den Speicheldrüsen zu ihrer Dicke herangewachsen ist (Joiner et al., 2008, Hannig M. und Joiner, 2006, Hannig M. und Hannig C., 2007, Hannig C. et al., 2005). Dies scheint bei Betrachtung der transmissionselektronenmikroskopischen Bilder dieser Arbeit ebenfalls wahrscheinlich. Größere Agglomerate lagern sich in eine locker strukturierte Pellikel ein und erzeugen so das Bild einer Pellikelultrastruktur, deren globuläre Anteile im losen Kontakt zu Basis stehen.

Die bukkale 120min-Pellikel bedeckt kontinuierlich das Dentin, so dass selbst die Lumina der Dentintubuli von der Pellikel verpfropft wurden (Abb. 17, Abb. 19). Die Ultrastruktur der Pellikel erscheint granulär mit globulären Agglomeraten bis 1  $\mu\text{m}$  (Abb. A26, Abb. 18, Abb. A28, Abb. 17). Die Dicke der Pellikel variiert von 100 nm bis 5,8  $\mu\text{m}$  (Abb. 15, Abb. 19), wobei die durchschnittliche Pellikelschichtstärke 400 nm betrag (Abb. 15, Abb. A26). Das Bakterienvorkommen hat sich im Vergleich zur bukkalen 30min-Pellikel gering gesteigert (Abb. 16).

Hinsichtlich der 120min-Pellikel sind die Literaturangaben weit umfangreicher als bei den vorhergehenden, kürzeren Tragezeiten. Auf einer elektronendichten Basisschicht (Joiner et al., 2008, Hannig M. und Joiner, 2006, Hannig M. et al., 2004b, Hannig C. et al., 2007, Hannig M. und Hannig C., 2007) befindet sich eine granulär-globulär strukturierte Pellikel mit einer Dicke von 20 nm bis 700 nm (Deimling et al., 2007, Hannig M., 1999b, Deimling et al., 2004, Hannig M. et al., 2004a, Hannig M. et al., 2004b, Hannig et al. 2007). Diese minimalen bzw. maximalen Werte liegen unter den auf Dentin gemessenen Werten dieser Arbeit (100 nm bis 5,8  $\mu\text{m}$ ). Durchschnittlich wird die Pellikeldicke aber bis 500 nm angegeben (Joiner et al., 2008, Hannig et al., 2006, Hannig et al., 2004b). Dies deckt sich mit den gemessenen Werten dieser Studie (400nm). Die Angaben in der Literatur zur Ultrastruktur der bukkalen 120min Pellikel variieren in ihrer Beschreibung zwischen rein granulär (Deimling et al., 2007), rein globulär (Hannig C. et al., 2005, Hannig M. et al., 2004b, Hannig et al., 2007) oder beides (Joiner et al., 2008, Hannig M. et al., 2006, Hannig M., 1999b). Auch in der Versuchsdurchführung dieser Arbeit wurde

probandenabhängig eine eher granulär strukturierte oder granulär-globulär gemischte Pellikel gefunden. Die globulären Agglomerate werden in der Literatur mit einem Durchmesser von 80 nm bis 200 nm bemessen und beeinflussen maßgeblich das Dickenwachstum der Pellikel (Hannig M. et al., 2006). Dies lässt sich auch auf den transmissionselektronenmikroskopischen Bildern belegen. Hier sind die globulären Agglomerate zwischen 100 nm und 400 nm (Abb. 14, Abb. 16, Abb. A34, Abb. A28, Abb. A30) groß. Die Ultrastruktur der Pellikel zeigt sich stark probandenabhängig. Darauf beruht wahrscheinlich auch der Unterschied zwischen den Angaben der Literatur und den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit.

An der Dentinoberfläche zieht sich die 360min-Pellikel ohne Unterbrechung mit einer durchschnittlichen Schichtstärke von 1  $\mu\text{m}$  fort (Abb. A38, Abb. A46, Abb. 27, Abb. A54). An der dicksten Stelle des Biofilms, bis zu 7  $\mu\text{m}$  (Abb. 23), treten Kokken in mehreren Lagen übereinander auf. In den Lumina der Tubuli sind die Kokken ebenfalls zahlreich zu finden (Abb. 21, Abb. 27). Allgemein ist die heterogen strukturierte 360min-Pellikel als globulär mit granulären Anteilen zu beschreiben (Abb. A46, Abb. A50). Die globulären Proteine weisen eine hohe Dichte und eine maximale Größe von 500 nm auf (Abb. A51).

In der Literatur wird die 360min-Pellikel als heterogener, globulär strukturierter, loser Biofilm beschrieben (Hannig M., 1997, Hannig M., 1998, Hannig M., 2002). Ihre Schichtdicke variiert zwischen 500 nm und 1  $\mu\text{m}$ . Dies deckt sich weitgehend mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie.

### **5.2.1.2 Ultrastruktur der palatinal gebildeten Pellikel**

Auf Grund der nur spärlich vorhandenen wissenschaftlichen Forschungsarbeiten zur Pellikelbildung an palatinaler Lokalisation werden zum Vergleich die Ergebnisse der drei bis 360min-Präparate zusammengefasst und diskutiert.

Die palatinale Pellikel zeigt in den vorliegenden Versuchen keinen kontinuierlichen Verlauf über das Dentin, egal ob sich die In-vivo-Tragezeit auf drei Minuten oder 360 Minuten beläuft (Abb. A55, Abb. A62, Abb. 32, Abb. A83, Abb. 38, Abb. A93, Abb. A104, Abb. A107, Abb. A115, Abb. A125). Die elektronendichte Basisschicht ist auch palatinal auf Grund der elektronendichte des Dentins nicht sichtbar (Abb. A125, Abb. A107, Abb. A93). Die lockere, granuläre Pellikel steigert ihre Schichtdicke von 50 nm im 3min-Präparat auf maximal 1  $\mu\text{m}$  im 360min-Präparat (Abb. A57, Abb. A64, Abb. A71, Abb. A119, Abb. A129). Vereinzelt tauchen globuläre Agglomerate in der Pellikel auf, jedoch nur bei den länger in vivo getragenen

Dentinbruchkörpern. Eine bakterielle Besiedlung der Pellikel findet palatinal früher und in den Tubuli zahlreicher statt als bukkal (Abb. 29, Abb. A73, Abb. A74, Abb. A85, Abb. A91, Abb. 40, Abb. A99, Abb. 47, Abb. A128).

In der Literatur wird der bakteriellen Besiedlung der palatinalen Pellikel auf Dentin keine Beachtung geschenkt. Die Pellikel auf Schmelz wird kurz als bis 200 nm (nach 24h Bildungszeit) dicker, homogener, granulärer Film auf einer elektronendichten Basisschicht beschrieben (Hannig M., 1999b). Diese Ergebnisse decken sich bedingt mit dieser Forschungsarbeit. Hier erscheint die Pellikel im 360 Minuten getragenen Präparat (von 0 nm bis) teilweise um das fünffache dicker (Abb. A 126, Abb. A129, Abb. A119, Abb. A117). Die Erklärung hierfür ist möglicherweise mit der Tatsache verbunden, dass in keiner wissenschaftlichen Arbeit zuvor das Augenmerk auf die Ultrastruktur der Pellikel an einer palatinalen Lokalisation auf Dentin gelegt und deren Entwicklung von drei Minuten über 30, 120 und schließlich 360 Minuten verfolgt wird.

Beim Vergleich der bukkal mit der palatinal gebildeten Pellikel auf Dentin lässt sich festhalten, dass in jedem Präparat, von drei bis 360 Minuten, sich die bukkale Pellikel weitaus dicker und kompakter darstellt als die an palatinaler Lokalisation gebildete Pellikel (Abb. A17, Abb. 12, Abb. A23, Abb. 24, Abb. A39, Abb. A74, Abb. A78, Abb. 40, Abb. A119, Abb. 48). Im Schnitt kann in dieser Studie davon ausgegangen werden, dass die bukkale Pellikel in der gleichen In-vivo-Zeit eine fünfmal stärkere Dicke ausbildet als palatinal (Abb. A47, Abb. 23, Abb. A31, Abb. 48, Abb. A124, Abb. 40, Abb. A73). In den verschiedenen Arbeiten zu Pellikelbildung auf Schmelz finden sich ähnliche Angaben zur Pellikeldicke bukkal im Vergleich zur palatinalen Lokalisation (Hannig M. und Joiner, 2006, Hannig M. et al., 2004b). Im Durchschnitt wird eine fünfmal dickere Pellikel bukkal als palatinal angegeben (Hannig M. und Joiner, 2006, Deimling et al., 2007, Deimling et al., 2004). Dies deckt sich mit den Ergebnissen dieser Forschungsarbeit, genauso wie die Feststellung, dass die bukkal gebildete Pellikel kompakter ausfällt als die palatinale (Deimling et al., 2004). Als Begründung, warum die bukkale Pellikel wesentlich dicker ist als die palatinale, wird in der Literatur häufig die Scherkraft der Zunge genannt, welche eine Entwicklung der palatinalen oder lingalen Pellikel vermindern soll (Hannig M., 1999b, Hannig M., 1997). Tatsächlich wurde aber später bewiesen, dass die Zunge nicht in der Lage ist, die Ausbildung der Pellikel innerhalb der Zahnreihen negativ zu beeinflussen (Deimling et al., 2004). Daher wird heute davon ausgegangen, dass sich die Speichelzusammensetzung palatinal und lingual von derjenigen bukkal unterscheidet (Deimling et al., 2004, Hannig M., 1999b). 100-200 nm große Proteinagglomerate werden von der Parotis gebildet und kommen daher eher

bukkal vor als palatinal, was die unterschiedliche Morphologie der Pellikel an diesen beiden Lokalisationen erklärt (Hannig M., 1999b, Hannig M. et al., 2004a). Vergleicht man die bukkale 3min-Pellikel mit der bukkalen 30min-Pellikel ist ein exponentieller Anstieg der Pellikeldicke zu verzeichnen, welcher sich mit dem Einbau der großen Agglomerate und nicht einzelner Proteine in die Pellikel erklärt (Hannig M., 1999b, Hannig M. und Hannig C., 2007). Ein solcher exponentieller Anstieg von der 3min-Pellikel zur 30min-Pellikel ist palatinal nicht zu dokumentieren. Auch erscheint die bukkale Pellikel auf Grund des Einbaus dieser großen Agglomerate weitaus dichter und kompakter als die eher lose und retikulär strukturierte palatinale Pellikel (Abb. A17, Abb. 12, Abb. A23, Abb. 24, Abb. A38, Abb. A74, Abb. A78, Abb. 40, Abb. A119, Abb. 48).

Die Menge der Amylase im Speichel unterscheidet sich an bukkaler und palatinaler Lokalisation jedoch nicht (Deimling et al., 2004). Diese Feststellung ist wichtig, da Streptokokken an in der Pellikel immobilisierten Amylase binden (Hannig C. et al., 2005). Dies scheint im Widerspruch zur Bakterienzahl zu stehen, welche bukkal um ein vielfaches höher ist als palatinal (Abb. 22, Abb. 24, Abb. A48, Abb. A119, Abb. A129, Abb. 48). Die Begründung hierfür liegt in der Tatsache, dass die Glandulae sublinguales dreimal mehr Lyzosym sezernieren als die Parotis (Hannig C. et al, 2005). Lyzosym unterbindet die Adhäsion von Streptokokken (Hannig C. et al., 2005). Zusätzlich wirkt in die Pellikel eingebautes Lyzosym bakteriolytisch. (Hannig C. et al., 2005). Diese Feststellungen werden in Forschungsarbeiten dokumentiert, welche die Enzyme in der Pellikel auf Zahnschmelz untersuchen (Hannig C. et al., 2005). Es kann davon ausgegangen werden, dass in der Pellikel, gebildet auf Dentin, die Enzyme des Speichels die gleiche Funktion und Wirkung haben wie in der auf Zahnschmelz gebildeten Pellikel.

### **5.2.2 Versuche mit Zitronensäureexposition**

Zur Diskussion des erosiven Einflusses von Zitronensäure auf das ultrastrukturelle Erscheinungsbild von Dentin und Pellikel kann im Rahmen dieser Arbeit nicht auf Fachliteratur zurückgegriffen werden, da zu dieser speziellen Fragestellung bis zum Jahr 2011 keine Forschungsergebnisse vorliegen. Daher erfolgt im zweiten Teil keine Diskussion der Ergebnisse im Spiegel der Literatur, sondern es werden Vergleiche einzelner Versuchsreihen untereinander herangezogen, um die zentralen Fragestellungen zu beantworten. Hierzu gehören die Auswirkung einer Säureexposition auf Dentin und Pellikel, die unterschiedlich starke Erosion von 0,1%iger und 1%iger Zitronensäure, die Frage nach der Pellikelneubildung nach einem Säureangriff und nach der Remineralisation entkalkten Dentins.

### **5.2.2.1 Diskussion einer Schutzfunktion gegen Dentindemineralisation durch eine 30min Pellikel oder eine Säureexposition in vivo**

#### **5.2.2.1.1 Diskussion einer Schutzfunktion gegen Dentindemineralisation durch eine 30min-Pellikel**

Zur Erarbeitung der Frage in wie weit eine 30 Minuten alte Pellikel für das unterliegende Dentin eine Schutzfunktion besitzt wurde durch vier verschiedene Vergleiche herausgearbeitet:

1. Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“
2. Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“
3. Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“
4. Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“

1. Leider ergab die Versuchsreihe „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ bei den zwei Probanden kein einheitliches Ergebnis. Deshalb mussten hier zwei unterschiedliche Ergebnisse festgehalten werden. Bei Proband 2 besaß die 30 Minuten alte Pellikel einen protektiven Effekt gegenüber der Demineralisation des Dentins durch eine saure Noxe. Nur im Bereich der Tubuluseingänge, welche bereits in der Darstellung der Ergebnisse als Schwachstelle dokumentiert wurden, konnte eine Entkalkung von 150 nm festgehalten werden (Abb. 62). Das restliche Dentin war in seiner Struktur unversehrt (Abb. 62). Lediglich die das Dentin bedeckende Pellikel war durch den einminütigen Säureangriff auf ganzer Länge des Präparates schwer zerstört (Abb. 62). Bei Proband 2 steht eine durchschnittliche Demineralisation von 500 nm im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo“ einer nicht vorhandenen Entkalkung des Dentins (außerhalb der Tubuluseingänge) im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ gegenüber (Abb. A139, Abb. 62).

Bei Proband 3 hingegen zeigte die Demineralisation bei den beiden Präparaten nicht so einen deutlichen Unterschied wie bei Proband 2. Die Breite der oberflächlichen Demineralisation lag jeweils im Durchschnitt bei ca. 400 nm (Abb. A143, Abb. A175). Im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo“ ging die Tendenz sogar eher gegen eine geringere Breite der Demineralisation als beim Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure

in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“. In der Struktur des demineralisierten Dentins ließ sich im Präparat mit Pellikel eine etwas höhere Dichte feststellen als im Präparat ohne Pellikel, was bedeuten würde, dass die Pellikel hier in der Lage wäre, die ätzende Eigenschaft der Zitronensäure zu mindern (Abb. A145, Abb. A175). Bei Proband 3 konnte also festgestellt werden, dass die 30 Minuten alte Pellikel einen limitierten protektiven Effekt für das darunterliegende Dentin besaß.

2. Der Vergleich Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo“ und Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ ähnelt dem ersten Vergleich jedoch mit dem Unterschied einer zehnmal so starken Zitronensäurekonzentration, welche deutlicher Entkalkungsspuren hinterließ als Zitronensäure mit nur 0,1%iger Konzentration.

Hier ergab der Vergleich der Versuchsreihen pro Proband ebenfalls kein eindeutiges Ergebnis. Im Gegenteil ergab sich bei Proband 2 durch eine 30 Minuten Pellikel kein protektiver Effekt vor 1%iger Zitronensäure bei ein-minütigem Spülen. Die durchschnittliche Demineralisation bei „ein-minütigem Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo“ belief sich ca. auf ca. 1  $\mu\text{m}$  mit einer dichten Entkalkungsstruktur (Abb. 54). Festzuhalten war hier aber auch, dass stellenweise Abschnitte vorlagen, in denen kaum eine Entkalkung zu erkennen war (Abb. A151). Das Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ zeigte eine um 0,3  $\mu\text{m}$  breitere Demineralisation als bei „ein-minütigem Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo“ (Abb. 67). Dieses Ergebnis steht völlig im Widerspruch zu der Erwartung, dass eine 30 Minuten alte Pellikel die Breite der Demineralisation verringert oder einen abschwächenden Einfluss auf die Zitronensäure beim Hindurchtreten durch die Pellikel ausübt.

Im Vergleich der Präparate „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo“ und „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ zeigte sich bei Proband 3 ein protektiver Effekt von über 200%. Die durchschnittliche Demineralisation bei „ein-minütigem Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo“ betrug 3  $\mu\text{m}$  (Abb. 57). Hingegen bei Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ nur 1,4  $\mu\text{m}$  (Abb. A189). Der lockere strukturelle Aufbau der Zone der Demineralisation blieb bei beiden Präparaten gleich, so dass hier durchaus von einer schützenden Funktion der Pellikel für das darunterliegende Dentin ausgegangen werden konnte (Abb. 57, Abb. A189).

3. Die Ergebnisse des In-vitro-Vergleiches „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ waren eindeutig. Hier besaß die 30 Minuten alte Pellikel keine Schutzfunktion vor einem Säureangriff für das darunterliegende Dentin. Die durchschnittliche Demineralisation des Präparates „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro“ befand sich bei 150 nm (Abb. A163), wobei auch hier zu bemerken blieb, dass keine durchgehende Entkalkung der Dentinoberfläche zu dokumentieren war, sondern dass auch Abschnitte ohne Zeichen eines Säureangriffs vorlagen (Abb. A162). Die Struktur der 150 nm dicken Entkalkung war durch noch teilweise mineralisierte Kollagenfibrillen eher dicht. An wieder anderen Stellen konnte eine beginnende Demineralisation festgestellt werden, die sich an der aufgelockerten Struktur des noch intakten Dentins erkennen ließ (Abb. A161).

Bei Proband 2 war die Demineralisation im Präparat mit einer 30 Minuten alten Pellikel wesentlich stärker ausgeprägt als im Präparat ohne vermeintlich schützende Pellikel. Hier war die Demineralisation durchschnittlich mehr als drei Mal so stark wie im Versuch „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro“ (Abb. 70, Abb. 59). Die ca. 500 nm starke Demineralisation war locker strukturiert, wobei auch hier Stellen auftraten, die in ihrer Struktur als sehr dicht zu beschreiben waren (Abb. 71). Diese dichten und lockeren Abschnitte der Demineralisationszone konnten sowohl in Kombination mit und ohne Pellikel dokumentiert werden (Abb. 70). Ein dicker Pellikelabschnitt, deutlich gezeichnet von einem Säureangriff, konnte nicht die Demineralisation des darunterliegenden Dentins verhindern oder auch nur zumindest abschwächen (Abb. A196).

Eine Ausnahme im Erscheinungsbild des Dentins zeigte sich bei Proband 3 insofern, dass hier die Demineralisation der mineralisierten Substanz weit schwächer ausfiel als bei dem Vergleichsprobanden (Abb. 70, Abb. A199). Die Demineralisation betrug hier nur durchschnittlich 100 nm und war damit geringer als im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro“ (Abb. 73, Abb. 59). Hier kann von einer Schutzfunktion der Pellikel gesprochen werden (Abb. 73, Abb. 59). Trotz der Beobachtung, dass die Pellikel an vielen Stellen fast unversehrt war, wies das darunterliegende Dentin Spuren einer Demineralisation auf (Abb. 72). Jedoch gab es auch Stellen mit nur einem zarten Pellikelfilm ohne jegliche Entkalkung und völlig intakten mineralisierten Fibrillen (Abb. A200).

4. Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“. Dies war der erste Vergleich, bei dem die Ergebnisse der beiden Probanden nahe beieinander

lagen. Hier ergaben sich, was die Breite der Demineralisationszone betrifft, Befunde, die einen protektiven Effekt einer 30 Minuten alten Pellikel verneinen.

Die Dicke der Demineralisationszone unter einer 30 Minuten alten Pellikel war bei beiden Probanden ungefähr gleich hoch (Abb. A201, Abb. A207). Das stabile Fibrillengerüst betrug bei Proband 2 durchschnittlich 1  $\mu\text{m}$  und bei Proband 3 ca. 800 nm (Abb. A201, Abb. A207). Dies waren 300 nm bzw. 100 nm mehr Entkalkung als im Vergleichspräparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro“ trotz bestehender Pellikel (Abb. A166, Abb. A201, Abb. A207). Auffallend bei Proband 3 war die intakte Pellikel, die sich komplett ohne Unterbrechung über die Demineralisation des Dentins hinwegzog (Abb. A207). Dieses Phänomen einer noch dichten Pellikel tauchte bei Proband 2 nicht auf. Hier bestand die Pellikel nur noch aus granulär verdichteten Resten (Abb. A201). Eine Schutzfunktion der Pellikel war hier kaum zu belegen. Die Dicke der Demineralisationszone fiel bei beiden Probanden je doch deutlich sichtbar breiter aus, was gegen einen protektiven Effekt spricht (Abb. A166, Abb. A201, Abb. A207).

Bei der Frage, ob die Pellikel in der Lage ist Dentin vor Demineralisation zu schützen kommen die wenigen Autoren, welche sich mit der Demineralisation von Schmelz und Dentin unter einer Pellikel befasst haben, genau wie in der vorliegenden Arbeit, zu unterschiedlichen Ergebnissen: Meurmann und Ten Cate arbeiteten heraus, dass sowohl Speichel als auch Pellikel Säureattacken entgegenwirken, jedoch dass die Zahnschmelz bei starker Säure zerstört wird (Meurmann und Ten Cate, 1996). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie decken sich mit Meurmann und Ten Cates Aussage hinsichtlich der Feststellung, dass die Pellikel bei hoher Säurekonzentration kaum eine Schutzfunktion besitzt. Auch die Tatsache, dass erst das peritubuläre Dentin entkalkt wird (Meurmann und Ten Cate, 1996) konnte mit den transmissionselektronenmikroskopischen Bildern belegt werden.

Die Forschungsergebnisse von Cheung et al. sagen aus, dass die Plaque Schmelz vor Erosion schützt, jedoch bleibt Wurzeldentin bei einer Säureexposition ungeschützt (Cheung et al., 2005). Dies stimmt mit den Ergebnissen hinsichtlich des Wurzeldentins bei Verwendung einer starken Säure in dieser Arbeit überein.

Wiegand et al. konnten einen limitiert protektiven Effekt gegen eine Schmelz- und Dentinerosion durch eine Pellikel festhalten. Dieser protektive Effekt für das Dentin mit Pellikel wurde zurückgeführt auf die Vermutung, dass die Pellikel eher als semipermeable Membran wirkt als eine Diffusionsbarriere (Hannig C. et al., 2007, Wiegand et al., 2008). Dieses Ergebnis kann hier in soweit bestätigt werden, als dass die Pellikel durch den Säureangriff durchlöchert wird. Sie wirkt als semipermeable Membran und nicht als Diffusionsbarriere, denn das darunterliegende

Dentin wird von der Säure, welche durch die Pellikel hindurchtritt, erreicht und demineralisiert. Wiegand et al. konnten einen verringerten Calciumverlust im Dentin nachweisen (Wiegand et al., 2008). Ein solcher Beweis ist in diesem Versuchsaufbau unmöglich, da nur transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen gemacht wurden, welche bei 1%iger Zitronensäure kaum einen protektiven Effekt belegten.

Welton et al. (2006) belegen in ihrer In-vitro-Studie einen protektiven Effekt für Speichel ausgesetztem Schmelz und Dentin. Für Dentin konnte bereits nach einer zwei minütigen Speichlexposition ein signifikanter Schutz ausgemacht werden (Welton et al., 2006). Die in dieser Arbeit durchgeführten In-vitro-Versuche belegen auch bei einer 30 Minuten alten Pellikel keinen protektiven Effekt. Insgesamt betrachtet bestätigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie im Einklang mit Daten aus der Literatur (Welton et al., 2006), dass sie stattfindende Demineralisation abhängig ist von der probandenindividuellen Speichel- und Pellikelbildung.

Hara et al. konnten 2006 einen protektiven Effekt für Schmelz mit Pellikel finden, jedoch keinen Schutz für das Dentin (Hara et al., 2006). In der vorliegenden Arbeit konnte in den In-vivo-Versuchen probandenabhängig ein protektiver Effekt der Pellikel auf Dentin festgehalten werden.

#### **5.2.2.1.2. Diskussion einer Schutzfunktion gegen die Dentindemineralisation durch eine Säurespülung in vivo**

Zur Erarbeitung der Frage, in wie weit in vivo im Vergleich zu in vitro die Wirkung von 0,1%iger bzw. 1%iger Zitronensäure abgeschwächt wird, wurden vier Versuchsreihen, in Ermangelung entsprechender Literatur, miteinander verglichen. Versuchsteil eins stellt die Präparate „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger bzw. 1%iger Zitronensäure in vivo“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger bzw. 1%iger Zitronensäure in vitro“ gegenüber, der zweite Versuchsteil die Präparate „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger bzw. 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger bzw. 1%iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“.

Beim Vergleich der Versuche mit 0,1%iger Zitronensäure im ersten Versuchsteil ergab sich für beide Probanden eindeutig das gleiche Ergebnis. Durch eine Spülung intraoral mit 0,1%iger Zitronensäure fand kein Verdünnungseffekt durch den Speichel der Mundhöhle statt. Im Gegenteil zeigte sich in vitro weit weniger Demineralisation des Dentins als in vivo (Abb. A163, Abb. A134, Abb. A143). Die durchschnittliche Dicke der Entkalkung betrug in vitro ca. 150 nm (Abb. A163), wobei zu bemerken ist, dass auch Stellen vorlagen, die kaum Demineralisation

aufwiesen (Abb. A162). Bei den Probanden hingegen, verdoppelte sich bzw. verdreifachte sich die ununterbrochen sichtbare Entkalkung des Dentins durch eine Exposition mit 0,1%iger Zitronensäure. Dies bedeutete in konkreten Zahlen eine Zunahme der Entkalkung von 150 nm (in vitro) auf 350 nm bzw. 500 nm (in vivo) (Abb. A163, Abb. A143, Abb. A139).

Dieses Ergebnis bestätigte sich ebenso beim Vergleich der Präparate mit 1%iger Zitronensäure. In vitro ergab sich eine Demineralisation des Dentins von 700 nm (Abb. 60). Bei den Probanden stieg die Demineralisation bei Verwendung 1%iger Zitronensäure auf 1 µm (Abb. A147) bzw. 3 µm (Abb. A153) an. Festzuhalten ist hier aber, dass die Dichte der Entkalkungszone bei beiden Probanden etwas höher lag als im in vitro Versuch (Abb. A166, Abb. 54, Abb. A153).

Im zweiten Versuchsteil zeigte Proband 2 bei Spülung in vivo mit 0,1%iger Zitronensäure einen größeren protektiven Effekt bei existierendem Biopolymerfilm auf dem Dentin als in vitro (Abb. 62, Abb. 70). Die transmissionselektronenmikroskopischen Bilder zeigen in vivo nur eine Demineralisation am Dentin der Tubuluseingänge (Abb. 62, Abb. A171). In vitro hingegen ist eine deutlich stärkere Demineralisation auf der Oberfläche des Dentins sichtbar (Abb. A195, Abb. A196). Es besteht in vivo gegenüber in vitro ein Verdünnungseffekt bzw. abgeschwächter Effekt der 0,1%igen Zitronensäure.

Bei Proband 3 belegen die Werte das Gegenteil. Hier lag die Demineralisation des Dentins in vitro bei 0 bis 100 nm (Abb. 72) im Vergleich zu in vivo bei 400 nm (Abb. A175). Es besteht in diesem Fall also kein protektiver Effekt in vivo.

Bei Verwendung 1%iger Zitronensäure stimmte das Ergebnis des Vergleichs von in vivo mit in vitro bei beiden Probanden hinsichtlich der Demineralisation des Dentins überein.

In vitro lag die Dentindemineralisation nur zwischen 800 nm und 1 µm (Abb. A201, Abb. A207, Abb. A209), in vivo dagegen zwischen 1,3 µm und 1,4 µm (Abb. A189, Abb. 67, Abb. A188), also deutlich höher. Diese Zahlen widerlegen somit einen protektiven In-vivo-Effekt der Pellikel für das Dentin.

Bisher wurde nur eine Arbeit veröffentlicht, die sich mit einem In-vivo/In-vitro-Vergleich befasst, bei dem herausgearbeitet werden soll, ob bei einer Säurespülung in vivo gegenüber in vitro ein protektiver Effekt für Schmelz und Dentin besteht (Hall et al., 1999). Dieser Versuch von Hall et al. (1999) unterscheidet sich aber deutlich von der Versuchsdurchführung der vorliegenden Studie. Hall et al. verglichen Proben, welche intraoral 14 Tage getragen wurden und dann

extraoral in Säure expositioniert wurden mit Proben, welche in vitro in Speichel aufbewahrt wurden und dann einer Säure ausgesetzt wurden. Bei den In-vitro-Versuchen der vorliegenden Arbeit wurden aber intraoral getragene Proben in vitro (extraoral) mit Säure gespült. Diese Arbeiten sind also nur bedingt als Vergleich heranziehbar.

Hall et al. (1999) fanden heraus, dass die Exposition von Schmelz und Dentin in Speichel sowohl in vivo (also 14 Tage getragene Proben) und in vitro (nur 14 Tage in Speichel aufbewahrte Proben) einen protektiven Effekt besitzen gegenüber den Proben, welche sich nur in destilliertem Wasser befanden. Bei den In-vivo-Proben waren Schmelz und Dentin noch einmal signifikant besser geschützt als nur in Speichel aufbewahrte Proben (Hall et al., 1999).

Die intraorale Spülung der intraoral getragenen Dentinproben konnte in dieser Arbeit bei nur einem von acht Versuchen einen protektiven Effekt belegen. Alle anderen In-vivo-Versuche verneinen an Hand der transmissionselektronenmikroskopischen Bildern im Vergleich mit den in vitro exponierten Proben eine vor Säure schützende Funktion der Pellikel und des Speichels.

#### **5.2.2.2 Diskussion der unterschiedlichen Dentindemineralisation durch 0,1%ige und 1%ige Zitronensäure**

Die Beantwortung der Frage, in welchem Ausmaß eine Verzehnfachung der Zitronensäurekonzentration von 0,1% auf 1% das ultrastrukturelle Erscheinungsbild der Demineralisation am Dentin verändert, wird durch einen Vergleich der Präparate „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo“ und „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo“ sowie der Präparate „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro“ und „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro“ zusammenfassend herausgearbeitet.

Die dokumentierten Bilder des In-vitro-Versuchs zeigen eine einheitliche Tendenz. Die Breite der Demineralisation vervielfacht sich mit einer Steigerung der Zitronensäurekonzentration. Die Verzehnfachung der Säurekonzentration führt jedoch, wie man vielleicht annehmen könnte, weder zu einer Verzehnfachung der Breite der Demineralisation noch zu einer zehnfach extremeren Ausdünnung der Dichte der demineralisierten Matrix durch die Zitronensäure. Beide Bewertungsgrößen steigern sich mit Zunahme der Säurekonzentration. Je nach Proband und Versuchsreihe kommt es zu einer Verdopplung (Vergleiche Abb. 51 und Abb. A146) bis Verneunfachung (Vergleiche Abb. A143 und Abb. 57) der Breite der Demineralisationszone. In konkreten Zahlen bedeutet dies, dass von einer stellenweisen Demineralisation von 150 nm im

Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro“ (Abb. 58) bis zu 3 µm im In-vivo-Präparat mit 1%iger Zitronensäurespülung (Abb. 57) die Demineralisationsbreite variiert. Tendenziell verringert sich auch die Dichte des Dentins. Dies zeigt sich an der Zunahme der einzelnen Löcher und ihrer Größe in der entkalkten Dentinmatrix (Vergleiche Abb. 57 und Abb. A143). Zusammenfassend lässt sich herausarbeiten, dass eine Zunahme der Breite der Demineralisation von 100% (Vergleiche Abb. 51 und Abb. A147) bis hin zu 900% (Vergleiche Abb. A143 und Abb. 57) stattfindet.

### **5.2.2.3 Diskussion der Pellikelzerstörung durch Zitronensäure und einer Schutzfunktion gegen Pellikelzerstörung durch eine Säureexposition in vivo**

#### **5.2.2.3.1 Diskussion der Pellikelzerstörung durch Zitronensäure**

Anhand zweier In-vivo-Versuche und zweier In-vitro-Versuche sollte die Reaktion einer 30 Minuten alten Pellikel auf die Einwirkung 0,1%iger und 1%iger Zitronensäure getestet werden.

1. Präparat „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“
- 2 Präparat „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“
- 3 Präparat „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“
4. Präparat „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“

1. Bei Proband 2 zeigten sich deutliche Effekte im transmissionselektronenmikroskopischen Bild der 30 Minuten alten Pellikel nach einem einminütigen Säureangriff der 0,1%igen Zitronensäure. Die durchschnittliche Pellikelstärke blieb wie im Präparat „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ die gleiche (Abb. A14, Abb. A169), jedoch versiebenfacht sich die maximale Pellikelstärke auf 2,1 µm (Abb. A17, Abb. A172). Die 30 Minuten alten Pellikel auf Rinderdentin zeigte sowohl ohne als auch mit Säureexposition eine heterogene, granuläre und globuläre Struktur (Abb. A17, Abb. A172). Bei vergleichender Betrachtung des Präparats „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ und des Präparats „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ ließ sich jedoch die deutlich zerstörte Struktur der Zitronensäure ausgesetzten Pellikel ausmachen. Die Struktur war sehr stark

aufgelockert und extrem durchlöchert und ähnelte in ihrem fadenförmigen Erscheinungsbild einem Spinnennetz (Abb. 62). Zwischen den stark aufgelösten Proteinfasern blieben einige vereinzelte globuläre Proteinagglomerate mit einem maximalen Durchmesser von 500 nm erhalten (Abb. A172). Neben diesen größeren Proteinansammlungen zeigten sich die adhärenen Bakterien der 30 Minuten alten Pellikel von dem 0,1%igen Zitronensäureangriff unbeeindruckt und bildeten mit die größten in der zerstörten Pellikel vorkommenden Bestandteile (Abb. A171). Die Struktur der für eine Minute 0,1%iger Zitronensäure ausgesetzten 30 Minuten Pellikel bei Proband 3 änderte sich vor allem hinsichtlich ihrer Dichte. Die globuläre, homogene Pellikel verwandelte sich durch die Säureexposition zu einer lockeren Ansammlung, zusammenhängender, granulärer Proteine (Abb. A21, Abb. A175). Die durchschnittliche und minimale Pellikelstärke halbierten sich, nur die maximale Pellikelstärke blieb mit 800 nm im „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ (Abb. 12) und 700 nm im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ nahe beieinander (Abb. A178).

Vergleicht man die Präparate der zwei Probanden untereinander, erhält man ein uneinheitliches Ergebnis. Die Zerstörung der Pellikel variierte von sehr stark mit gleichbleibender durchschnittlicher Pellikelstärke bei Proband 2 zu geringer Matrixzerstörung des Biopolymerfilms mit einer Verringerung der durchschnittlichen Pellikelstärke um 60% bei Proband 3. Festhalten ließ sich je doch dass die 0,1%ige Zitronensäure einen reduzierenden Effekt auf die 30 Minuten alte Pellikel hat, sei es hinsichtlich der Pellikeldichte oder der Pellikelstärke.

2. Der Effekt der Exposition der 30 Minuten alten Pellikel in 1%iger Zitronensäure im Hinblick auf die Pellikelultrastruktur war bei beiden Probanden ersichtlich, zeigte sich aber wieder in verschiedenen Auswirkungen.

Bei Proband 2 blieb die durchschnittliche Pellikelstärke in beiden Präparaten mit 200 nm gleich breit (Abb. A17, Abb. 67). Was die Struktur der Pellikel betraf, war diese nach der Exposition in 1%iger Zitronensäure wesentlich gleichmäßiger als im Präparat „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“. Die vereinzelten globulären Anteile lösten sich auf zu einer kontinuierlichen granulären Pellikel ohne jegliche Spinnennetzstruktur, die im Präparat „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ bestimmt war von dünnen Proteinfäden, welche die größeren globulären Bestandteile miteinander verbanden. Die Pellikel im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ bestand aus aufgelockerten aber zusammenhängenden granulären Proteinen (Abb. A14, Abb. 67).

Bei Proband 3 wirkte der Angriff mit 1%iger Zitronensäure so stark auf die Pellikel, dass diese sich teilweise vom demineralisierten Untergrund ablöste und auf der elektronendichten Basis einige 100 nm über dem Dentin schwebte (Abb. A193). Die Struktur der Pellikel war nicht nur aufgelockert, sondern weitgehend zerstört, aber trotzdem noch nicht als zusammenhangslos zu beschreiben. Granuläre Bestandteile bildeten zusammen die durchschnittliche Pellikelstärke von 120 nm (Abb. 69). Dies war einer Verringerung der durchschnittlichen Pellikelstärke um 50% im Vergleich zum Präparat ohne Säureexposition (Vergleiche Abb. 69 bzw. 68 mit Abb. A21).

3. Der Vergleich der Präparate „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ lieferte bei dem ersten Probanden das gleiche Ergebnis. Die Pellikel verringerte sich in ihrem durchschnittlichen und minimalen Dicke wesentlich um ca. 50% (Abb. A14, Abb. 71). Die maximale Pellikelstärke stieg jedoch leicht an (Abb. 11, Abb. A198). Der strukturelle Aufbau der Pellikel wandelte sich von granulär und globulär zu winzigen granulären Bestandteilen mit extrem geringem Durchmesser. Auf Grund einer geringen Durchlöcherung der Pellikelmatrix durch die 0,1%ige Zitronensäure erschien die Pellikel in den Präparaten „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ als dicht (Abb. A21, Abb. A200). Stellenweise war die Pellikel im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ nur noch ein hauchdünner Film, der sich über das demineralisierte Dentin hinwegzog (Abb. A200, Abb. A197).

Weniger deutlich waren die Spuren der 0,1%igen Zitronensäure im Präparat von Proband 3. Die Pellikel machte im Vergleich zu der von Proband 2 zwar einen sehr stabilen Eindruck, jedoch verglichen mit dem Präparat „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ ließen sich einige von der 0,1%igen Zitronensäure verursachten Unterschiede herausarbeiten. Die Pellikel im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ war bei weitem nicht von solch globulären zusammenhängenden Bestandteilen dominiert wie die Pellikel des Präparats „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ (Abb. A199, Abb. A21). Wie bei Proband 2 verringerte sich die Pellikelstärke sowohl im Durchschnitt als auch in ihrem minimalen Durchmesser um mehr als die Hälfte (Abb. 12, Abb. A199). Einzig die maximale Pellikelstärke, zwar ebenfalls verringert in ihrem Durchmesser, blieb mit 500 nm hoch (Abb. 72). Die Struktur der Pellikel veränderte sich von homogen globulär mit granulären Bestandteilen zu heterogen granulär mit einzelnen globulären Proteinen mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 200 nm (Abb. 12, Abb. 72). Die Dichte ließ im Vergleich zu Präparat „30

Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ etwas nach, was auf die verringerte Anzahl der globulären Bestandteile zurückzuführen war.

Zusammenfassend kann festhalten werden, dass 0,1%ige Zitronensäure im In-vitro-Versuch, die Pellikel deutlich beeinflusst zurücklässt, je doch zeigten sich probandenabhängige strukturelle Unterschiede im Aufbau der säureexpositionierten 30 Minuten alten Pellikel.

4. Für den Vergleich der Präparate „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ und „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ konnte folgendes Ergebnis festgehalten werden: von der 30 Minuten alten Pellikel war nach der Exposition mit Zitronensäure nur noch ein Bruchteil vorhanden. Aus dem durchschnittlich 200 nm starken Biopolymerfilm blieb bei Proband 2 etwa die Hälfte übrig (Abb. A14, Abb. A203). Die granulär-globuläre Struktur der 30 Minuten alten Pellikel wich nach dem 1%igen Zitronensäureangriff einer granulären Struktur, bestehend aus winzigen Bestandteilen, die in hoher Dichte beieinander lagen (Abb. A202). Aus der kontinuierlichen 30-min Pellikel wurde nach dem Säureangriff ein hauptsächlich granulärer Film, der bei Proband 2 durch eine Ansammlung globulärer Agglomerate eine maximale Pellikelstärke von 2 µm erreichen konnte (Abb. A204). Die heterogene Pellikel von Proband 2 wandelte sich in einen homogenen Biopolymerfilm, mit Ausnahme der Bereiche mit maximaler Pellikelstärke (Abb. A204).

Proband 3 lieferte ein anderes Ergebnis. Die Pellikel des Präparats „30 Minuten Pellikel auf Rinderdentin“ nahm ein anderes morphologischer Erscheinungsbild an als die des Präparats „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“, konnte aber keinesfalls als zerstört beschrieben werden. Beide Präparate zeigten das Bild einer dichten, granulär-globulär strukturierten Pellikel (Abb. 12, Abb. A207). Im Gegensatz zu den Proband 2 vervielfachte sich der Durchmesser der durchschnittlichen, minimalen und maximalen Pellikel (Abb. 12, Abb. 77). Auch die Homogenität der 30 Minuten Pellikel veränderte sich durch die 1%ige Säureexposition. Das Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ zeigte eine heterogene Struktur, bestehend aus kleinen granulären Bestandteilen in der oberen Hälfte der Pellikel und globular dichtere Anteile auf der dem Dentin aufsitzenden Hälfte (Abb. A208). Die maximale Größe der Hohlräume in der Pellikelmatrix nahm durch den Säureangriff von durchschnittlich 80 nm auf 150 nm zu (Abb. 13, Abb. A211).

Möglicherweise zeigte sich bei Proband 3 eine Vorstufe dessen, was bei Proband 2 dokumentiert werden konnte. Zuerst „schmolzen“ die größeren Proteinagglomerate in der oberen Hälfte des Biopolymerfilms und die der unteren Hälfte konnten länger bestehen durch die puffernde

Wirkung der oberen Hälfte. Schließlich blieben durch längeres Einwirken der Zitronensäure nur resistente granuläre Reste übrig, die sich dann wie bei Proband 2 gesehen, verdichten.

In den meisten veröffentlichten Studien wurde Phosphorsäure (Wiegand et al., 2008, Hannig M., 2002) oder Salzsäure (Hannig C. et al., 2007) als erosives Agens verwendet. Nur in wenigen Studien wurde mit Zitronensäure zur Pellikelexposition gearbeitet (Welton et al., 2004, Hannig M., 2002, Hannig M. und Balz et al., 1999, 2001). Unabhängig von der verwendeten Säure wurde von allen Autoren aber festgestellt, dass ein erosives Agens einen destruktiven Effekt auf die Pellikel hat (Meurmann und Ten Cate, 1996, Wiegand et al., 2008, Hannig C. et al., 2007, Welton et al., 2004, Hannig und Joiner, 2006, Hannig M., 2002, Hannig M. et al., 2003). Die Pellikel wird von außen nach innen partiell aufgelöst und abgelöst (Hannig C. et al., 2007, Welton et al., 2004, Hannig und Joiner, 2006, Hannig M., 2002, Hannig M. et al., 2003). Dieses Phänomen lässt sich auch in dieser Arbeit belegen. Die Geschwindigkeit der Pellikellösung ist abhängig von der Pellikelreifungszeit (Wiegand et al., 2008, Hannig M., 2003). Je älter die Pellikel ist, desto resistenter verhält sie sich gegen Säure (Hannig M., 2003). Zuerst löst sich die oberflächliche Pellikel, die elektronendichte Basis besitzt die größte Säureresistenz (Hannig und Joiner, 2006, Hannig M., 2002). Hieraus lässt sich ableiten, dass die Pellikel als semipermeable Membran funktioniert (Hannig und Joiner, 2006, Hannig M., 2002, Hannig M. et al., 2003), welche einen Ionenaustausch (Schmelz und Dentin verlieren unter der Pellikel Calcium und Phosphat) gestattet (Hannig C. et al., 2007)

#### **5.2.2.3.2 Diskussion einer Schutzfunktion gegen Pellikelzerstörung durch eine Säurespülung in vivo**

Bisher wurde die Frage des protektiven Effektes für die Pellikel auf Dentin durch einen Vergleich einer In-vitro-Säurespülung mit einer In-vivo-Säurespülung in der Fachliteratur nicht erörtert. Daher wurden in dieser Arbeit zwei Versuche miteinander verglichen, um einen möglichen Schützenden Effekt der Pellikel herauszuarbeiten:

1. Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“
2. Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ verglichen mit Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vitro nach einer Tragezeit von 30 Minuten“

1. Durch den erosiven Reiz der 0,1%igen Zitronensäure wurde die Pellikel von Proband 2 sowohl im In-vivo- (Abb. 62, Abb. A169) als auch im In-vitro-Versuch (Abb. A197, Abb. 71) stark aufgelockert, so dass von keinem protektiven In-ivo-Effekt beim intraoralen Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure ausgegangen werden kann. Zwar nehmen im In-vitro-Versuch die durchschnittliche, minimale und maximale Pellikelstärke ab, was aber nur auf eine Dickenzunahme der Pellikel im In-vivo-Versuch zurückgeführt werden kann, welcher im Zusammenhang mit der starken Pellikelauflockerung durch den 0,1%igen Zitronensäure-angriff steht (Abb. A172).

Bei Proband 3 belegen sowohl alleine die Werte der Pellikeldicke aus der Tabelle (durchschnittlich ca. 100 nm, minimal ca. 20 nm, maximal ca. 600 nm (Mittelwert)) als auch die transmissionselektronenmikroskopischen Bilder, dass bei einer In-vivo-Spülung mit 0,1%iger Zitronensäure die Pellikel nicht mehr geschützt ist als bei einer In-vitro-Spülung. Die Pellikel ist teilweise nur noch ein feiner granulärer Säum auf dem leicht entkalkten Dentin (Abb. A175, Abb. A178, Abb. A199, Abb. A200).

2. Bei Betrachtung der transmissionselektronenmikroskopischen Bilder und der Werte der Pellikelstärke fällt auf, dass die In-vivo-Pellikel dichter und dicker erscheint als im In-vitro-Versuch (Abb. 67, Abb. A184, Abb. A187, Abb. A201, Abb. A202). Dies spricht für einen leicht protektiven In-vivo-Effekt bei Proband 2 gegenüber einer In-vitro-Spülung mit 1%iger Zitronensäure.

Bei Proband 3 hingegen lässt sich kein protektiver Effekt bei der In-vivo-Spülung mit 1%iger Zitronensäure belegen im Vergleich zu einer Spülung in vitro. Die Pellikel in vivo ist granulär aufgebaut (Abb. 69) und teilweise wurde durch die Säure die komplette Pellikel vom Dentin abgehoben (Abb. 68). Die in vitro gespülte Pellikel wurde zwar durch die 1%ige Zitronensäure angegriffen, zieht sich aber noch kontinuierlich und unabgelöst über das Dentin (Abb. A207, Abb. A209). Auch befinden sich in der Pellikel noch globuläre Anteile (Abb. A207, Abb. A209) welche die Pellikel bei der In-vitro-Spülung in ihren Durchschnittswerten (400 nm, 100 nm, 2,7 µm) (Abb. A207, Abb. A209) dicker erscheinen lassen als in vivo (120 nm, 100 nm, 500 nm) (Abb. 68, Abb. 69).

#### **5.2.2.4 Diskussion einer Pellikelregeneration nach einem Säureangriff durch eine Nachtragezeit**

Zur Beantwortung der Frage nach einer möglichen Pellikelregeneration wurden mangels Literatur die Präparate „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger bzw. 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger bzw. 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ und die Präparate „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger bzw. 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger bzw. 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ verglichen.

1. Das Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ von Proband 2 zeigte eine durch die Zitronensäure aufgelockerte, zerstörte Pellikel mit einer durchschnittlichen Stärke von 200 nm (Abb. A169). Das Vergleichspräparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ wies eine Verdopplung der durchschnittlichen Pellikelstärke auf (Abb. A169, Abb. A225). Die Pellikel erschien hier dichter und zusammenhängender als im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“. Nur die maximale Pellikelstärke im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ zeigte eine Verringerung von 600 nm (Abb. A172, Abb. A217). Dies ließ sich aber durch den stark aufgelockerten Zustand der Pellikel im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ erklären. Bei Proband 2 konnte also von einer Regeneration der Pellikel durch eine zusätzliche Nachtragezeit von 30 Minuten gesprochen werden.

Bei Proband 3 hingegen ließ sich keine Pellikelregeneration erkennen. Im Gegenteil erschien hier der Biofilm durch die 0,1%ige Zitronensäure im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ schwerer angegriffen als im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ (Abb. A175, Abb. A229). Die durchschnittliche Stärke der Pellikel blieb mit 100 nm gleich (Abb. A175, Abb. A229) und die maximale Pellikelstärke verdreifachte sich auf ca. 2 µm im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten

Tragezeit“ (Abb. A178, Abb. Abb. 81), jedoch wirkte das Erscheinungsbild der Pellikel im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ unregelmäßig (Abb. A230).

2. Bei Betrachtung der Präparate „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ im Vergleich zeigten sich für Proband 2 und 3 die gleichen Ergebnisse. Eine Nachtragezeit von 30 Minuten hatte keinen regenerativen Effekt für die Pellikel. Die durchschnittlichen, minimalen und maximalen Werte der Pellikelstärke (mit 200 nm, 100 nm bzw. 50 nm, 2 µm bzw. 500 nm bei Proband 2 und 100 bzw. 120 nm, 100 bzw. 10 nm, 500 nm bzw. 670 nm bei Proband 3) wiesen kaum eine Veränderungen auf (Abb. A184, Abb. 83 und Abb. 68, Abb. 84).

3. Durch eine zusätzliche Nachtragezeit von 60 Minuten war bei beiden Probanden eine gewisse Regeneration der Pellikel erreichbar.

Die durchschnittliche und minimale Pellikelstärke sanken zwar im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ im Vergleich zu Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ (Abb. A169, Abb. A246 und Abb. A175, Abb. A253) und nur die maximale Pellikelstärke stieg bei Proband 2 durch eine Nachtragezeit von 60 Minuten leicht an (Abb. A172, Abb. A245). Der einzige Punkt, der für eine Regeneration der Pellikel durch eine Nachtragezeit von 60 Minuten bei Proband 2 sprach, war die Zunahme der Dichte der Pellikel. (Abb. A172, Abb. A245).

4. Der weitere Vergleich der Versuchsreihen mit 1%iger Zitronensäure bestätigte, dass es bei einer Nachtragezeit von 60 Minuten zu keiner Regeneration der durch Säure angegriffenen Pellikel kommt.

Die durchschnittliche Pellikelstärke stagnierte bei Proband 2 bei ca. 200 nm Dicke, die maximale Stärke der Pellikel sank auf ein fünftel im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ ab (Abb. A187, Abb. A264). Nur bei Proband 3 stiegen die Werte des Pellikeldurchmessers im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ im Vergleich zu Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“

an (Abb. 68, Abb. 93). Dies ließ sich aber durch die extreme Zerstörung der Pellikel im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ erklären, welche aber im Präparat von Proband 2 nicht nachzuweisen war (Abb. A187, Abb. 68).

Der Vergleich von einer durch Säure angegriffenen Pellikel und einer durch Säure angegriffenen Pellikel plus eine nachträgliche Tragezeit von 30 Minuten konnte keine Pellikelregeneration belegen. Deshalb wurde der vorhergehende Vergleich erweitert durch einen zusätzlichen Vergleich der Präparate „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger bzw. 1%ige Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger bzw. 1%ige Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“. Jetzt soll genau der Frage nachgegangen werden, ob eine 60-minütige Nachtragezeit nach einer Spülung mit 0,1%iger bzw. 1%iger Zitronensäure für die Pellikelregeneration wirkungsvoller ist als nur eine 30-minütige Nachtragezeit.

1. Hinsichtlich der Pellikelregeneration ließ sich für beide Probanden eine Zunahme in Dicke und Dichte in den Präparaten mit 0,1%iger Zitronensäure verneinen. Die durchschnittlichen Werte für die Pellikelstärke lagen bei 400 nm bzw. 100 nm im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ und im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ bei 150 nm bzw. 15 nm (Abb. A215, Abb. A229 und Abb. A246, Abb. A253). Nur eine Vermehrung einzelner Kokken ließ sich bei beiden Probanden im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ dokumentieren (Abb. A215, Abb. A229 und Abb. A249, Abb. A257).

2. Der Vergleich der Präparate mit 1%iger Zitronensäure lieferte hinsichtlich der Pellikelregeneration durch eine verlängerte Nachtragezeit von zusätzlichen 30 Minuten bei beiden Probanden widersprüchliche Ergebnisse.

Bei Proband 2 konnte nicht von einer verstärkten Pellikelbildung im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ gesprochen werden. Die Werte der durchschnittlichen, minimalen und maximalen Pellikel blieben mit ca. 200 nm, 50 nm und 400 nm ungefähr gleich (Abb. 83, Abb. 90).

Bei Proband 3 hingegen zeigte sich eine Verdopplung der Pellikeldicke. Die durchschnittliche Pellikelstärke stieg von 100 nm auf 200 nm (Abb. A239, Abb. A274) und die maximale sogar von 670 nm auf 2,6 µm (Abb. 85, Abb. A267). Im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ konnte somit im Vergleich zu Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ von einer Regeneration der Pellikel durch eine 60-minütige Nachtragezeit ausgegangen werden (Abb. A240 und Abb. A267).

### **5.2.2.5 Diskussion einer Dentinremineralisation nach einem Säureangriff durch eine Nachtragezeit**

Oft wird in der Einleitung wissenschaftlicher Arbeiten die Aussage aufgegriffen, die Pellikel diene als Ionendepot für die Remineralisation (Hannig M. und Hannig C., 2007, Wiegand et al., 2008, Hara et al., 2006, Sreebny L. M., 2000). Bis 2011 gibt es aber keine Studie, welche diese Aussagen mit modernen Forschungsmethoden untermauert. Zur Beantwortung der Frage nach einer möglichen Remineralisation wurden

1. die Präparate „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“,
2. die Präparate „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“,
3. die Präparate „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ und
4. die Präparate „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weiter 60 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 1 %iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ verglichen.

1. Hinsichtlich der Frage nach einer Remineralisation durch eine Nachtragezeit von 30 Minuten, lässt sich bei Proband 2 sagen, dass im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ nur eine geringe Demineralisation am Tubuluseingang stattfand und bei Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure

in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ eine durchschnittliche Demineralisation von fast 1  $\mu\text{m}$  zu verzeichnen war (Abb. 62, Abb. A220). Diese Betrachtung lässt zu dem Schluss kommen, dass bei Proband 2 von keiner Remineralisation durch eine Nachtragezeit von 30 Minuten gesprochen werden kann.

Bei Proband 3 bleiben die Werte in beiden Präparaten gleich. Die Breite der Demineralisation stagniert bei 400 nm in beiden Präparaten, jedoch verstärkte sich die Dichte der Demineralisation im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ leicht (Abb. A175, Abb. A229). Hier kann an Hand der transmissionselektronenmikroskopischen Bilder von einer limitierten Remineralisation gesprochen werden (Abb. 64 und Abb. 80).

2. Bei Betrachtung der Präparate „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ im Vergleich, zeigten sich für Proband 2 und 3 die gleichen Ergebnisse. Eine Nachtragezeit von 30 Minuten hatte keinen remineralisierenden Effekt auf das entkaltete Dentin. Die Demineralisation des Dentins verstärkte sich bei beiden Probanden im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“, bei Proband 2 durchschnittlich 200 nm und bei Proband 3 sogar um ca. 600 nm. Auch blieb die Entkalkung bei beiden Probanden gleich dicht bzw. locker strukturiert (Abb. A184, Abb. A233 und Abb. 69, Abb. A238). Somit konnte nicht von einer Remineralisation der entkalkten Matrix durch eine Nachtragezeit von 30 Minuten gesprochen werden.

3. Auch in diesem Vergleich war bei beiden Probanden keine „Regeneration“ des demineralisierten Dentins durch eine zusätzliche Nachtragezeit von 60 Minuten erreichbar.

Bei Proband 2 lag die Entkalkung des Dentins im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ im Vergleich zum Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten“ hoher (Abb. 62, Abb. A246). Bei Proband 3 verstärkte sich die durchschnittliche Demineralisation um 100 nm auf 500 nm im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ (Abb. A175, Abb. A256). Bei Proband 3 verdichtete sich in geringem Maß die Struktur der entkalkten Kollagenfibrillen im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten

Tragezeit“, jedoch müsste hier der Calciumgehalt des demineralisierten Dentins gemessen werden, um eine genaue Aussage machen zu können. (Abb. A175 und Abb. A256)

4. Dieser weitere Vergleich bestätigte, dass auch eine Nachtragezeit von 60 Minuten zu keiner Regeneration des durch Säure demineralisierten Dentins kommt. Im Gegenteil zeigte das Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ bei beiden Probanden eine Verdopplung der Demineralisationszone auf maximal 2,6 µm. Die entkalkte Matrix blieb trotz einer 60-minütigen Nachtragezeit locker strukturiert (Abb. A184, Abb. A264 und Abb. A189, Abb. A274).

In zwei Vergleichsversuchen soll genau der Frage nachgegangen werden, ob eine 60-minütige Nachtragezeit nach einer Spülung mit 0,1%iger bzw. 1%iger Zitronensäure für die „Dentinregeneration“ wirkungsvoller ist als nur eine 30-minütige Nachtragezeit. Dazu wurden

1. das Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ und Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“,
2. das Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ und Präparat „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ verglichen.

1. Die Beurteilung einer Remineralisation entkalkter Substanz durch eine Nachtragezeit von 60 Minuten fiel bei Proband 2 schwieriger aus als bei Proband 3. Demineralisierte Matrix ließ sich bei Proband 2 im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ nur in unregelmäßigen Abschnitten finden. Stellenweise war überhaupt kein Mineralverlust dokumentierbar wie in Abb. 79 und anderen Orts zeigten sich Entkalkungen von ca. 1 µm (Abb. A220). Im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ war bei Proband 2 jedoch eine gleichmäßige Demineralisation von 300 nm zu verzeichnen (Abb. A246). Dem entsprechend fiel hier eine eindeutige Beurteilung diffizil aus. Bei Proband 3 hingegen war das Ergebnis deutlicher. Die Entkalkung im Präparat „ein-minütiges Spülen mit 0,1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ ließ sich nicht durch eine

einstündige Nachtragezeit remineralisieren. In beiden Präparaten stagnierten die Werte der demineralisierten Matrix zwischen 400 nm und 500 nm (Abb. A231, Abb. A256).

2. Beim Vergleich der Präparate „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 60 Minuten Tragezeit“ und „ein-minütiges Spülen mit 1%iger Zitronensäure in vivo nach einer Tragezeit von 30 Minuten, danach weitere 30 Minuten Tragezeit“ zeigte sich durch eine zusätzliche Tragezeit von 30 Minuten bei beiden Probanden keine Remineralisation der entkalkten Matrix. Tatsächlich fiel bei beiden Probanden die Demineralisation durch 1%ige Zitronensäure im Versuch mit 60-minütiger Nachtragezeit stärker aus. Die durchschnittliche Entkalkung des Dentins bei Proband 2 stieg von 1,5  $\mu\text{m}$  auf 2,6  $\mu\text{m}$  (Abb. A235, Abb. A263) und bei Proband 3 von 2  $\mu\text{m}$  auf 2,3  $\mu\text{m}$  (Abb. A238, Abb. A274). Auch bei Betrachtung der Dichte der entkalkten Matrix konnte nicht von einer gesteigerten Mineralaufnahme durch zusätzliche 30 Minuten Tragezeit gesprochen werden (Abb. A235, Abb. A260 und Abb. 84, Abb. A269). Somit konnte ausgehend von der Demineralisationsdicke und --dichte keine Remineralisationseffekt durch eine zusätzliche Nachtragezeit von 30 Minuten belegt werden.

### **5.3 Schlussfolgerung**

Auf jeglichen intraoral getragenen Dentinpräparaten konnte selbst nach wenigen Minuten die Entwicklung einer Pellikel beobachtet werden, welche mit der Bildung einer elektronendichten Basisschicht beginnt. Die Pellikelstärke und Dichte steigerten sich innerhalb von 6 h kontinuierlich über eine granuläre Struktur hin zu einem Biopolymerfilm mit globulären Agglomeraten und zahlreichen Bakterien.

Die initiale Pellikel wies noch keine Bakterien auf, sondern bestand nur aus einem unterbrochenen Film von homogenen granulären Agglomeraten. 30 bis 120 Minuten später ließ sich eine kontinuierliche Oberflächenbedeckung des Dentins mit einer locker strukturierten Pellikel dokumentieren, welche durch die Anlagerung größerer Agglomerate aus dem Speichel entstanden war (Joiner et al., 2008, Hannig M. und Joiner, 2006, Hannig M. und Hannig C., 2007, Hannig C. et al., 2005). Hier kamen außerdem die ersten adhärenen Bakterien vor. Die 360min-Pellikel zog sich schließlich ohne Unterbrechung über das Dentin fort. Kokken traten nun in mehreren Lagen übereinander auf. Die Pellikel wandelte sich allmählich zur Plaque. Vergleich man nun die bukkale und palatinale Pellikel, so fiel auf, dass die palatinal gebildete Pellikel in derselben Bildungszeit dünner war und weniger Bakterien aufwies als die bukkale

Pellikel. Zu erklären ist dieser Sachverhalt durch die topischen Unterschiede in der Speichelzusammensetzung (Deimling et al., 2004, Hannig M., 1999b). Die Parotis bildet Proteinagglomerate, welche die bukkale Pellikel schneller anwachsen lassen. Die Glandulae sublinguales sezernierten im Vergleich zur Parotis dreimal mehr Lysozym, welches bakteriolytisch wirkt und die Adhäsion von Streptokokken an die Pellikel unterbindet (Hannig C. et al., 2005), also protektiv wirkt. Dadurch lässt sich in Kombination mit Scherkräften, die aus der Zungenbewegung resultieren, die vergleichsweise geringere bakterielle Adhärenz auf den palatinal getragenen Dentinproben erklären.

Im zweiten Teil der Diskussion wurden Vergleiche einzelner Versuchsreihen untereinander herangezogen, um die Fragestellungen nach der Auswirkung einer in vivo oder in vitro durchgeführten Säureexposition auf Dentin und Pellikel, die unterschiedlich starke Erosion von 0,1%iger und 1%iger Zitronensäure, die Frage nach der Pellikelneubildung nach einem Säureangriff und nach der Remineralisation entkalkten Dentins zu beantworten.

Für eine 30 Minuten alte Pellikel konnte beim Vergleich der In-vivo-Versuche bedingt ein protektiver Effekt für das Dentin unter Einfluss einer Säurespülung belegt werden. In vitro hingegen widersprachen die transmissionselektronenmikroskopischen Bilder einer schützenden Funktion der 30 Minuten Pellikel für das Dentin bei einer Säureexposition. Ebenso konnte ein protektiver Effekt für das Dentin durch eine 30 Minuten alte Pellikel beim Vergleich von In-vivo- mit In-vitro-Versuchen verneint werden. Dies bedeutet, dass eine Verdünnung der Säure durch den Speichel und eine Abschwächung des erosiven Agens durch eine Pellikel nicht bzw. nur in sehr geringem Ausmaß stattfindet. Allerdings muss an dieser Stelle noch einmal hervorgehoben werden, dass an Hand transmissionselektronenmikroskopischer Bilder nur die Dicke der Demineralisationszone beurteilt werden kann und nicht die Dichte der entkalkten Matrix.

Das gleiche Problem spielte auch eine Rolle bei der Frage nach einer Verstärkung der Demineralisation durch eine zehnfach höhere Zitronensäurekonzentration. Hier konnte nur die Dicke der Demineralisationszone des Dentins als zuverlässige Größe herangezogen werden. Eine Verzehnfachung der Zitronensäurekonzentration bewirkte eine Zunahme der Demineralisation zwischen 100% und 850%. Mit einer Vervielfachung der Säurekonzentration stieg also nicht im gleichen Maß die Schädigung der Zahnhartsubstanz.

Bei Betrachtung der Pellikelzerstörung durch Zitronensäure waren probandenabhängige Faktoren zu berücksichtigen. Bei einer Spülung bzw. Exposition in Zitronensäure schwankten die Pellikelstärken der Probanden zwischen einer Halbierung und Vervielfachung im Vergleich zur 30 Minuten alten Pellikel. Jede Zunahme des Pellikeldurchmessers ging jedoch entweder mit

einer Zerstörung der Pellikel oder einer Abnahme der Pellikeldichte einher, so dass diese Dickenzunahme mit einem „Auflockerungseffekt“ durch die Zitronensäure erklärt werden könnte. Den Probanden ist jedoch gemeinsam, dass sich die 30 Minuten alte Pellikel bei Kontakt mit Zitronensäure in eine homogene, granuläre Struktur verwandelte. Insgesamt konnte festgehalten werden, dass, unter In-vitro wie In-vivo-Bedingungen und unabhängig von der Konzentration der Zitronensäure, die 30 Minuten alte Pellikel durch eine Säureexposition beträchtlichen Schaden nahm, sei es nun hinsichtlich ihres Durchmessers, ihrer Struktur oder hinsichtlich beider Parameter.

Die letzten beiden Fragestellungen nach einer Pellikelregeneration und Dentinremineralisation durch eine Nachtragezeit lieferten ein eindeutiges Ergebnis: weder durch eine 30-minütige Nachtragezeit noch durch eine 60-minütige Nachtragezeit konnte sich die durch Zitronensäure angegriffene Pellikel regenerieren. Die Pellikel blieb, dünn homogen granulär strukturiert. Ebenso zeigte das Dentin keine Zunahme der Elektronendichte im Bereich der demineralisierten Kollagenfibrillen und stagnierte bei den gemessenen Werten der Demineralisationsbreite, so dass folglich keine remineralisierenden Effekte erzielt wurden.

## 6. Literaturverzeichnis

- Abbas D. K., Skjorland K. K., Gjermo P., Sonju T., Chemical and morphological studies of the acquired pellicle formed subgingivally on dentin in vivo.  
Acta Odontol Scand 1985; 43: 31-37
- Aguirre A., Levine M. J., Cohen R. E., Tabak L. A., Immunochemical quantitation of alpha-amylase and secretory IgA in parotid saliva from people of various ages.  
Arch Oral Biol 1987; 32: 297-301
- Armstrong W. G., The composition of organic films formed on human teeth.  
Caries Res 1967; 1: 89-103
- Balz M., Elektronenmikroskopische Untersuchung zur säureprotektiven Wirkung der in-vivo-Pellikel.  
Med Diss; Kiel, 1999
- Bennick A., Chan G., Goodlin R., Abrams S., Tustian D., Madapallimattam G., The role of human salivary acidic proline-rich proteins in the formation of acquired dental pellicle in vivo and their fate after adsorption to the human enamel surface.  
Arch Oral Biol 1983; 28: 19-27
- Bennick A., Cannon M., Madapallimattam G., The nature of the hydroxyapatite-binding site in salivary acidic proline-rich proteins.  
Biochem J 1979; 183: 115-126
- Bennick A., Structural and genetic aspects of proline-rich proteins.  
J Dent Res 1989; 66: 457-461
- Berthold P., Formation of salivary coating and dental plaque on two different supporting materials.  
J Periodontol 1979; 50: 397-405
- Brex M., Rönström A., Theilade J., Attström R., Early formation of dental Plaque on plastic films.  
J Periodont Res 1981; 16: 213-227
- Creanor S. L., Remineralisation of the incipient enamel lesion.  
PhD thesis, University of Glasgow, 1987
- Darby E. T., Dental erosion and the gouty diathesis. Are they associated?  
Dental Cosmos 1892; 34: 629
- De Jong H. P., Van Pelt A. W. J., Arends J., Contact angle measurements on human enamel – an in vitro study of influence of pellicle and storage period.  
J Dent Res 1982; 61:11-13

De Jong H. P., De Boer P., Busscher H. J., Van Pelt A. W. J., Arends J. Surface free energy of human enamel after pellicle formation and fluoride application.

In: Ten Cate J. M., Leach S. A., Arends J., Bacterial adhesion and preventive dentistry.

1. Auflage, IRL Press, Oxford; 1984b: 125-131

De Jong H. P., Van Pelt A. W. J., Busscher H. J., Arends J., The effect of topical fluoride applications in the surface free energy of human enamel. An in vitro study.

J Dent Res 1984c; 63: 635-641

Deimling D., Breschi L., Hoth-Hannig W., Ruggeri A., Hannig C., Nekrashevych Y., Hannig M., Electron microscopic detection of salivary alpha-amylase in the pellicle formed in situ.

Eur J Oral Sci 2004; 112: 503-509

Deimling D., Hannig C., Hoth-Hannig W., Schmitz P., Schulte-Mönting J., Hannig M., Non-destructive visualisation of protective proteins in the in situ pellicle.

Clin Oral Invest 2007; 11: 211-216

Embery G., Heaney T. G., Stanbury J. B., Studies on the organic polyanionic constituents of human acquired dental pellicle.

Arch Oral Biol 1986; 31: 623-625

Gibbons R. J., Hay D. I., Human salivary acidic proline-rich proteins and statherin promote the attachment of *Actinomyces viscosus* LY7 to apatitic surfaces.

Infect Immun 1988; 56: 439-445

Glantz P.-O., On wettability and adhesiveness. A study of enamel, dentine, some restorative dental materials and dental plaque.

Odontol Revy 1969; 20, Suppl. 17: 1-132

Glantz P.-O., Larsson K., On surface charge and intraoral adhesion.

In: Rölla G., Sönju T., Embery G.: Tooth surfaces interactions and preventive dentistry.

1. Auflage, IRL Press Ltd., London 1981; 181-191

Gorbunoff M. J., Tuimasheff S. N., The interaction of proteins with hydroxyapatite. III. Mechanism.

Analyt Biochem 1984; 136: 440-445

Hall A. F., Buchanan C. A., Millett D. T., Creanor S. L., Strang R., Foye R. H., The effect of saliva on enamel and dentin erosion.

J Dent 1999; 27:333-339

Hannig C., Hannig M., Attin T., Enzymes in the acquired enamel pellicle.

Eur J Oral Sci 2005; 113: 2-13

Hannig C., Becker K., Häusler N., Hoth-Hannig W., Attin T., Hannig M., Protective effect of the in situ pellicle on dentin erosion – an ex vivo pilot study.

Arch Oral Biol 2007; 52: 444-449

Hannig M., Bößmann K., Pellicula dentis. – Ultrastrukturelle Vielfalt als Ausdruck komplexer Bildung und Reifung. Teil I und II.

Quintessenz 1989; 40: 1319-1327 bzw. 1485-1489

Hannig M., Transmission electron microscopy study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials.  
Eur J Oral Sci 1997; 105: 422-433

Hannig M., Elektronenmikroskopische Untersuchungen der initialen Bioadhäsionsprozesse an Festkörperflächen in der Mundhöhle: Eine klinisch-experimentelle Studie.  
Quintessenz-Verlag, Berlin 1998

Hannig, M., Balz, B., Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion.  
Caries Res 1999; 33: 372-179

Hannig M., Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo.  
Eur J Oral Sci 1999a; 107: 55-64

Hannig M., Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period.  
Clin Oral Invest 1999b; 3: 88-95

Hannig M., Balz B., Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel erosion.  
Caries Res 2001; 35: 142-148

Hannig M., The protective nature of the salivary pellicle.  
Int Dent J 2002; 52: 417-423

Hannig M., Hess N. J., Hoth-Hannig W., De Vrese M., Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization – an in situ pilot study.  
Clin Oral Investig 2003; 7: 158-161

Hannig M., Döbert A., Stigler R., Müller U., Prokhorova S., Initial salivary pellicle formation on solid substrates studied by AFM.  
J Nanosci Nanotech 2004a; 4: 532-538

Hannig M., Fiebiger M., Güntzer M., Döbert A., Zimehl R., Nekrashevych Y., Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle.  
Arch Oral Biol 2004b; 49: 903-910

Hannig M., Joiner A., The structure, function and properties of the acquired pellicle.  
Monogr Oral Sci 2006; 29-64

Hannig M., Hannig C., Der initiale orale Biofilm – pathogen oder protektiv?  
Oralprophylaxe und Kinderzahnheilkunde 2007; 29: 73-82

Hannig M., Kriener L., Hoth-Hannig W., Schmidt H., Influence of nano-composite surface coating on biofilm formation in situ.  
J Nanosci Nanotechnol 2007; 7: 4642-4648

Hara A. T., Ando M., Gonzalez-Cabezas C., Cury J. A., Serra M. C., Zero D. T., Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ.  
J Dent Res 2006; 87: 612-616

Hay D. I., The interactions of human parotid salivary proteins with hydroxyapatite.  
Arch Oral Biol 1973; 18: 1517-1529

Hay D. I., The absorption of salivary proteins on hydroxyapatite and enamel.  
Arch Oral Biol 1967; 12: 937-946

Joiner A., Schwarz A., Philpotts C., Cox T. F., Huber K., Hannig M., The protective nature of pellicle towards toothpaste abrasion on enamel and dentine.  
J Dent 2008; 36: 360-368

Juriaanse A. C., Booji M., Arends J., Ten Bosch J. J., The adsorption in vitro of purified salivary proteins on bovine dental enamel.  
Arch Oral Biol 1981; 26: 91-96

Konradsson K., Claesson R., van Dijken J. W., Mutans streptococci and lactobacilli in plaque on a leucite-reinforced dental ceramic and on a calcium aluminate cement.  
Clin Oral Investig 2006; 10: 175-180

Kousvelari E. E., Baratz R. S., Burke B., Oppenheim F. G., Immunochemical identification and determination of proline-rich proteins in salivary secretions, enamel pellicle, and glandular tissue specimens.  
J Dent Res 1980; 59: 1430-1438

Kousvelari E.E., Ciardi J. E., Bowers M. R., Altered bacterial aggregation and adherence associated with changes in rat parotid-gland salivary proteins induced in vivo by  $\beta$ -adrenergic stimulation.  
Arch Oral Biol 1988; 53: 341-346

Kraus F. W., Östavik D., Hurst D. C., Cook C. H., The acquired pellicle: variability and subject-dependance of specific proteins.  
J Oral Pathol 1973; 2:165-173

Kuboki Y., Teraoka K., Okada S., X-ray photoelectron spectroscopic studies of the adsorption of salivary constituents on enamel.  
J Dent Res 1987; 66: 1016-1019

Kuramitsu H. K., Characterization of cell-associated dextransucrase activity from glucose-grown cells of *Streptococcus mutans*.  
Infect Immun 1974; 10: 227-235

Leach S. A., Saxton C. A., An electron microscopic study of the acquired pellicle and plaque formed on the enamel of human incisors.  
Arch Oral Biol 1966; 11: 1081-1094

Leach S. A., Critchley P., Kolendo A. B., Saxton C. A., Salivary glycoproteins as components of the enamel integuments  
Caries Res 1967; 1: 104-111

- Leinonen J., Kivela J., Parkkila S., Parkkila A. K., Rajaniemi H., Salivary carbonic anhydrase isoenzyme VI is located in the human enamel pellicle.  
Caries Res 1999; 33: 185-190
- Lenander-Lumikari M., Tenovuo J., Mikola H., Effects of a lactoperoxidase system-containing toothpaste on levels of hypothiocyanite and bacteria in saliva.  
Caries Res 1993; 27: 285-291
- Lehmann K. M., Hellwig E., Einführung in die zahnärztliche Propädeutik  
Urban & Fischer 2002, 32
- Lendenmann K., Grogan J., Oppenheim F. G., Saliva and dental pellicle – A review.  
Adv Dent Res 2000; 13: 22-28
- Lie T., Morphological studies on dental plaque formation.  
Acta Odontol Scand 1979; 37: 73-85
- Liljemark W. F., Fenner L. J., Bloomquist C. G., In vivo colonization of salivary pellicle by haemophilus, actinomyces and streptococcus species.  
Caries Res 1986; 20: 481-497
- Mac Pherson L. M. D., Mac Farlane T. W., Weetman, S. K. W., Comparison of the plaque microflora from natural appliance born enamel surface.  
Caries Res 1991; 25: 58-64
- Mansson-Rahemtulla B., Rahemtulla F., Baldone D. C., Pruitt K. M., Hjerpe A., Purification and characterization of human salivary peroxidase.  
Biochemistry 1988; 27: 233-239
- Mayhall C. W., Concerning the composition and source of the acquired enamel pellicle of human teeth.  
Arch Oral Biol 1970; 15: 1327-1341
- Mayhall C. W., Studies on the composition of the enamel pellicle.  
Alabama J Med Sci 1975; 12: 252-271
- Mayhall C. W., Amino acid composition of experimental salivary pellicle.  
J Periodont 1977; 48: 78-91
- Mayhall C. W., Nonmialized coverings of the enamel surface.  
In Menaker L. (Ed.): The biologic basis of dental caries, 148-166, Hagerstown, Haper and Row, Publishers Inc., 1980, 1. Auflage
- McClure F. J., Ruzicka S. J.  
The destructive effect of citrate vs lactate ions on rats molar tooth surfaces in vivo.  
J Dent Res 1946; 25: 1
- Meurmann J. H., Frank R. M., Scanning electron microscope study of the effect of the salivary pellicle on enamel erosion.  
Caries Res 1991; 25: 1-6

- Moreno E. C., Varughese K., Hay D. J., Effect of human salivary proteins on the precipitation kinetics of calcium phosphate.  
Calcif Tiss Int 1979; 28: 7-16
- Moreno E. C., Kresak M., Hay D. I., Adsorption thermodynamics of acidic proline-rich human salivary proteins onto calcium apatites.  
J Biol Chem 1982; 257: 2981-2989
- Morge S., Adamczak E., Linden L. A., Variation in human salivary pellicle formation on biomaterials during the day.  
Arch Oral Biol 1989; 34: 669-674
- Müller R. F., Untersuchung zur initialen Plaquebildung auf natürlichen und künstlichen Oberflächen unter veränderten oralen Milieubelastungen.  
Med Habil (Promotion B), Erfurt, 1987
- Müller R. F., Künzel W., Szabo J., Scanning and transmission electron microscopy studies of short-term changes in acquired pellicle after two different dietary regimes.  
Caries Res 1988; 22: 98 Abstr. No. 27
- Nikiforuk G., Understanding dental caries,  
Vol. 1, Etiologie and mechanisms, Basic and clinical aspects  
Basel, Karger Verlag, 1985, 253-256 1. Auflage
- Norde W., Adsorption of biopolymers and its relevance for particle adhesion: a physico-chemical approach.  
In: Ten Cate J. M., Leach S. M., Arends J.: Bacterial adhesion and preventive dentistry.  
Oxford: IRL Press, 1984; 1-17
- Nyvad B., Fejerskov O., Experimentally induced changes in ultrastructure of pellicle and microbial colonization on enamel in vivo.  
In: Ten Cate, J. M., Leach S. A., Arends, J.: Bacterial adhesion and preventive dentistry.  
Oxford: IRL Press, 1984: 143-151, 1. Auflage
- Nyvad B., Fejerskov O., Transmission electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces in vivo.  
Scand J Dent Res 1987; 85: 297-307
- Office of population censuses and surveys, Dental Caries among children in the United Kingdom in 1993  
Office of population censuses and surveys 1994; publication number SS94/1
- Örstavik D., Hensten-Pettersen A., Antibacterial activity of tooth-colored dental restorative materials.  
Scand J Dent Res 1978; 57: 171-175
- Perdok J. F., Busscher H. J., Weerkamp A. H., Arends J., The effect of the aminofluoridestannous fluoride containing mouthrinse on enamel surface free energy and the development of plaque and gingivitis.  
Clin Prev Dent 1988; 10: 3-9

- Pruitt K. M., Macromolecular components of oral fluids at tooth surfaces.  
Swed Dent J 1977; 1: 225-240
- Quirynen M., Marechal M., Busscher H. J., Weerkamp A. H., Arends J., Darius P. L., van Steenberghe D., The influence of surface free-energy on planimetric growth in man.  
J Dent Res 1989; 68: 796-799
- Rosenberg M., Rosenberg E., Judes H., Weiss E., Bacterial adherence to hydroxycarbons and to surfaces in the oral cavity.  
FEMS Microbiol Lett 1983; 20, 1-5
- Rutter P. R., Abbott A., A study of the interaction between oral streptococci and hard surfaces.  
J Gen Microbiol 1978; 105, 219-226
- Rykke M., Sönju T., Rölla G., Interindividual and longitudinal studies of amino acid composition of pellicle collected in vivo.  
Scand J Dent Res 1990; 98: 129-134
- Rytömaa I., Meurman J. H., Koskinen J., Laasko R., Gharazi L., Turunek R., In vivo erosion of bovine enamel caused by acidic drinks and other foodstuffs.  
Scand J Dent Res 1988; 96: 324-333
- Shahal Y., Steinberg D., Hirschfeld Z., Bronshteyn M., Kopolovic K., In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials.  
J Oral Rehabil 1998; 25: 52-58
- Schlagenhauf U., Parodontologie, Teil1: Anatomie, Mikrobiologie, Immunsystem, Ätiologie, Epidermiologie.  
Begleitskript zur Hauptvorlesung Parodontologie 2006; Seite 37
- Skjörland K., Rykke M., Sönju T., Rate of pellicle formation in vivo.  
Acta Odontol Scand 1995; 53: 358-362
- Slomiany B. L., Murty V. L. N., Zdebska E., Slomiany A., Gwozdziński K., Mandel I. D., Tooth surface-pellicle lipids and their role in the protection of dental enamel against lactic-acid diffusion in man.  
Arch Oral Biol 1986; 31: 187-192
- Socransky S. S., Manganiello A. D., Propas D., Oram V., Van Houte J., Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque.  
J Periodontal Res 1977; 12: 90-106
- Sönju T., Rölla G., Chemical analysis of the acquired pellicle formed in two hours on cleaned human teeth in vivo. Rate of formation and amino acid analysis.  
Caries Res 1973; 7: 30-38
- Sönju T., Christensen T. B., Kornstad L., Rölla G., Electron microscopy, carbohydrate analyses and biological activities of the proteins absorbed in two hours to tooth surfaces in vivo.  
Caries Res 1974; 8: 113-122

Sreebny L. M., Saliva in health and disease: an appraisal and update.  
Int Dent J 2000; 50: 140-661

Tinanoff N., Glick P. L., weber D. F., Ultrastructure of organic films on the enamel surface.  
Caries Res 1976; 10:19-32

Vacca Smith A. M., Bowen W. H., In situ studies of pellicle formation on hydroxyapatite discs.  
Arch Oral Biol 2000; 45: 277-291

Van Pelt A. W. J., De Jong H. P., Busscher H. J., Arends J., Dispersion and polar surface free energies of human enamel.  
J Biomed Mat Res 1983; 17: 637-641

Vassilakos N., Arnebrandt T., Rudegren J., Glanz P. O., In vitro interactions of anionic and cationic surfactants with salivary fractions on well-defined solid surfaces.  
Acta Odontol Scand 1982; 50, 179-188

Vitkov L., Hannig M., Nekrashevych Y., Krautgartner W. D., Supramolecular pellicle precursors.  
Eur J Oral Sci 2004; 112: 320-325

West N. X., Hughes J. A., Addy M., Erosion of dentin and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperatur, acid character, concentration and exposure time.  
J Oral Rehabil 2000; 27: 875-80

Welton S., Hughes J., West N., Addy M., Exposure time of enamel and dentin to saliva for protection against erosion: a study in vitro.  
Caries Res 2006; 40: 213-7

Wiegand A., Bliggenstorfer S., Magalhaes A. C., Sener B., Attin T., Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids.  
Acta Odontol Scand 2008; 66:225-230

Yao Y., Berg E. A., Costello C. E., Troxler R. F., Oppenheim F. G., Identifaction of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches.  
J Biol Chem 2003; 278: 5300-5308

Zahradnik R. T., Moreno E. C., Burke E. J., Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro.  
J Dent Res 1976; 55: 664-670

Zahradnik R. T., Propas D., Moreno E. C., In vitro enamel demineralization by streptococcus mutans in the presence of salivary pellicles.  
J Dent Res 1977; 56: 1107-1110

Zahradnik R. T., Propas D., Moreno E. C., Effect of salivary pellicle formation time on in vitro attachement and demineralization by streptococcus mutans.  
J Dent Res 1978; 57: 1036-1042

## **7. Danksagung**

Ich bedanke mich bei allen an meiner Disseration beteiligten Mitarbeitern des Universitätsklinikums des Saarlandes, insbesondere bei den geduligen Probanden der zahlreichen Versuchsreihen und bei Frau Gabriele Kiefer für die kompetente Unterstützung bei der Bedienung des Transmissionselektronenmikroskopes.

Danken möchte ich auch im Speziellen Herrn Prof. Dr. Matthias Hannig für die Unterstützung und Begleitung bei dem Erstellen meiner Disseration.

## **8. Lebenslauf**

Geburtsdatum: 30.01.1983

Geburtsort: Würzburg

Staatsangehörigkeit: deutsch

### **Schulische Ausbildung (1989-2002)**

Grund- und Teilhauptschule Rottendorf

Städtisches Mozart-Schönborn-Gymnasium Würzburg, Abitur

### **Berufliche Ausbildung (2002-2007)**

Bayrische Julius-Maximilians Universität Würzburg, Staatsexamen

### **Approbation**

07. November 2007, Freistaat Bayern

### **Berufstätigkeit**

Vorbereitungsassistentin      Saarland und Rheinland-Pfalz      April 2008 - Mai 2010

Zahnärztin      Rheinland-Pfalz      Mai 2010 - bis heute

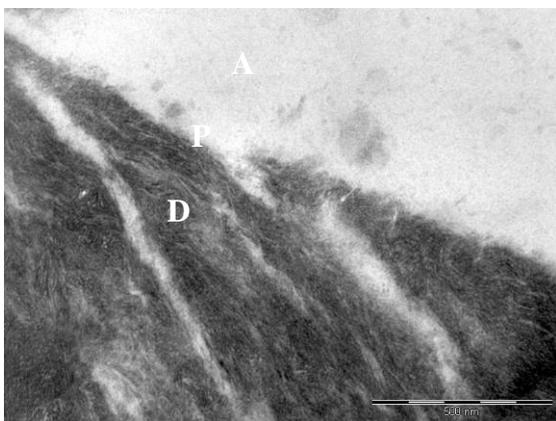
## 9. Anhang

### 9.1 Übersichtstabelle Nr. 1

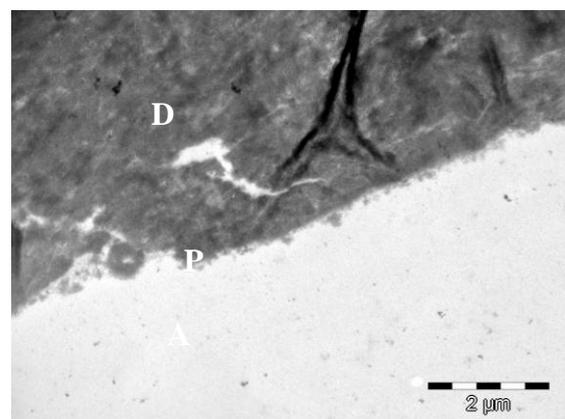
Die Resultate der transmissionselektronischen Analyse erlauben die Katalogisierung der ultrastrukturellen Befunde anhand von elf typischen Mustern. Zusätzlich erscheint in der Tabelle eine Bildnummer, welche für eine exemplarische transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme steht.

Katalogisierung der Pellikelultrastruktur anhand von elf Mustern:

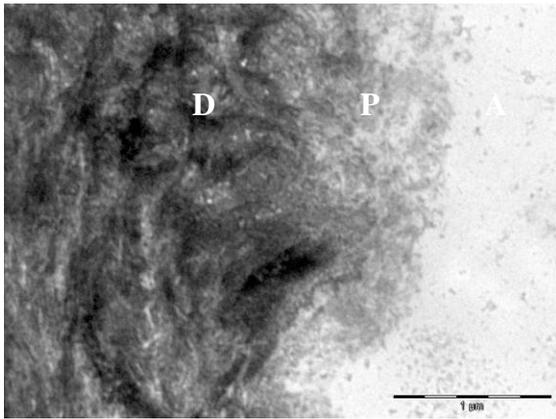
- M1 keine Dentindemineralisation mit Pellikel ohne Kontinuität
- M2 keine Dentindemineralisation mit nicht durchgängig detektierbarer Pellikel
- M3 keine Dentindemineralisation mit intakter Pellikel
- M4 Dentindemineralisation  $\leq 500\text{nm}$  ohne Pellikel
- M5 Dentindemineralisation  $> 500\text{nm}$  ohne Pellikel
- M6 Dentindemineralisation  $\leq 500\text{nm}$  mit locker strukturierter Pellikel
- M7 Dentindemineralisation  $\leq 500\text{nm}$  mit dicht formierter Pellikel
- M8 Dentindemineralisation  $\leq 500\text{nm}$  mit zerstörter Pellikel
- M9 Dentindemineralisation  $> 500\text{nm}$  mit locker strukturierter Pellikel
- M10 Dentindemineralisation  $> 500\text{nm}$  mit dicht formierter Pellikel
- M11 Dentindemineralisation  $> 500\text{nm}$  mit zerstörter Pellikel



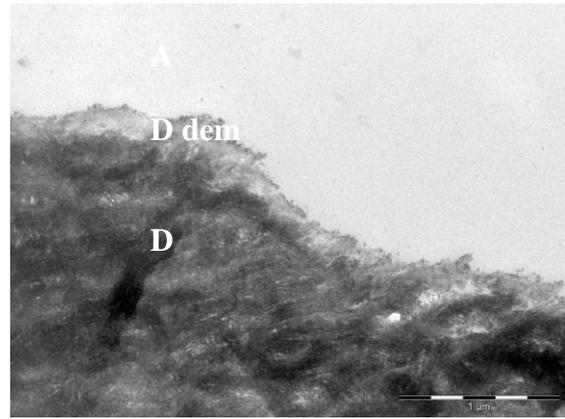
Muster 1: keine Dentindemineralisation mit Pellikel ohne Kontinuität



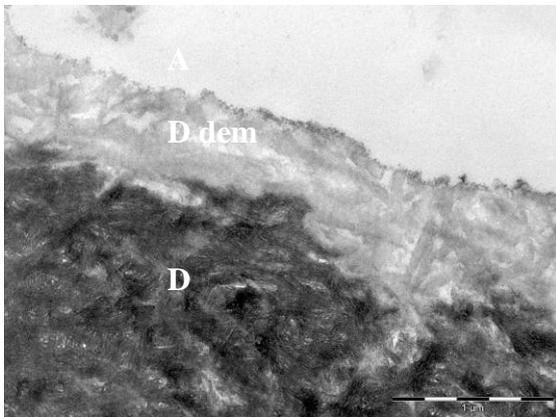
Muster 2: keine Dentindemineralisation mit nicht durchgängig detektierbarer Pellikel



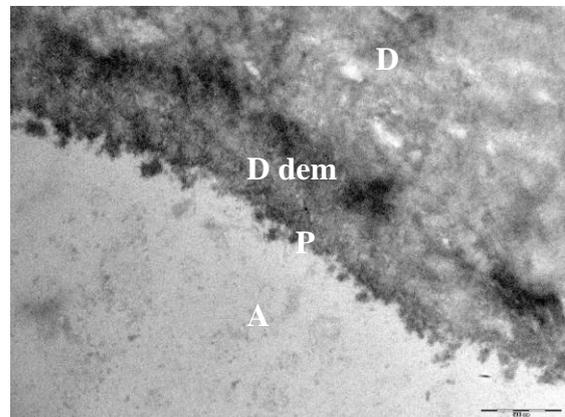
Muster 3: keine Dentindemineralisation mit intakter Pellikel



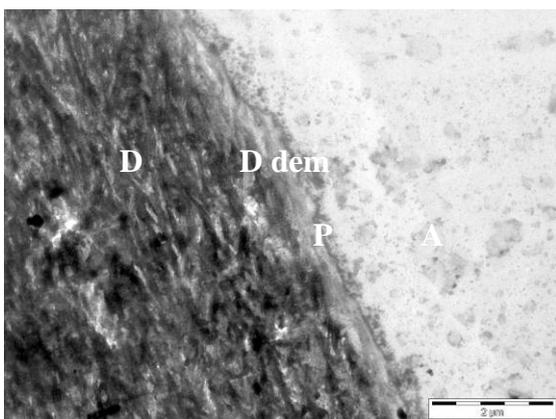
Muster 4: Dentindemineralisation  $\leq 500\text{nm}$  ohne Pellikel



Muster 5: Dentindemineralisation  $> 500\text{nm}$  ohne Pellikel



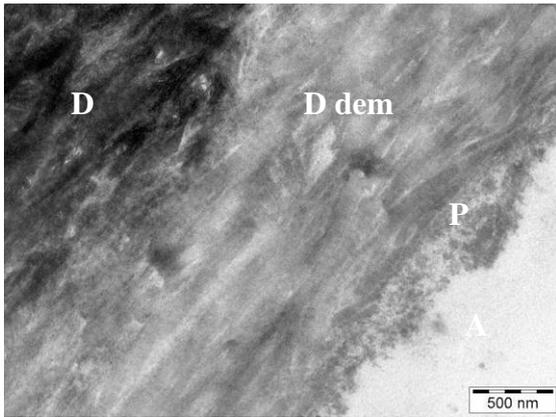
Muster 6: Dentindemineralisation  $\leq 500\text{nm}$  mit locker strukturierter Pellikel



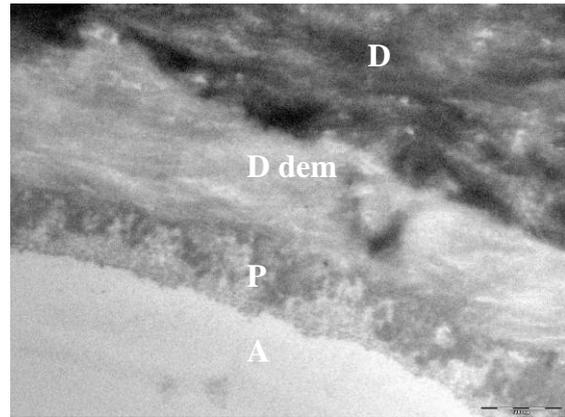
Muster 7: Dentindemineralisation  $\leq 500\text{nm}$  mit dicht formierter Pellikel



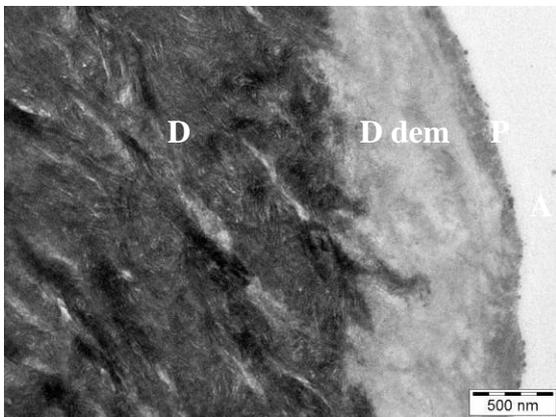
Muster 8: Dentindemineralisation  $\leq 500\text{nm}$  mit zerstörter Pellikel



Muster 9: Dentindemineralisation > 500nm  
mit locker strukturierter Pellikel



Muster 10: Dentindemineralisation > 500nm  
mit dicht formierter Pellikel



Muster 11: Dentindemineralisation > 500nm  
mit zerstörter Pellikel

| Präparat                                      | Bildnummer          | Muster |
|---|---------------------|--------|
| <b>Präparate ohne Zitronensäureexposition</b> |                     |        |
| bukkale 3min-Pellikel (Proband 1)             | Abb. 2              | M1     |
| bukkale 3min-Pellikel (Proband 2)             | Abb. 4              | M1     |
| bukkale 3min-Pellikel (Proband 3)             | Abb. A9             | M1     |
| palatinale 3min-Pellikel (Proband 1)          | Abb. 28             | M1     |
| palatinale 3min-Pellikel (Proband 2)          | Abb. A64            | M1     |
| palatinale 3min-Pellikel (Proband 3)          | Abb. 32             | M1     |
| bukkale 30min-Pellikel (Proband 1)            | Abb. 8              | M2     |
| bukkale 30min-Pellikel (Proband 2)            | Abb. 10             | M2     |
| bukkale 30min-Pellikel (Proband 3)            | Abb. 12             | M2     |
| palatinale 30min-Pellikel (Proband 1)         | Abb. 34             | M2     |
| palatinale 30min-Pellikel (Proband 2)         | Abb. 36             | M1     |
| palatinale 30min-Pellikel (Proband 3)         | Abb. 39             | M1     |
| bukkale 120min-Pellikel (Proband 1)           | Abb. 14             | M3     |
| bukkale 120min-Pellikel (Proband 2)           | Abb. 16             | M3     |
| bukkale 120min-Pellikel (Proband 3)           | Abb. 18             | M3     |
| palatinale 120min-Pellikel (Proband 1)        | Abb. 40             | M2     |
| palatinale 120min-Pellikel (Proband 2)        | Abb. 42             | M1     |
| palatinale 120min-Pellikel (Proband 3)        | Abb. 44             | M1     |
| bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)           | Abb. 20             | M3     |
| bukkale 360min-Pellikel (Proband 2)           | Abb. 24             | M3     |
| bukkale 360min-Pellikel (Proband 3)           | Abb. 26             | M3     |
| palatinale 360min-Pellikel (Proband 1)        | Abb. 46             | M3     |
| palatinale 360min-Pellikel (Proband 2)        | Präparat abgefallen |        |
| palatinale 360min-Pellikel (Proband 3)        | Abb. 48             | M2     |

|  |                 |     |
|--|-----------------|-----|
| <b>Präparate mit Zitronensäureexposition</b>   |                 |     |
| <b>Versuchsreihe A</b>   |                 |     |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)             | Abb. 50         | M4  |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)             | Abb. 52         | M4  |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)               | Abb. 54         | M5  |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)               | Abb. 56         | M5  |
| Probe in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert                         | Abb. 59         | M4  |
| Probe in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert                           | Abb. 61         | M5  |
| <b>Versuchsreihe B</b>   |                 |     |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 mit Minute in 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) | Abb. 62         | M8  |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 mit Minute in 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) | A177            | M6  |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)      | A204            | M10 |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)      | Abb. 69         | M11 |
| 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)    | Abb. 70         | M6  |
| 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)    | Abb. 72/Abb. 73 | M6  |
| 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)      | Abb. A186       | M11 |
| 30min-Pellikel in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)      | Abb. A207       | M10 |

|  |           |     |
|--|-----------|-----|
| <b>Versuchsreihe C</b>   |           |     |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) | Abb. A219 | M10 |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) | Abb. A229 | M6  |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)   | Abb. A236 | M9  |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3)   | Abb. 84   | M9  |
| <b>Versuchsreihe D</b>   |           |     |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) | Abb. 86   | M7  |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) | Abb. 89   | M6  |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2)   | Abb. 90   | M9  |
| 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3)   | Abb. A277 | M9  |

## 9.2 Übersichtstabellen Nr. 2

### 9.2.1 Übersichtstabelle 1: Übersicht der transmissionselektronenmikroskopischen Befunde mit Berücksichtigung der einzelnen Probanden

| Versuch                                       | Pellicelstärke      |       | Pellicel |         | lockt | granulär | globulär | Bakterien |          | Schichtdicke der Demineralisation |
|---|---------------------|-------|----------|---------|-------|----------|----------|-----------|----------|-----------------------------------|
|   | durchschnittl.      | min.  | max.     | homogen |       |          |          | heterogen | zerstört |                                   |
| <b>Präparate ohne Zitronensäureexposition</b> |                     |       |          |         |       |          |          |           |          |                                   |
| 3min-Pellicel buk. (Proband 1)                | keine Kontinuität   | 0nm   | 200nm    | X       | -     | X        | -        | -         | -        | -                                 |
| 3min-Pellicel buk. (Proband 2)                | keine Kontinuität   | 0nm   | 150nm    | X       | -     | X        | -        | -         | -        | -                                 |
| 3min-Pellicel buk. (Proband 3)                | keine Kontinuität   | 0nm   | 120nm    | X       | -     | X        | -        | -         | -        | -                                 |
| 3min-Pellicel pal. (Proband 1)                | keine Kontinuität   | 0nm   | 60nm     | X       | -     | X        | -        | X         | -        | -                                 |
| 3min-Pellicel pal. (Proband 2)                | keine Kontinuität   | 0nm   | 50nm     | X       | -     | X        | -        | -         | -        | -                                 |
| 3min-Pellicel pal. (Proband 3)                | keine Kontinuität   | 0nm   | 350nm    | X       | -     | X        | -        | -         | -        | -                                 |
| 30min-Pellicel buk. (Proband 1)               | 125nm               | 50nm  | 1,3um    | X       | -     | X        | -        | X         | -        | -                                 |
| 30min-Pellicel buk. (Proband 2)               | 200nm               | 20nm  | 300nm    | -       | -     | X        | -        | X         | -        | -                                 |
| 30min-Pellicel buk. (Proband 3)               | 250nm               | 50nm  | 800nm    | X       | -     | X        | -        | -         | -        | -                                 |
| 30min-Pellicel pal. (Proband 1)               | keine Kontinuität   | 0nm   | 1,3um    | X       | -     | X        | -        | X         | X        | -                                 |
| 30min-Pellicel pal. (Proband 2)               | keine Kontinuität   | 0nm   | 300nm    | X       | -     | X        | -        | X         | X        | -                                 |
| 30min-Pellicel pal. (Proband 3)               | keine Kontinuität   | 0nm   | 300nm    | X       | -     | X        | -        | -         | -        | -                                 |
| 120min-Pellicel buk. (Proband 1)              | 400nm               | 100nm | 700nm    | X       | -     | X        | -        | -         | -        | -                                 |
| 120min-Pellicel buk. (Proband 2)              | 350nm               | 100nm | 1,1um    | -       | -     | X        | -        | X         | -        | -                                 |
| 120min-Pellicel buk. (Proband 3)              | 600nm               | 500nm | 5,8um    | X       | -     | X        | -        | -         | -        | -                                 |
| 120min-Pellicel pal. (Proband 1)              | keine Kontinuität   | 0nm   | 1um      | -       | -     | X        | -        | X         | X        | -                                 |
| 120min-Pellicel pal. (Proband 2)              | keine Kontinuität   | 0nm   | 1um      | X       | -     | -        | -        | X         | X        | -                                 |
| 120min-Pellicel pal. (Proband 3)              | keine Kontinuität   | 0nm   | 800nm    | -       | -     | X        | -        | X         | -        | -                                 |
| 360min-Pellicel buk. (Proband 1)              | 1um                 | 100nm | 7um      | -       | -     | X        | -        | X         | X        | -                                 |
| 360min-Pellicel buk. (Proband 2)              | 1um                 | 170nm | 6,1um    | -       | -     | X        | -        | X         | X        | -                                 |
| 360min-Pellicel buk. (Proband 3)              | 900nm               | 500nm | 5,5um    | -       | -     | X        | -        | X         | X        | -                                 |
| 360min-Pellicel pal. (Proband 1)              | 200nm               | 20nm  | 1,1um    | -       | -     | X        | -        | X         | X        | -                                 |
| 360min-Pellicel pal. (Proband 2)              | Präparat abgefallen |       |          |         |       |          |          |           |          |                                   |
| 360min-Pellicel pal. (Proband 3)              | keine Kontinuität   | 0nm   | 1,3um    | -       | -     | X        | -        | X         | X        | -                                 |

Die Übersichtstabelle 1 enthält eine Zusammenstellung aller gemessenen Werte und eine dazugehörige Interpretation für jedes Präparat.

| Versuch   | Pellicelstärke |       | Pellicel |           | locker | granulär | globulär | Bakterien |        | Schichtdicke der Demineralisation |
|---|----------------|-------|----------|-----------|--------|----------|----------|-----------|--------|-----------------------------------|
|   | durchschnittl. | max.  | homogen  | heterogen |        |          |          | zerstört  | gelöst |                                   |
| <b>Präparate mit Zitronensäureexposition, Versuchsreihe A</b>                         |                |       |          |           |        |          |          |           |        |                                   |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)          | -              | -     | -        | -         | -      | -        | -        | -         | -      | 500nm                             |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)          | -              | -     | -        | -         | -      | -        | -        | -         | -      | 350nm                             |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)            | -              | -     | -        | -         | -      | -        | -        | -         | -      | 1µm                               |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)            | -              | -     | -        | -         | -      | -        | -        | -         | -      | 3µm                               |
| Probe in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert                      | -              | -     | -        | -         | -      | -        | -        | -         | -      | 150nm                             |
| Probe in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert                        | -              | -     | -        | -         | -      | -        | -        | -         | -      | 700nm                             |
| <b>Präparate mit Zitronensäureexposition, Versuchsreihe B</b>                         |                |       |          |           |        |          |          |           |        |                                   |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) | 200nm          | 100nm | 2,1µm    | -         | X      | X        | X        | X         | X      | 150nm nur in Tubuluseingang       |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) | 100nm          | 20nm  | 700nm    | X         | -      | X        | X        | -         | -      | 400nm                             |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)   | 200nm          | 100nm | 2µm      | X         | -      | X        | X        | X         | X      | 1,3µm                             |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)   | 120nm          | 100nm | 500nm    | X         | -      | X        | X        | -         | -      | 1,4µm                             |
| 30min-Pellicel in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) | 100nm          | 10nm  | 350nm    | X         | -      | X        | X        | -         | -      | 500nm                             |
| 30min-Pellicel in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3) | 100nm          | 20nm  | 500nm    | -         | X      | X        | X        | -         | -      | 100nm                             |
| 30min-Pellicel in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2)   | 125nm          | 30µm  | 2µm      | X         | -      | X        | X        | -         | -      | 1µm                               |
| 30min-Pellicel in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3)   | 400nm          | 100nm | 2,7µm    | -         | X      | X        | X        | X         | X      | 800nm                             |

| Versuch  | Pellicelstärke |       | Pellicel |         | Pellicel  |          | Pellicel |        | Pellicel |          | Bakterien |         | Schichtdicke der |       |
|--|----------------|-------|----------|---------|-----------|----------|----------|--------|----------|----------|-----------|---------|------------------|-------|
|  | durchschnittl. | min.  | max.     | homogen | heterogen | zerstört | gelöst   | locker | granulär | globulär | einzel    | Kolonie | Demineralisation |       |
| <b>Präparate mit Zitronensäureexposition, Versuchsreihe C</b>  |                |       |          |         |           |          |          |        |          |          |           |         |                  |       |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) | 400nm          | 30nm  | 1,5µm    | -       | x         | -        | -        | x      | x        | x        | x         | -       | -                | 800nm |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) | 100nm          | 20nm  | 2µm      | x       | -         | x        | -        | x      | x        | -        | -         | -       | -                | 400nm |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)   | 200nm          | 50nm  | 500nm    | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | -         | -       | -                | 1,5µm |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3)   | 100nm          | 10nm  | 670nm    | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | x         | -       | -                | 2µm   |
| <b>Präparate mit Zitronensäureexposition, Versuchsreihe D</b>  |                |       |          |         |           |          |          |        |          |          |           |         |                  |       |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) | 150nm          | 100nm | 2,3µm    | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | x         | -       | -                | 300nm |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) | 15nm           | 0nm   | 500nm    | x       | x         | -        | -        | x      | x        | x        | x         | -       | -                | 500nm |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2)   | 200nm          | 0nm   | 400nm    | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | -         | -       | -                | 2,6µm |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3)   | 200nm          | 15nm  | 2,6µm    | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | x         | -       | -                | 2,3µm |

## 9.2.2 Übersichtstabelle 2: zusammenfassende Übersicht der transmissionselektronen- mikroskopischen Befunde

| Versuch                                       | Pellicelstärke<br>durchschnittl. |        | Pellicel |           | locker | granulär | globulär | Bakterien |        | Schichtdicke der<br>Demineralisation |
|---|----------------------------------|--------|----------|-----------|--------|----------|----------|-----------|--------|--------------------------------------|
|   | min.                             | max.   | homogen  | heterogen |        |          |          | zerstört  | gelöst |                                      |
| <b>Präparate ohne Zitronensäureexposition</b> |                                  |        |          |           |        |          |          |           |        |                                      |
| 3min-Pellicel bukkal                          | keine Kontinuität                | 0nm    | X        | -         | X      | X        | -        | -         | -      | -                                    |
| 3min-Pellicel palatinal                       | keine Kontinuität                | 0nm    | X        | -         | X      | X        | -        | -         | -      | -                                    |
| 30min-Pellicel bukkal                         | 200nm                            | 50nm   | X        | -         | X      | X        | X        | X         | -      | -                                    |
| 30min-Pellicel palatinal                      | keine Kontinuität                | 0nm    | X        | -         | X      | X        | -        | X         | X      | -                                    |
| 120min-Pellicel bukkal                        | 350nm-                           | 100nm- | X        | -         | X      | X        | -        | -         | -      | -                                    |
| 120min-Pellicel palatinal                     | keine Kontinuität                | 0nm    | -        | X         | X      | X        | X        | X         | X      | -                                    |
| 360min-Pellicel bukkal                        | 1µm                              | 100nm- | -        | X         | -      | X        | X        | X         | X      | -                                    |
| 360min-Pellicel palatinal                     | keine Kontinuität                | 20nm   | -        | X         | X      | X        | -        | X         | X      | -                                    |

Die Übersichtstabelle 2 enthält eine zusammenfassende Zusammenstellung aller gemessenen Werte und eine dazugehörige Interpretation für jedes einzelne Präparat

| Versuch  | Pellicelstärke    |                   | Pellicel          |         | Pellicel  |          | Pellicel |        | Pellicel |          | Pellicel            |         | Pellicel                             |         | Pellicel  |          | Pellicel |        | Pellicel |          |                     |         |                                      |             |
|--|-------------------|-------------------|-------------------|---------|-----------|----------|----------|--------|----------|----------|---------------------|---------|--------------------------------------|---------|-----------|----------|----------|--------|----------|----------|---------------------|---------|--------------------------------------|-------------|
|  | durchschnittl.    | min.              | max.              | homogen | heterogen | zerstört | gelöst   | locker | granulär | globulär | Bakterien<br>einzel | Kolonie | Schichtdicke der<br>Demineralisation | homogen | heterogen | zerstört | gelöst   | locker | granulär | globulär | Bakterien<br>einzel | Kolonie | Schichtdicke der<br>Demineralisation |             |
| <b>Präparate mit Zitronensäureexposition, Versuchsreihe A</b>  |                   |                   |                   |         |           |          |          |        |          |          |                     |         |                                      |         |           |          |          |        |          |          |                     |         |                                      |             |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült   | -                 | -                 | -                 | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 350nm-500nm |
| Probe intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült   | -                 | -                 | -                 | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 1µm-3µm     |
| Probe in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert   | -                 | -                 | -                 | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 150nm       |
| Probe in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert   | -                 | -                 | -                 | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 700nm       |
| <b>Präparate mit Zitronensäureexposition, Versuchsreihe B</b>  |                   |                   |                   |         |           |          |          |        |          |          |                     |         |                                      |         |           |          |          |        |          |          |                     |         |                                      |             |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült                                      | 100nm             | 20nm-100nm        | 700nm-2,1µm       | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 400nm       |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült  | keine Kontinuität | keine Kontinuität | keine Kontinuität | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 1,3µm       |
| 30min-Pellicel in vitro über 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert                                      | 100nm             | 10nm-20nm         | 130nm-500nm       | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 500nm-100nm |
| 30min-Pellicel in vitro über 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert  | 100nm-400nm       | 100nm-100nm       | 2µm-2,7µm         | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 1µm         |
| <b>Präparate mit Zitronensäureexposition, Versuchsreihe C</b>  |                   |                   |                   |         |           |          |          |        |          |          |                     |         |                                      |         |           |          |          |        |          |          |                     |         |                                      |             |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit | 100nm-400nm       | 20nm-30nm         | 1,5µm-2µm         | -       | x         | -        | -        | x      | x        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 500nm-800nm |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit   | 100nm-200nm       | 50nm-10nm         | 500nm-670nm       | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 1,5µm-2µm   |
| <b>Präparate mit Zitronensäureexposition, Versuchsreihe D</b>  |                   |                   |                   |         |           |          |          |        |          |          |                     |         |                                      |         |           |          |          |        |          |          |                     |         |                                      |             |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit | 15nm-150nm        | 100nm-0nm         | 500nm-2µm         | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 300nm       |
| 30min-Pellicel intraoral über 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit   | 200nm             | 0nm-15nm          | 400nm-2,6µm       | x       | -         | -        | -        | x      | x        | -        | -                   | -       | -                                    | -       | -         | -        | -        | -      | -        | -        | -                   | -       | -                                    | 2,5µm       |

Die in Klammern gesetzten Angaben kennzeichnen probandenspezifische Abweichungen

### 9.3 Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen

#### Versuche ohne Zitronensäureexposition Bukkale 3min-Pellikel

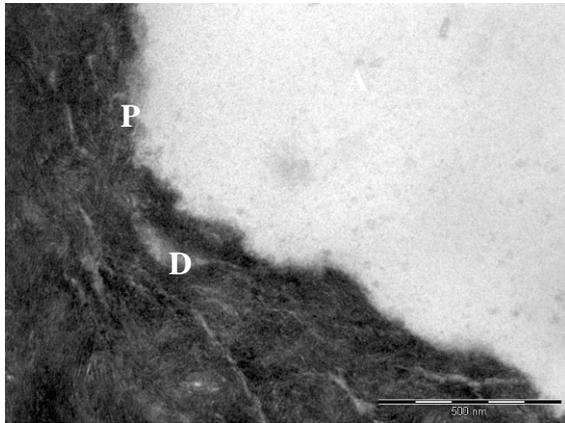


Abb. A1: bukkale 3min-Pellikel (Proband 1)  
70.000fache Vergrößerung

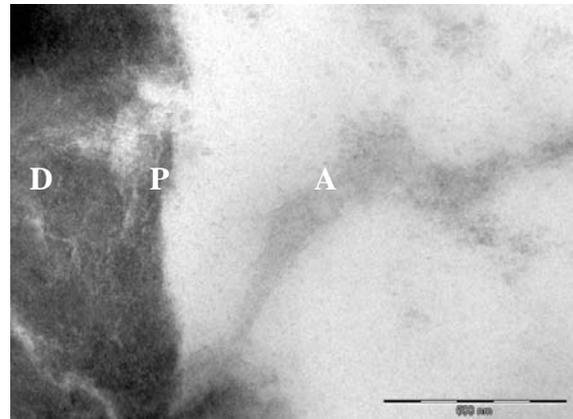


Abb. A2: bukkale 3min-Pellikel (Proband 1)  
70.000fache Vergrößerung

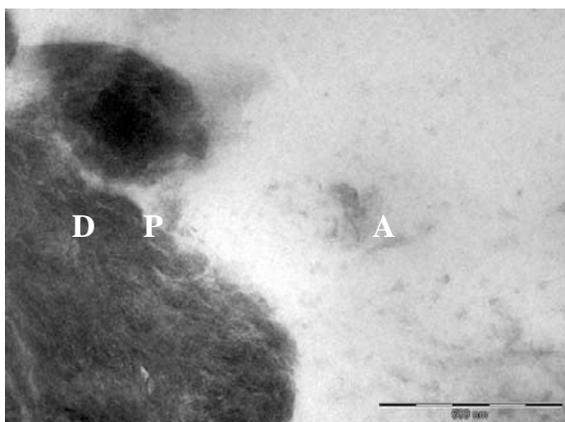


Abb. A3: bukkale 3min-Pellikel (Proband 1)  
70.000fache Vergrößerung

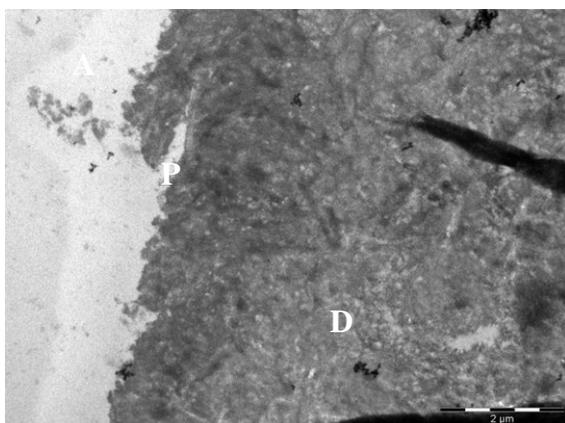


Abb. A4: bukkale 3min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

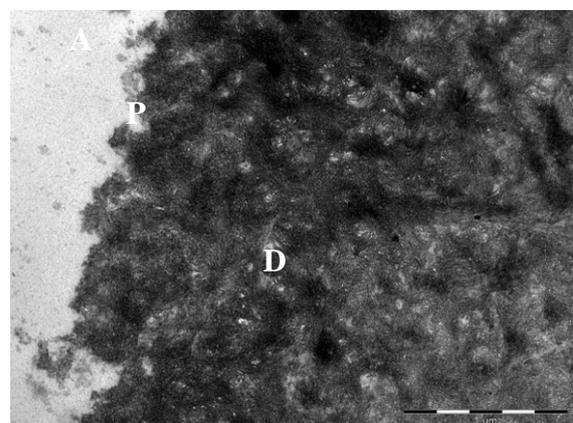


Abb. A5: bukkale 3min-Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

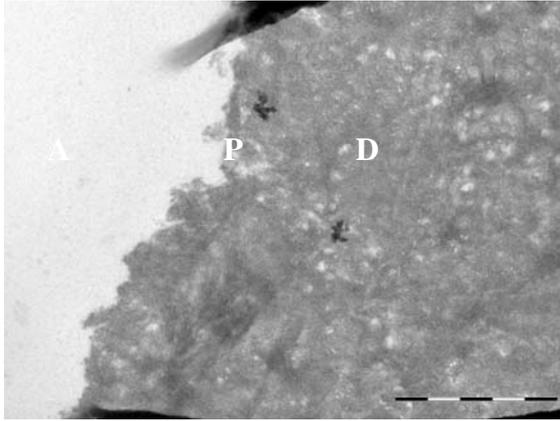


Abb. A6: bukkale 3min-Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

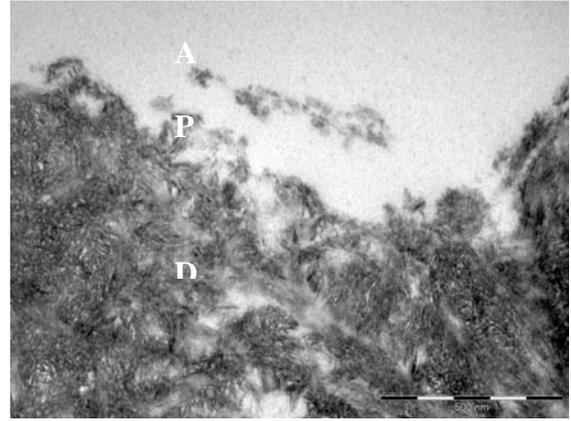


Abb. A7: bukkale 3min-Pellikel (Proband 2)  
70.000fache Vergrößerung

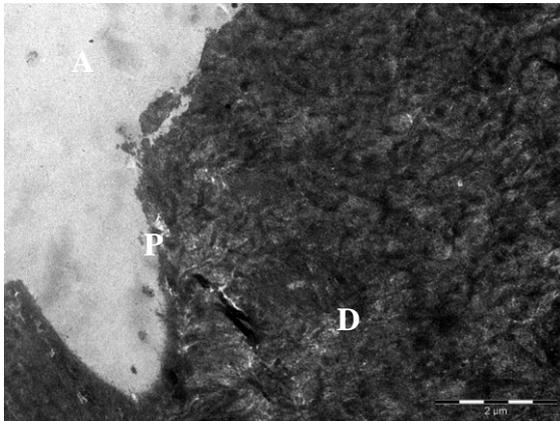


Abb. A8: bukkale 3min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

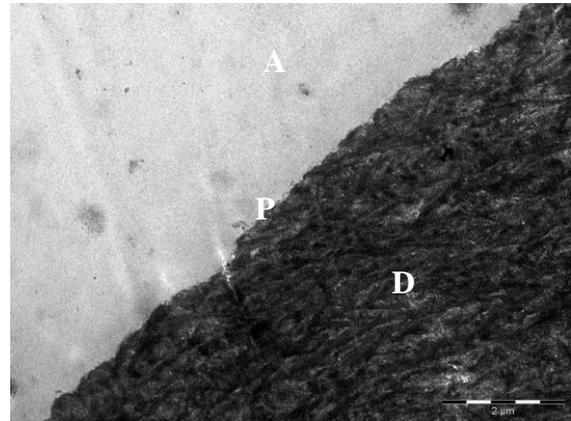


Abb. A9: bukkale 3min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

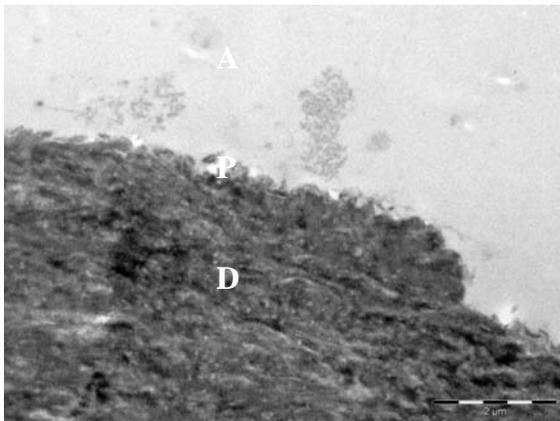


Abb. A10: bukkale 3min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

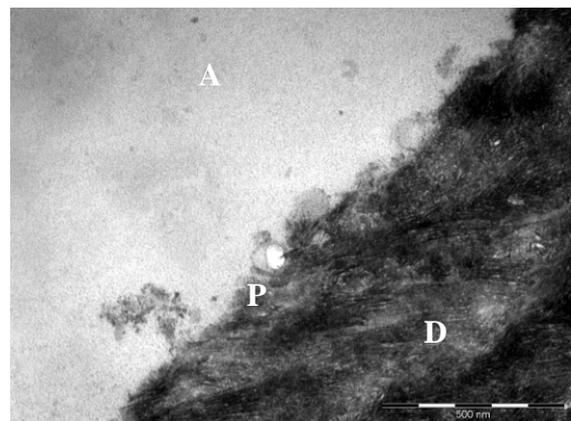


Abb. A11: bukkale 3min-Pellikel (Proband 3)  
70.000fache Vergrößerung

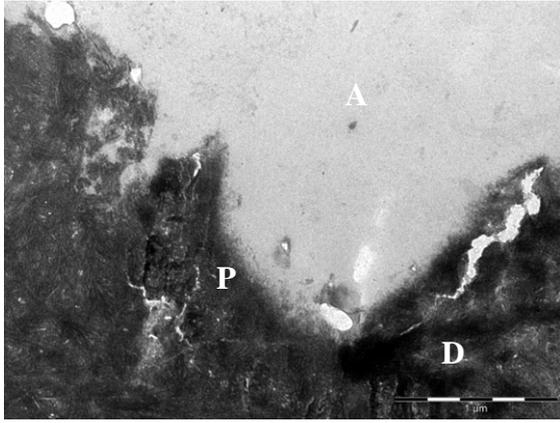


Abb. A12: bukkale 3min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

**Bukkale 30 min Pellikel**

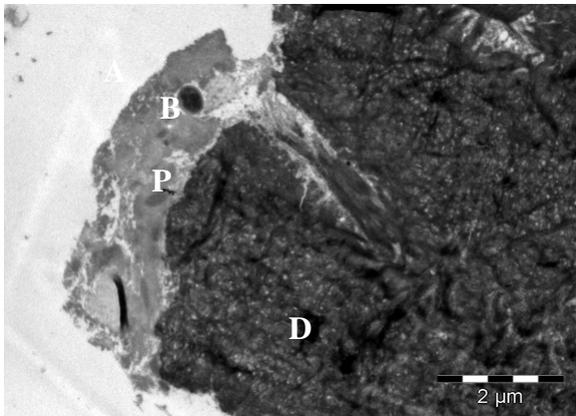


Abb. A13: bukkale 30min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

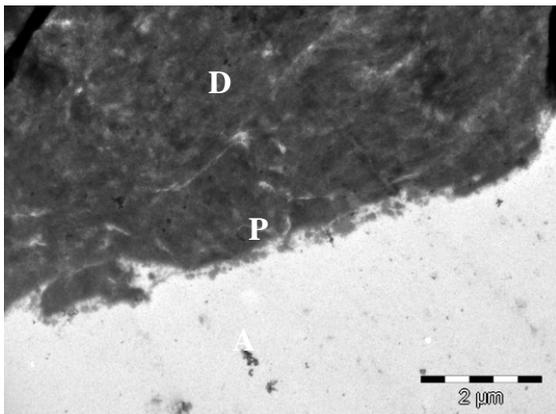


Abb. A14: bukkale 30min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

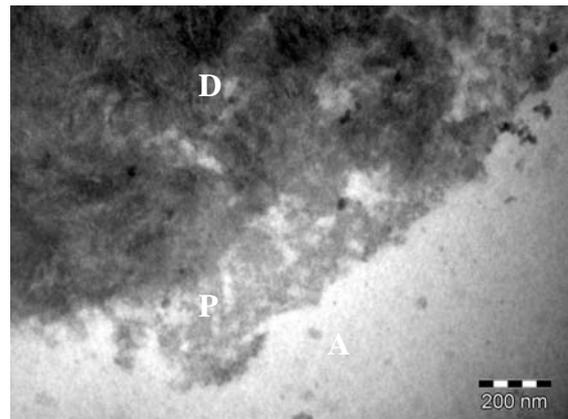


Abb. A15: bukkale 30min-Pellikel (Proband 2)  
70.000fache Vergrößerung

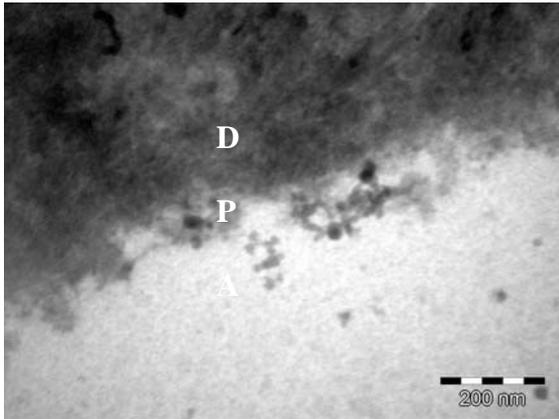


Abb. A16: bukkale 30min-Pellikel (Proband 2)  
100.000fache Vergrößerung

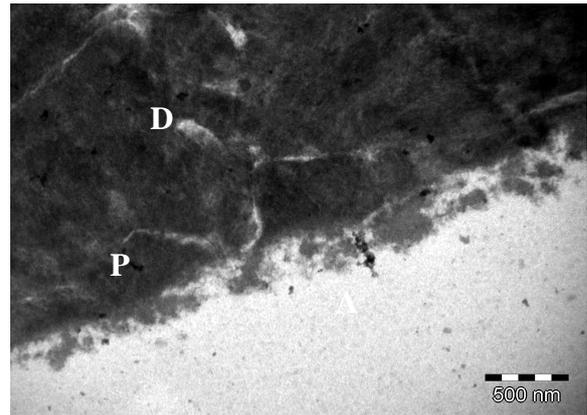


Abb. A17: bukkale 30min-Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

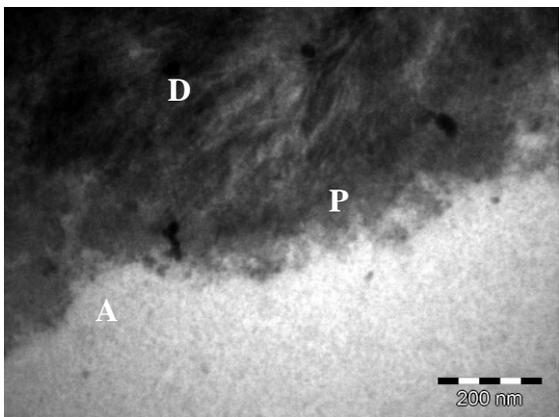


Abb. A18: bukkale 30min-Pellikel (Proband 2)  
100.000fache Vergrößerung

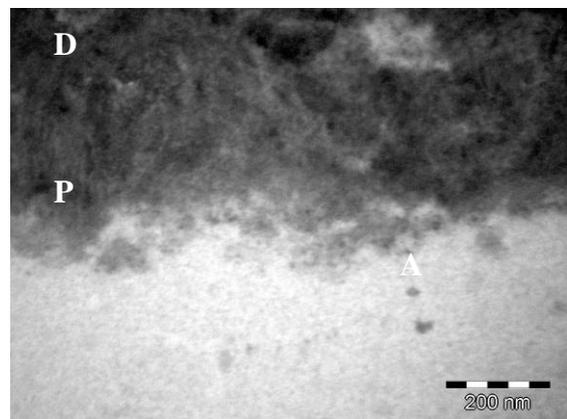


Abb. A19: bukkale 30min-Pellikel (Proband 2)  
100.000fache Vergrößerung

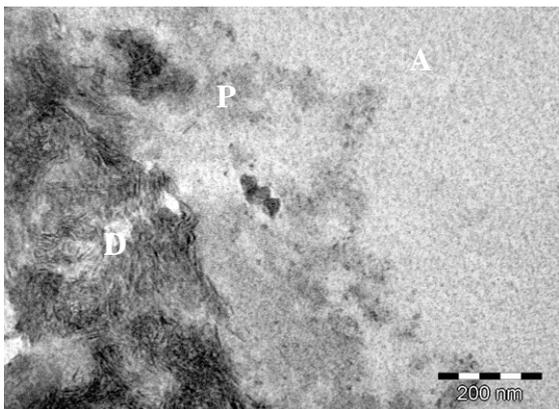


Abb. A20: bukkale 30min-Pellikel (Proband 3)  
100.000fache Vergrößerung

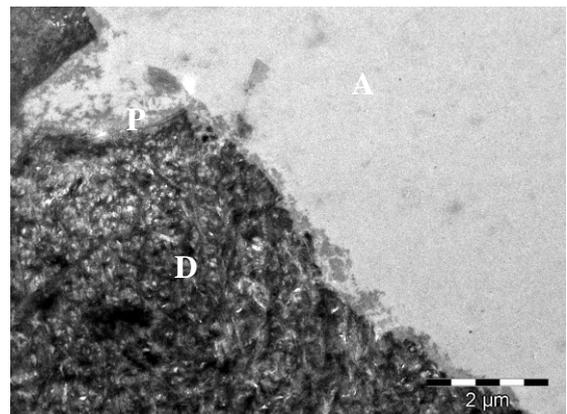


Abb. A21: bukkale 30min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

## Bukkale 120 min Pellikel

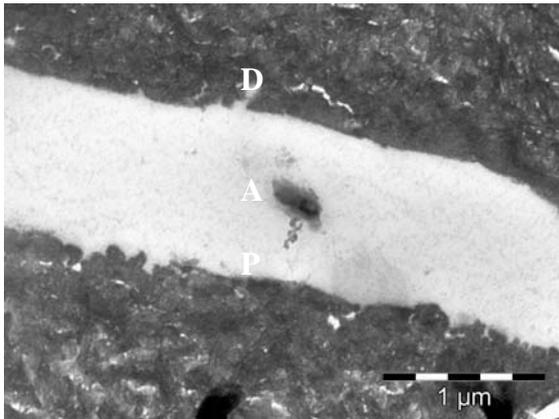


Abb. A22: bukkale 120min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

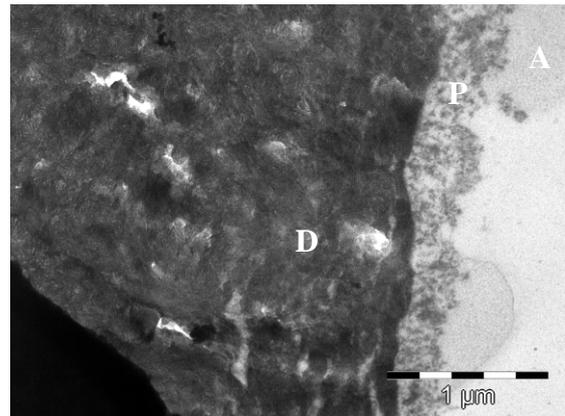


Abb. A23: bukkale 120min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

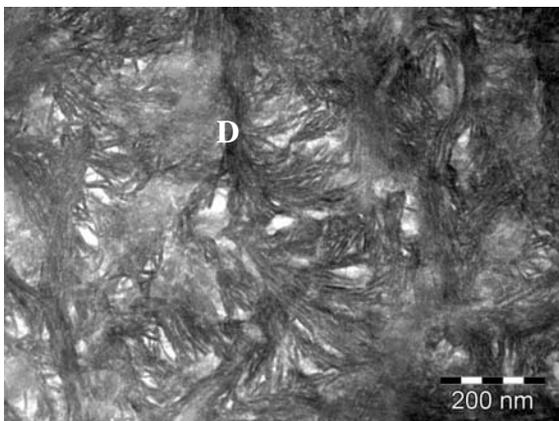


Abb. A24: bukkale 120min-Pellikel (Proband 1)  
100.000fache Vergrößerung

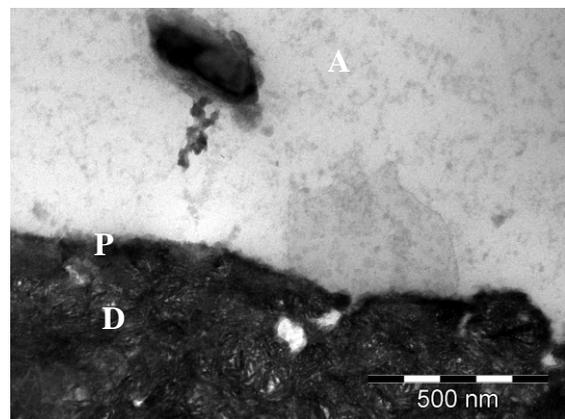


Abb. A25: bukkale 120min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

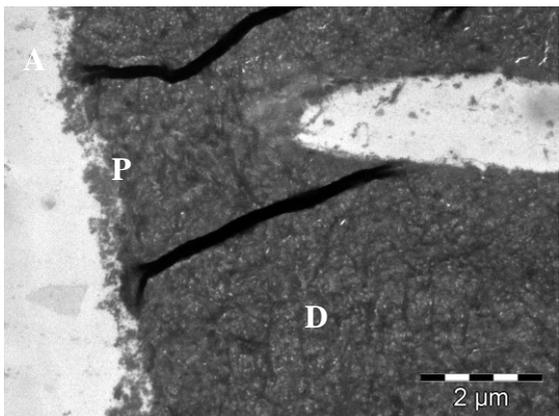


Abb. A26: bukkale 120min-Pellikel (Probandin 2)  
10.000fache Vergrößerung

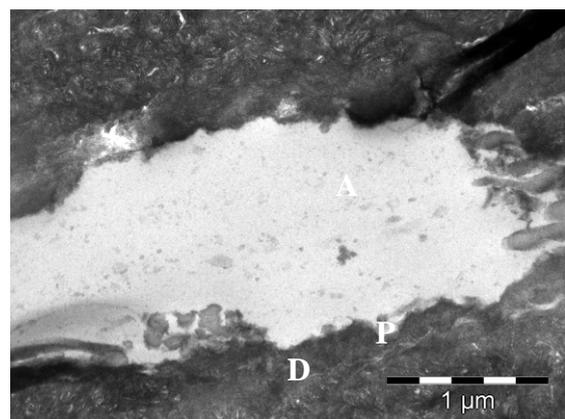


Abb. A27: bukkale 120min-Pellikel (Probandin 2)  
30.000fache Vergrößerung

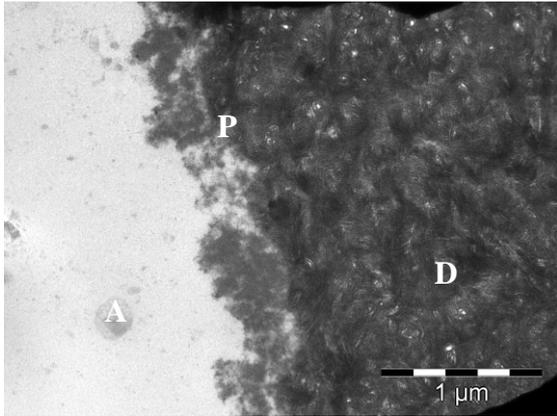


Abb. A28: bukkale 120min-Pellikel (Probandin 2)  
30.000fache Vergrößerung

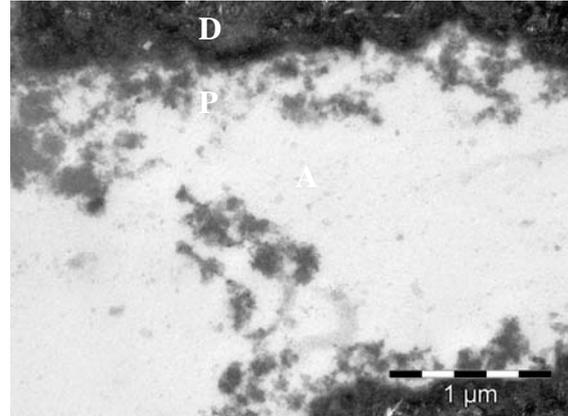


Abb. A29: bukkale 120min-Pellikel (Probandin 2)  
30.000fache Vergrößerung

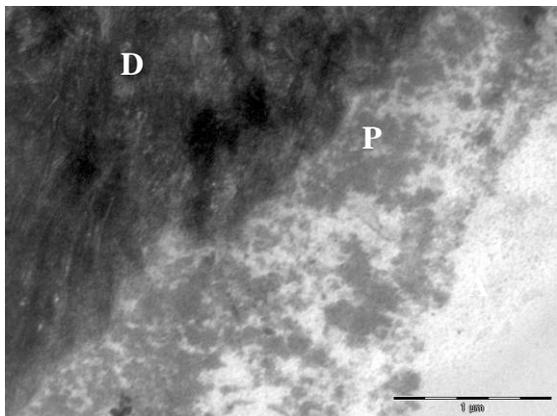


Abb. A30: Bukkale 120 min Pellikel (Probandin 3)  
10.000fache Vergrößerung

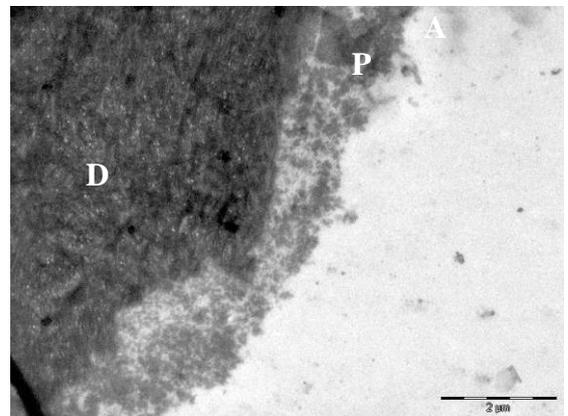


Abb. A31: Bukkale 120 min Pellikel (Probandin 3)  
30.000fache Vergrößerung

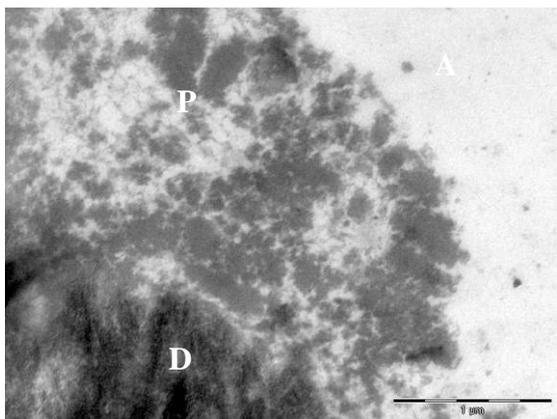


Abb. A32: bukkale 120min-Pellikel (Probandin 3)  
30.000fache Vergrößerung

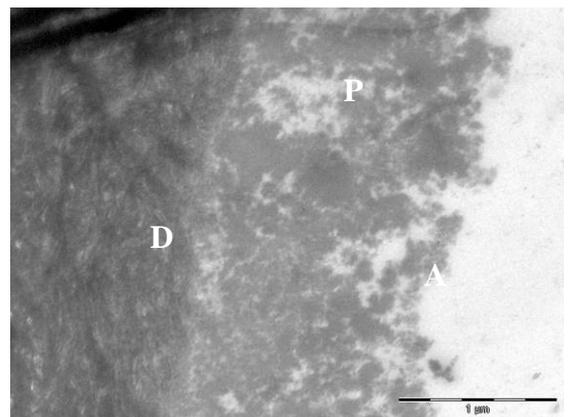


Abb. A33: bukkale 120min-Pellikel (Probandin 3)  
30.000fache Vergrößerung

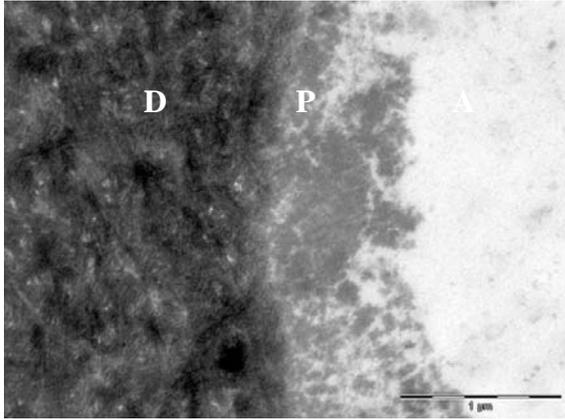


Abb. A34: bukkale 120min-Pellikel (Probandin 3)  
30.000fache Vergrößerung

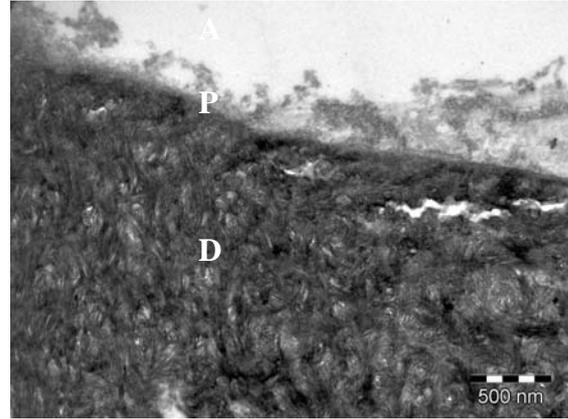


Abb. A35: bukkale 120min-Pellikel (Probandin 3)  
30.000fache Vergrößerung

**Bukkale 360 min Pellikel**

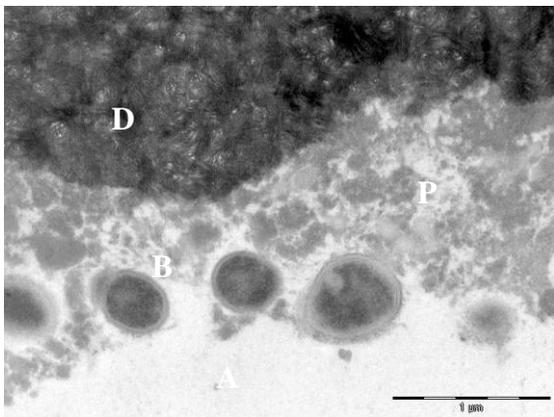


Abb. A36: bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

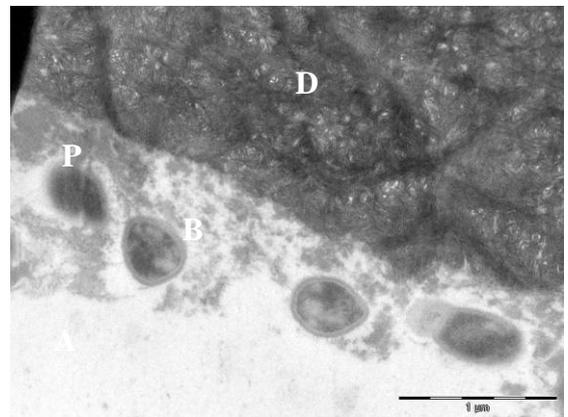


Abb. A37: bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

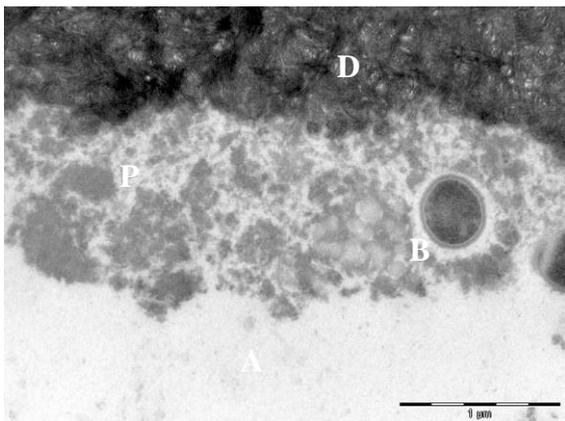


Abb. A38: bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

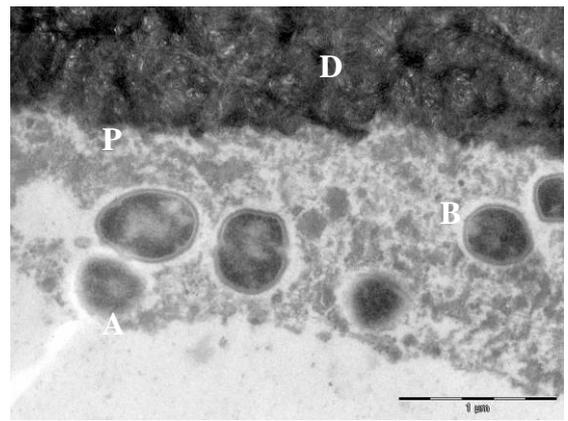


Abb. A39: bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

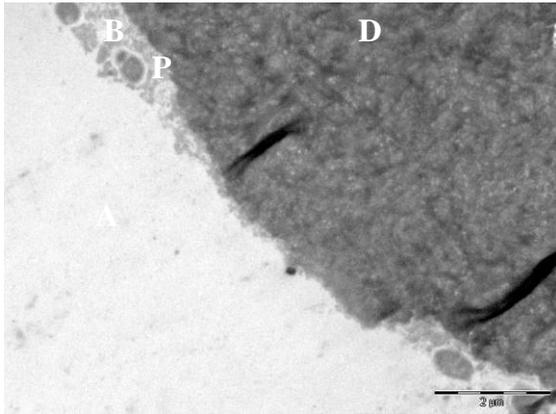


Abb. A40: bukkale 360min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

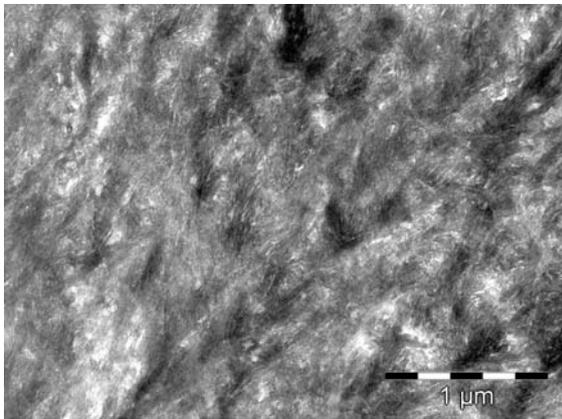


Abb. A41: bukkale 360min-Pellikel (Proband 2)  
100.000fache Vergrößerung

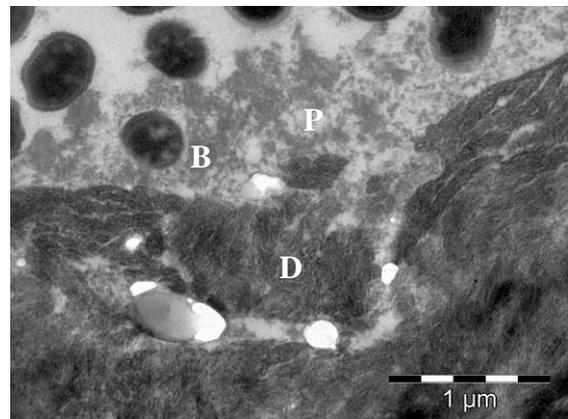


Abb. A42: bukkale 360min-Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

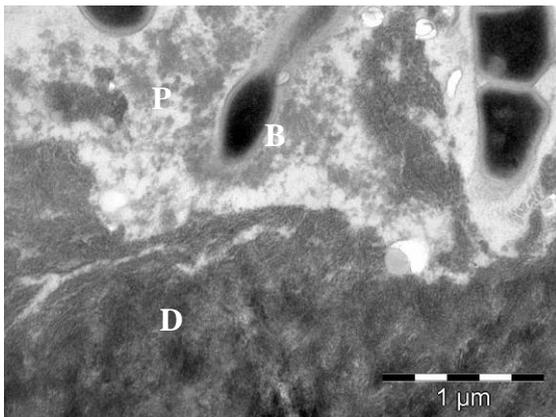


Abb. A43: bukkale 360min-Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

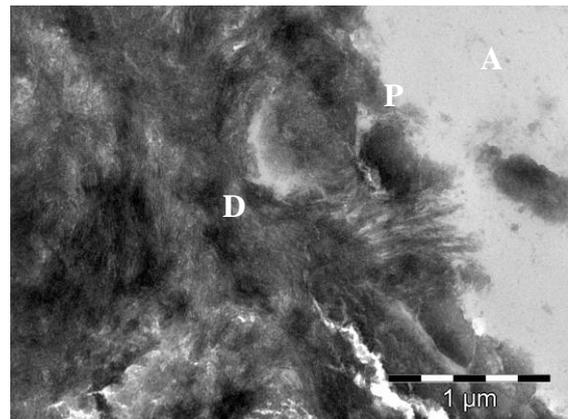


Abb. A44: bukkale 360min-Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

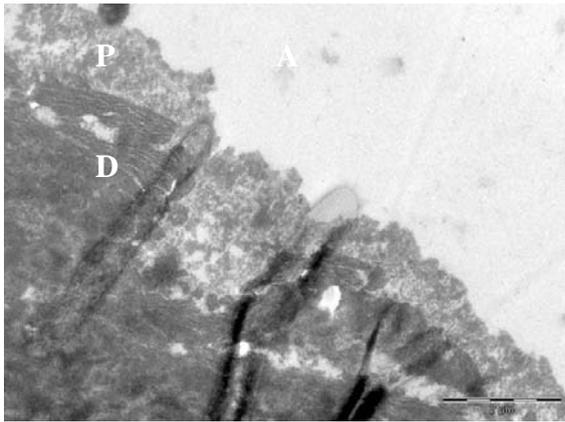


Abb. A45: bukkale 360min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

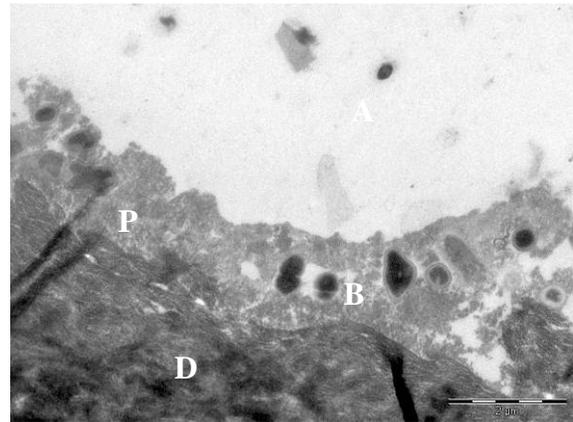


Abb. A46: bukkale 360min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

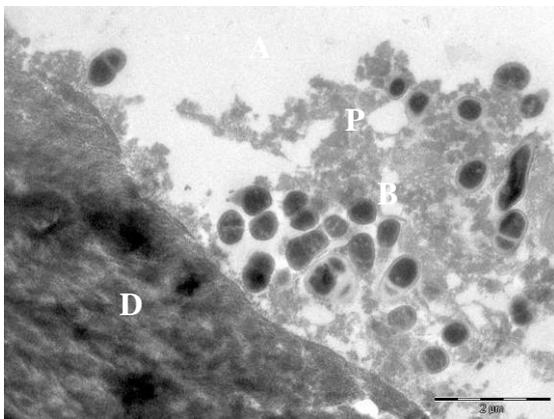


Abb. A47: bukkale 360min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

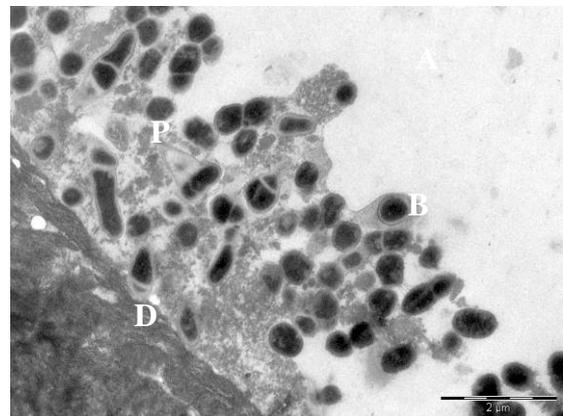


Abb. A48: bukkale 360min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

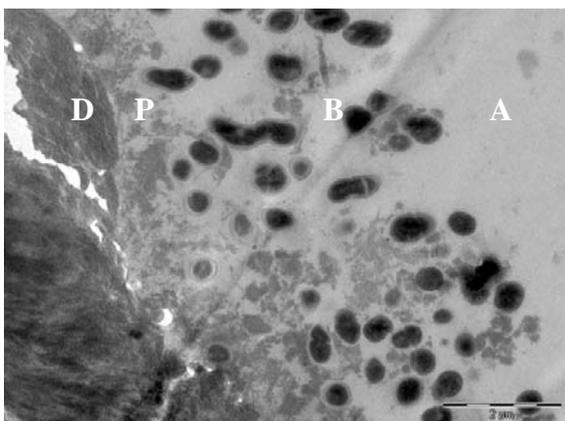


Abb. A49: bukkale 360min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

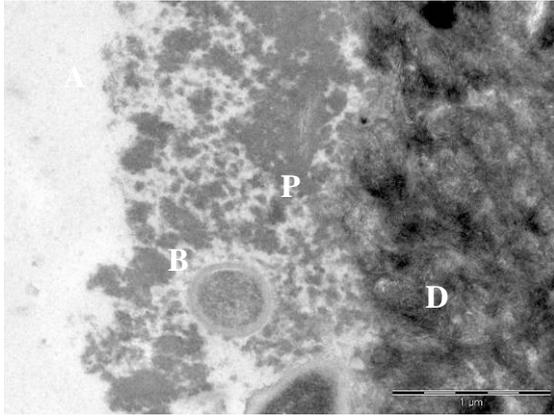


Abb. A50: bukkale 360min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

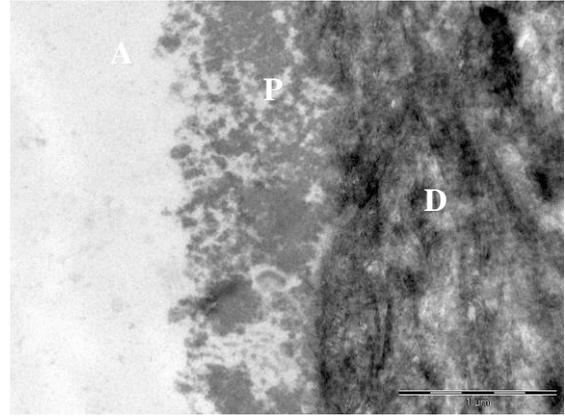


Abb. A51: bukkale 360min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

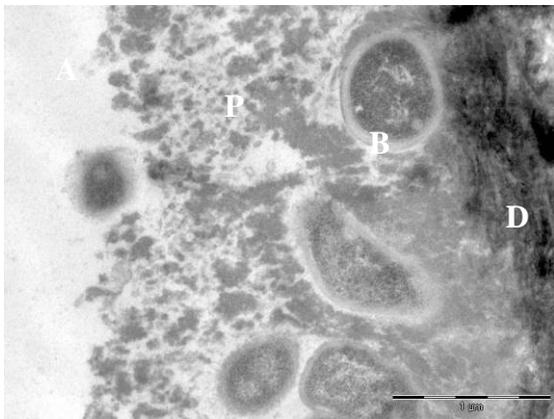


Abb. A52: bukkale 360min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

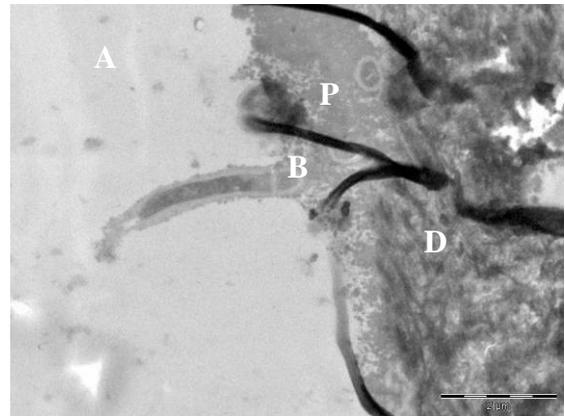


Abb. A53: bukkale 360min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

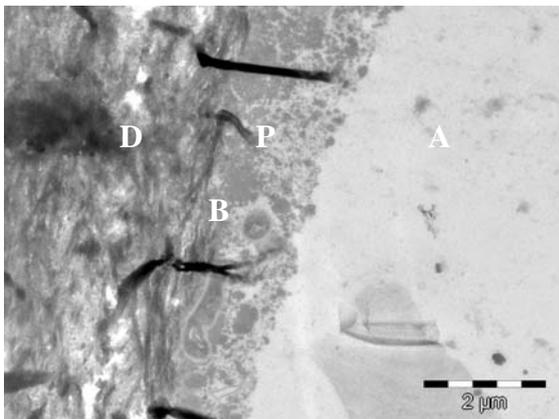


Abb. A54: bukkale 360min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

### Palatinale 3 min Pellikel

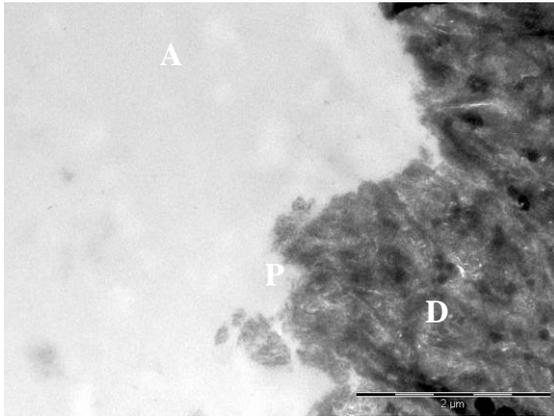


Abb. A55: palatinale 3min-Pellikel (Proband 1)  
20.000fache Vergrößerung

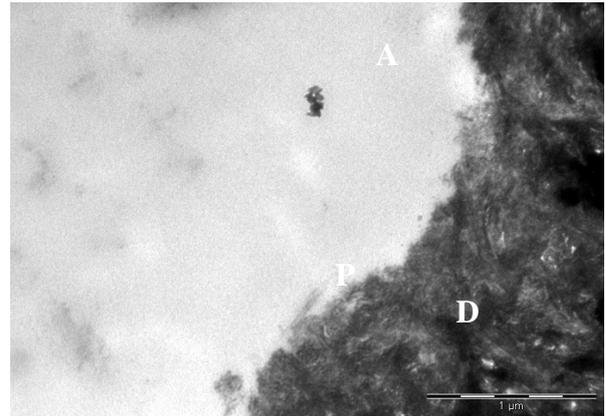


Abb. A56: palatinale 3min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

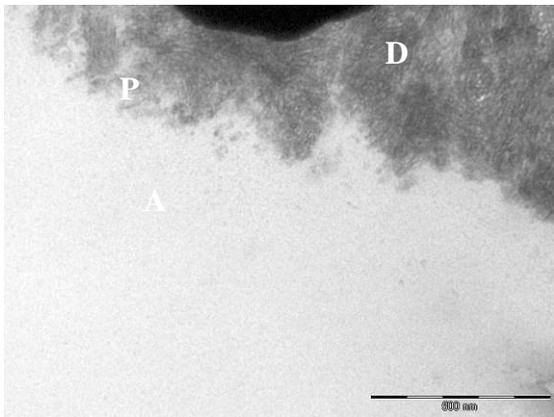


Abb. A57: palatinale 3min-Pellikel (Proband 1)  
70.000fache Vergrößerung

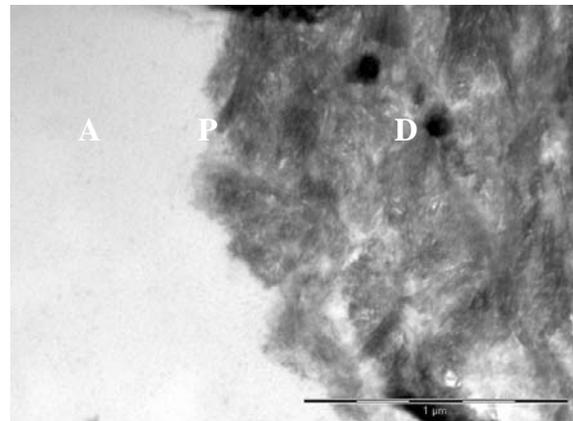


Abb. A58: palatinale 3min-Pellikel (Proband 1)  
50.000fache Vergrößerung

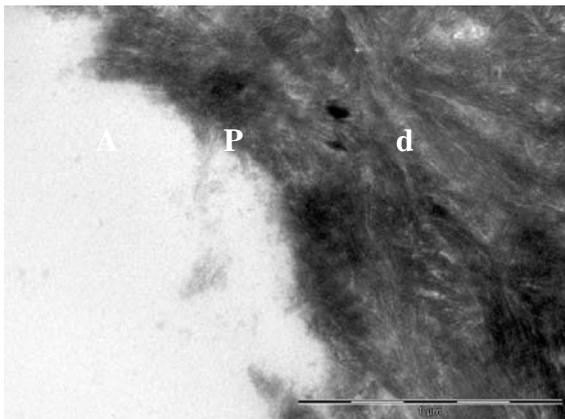


Abb. A59: palatinale 3min-Pellikel (Proband 1)  
50.000fache Vergrößerung

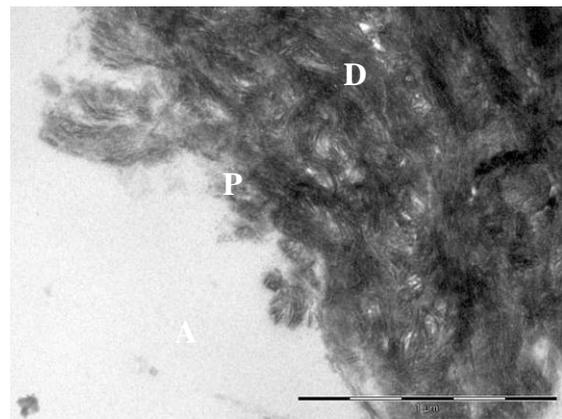


Abb. A60: palatinale 3min-Pellikel (Proband 1)  
50.000fache Vergrößerung

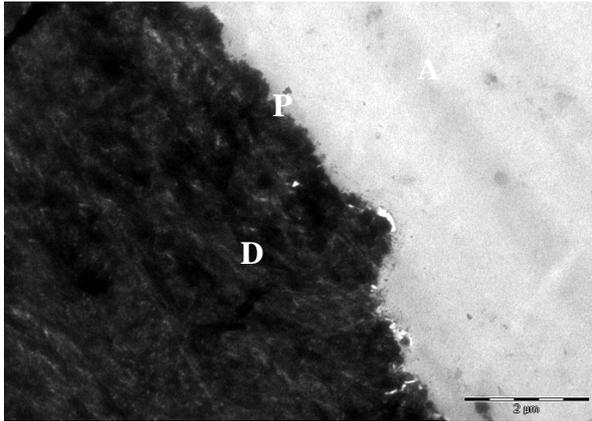


Abb. A61: palatine 3min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

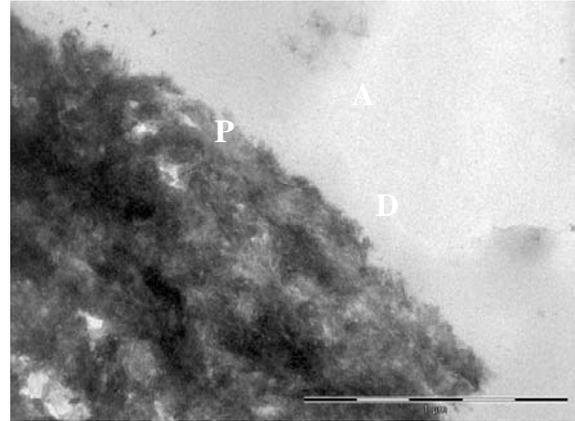


Abb. A62: palatine 3min Pellicel (Proband 2)  
50.000fache Vergrößerung

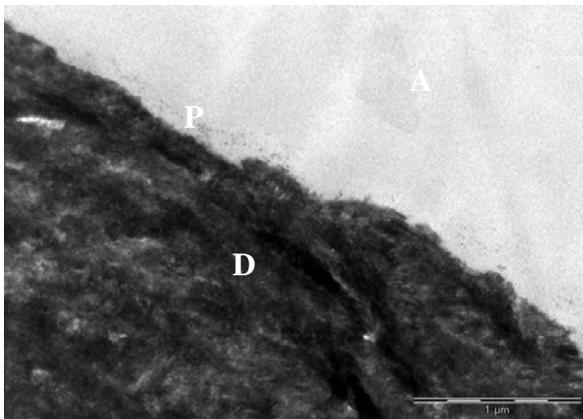


Abb. A63: palatine 3min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

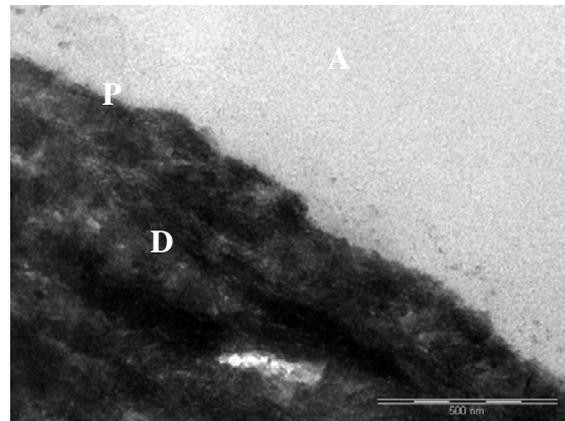


Abb. A64: palatine 3min-Pellicel (Proband 2)  
50.000fache Vergrößerung

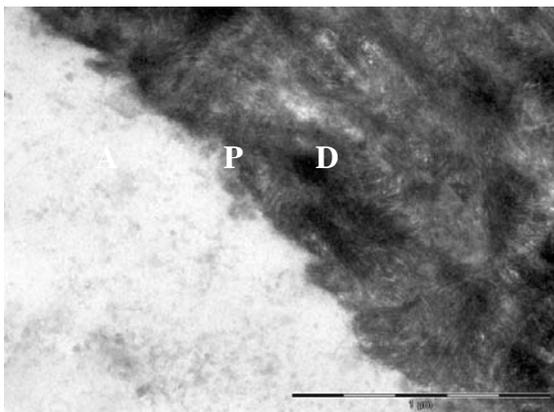


Abb. A65: palatine 3min Pellicel (Proband 2)  
20.000fache Vergrößerung

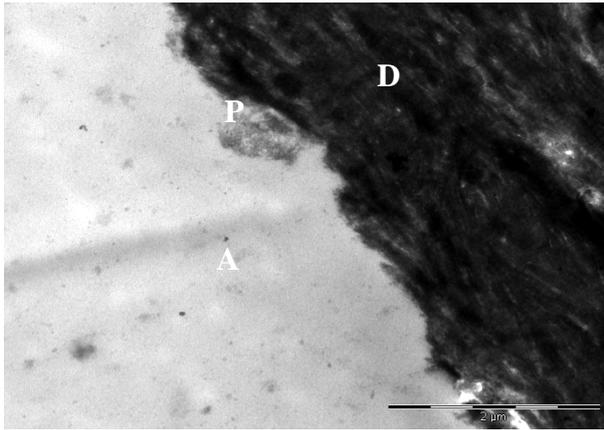


Abb. A66: palatine 3min-Pellicel (Proband 3)  
20.000fache Vergrößerung

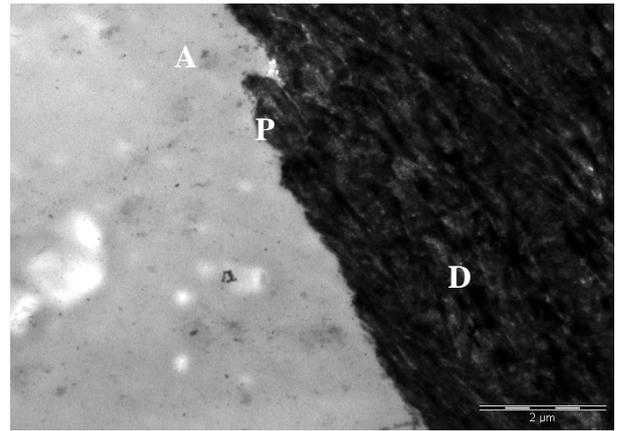


Abb. A67: palatine 3min-Pellicel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

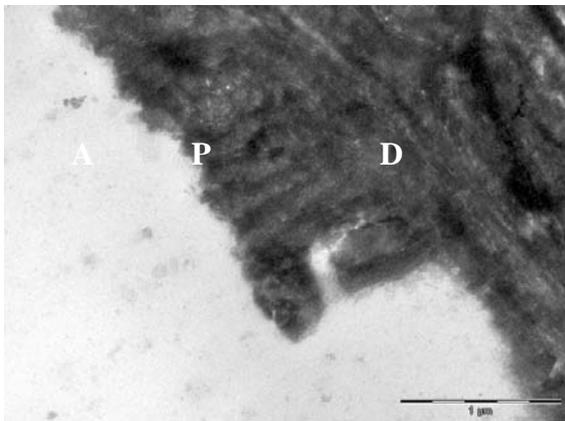


Abb. A68: palatine 3min-Pellicel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

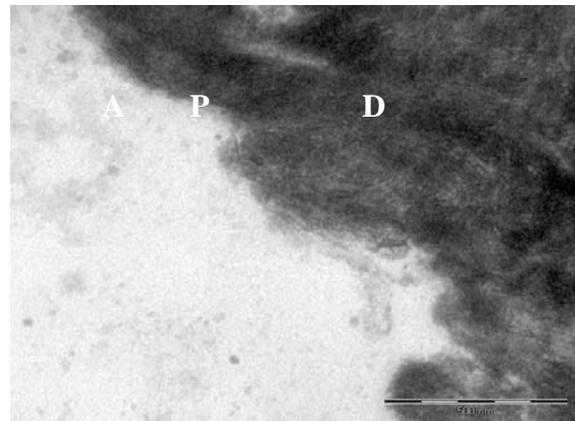


Abb. A69: palatine 3min-Pellicel (Proband 3)  
70.000fache Vergrößerung

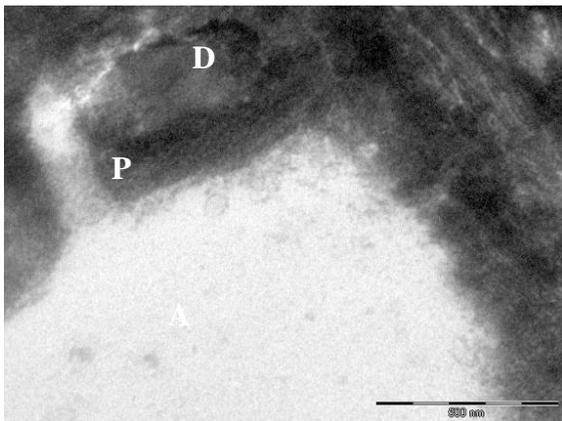


Abb. A70: palatine 3min-Pellicel (Proband 3)  
70.000fache Vergrößerung

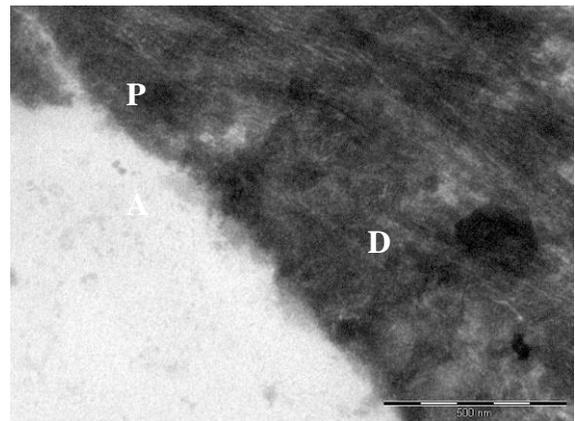


Abb. A71: palatine 3min-Pellicel (Proband 3)  
70.000fache Vergrößerung

**Palatinale 30 min Pellikel**

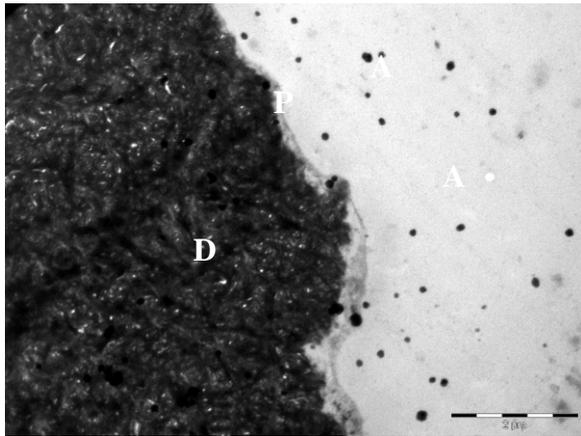


Abb. A72: palatinale 30min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

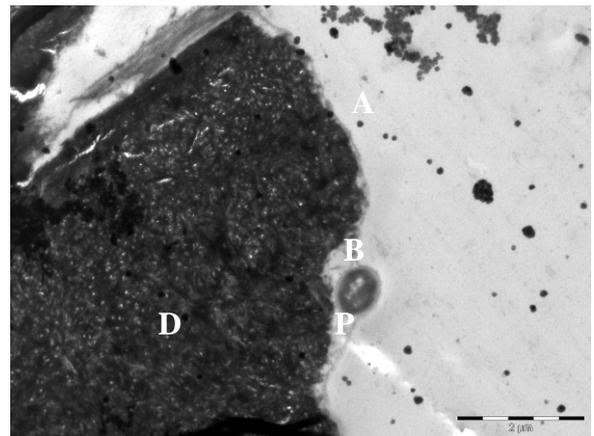


Abb. A73: palatinale 30min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

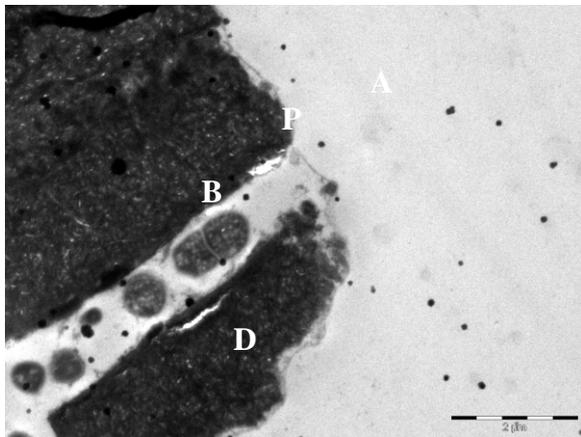


Abb. A74: palatinale 30min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

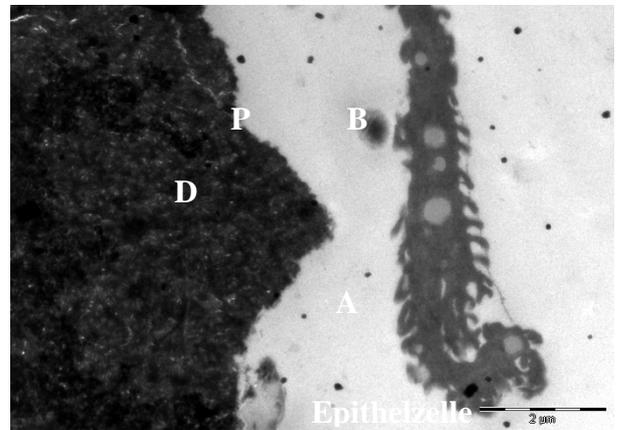


Abb. A75: palatinale 30min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

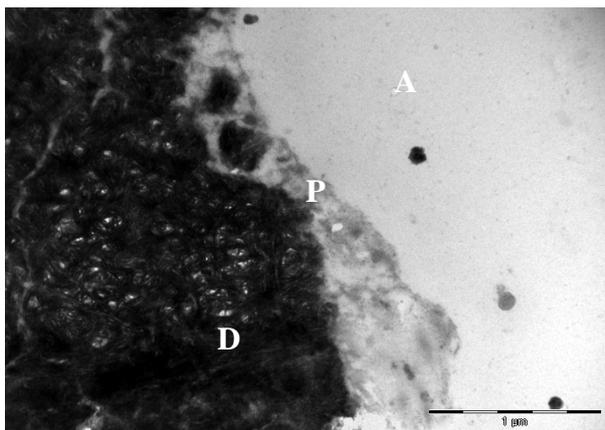


Abb. A76: palatinale 30min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

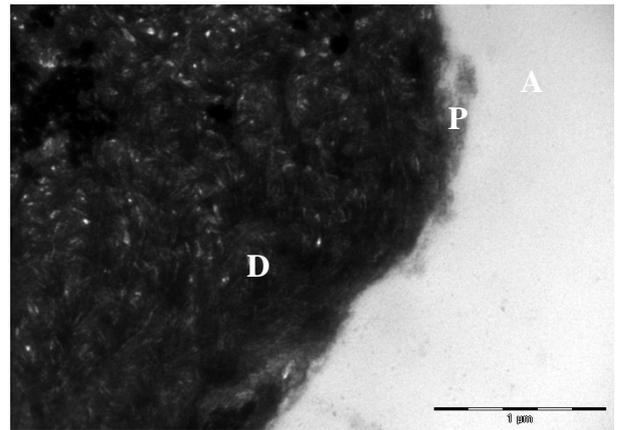


Abb. A77: palatinale 30min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

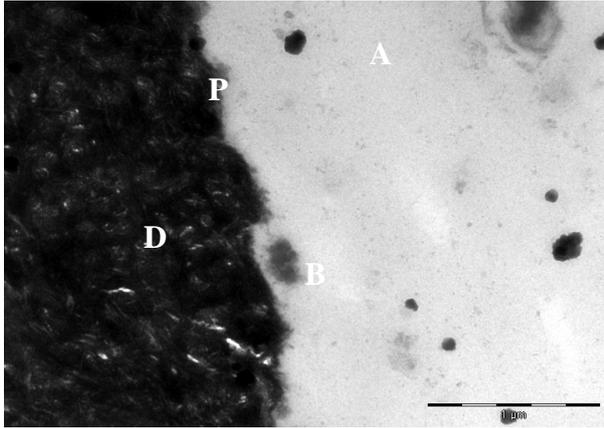


Abb. A78: palatinale 30min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

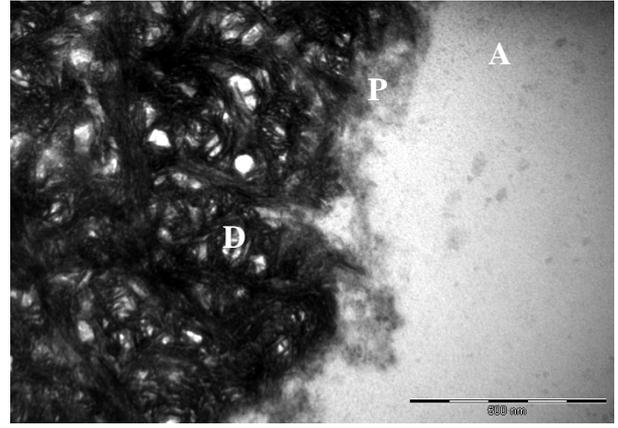


Abb. A79: palatinale 30min-Pellikel (Proband 1)  
70.000fache Vergrößerung

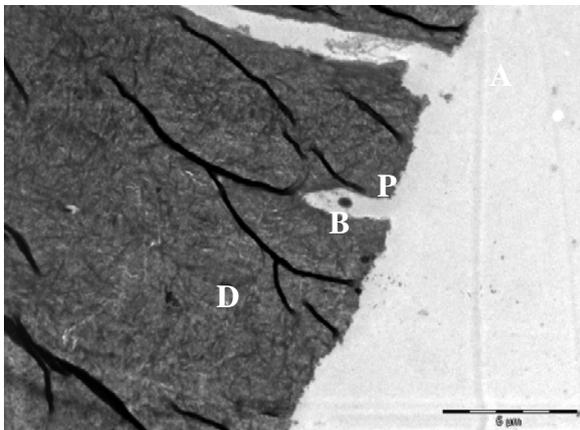


Abb. A80: palatinale 30min-Pellikel (Proband 2)  
5.000fache Vergrößerung

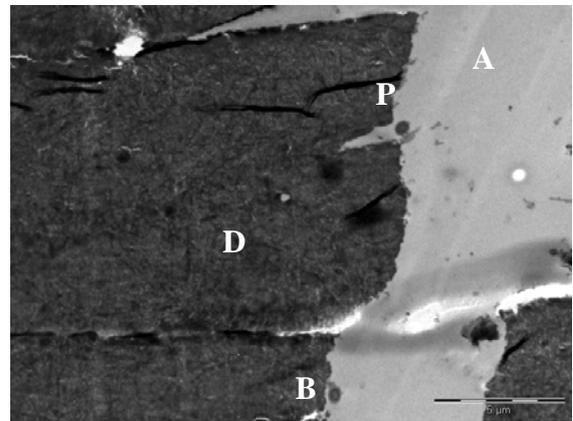


Abb. A81: palatinale 30min-Pellikel (Proband 2)  
5.000fache Vergrößerung

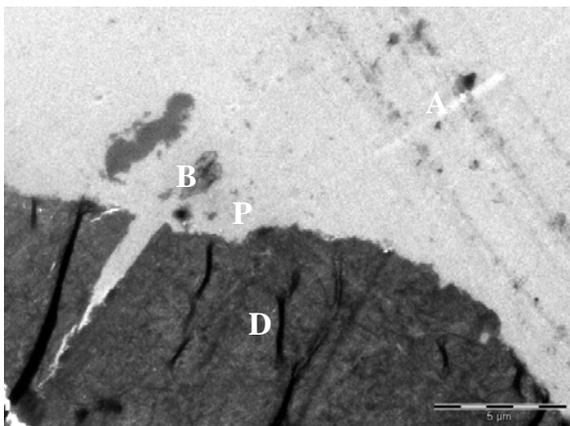


Abb. A82: palatinale 30min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

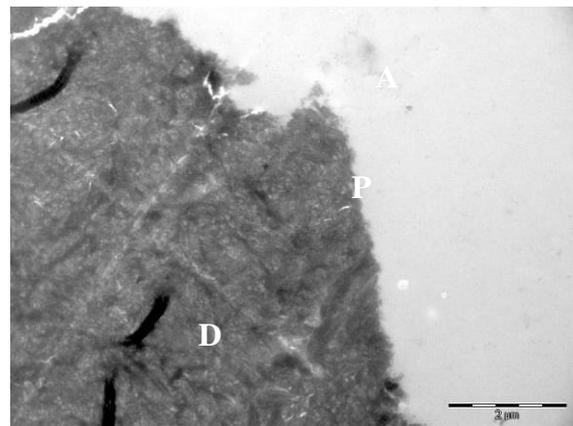


Abb. A83: palatinale 30min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

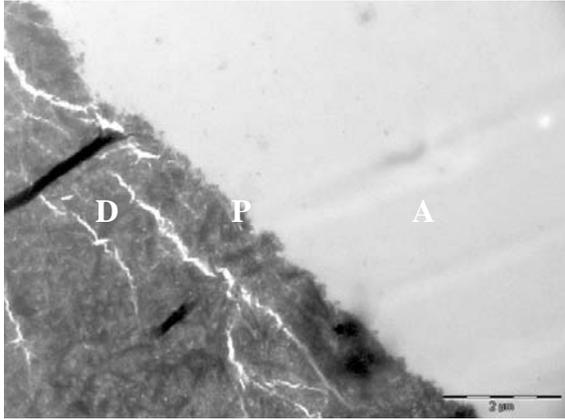


Abb. A84: palatine 30min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

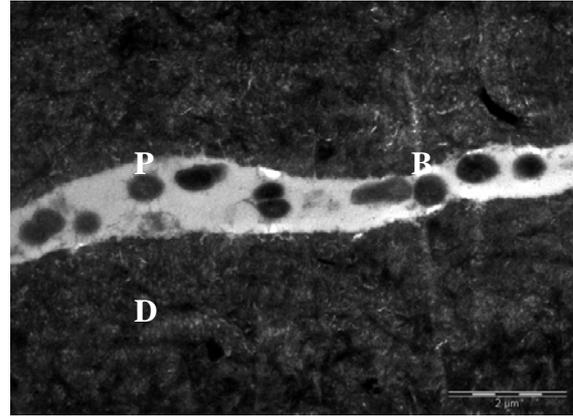


Abb. A85: palatine 30min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

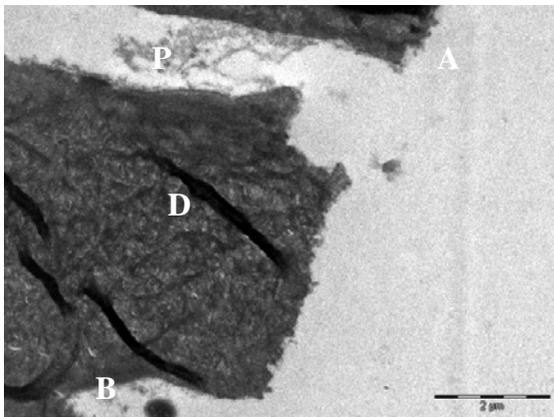


Abb. A86: palatine 30min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

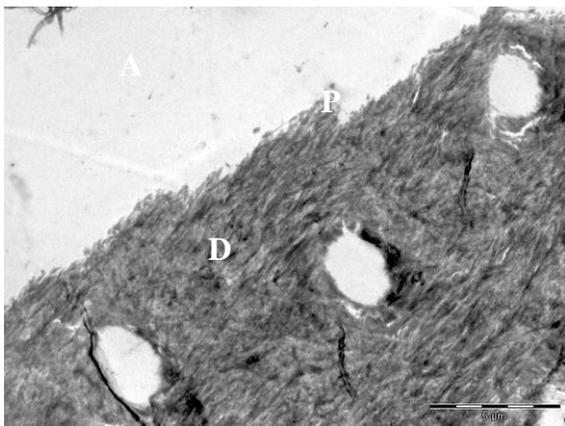


Abb. A87: palatine 30 min Pellikel (Proband 3)  
5.000fache Vergrößerung

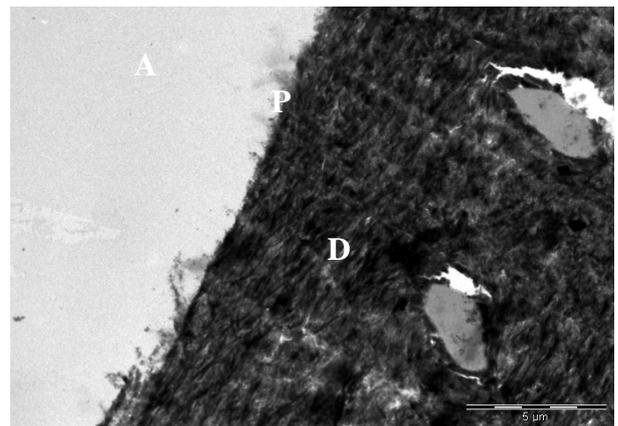


Abb. A88: palatine 30min-Pellikel (Proband 3)  
5.000fache Vergrößerung

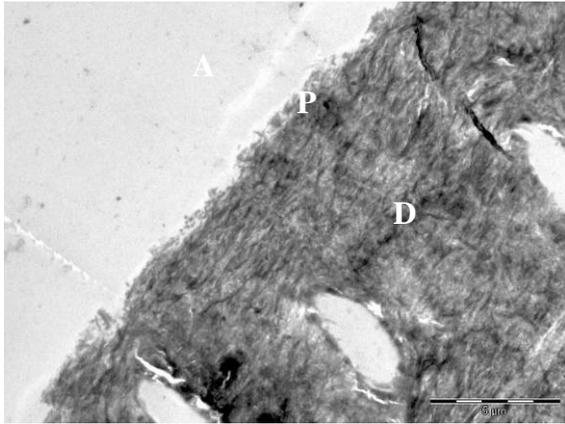


Abb. A89: palatine 30min-Pellicel (Proband 3)  
5.000fache Vergrößerung

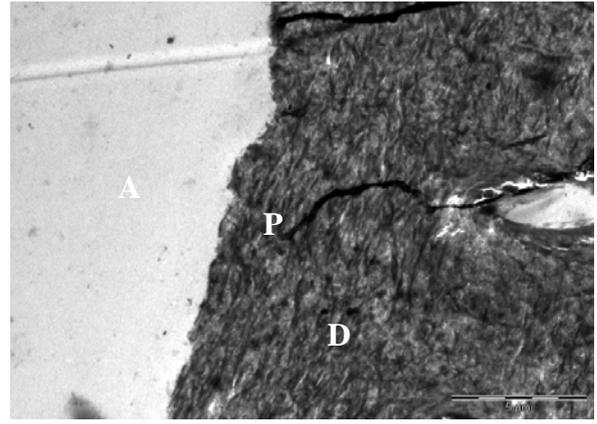


Abb. A90: palatine 30min-Pellicel (Proband 3)  
5.000fache Vergrößerung

**Palatine 120 min Pellicel**

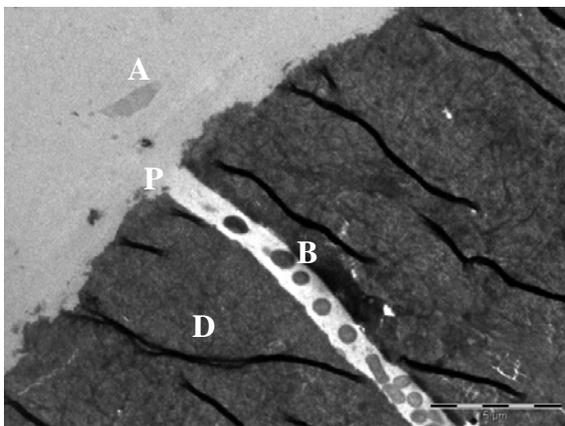


Abb. A91: palatine 120min-Pellicel (Proband 1)  
5.000fache Vergrößerung

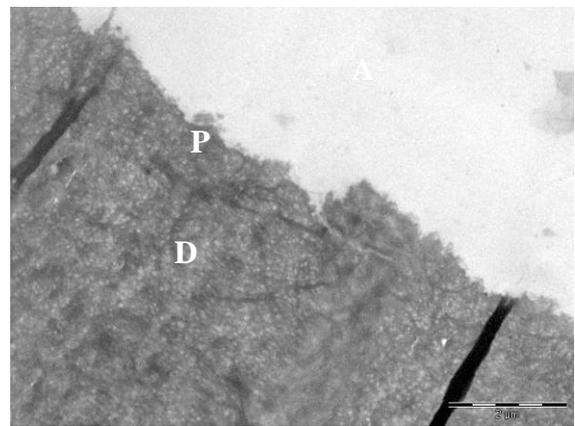


Abb. A92: palatine 120min-Pellicel (Proband 1)  
10.000fach Vergrößerung

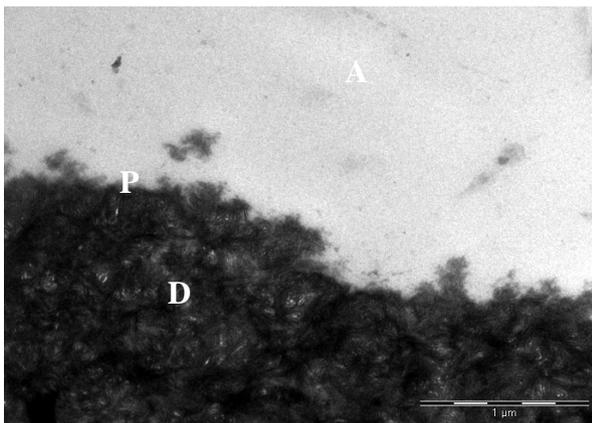


Abb. A93: palatine 120min-Pellicel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

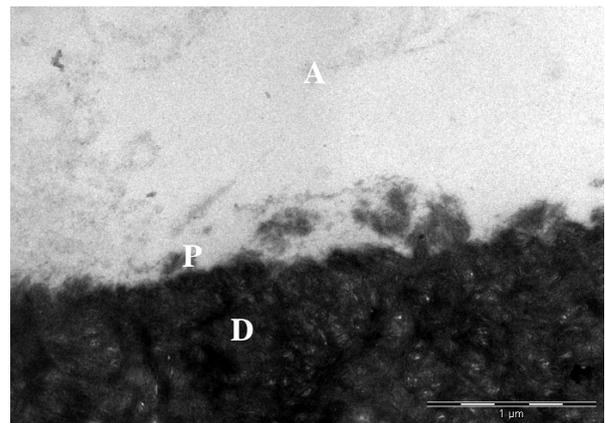


Abb. A94: palatine 120min-Pellicel (Proband 1)  
30.000fach Vergrößerung

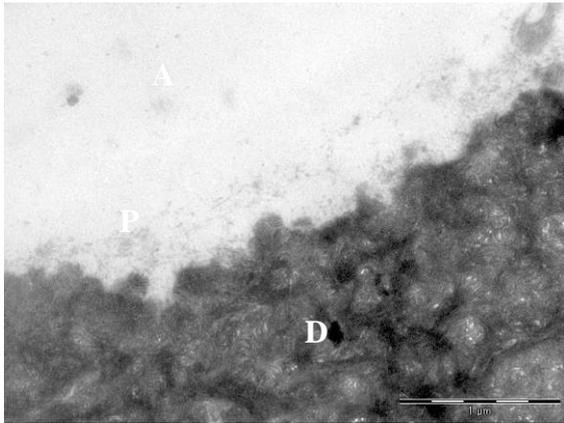


Abb. A95: palatine 120min-Pellicel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

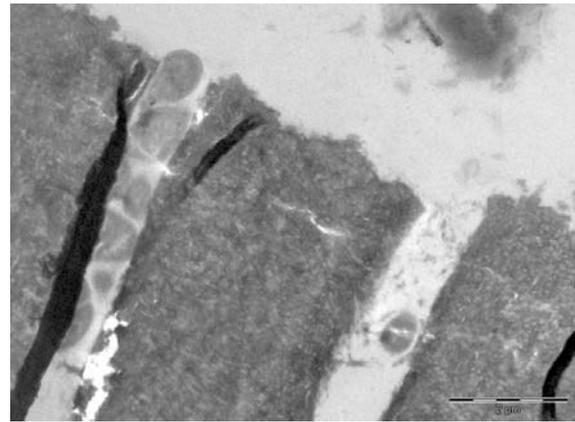


Abb. A96: palatine 120min-Pellicel (Proband 1)  
10.000fach Vergrößerung

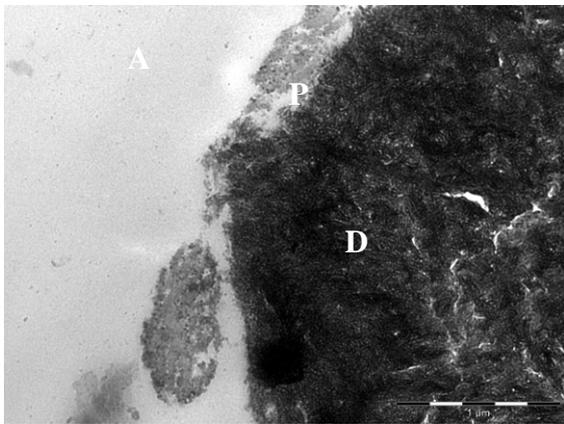


Abb. A97: palatine 120min-Pellicel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

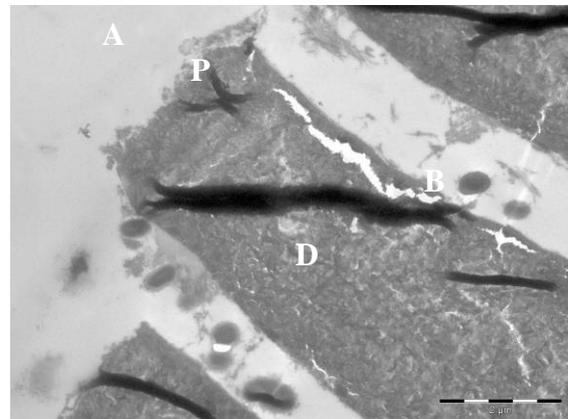


Abb. A98: palatine 120min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fach Vergrößerung

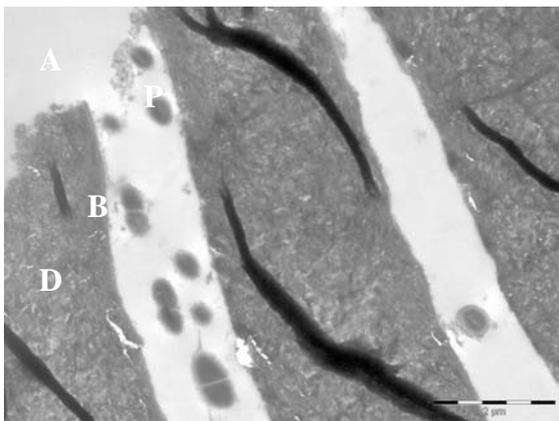


Abb. A99: palatine 120min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

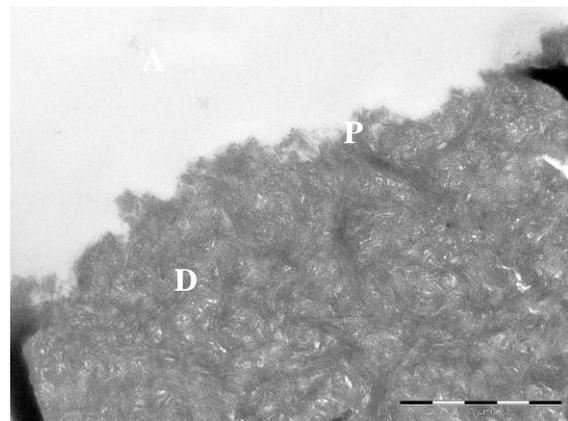


Abb. A100: palatine 120min-Pellicel (Proband 2)  
10.000fach Vergrößerung

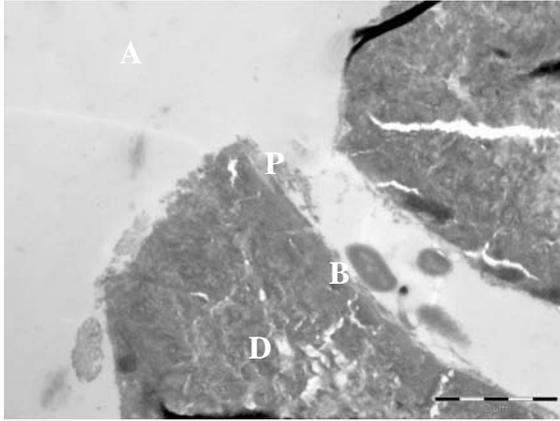


Abb. A101: palatine 120min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

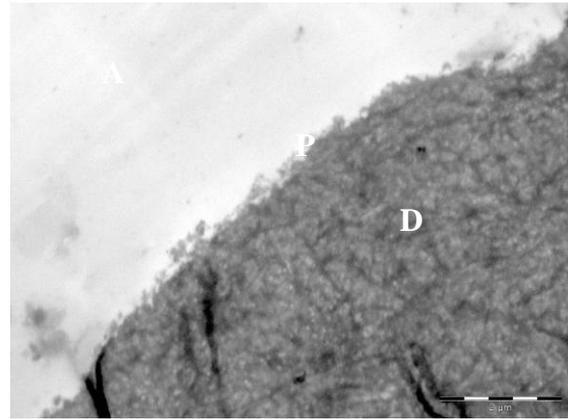


Abb. A102: palatine 120min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fach Vergrößerung

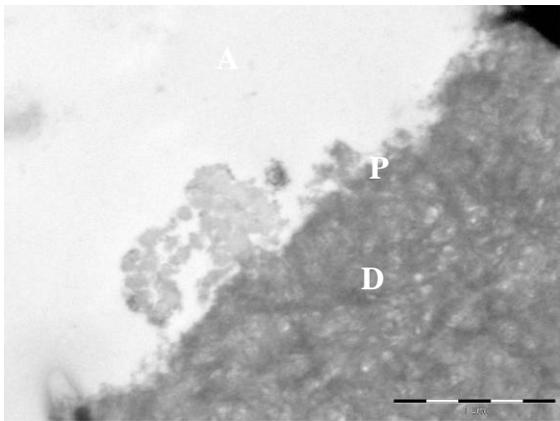


Abb. A103: palatine 120 min Pellikel (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

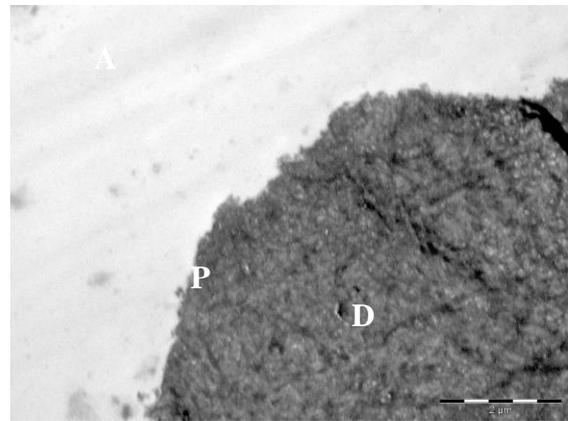


Abb. A104: palatine 120min-Pellikel (Proband 2)  
10.000fach Vergrößerung

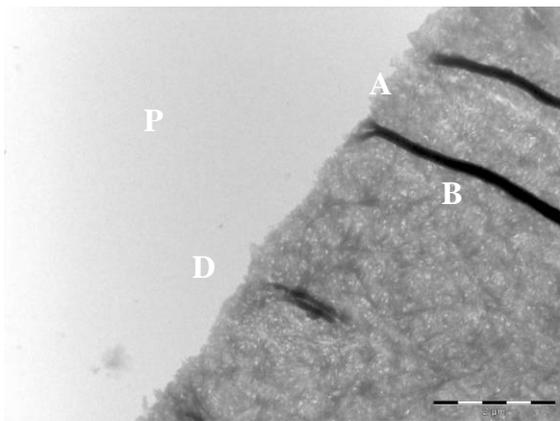


Abb. A105: palatine 120min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

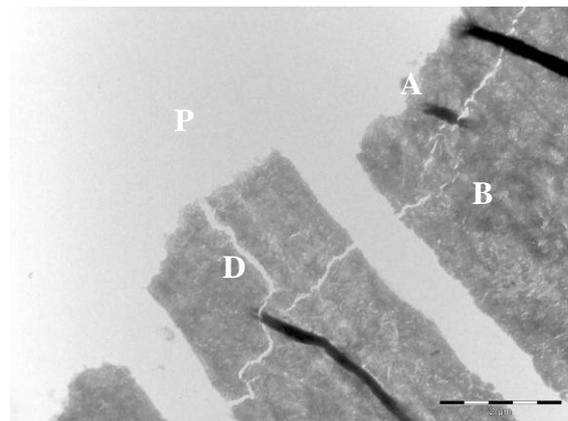


Abb. A106: palatine 120min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fach Vergrößerung

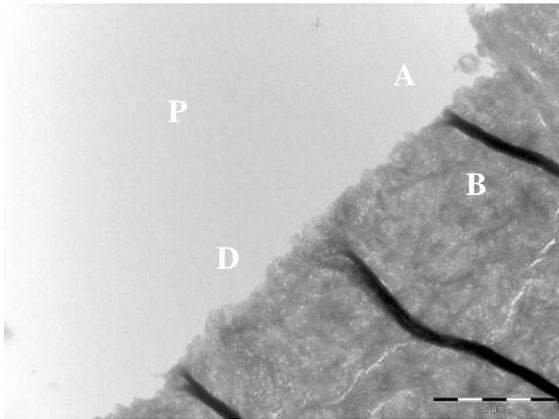


Abb. A107: palatinale 120min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

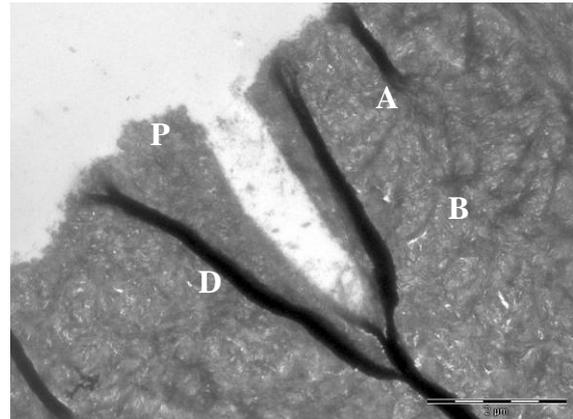


Abb. A108: palatinale 120min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fach Vergrößerung

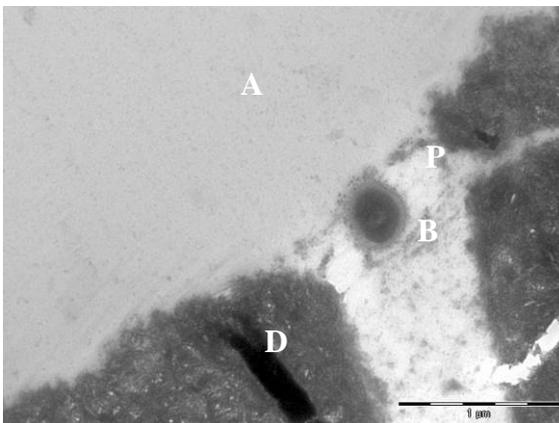


Abb. A109: palatinale 120min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

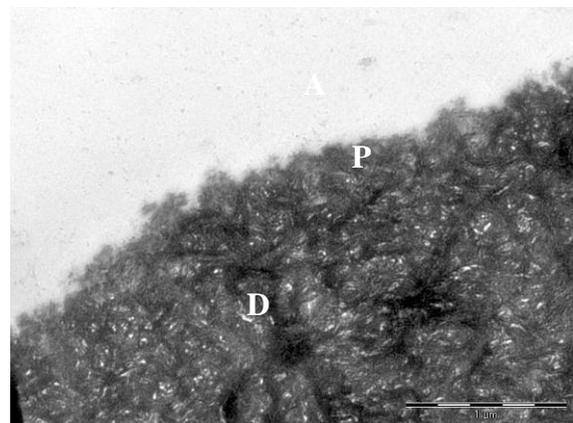


Abb. A110: palatinale 120min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fach Vergrößerung

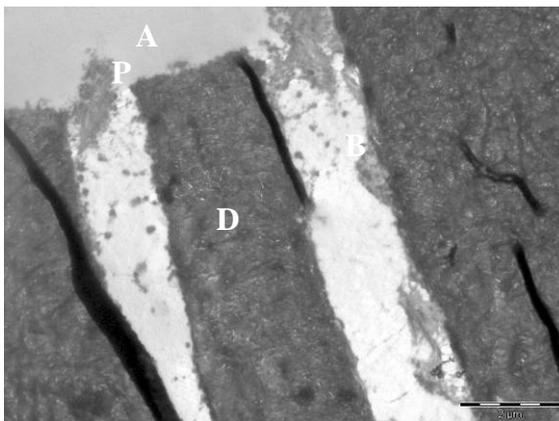


Abb. A111: palatinale 120min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

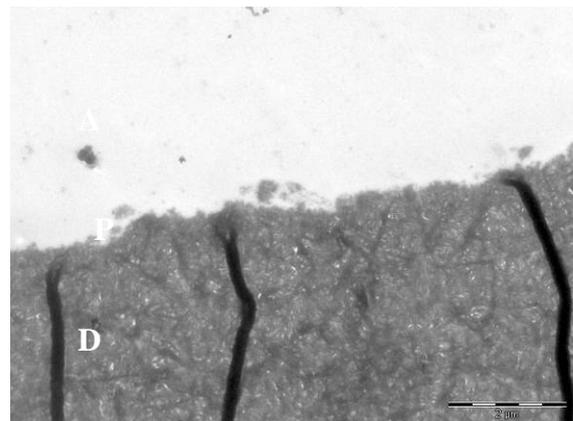


Abb. A112: palatinale 120min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fach Vergrößerung

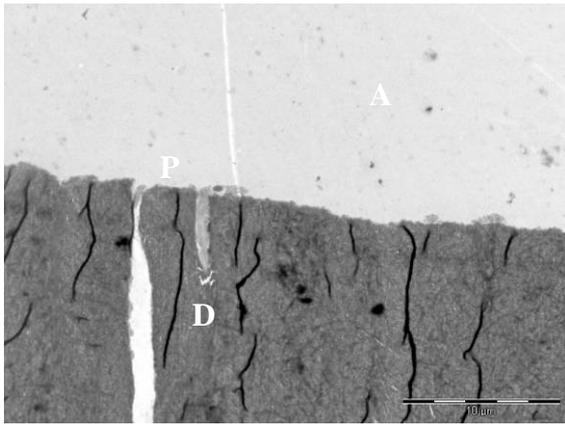


Abb. A113: palatinale 120min-Pellikel (Proband 3)  
3.000fache Vergrößerung

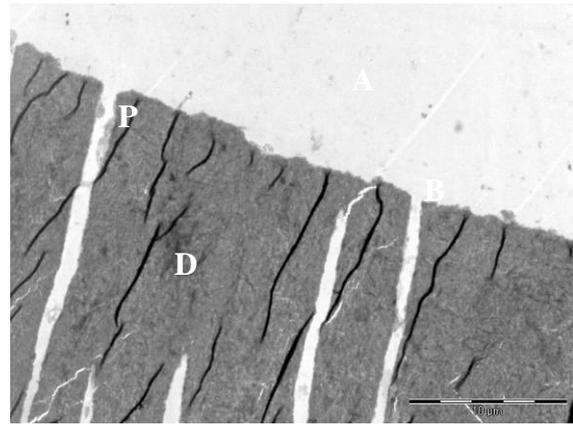
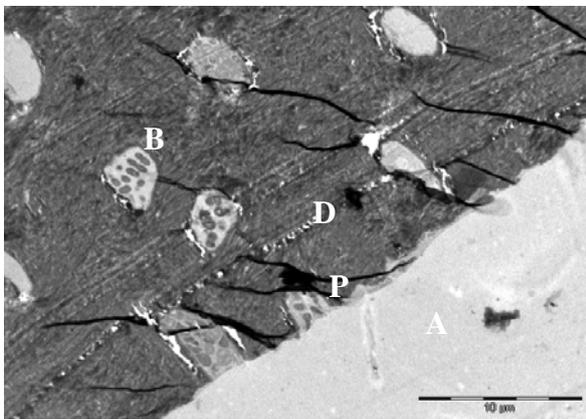


Abb. A114: palatinale 120min-Pellikel (Proband 3)  
3.000fach Vergrößerung

**Palatinale 360 min Pellikel**



H: palatinale 360min-Pellikel (Proband 1)  
3.000fache Vergrößerung

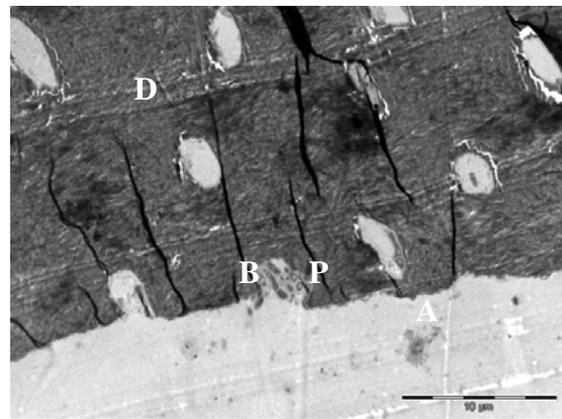


Abb. A116: palatinale 360min-Pellikel (Proband 1)  
3.000fache Vergrößerung

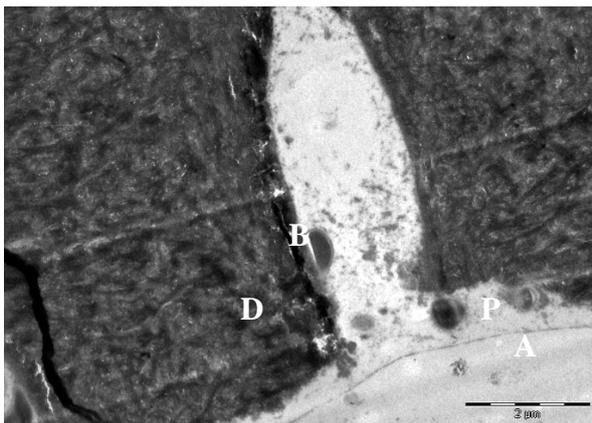


Abb. A117: palatinale 360min-Pellikel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

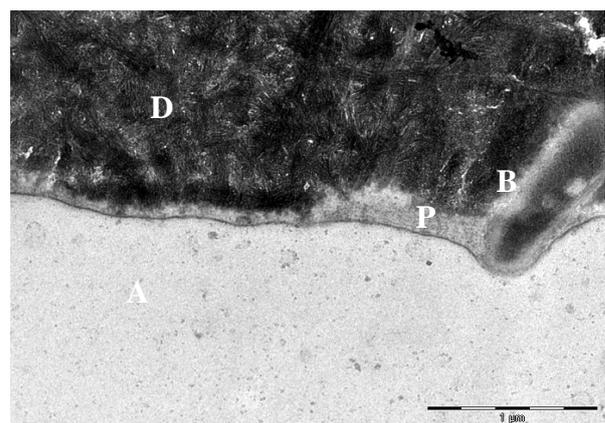


Abb. A118: palatinale 360min-Pellikel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

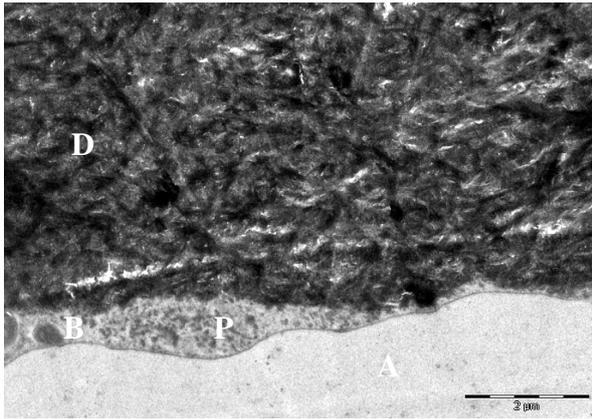


Abb. A119: palatinale 360min-Pellicel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

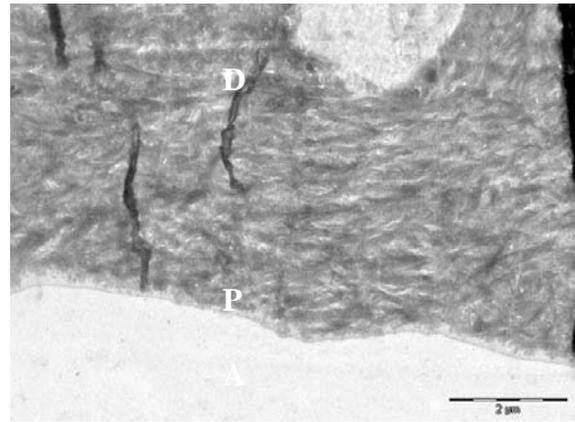


Abb. A120: palatinale 360min-Pellicel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

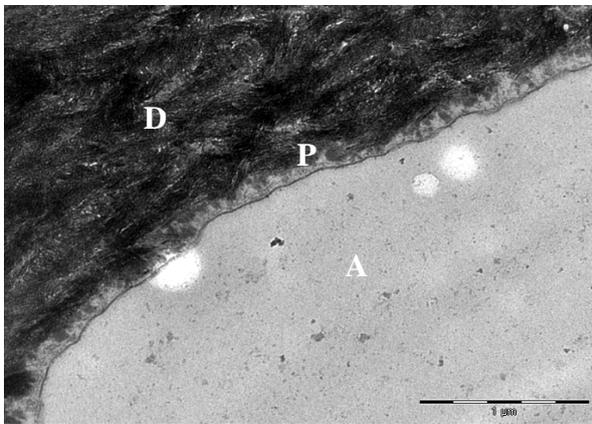


Abb. A121: palatinale 360min-Pellicel (Proband 1)  
30.000fache Vergrößerung

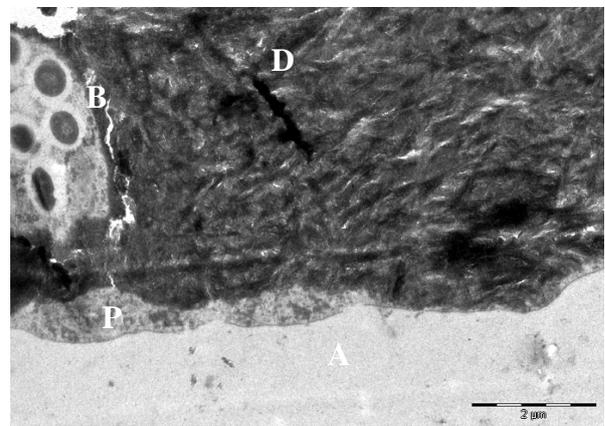


Abb. A122: palatinale 360min-Pellicel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

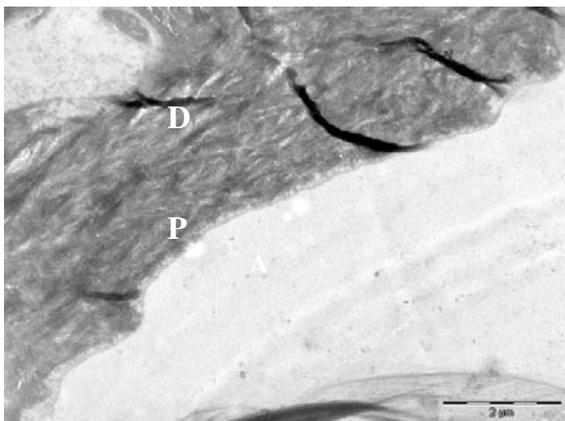


Abb. A123: palatinale 360min-Pellicel (Proband 1)  
10.000fache Vergrößerung

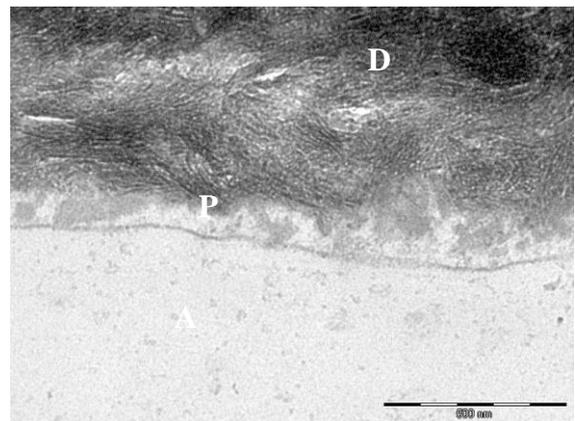


Abb. A124: palatinale 360min-Pellicel (Proband 1)  
70.000fache Vergrößerung

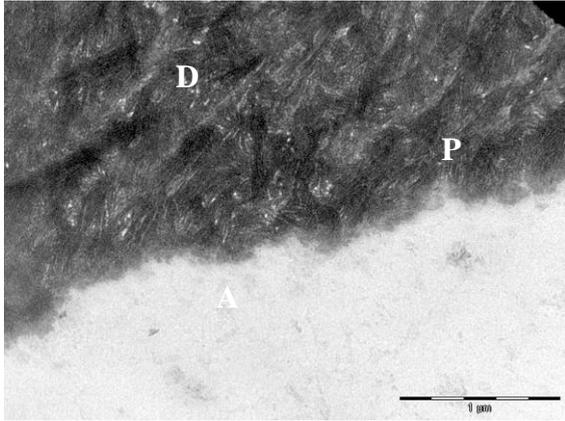


Abb. A125: palatinale 360min-PHellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

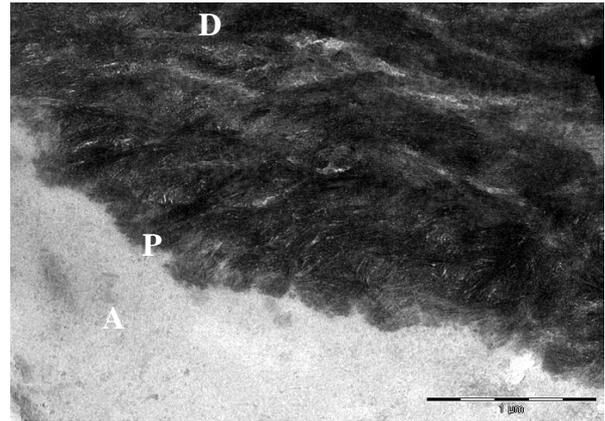


Abb. A126: palatinale 360min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

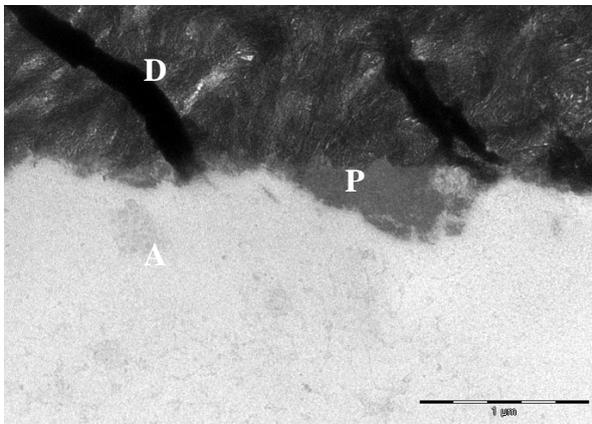


Abb. A127: palatinale 360min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

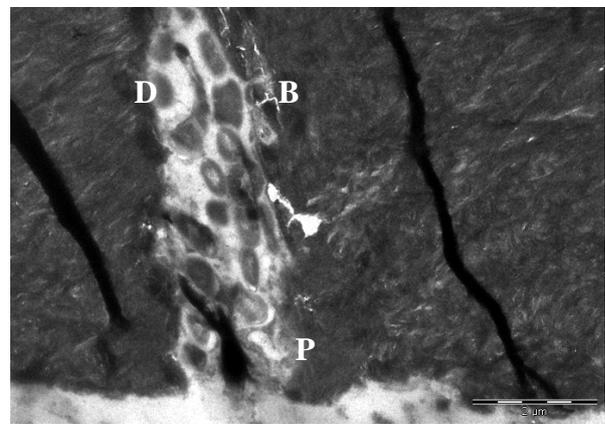


Abb. A128: palatinale 360min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

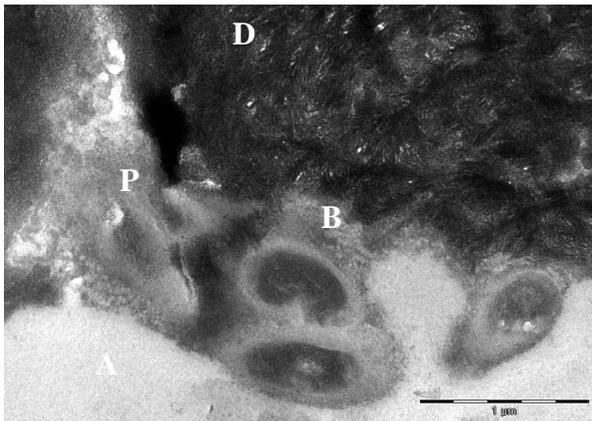


Abb. A129: palatinale 360min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

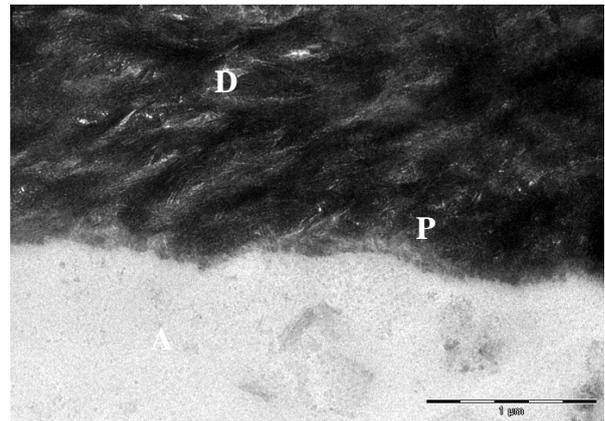


Abb. A130: palatinale 360min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

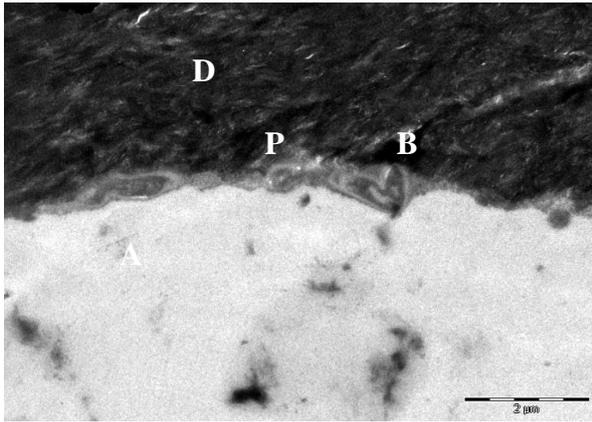


Abb. A131: palatinale 360min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

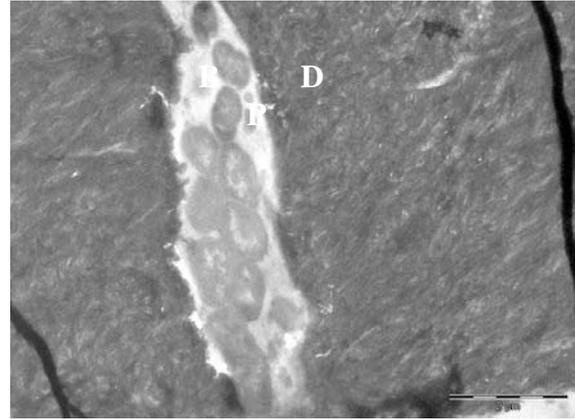


Abb. A132: palatinale 360min-Pellikel (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

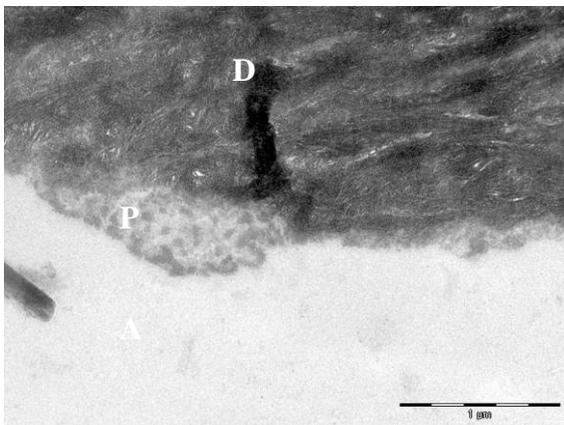


Abb. A133: palatinale 360min-Pellikel (Proband 3)  
30.000fache Vergrößerung

**Versuche mit Zitronensäureexposition**

**Versuchsreihe A: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült**

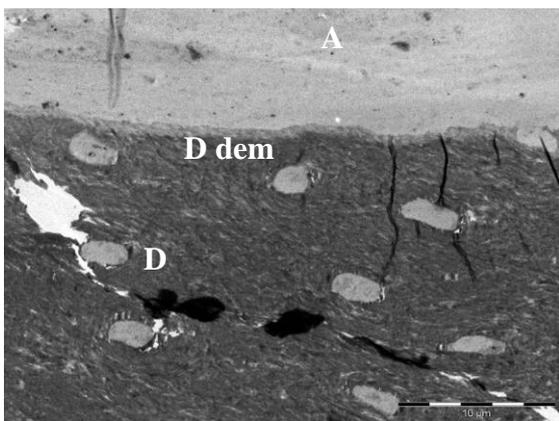


Abb. A134: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit  
0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
3.000fache Vergrößerung

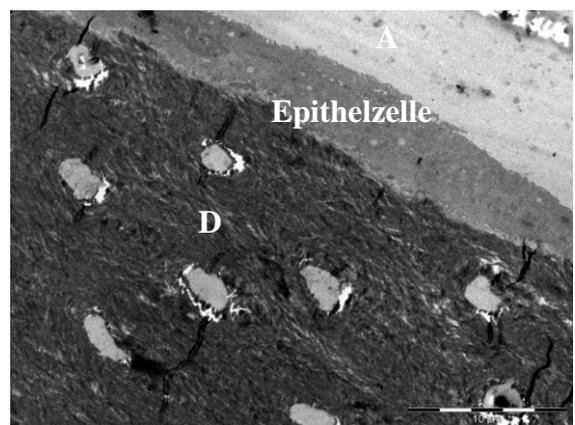


Abb. A135: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit  
0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
3.000fache Vergrößerung

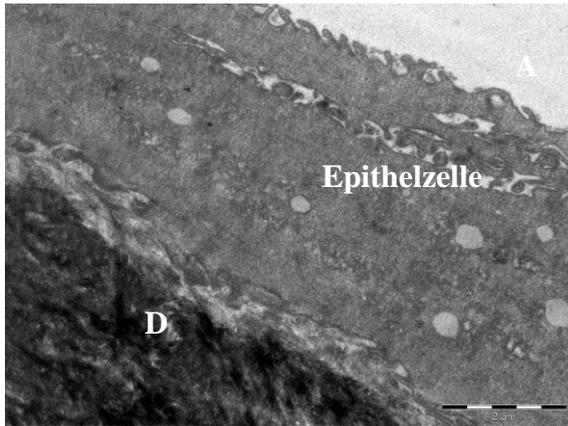


Abb. A136: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

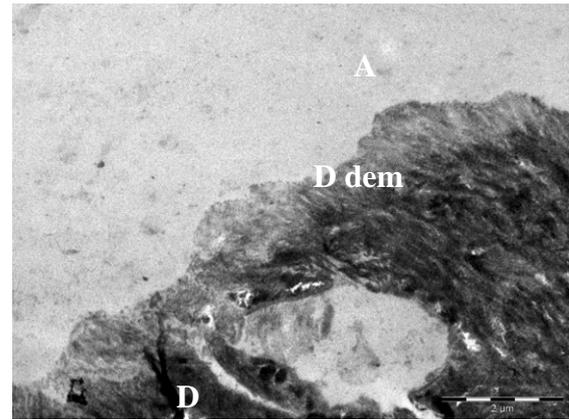


Abb. A137: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

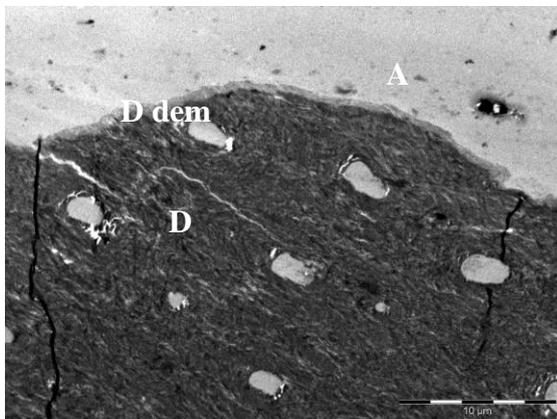


Abb. A138: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

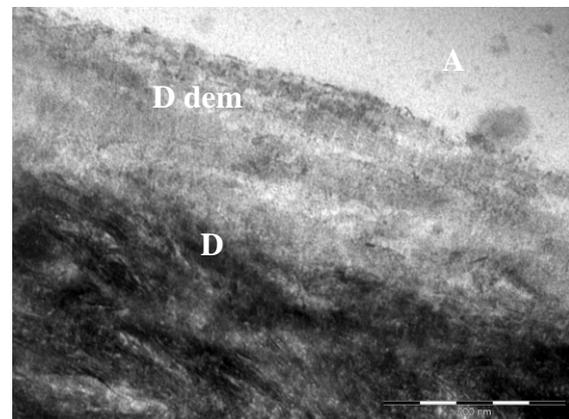


Abb. A139: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 70.000fache Vergrößerung

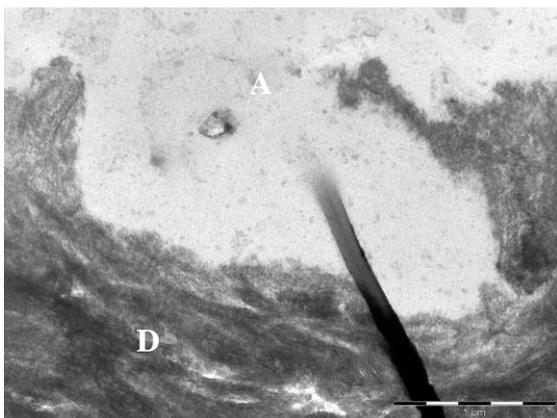


Abb. A140: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

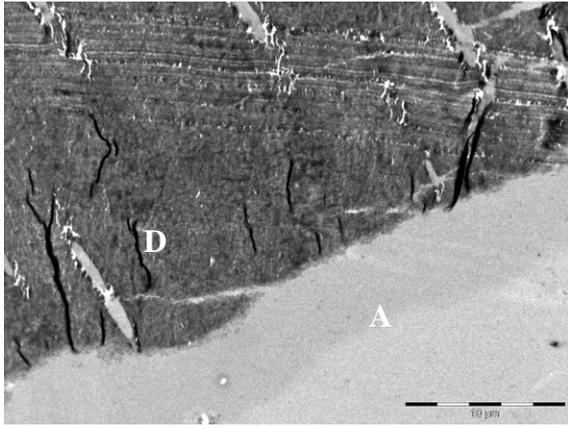


Abb. A141: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

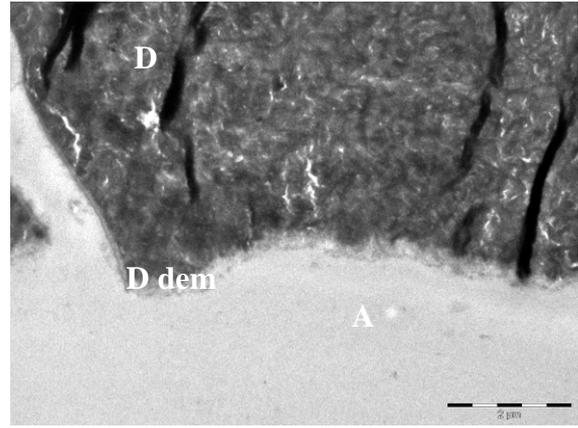


Abb. A142: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

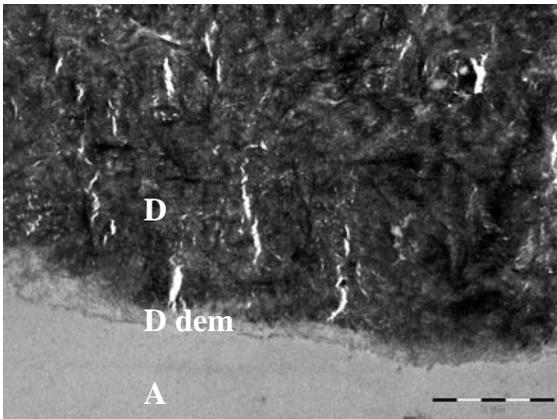


Abb. A143: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

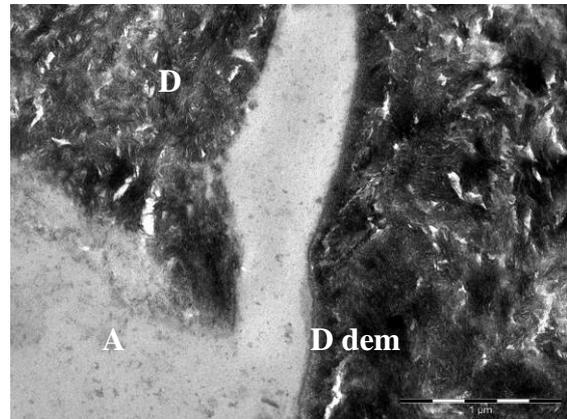


Abb. A144: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

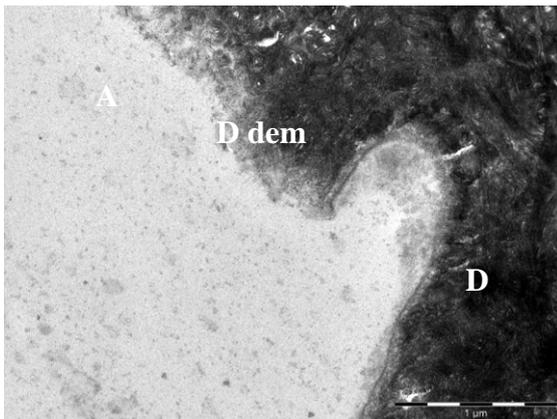


Abb. A145: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

**Versuchsreihe A: Probe intraoral über 1 Minute 1%iger Zitronensäure exponiert**

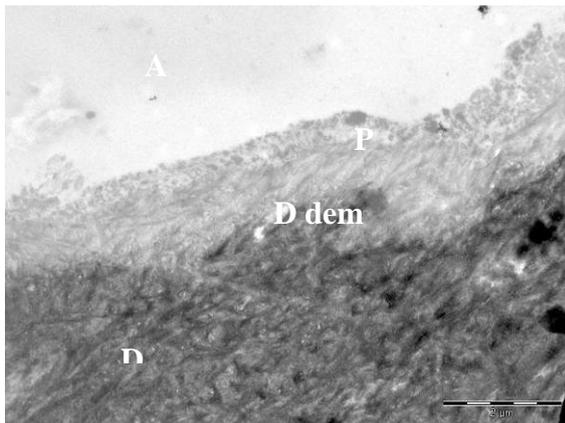


Abb. A146: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

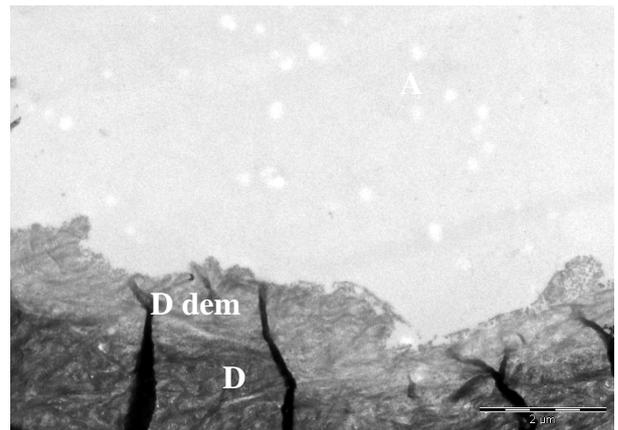


Abb. A147: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%ige Zitronensäure gespült (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

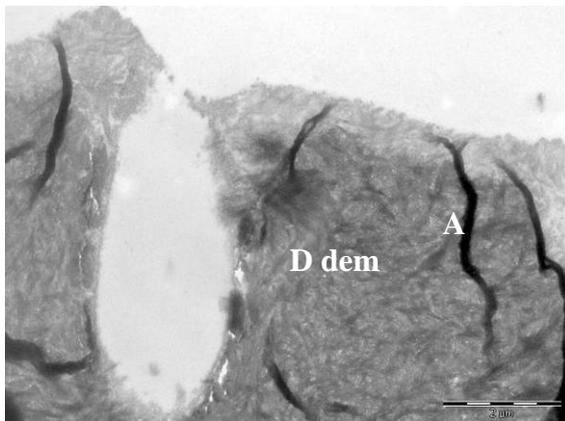


Abb. A148: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

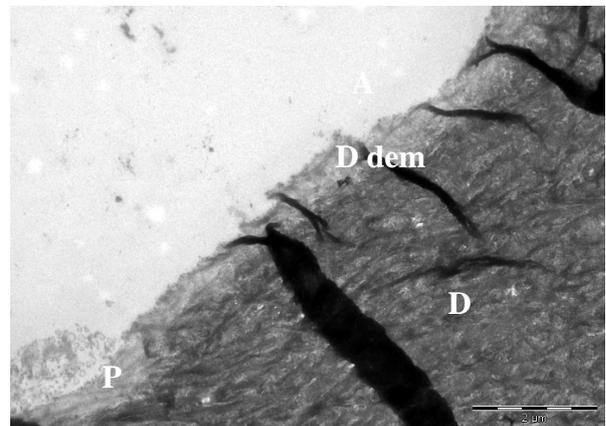


Abb. A149: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

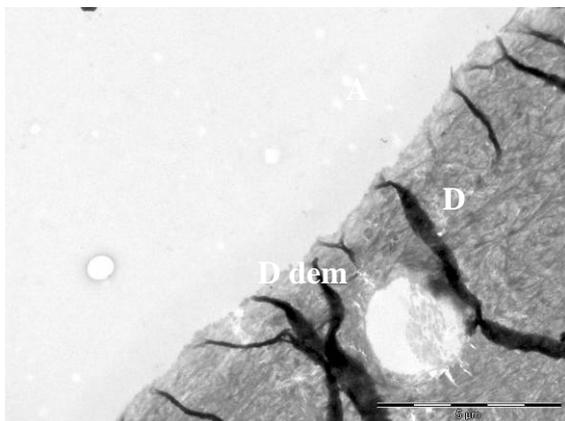


Abb. A150: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2) 7.000fache Vergrößerung

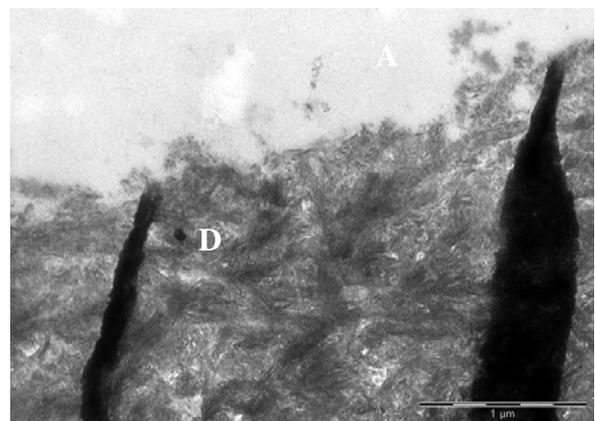


Abb. A151: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit Zitronensäure gespült (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

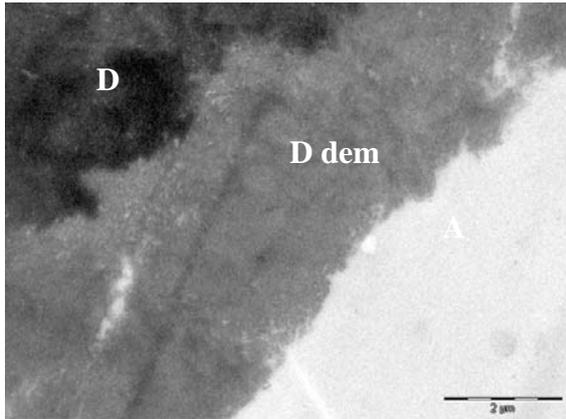


Abb. A152: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

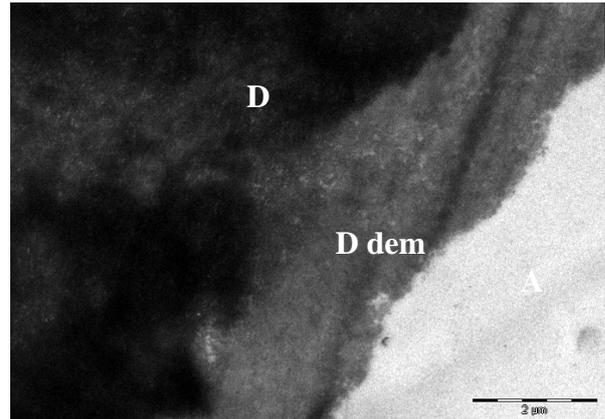


Abb. A153: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

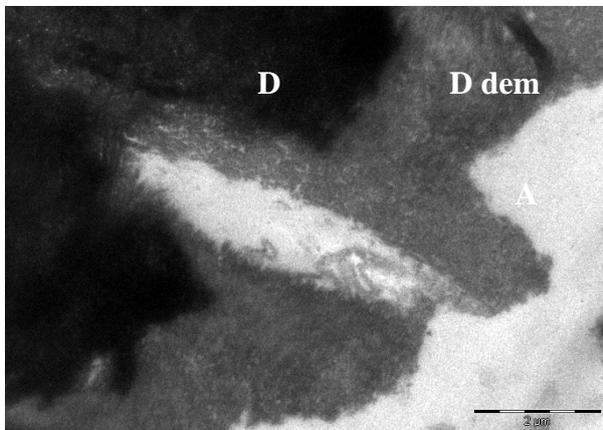


Abb. A154: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

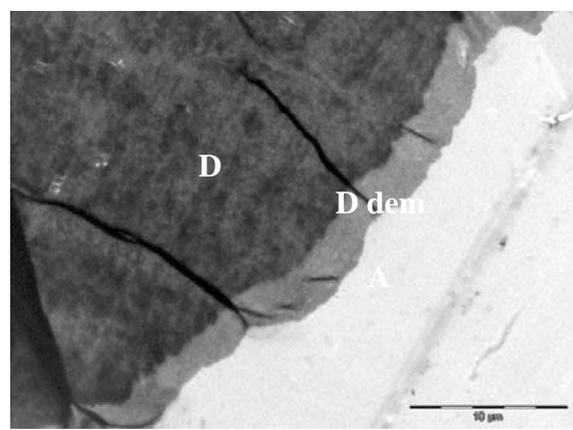


Abb. A155: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit Zitronensäure gespült (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

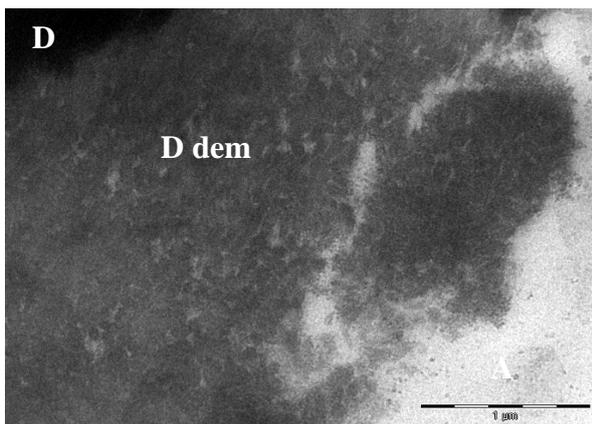


Abb. A156: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

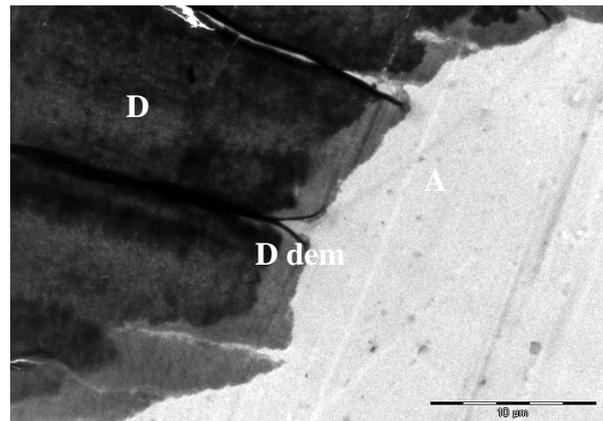


Abb. A157: Dentinprobe intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

**Versuchsreihe A: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert**

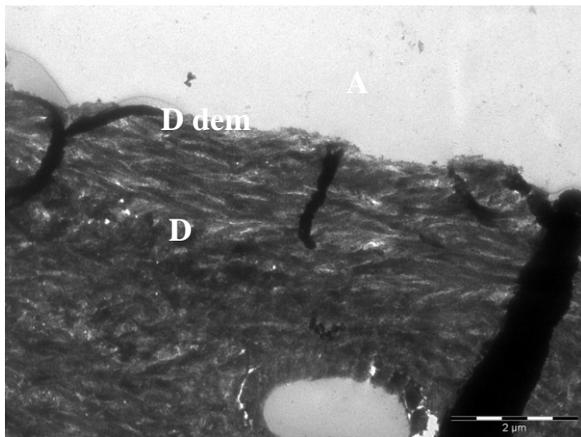


Abb. A158: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert  
10.000fache Vergrößerung

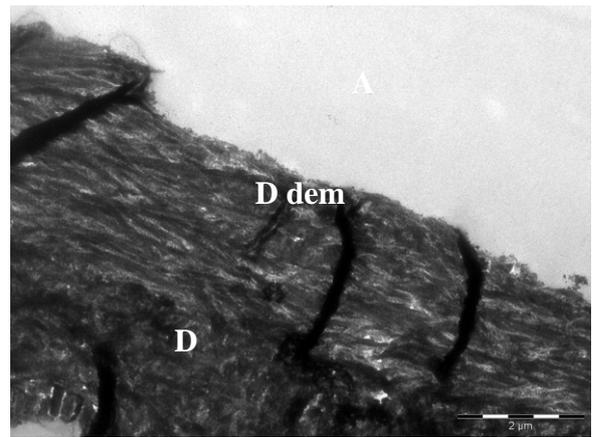


Abb. A159: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert  
10.000fache Vergrößerung

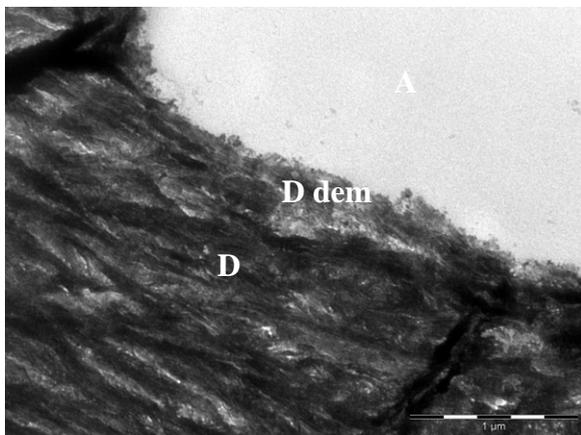


Abb. A160: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert  
30.000fache Vergrößerung

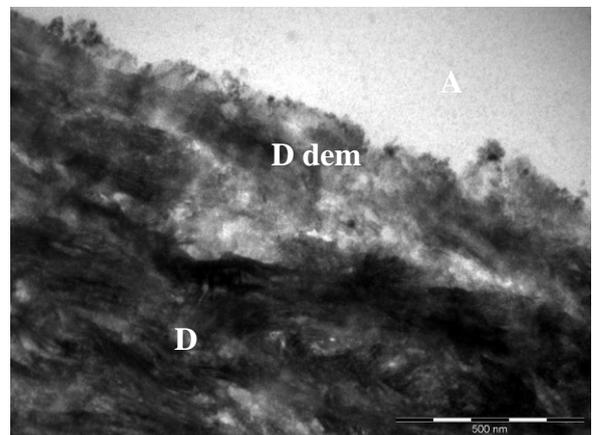


Abb. A161: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert  
70.000fache Vergrößerung

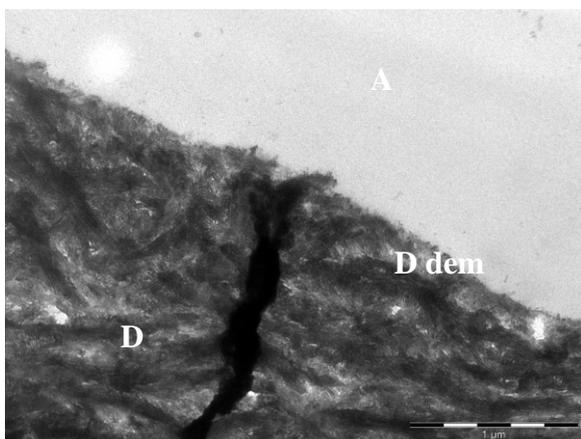


Abb. A162: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert  
30.000fache Vergrößerung

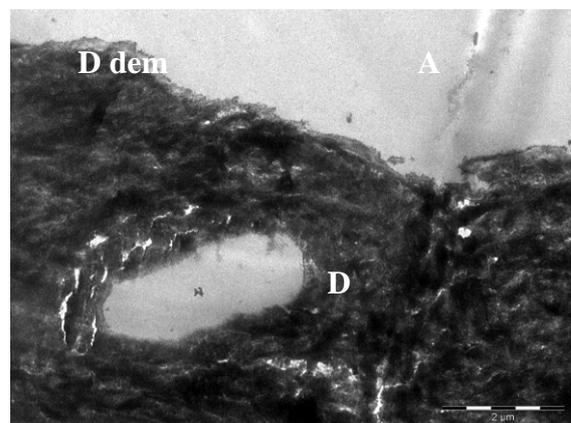


Abb. A163: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert  
10.000fache Vergrößerung

**Versuchsreihe A: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert**

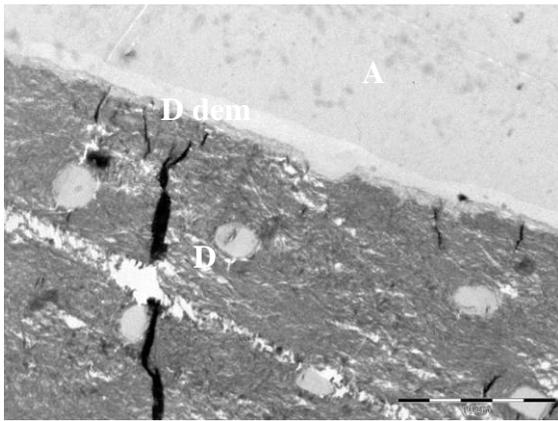


Abb. A164: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert  
3.000fache Vergrößerung

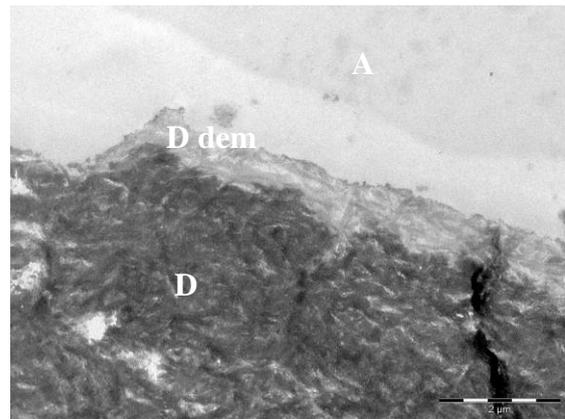


Abb. A165: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert  
10.000fache Vergrößerung

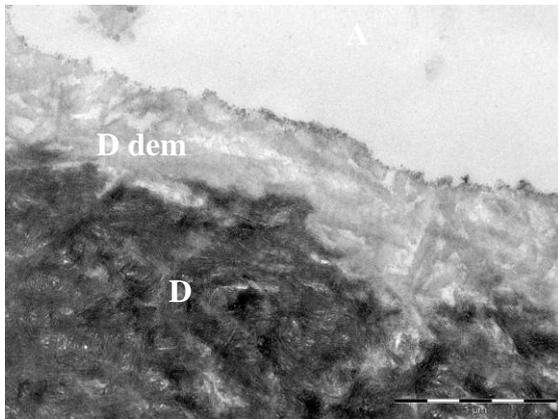


Abb. A166: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert  
30.000fache Vergrößerung

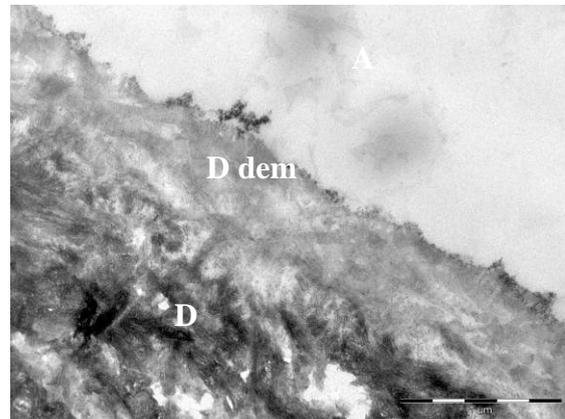


Abb. A167: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert  
30.000fache Vergrößerung

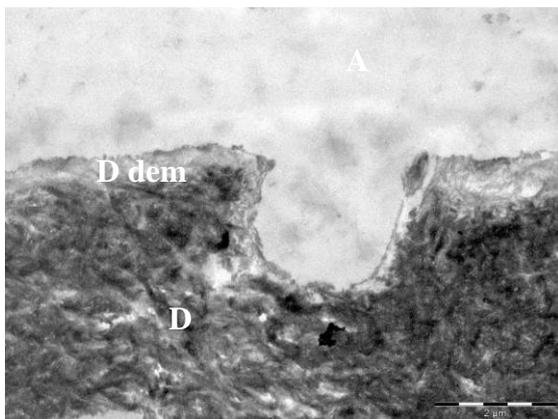


Abb. A168: Dentinprobe in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert  
10.000fache Vergrößerung

**Versuchsreihe B: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült**

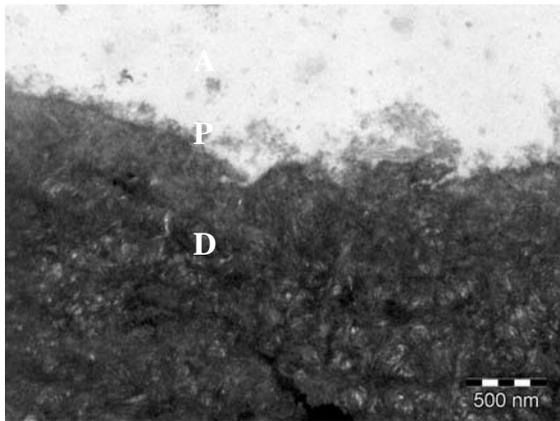


Abb. A169: 30min Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

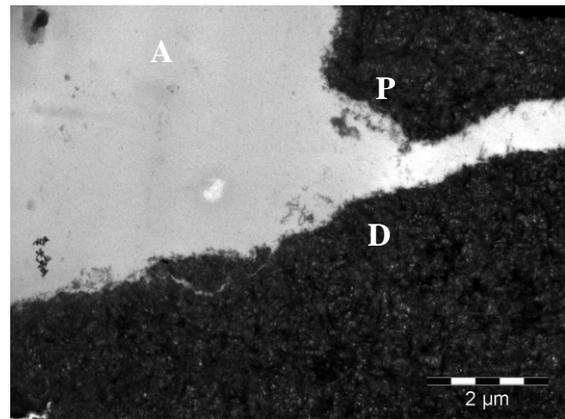


Abb. A170: 30min Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

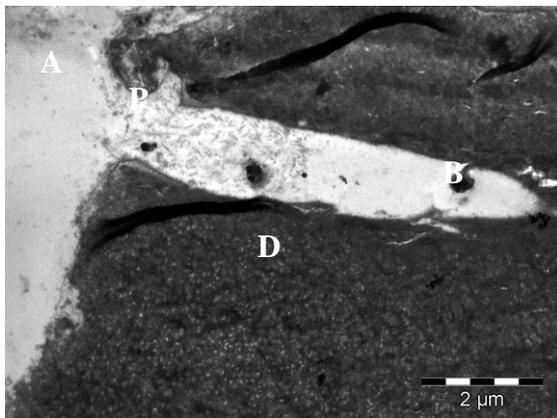


Abb. A171: 30min Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

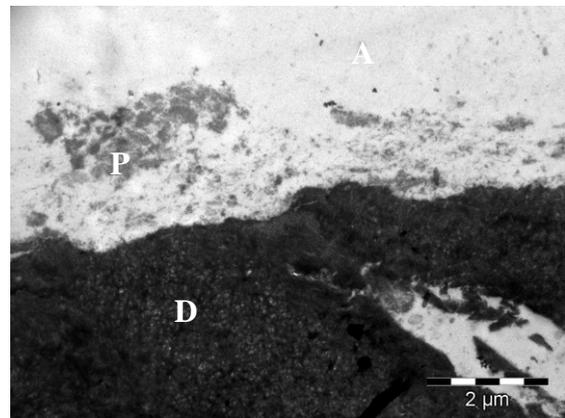


Abb. A172: 30min Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

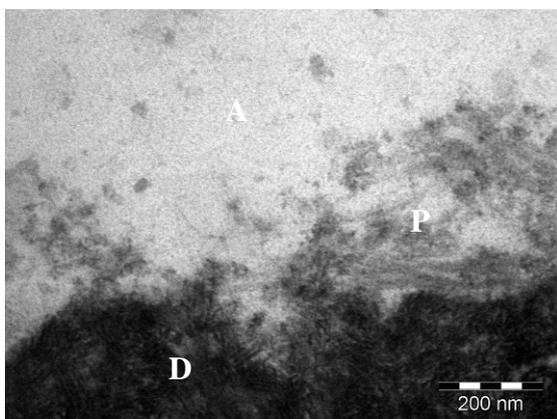


Abb. A173: 30min Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
100.000fache Vergrößerung

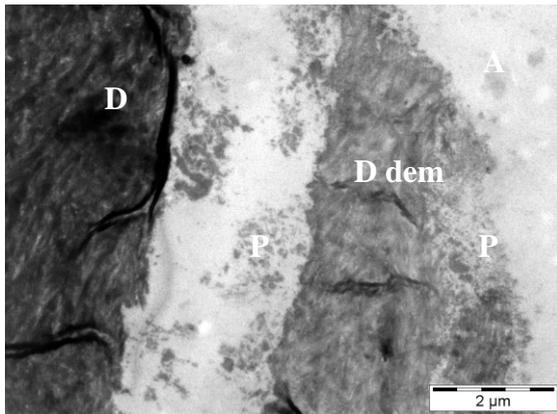


Abb. A174: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

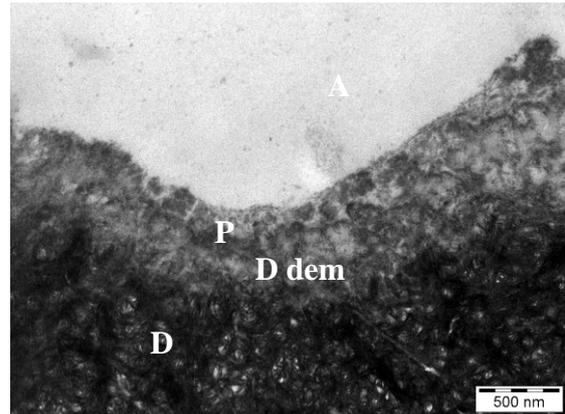


Abb. A175: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

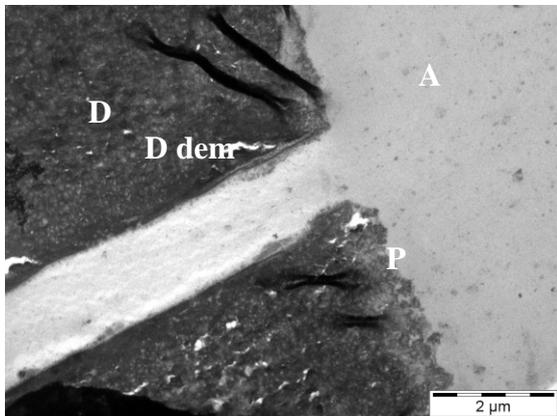


Abb. A176: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

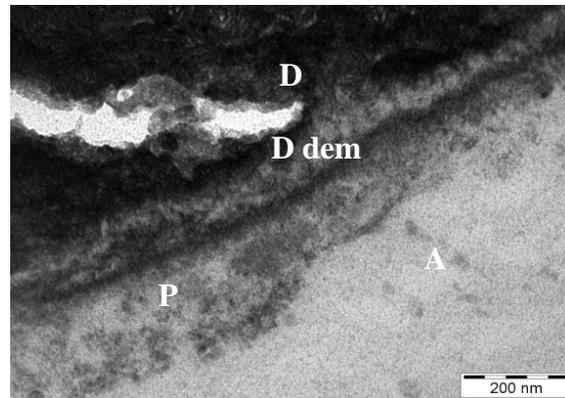


Abb. A177: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

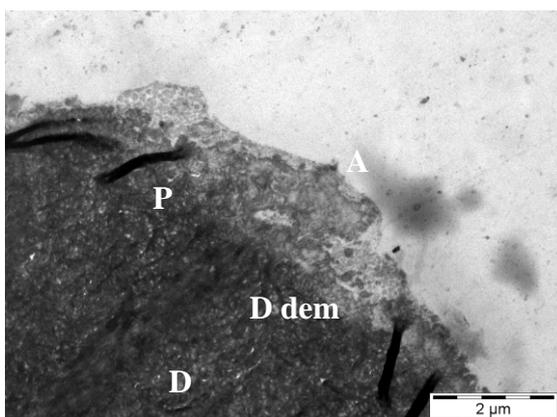


Abb. A178: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

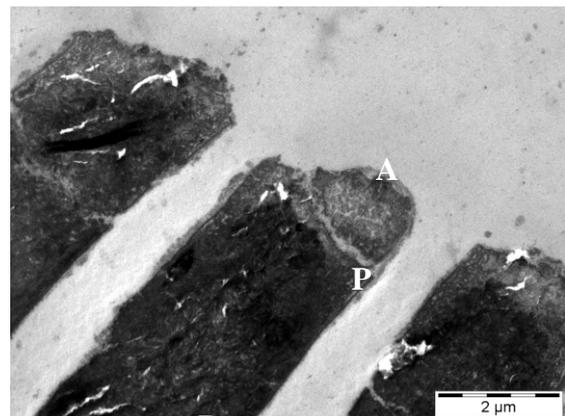


Abb. A179: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

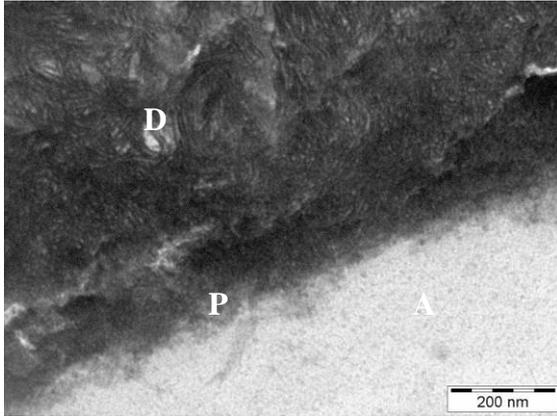


Abb. A180: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

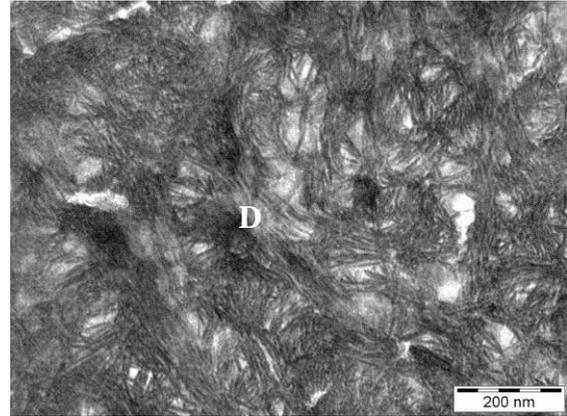


Abb. A181: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

**Versuchsreihe B: 30min-Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült**

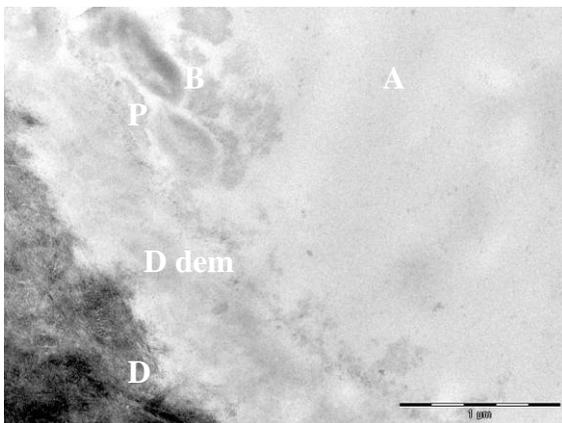


Abb. A182: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

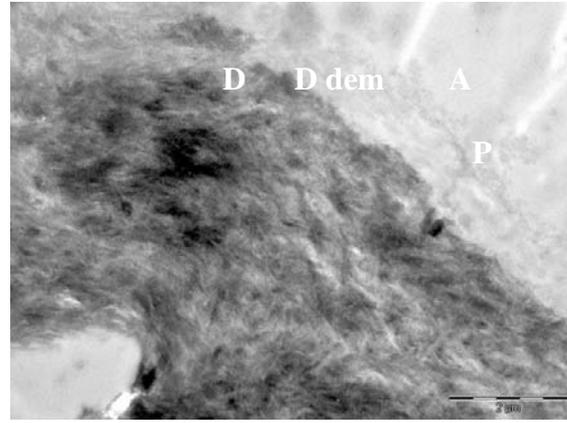


Abb. A183: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

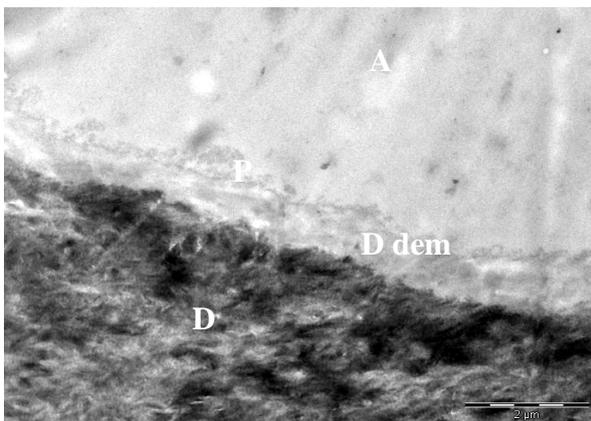


Abb. A184: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

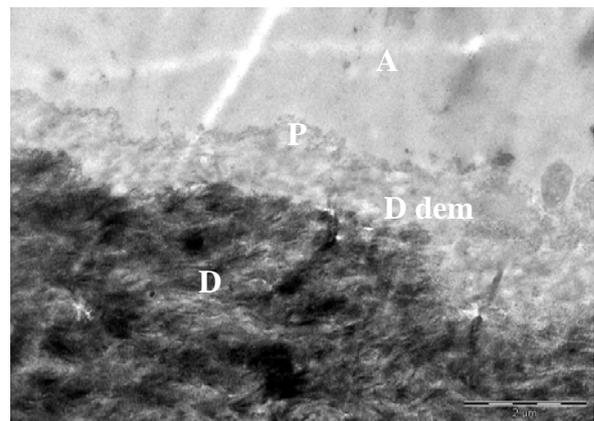


Abb. A185: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

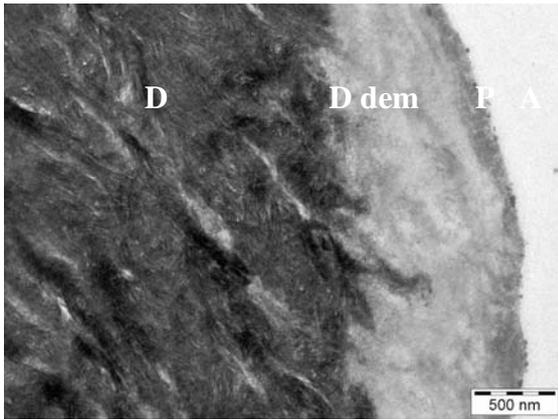


Abb. A186: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

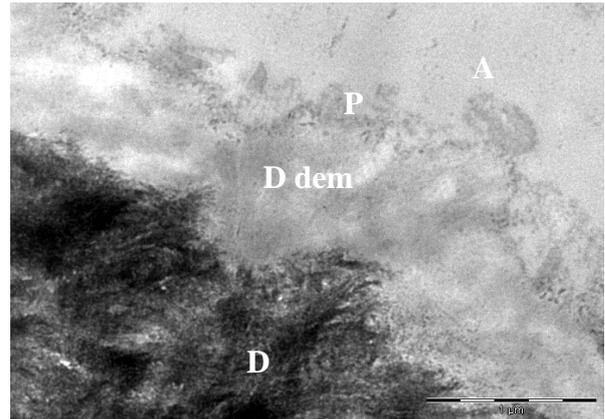


Abb. A187: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

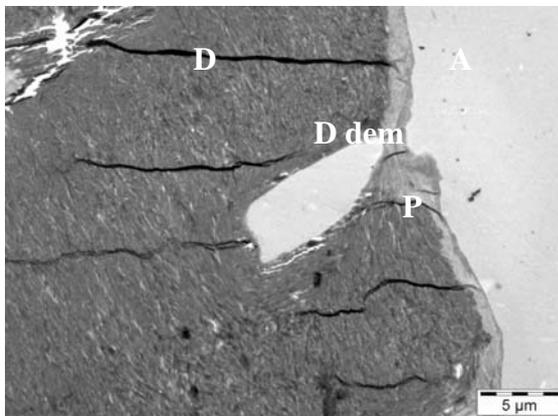


Abb. A188: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 2)  
3.000fache Vergrößerung

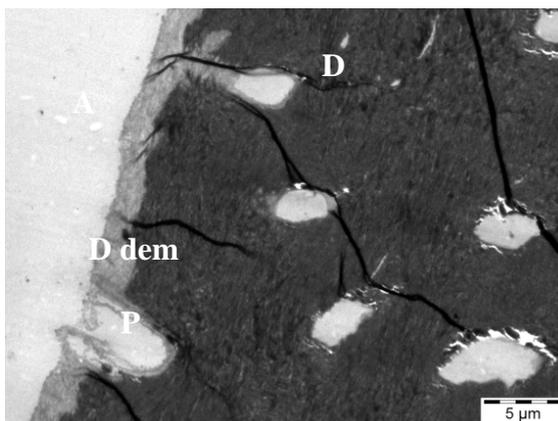


Abb. A189: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)  
3.000fache Vergrößerung

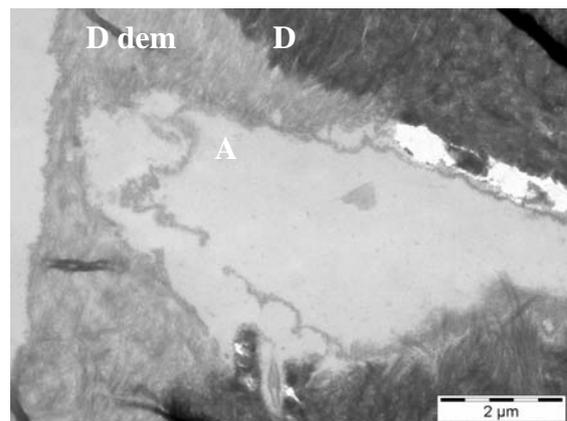


Abb. A190: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3)  
10.000fache Vergrößerung

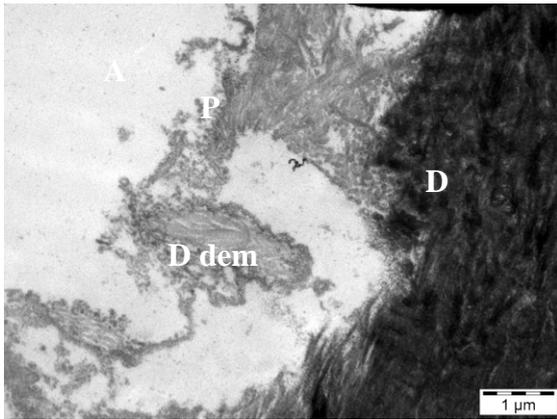


Abb. A191: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

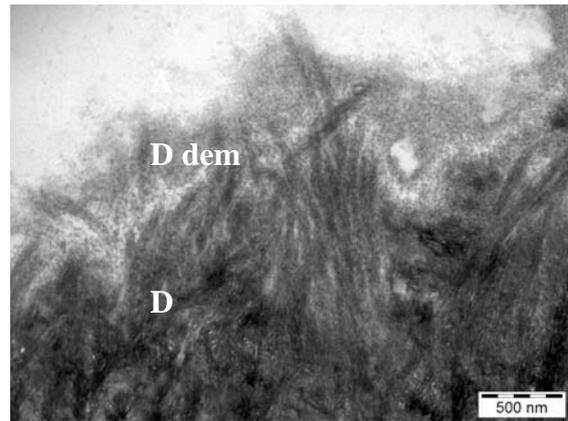


Abb. A192: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

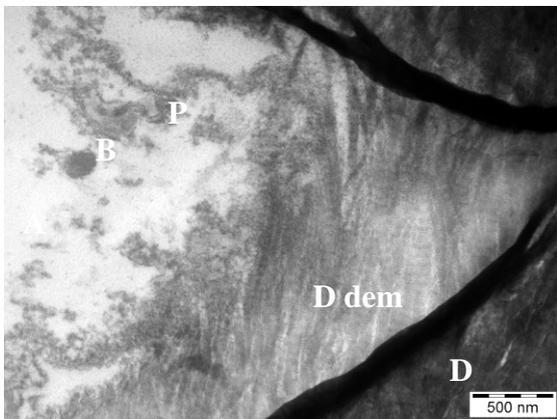


Abb. A193: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

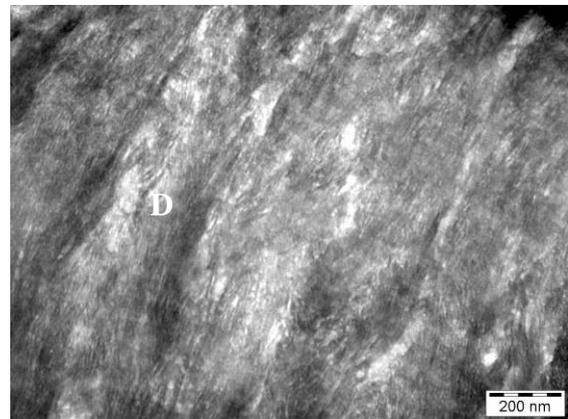


Abb. A194: 30min Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült (Proband 3) 70.000fache Vergrößerung

**Versuchsreihe B: 30min-Pellicel in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert**

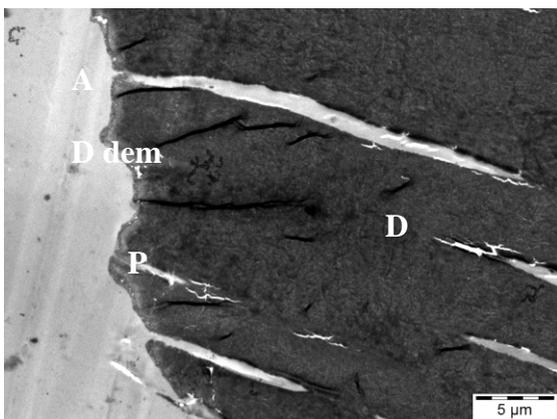


Abb. A195: 30min Pellicel in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

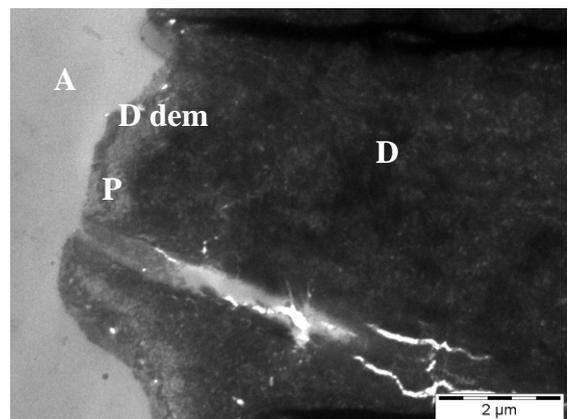


Abb. A196: 30min Pellicel in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

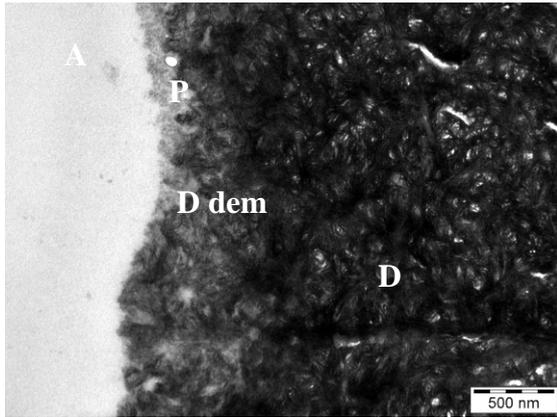


Abb. A197: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

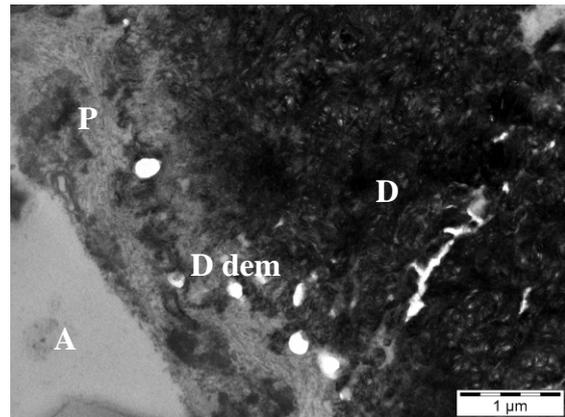


Abb. A198: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 20.000fache Vergrößerung

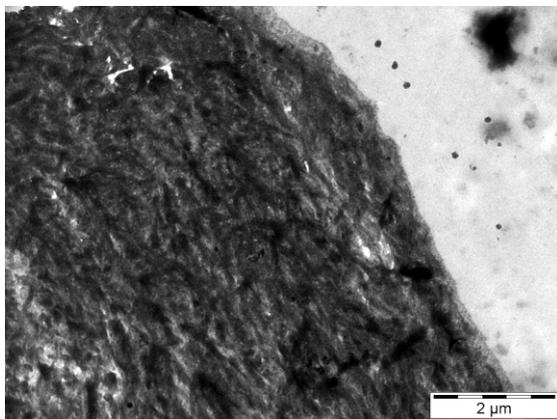


Abb. A199: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

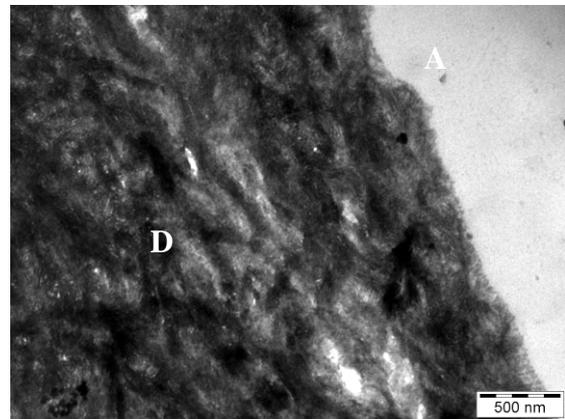


Abb. A200: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 0,1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

**Versuchsreihe B: 30min-Pellikel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert**

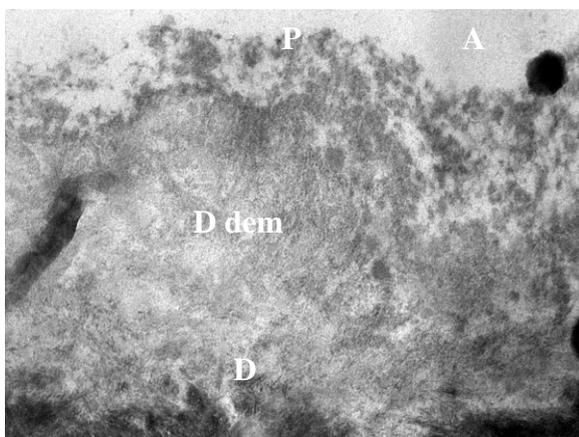


Abb. A201: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 50.000fache Vergrößerung

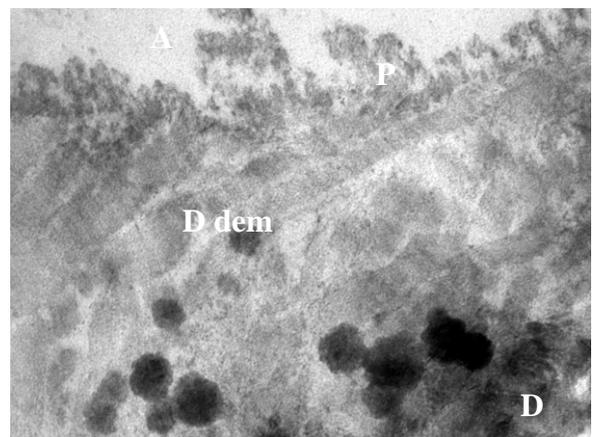


Abb. A202: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 70.000fache Vergrößerung

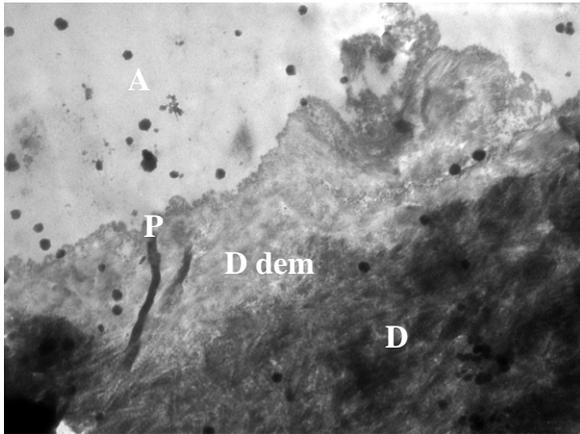


Abb. A203: 30min Pellicel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

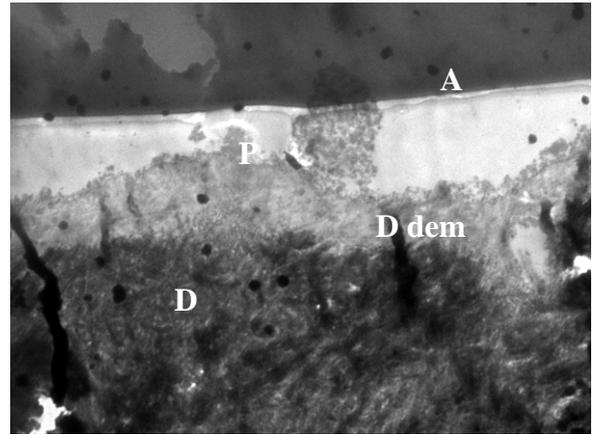


Abb. A204: 30min Pellicel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

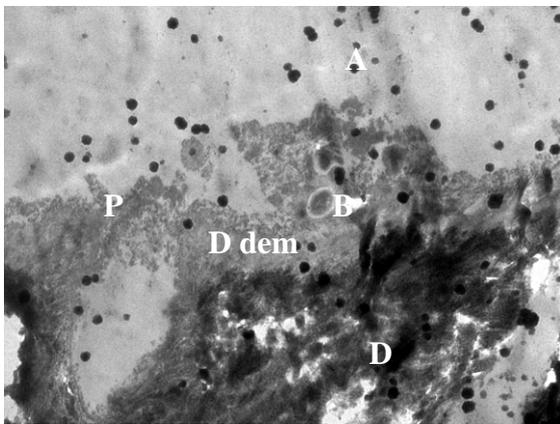


Abb. A205: 30min Pellicel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

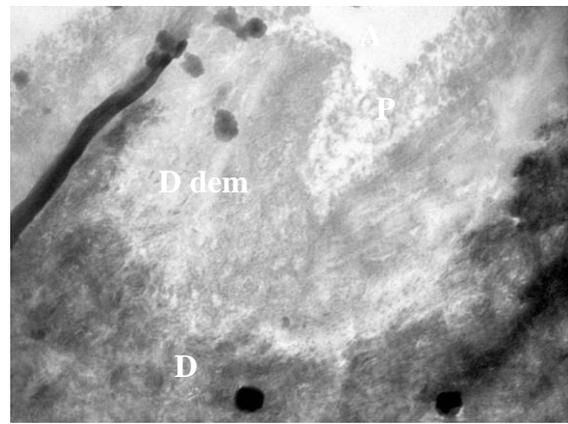


Abb. A206: 30min Pellicel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

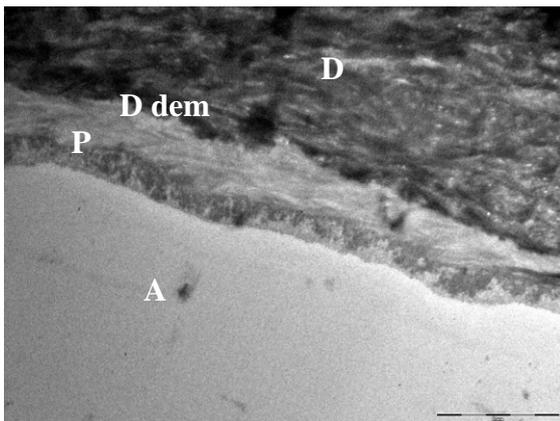


Abb. A207: 30min Pellicel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

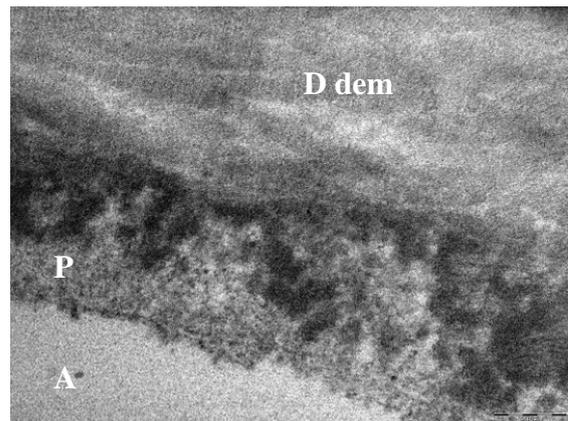


Abb. A208: 30min Pellicel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3) 70.000fache Vergrößerung

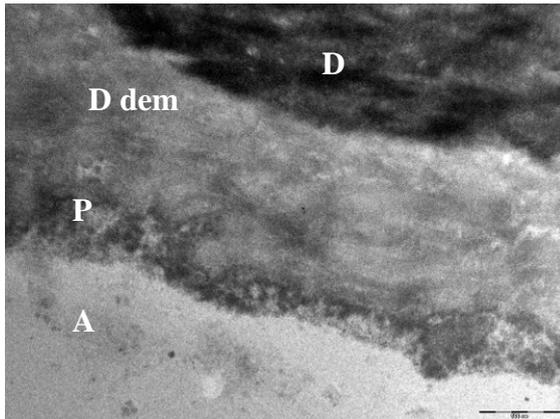


Abb. A209: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

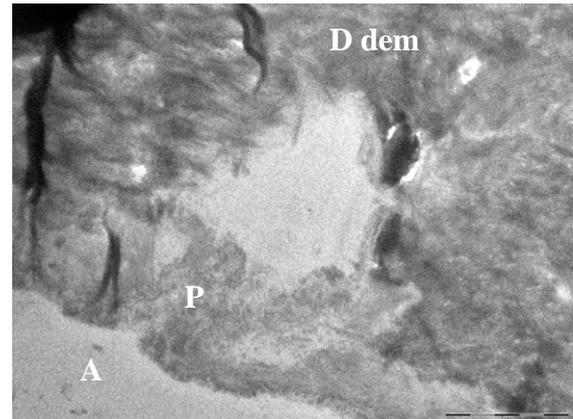


Abb. A210: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3) 20.000fache Vergrößerung

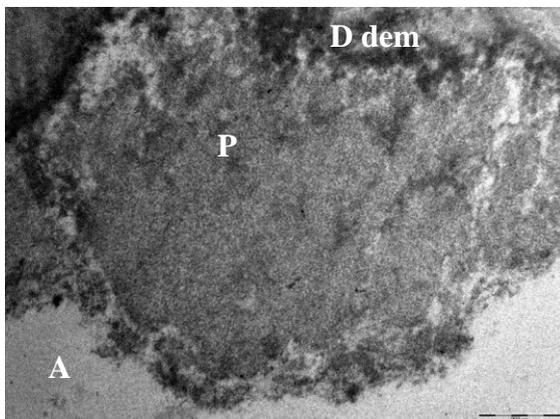


Abb. A211: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

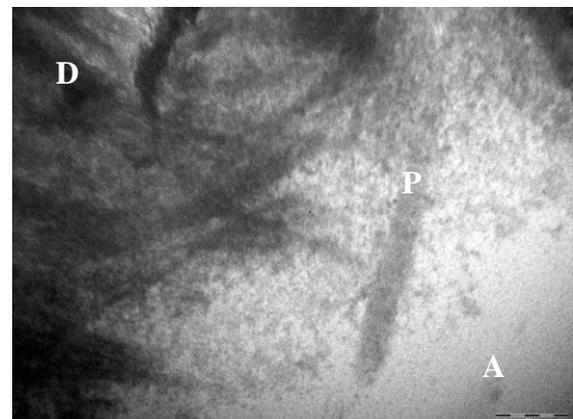


Abb. A212: 30min Pellikel in vitro 1 Minute in 1%iger Zitronensäure exponiert (Proband 3) 70.000fache Vergrößerung

**Versuchsreihe C: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit**

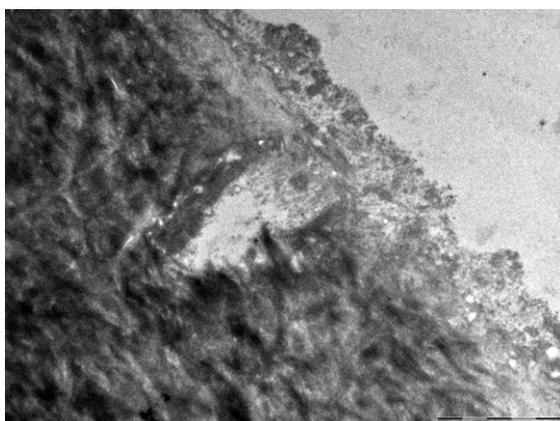


Abb. A213: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

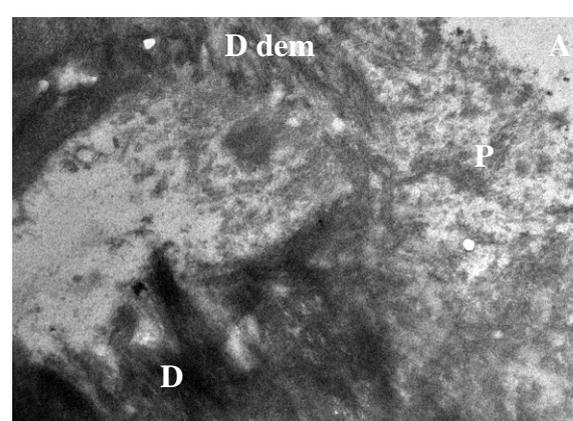


Abb. A214: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

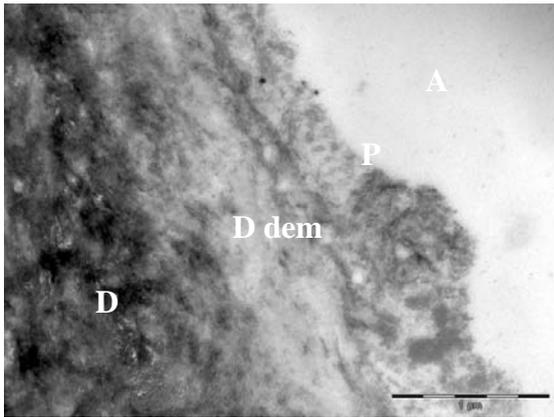


Abb. A215: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

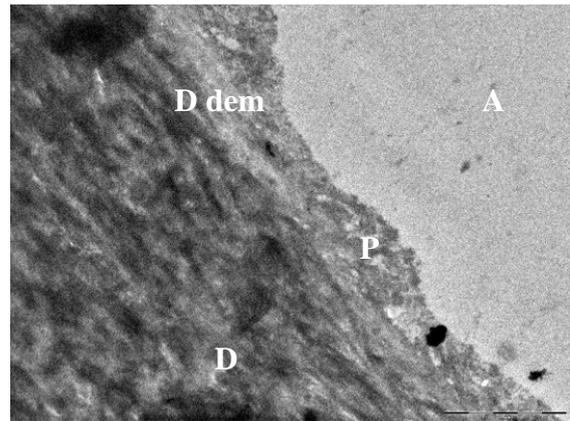


Abb. A216: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

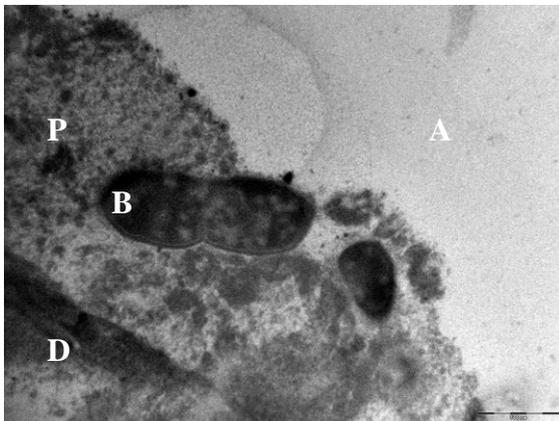


Abb. A217: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

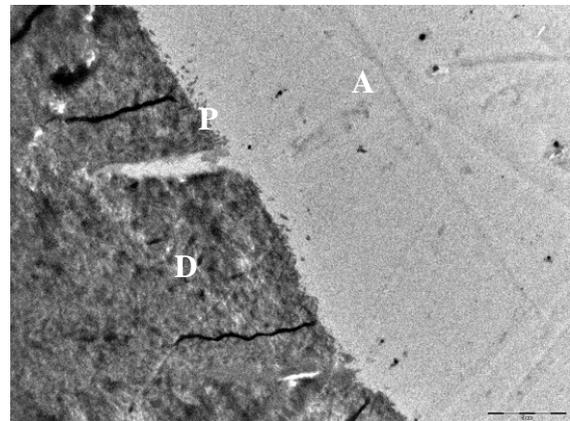


Abb. A218: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

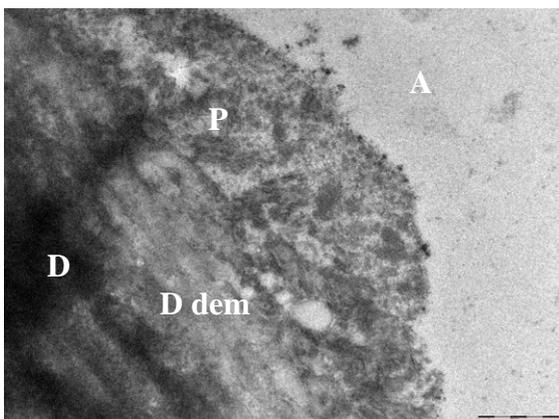


Abb. A219: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

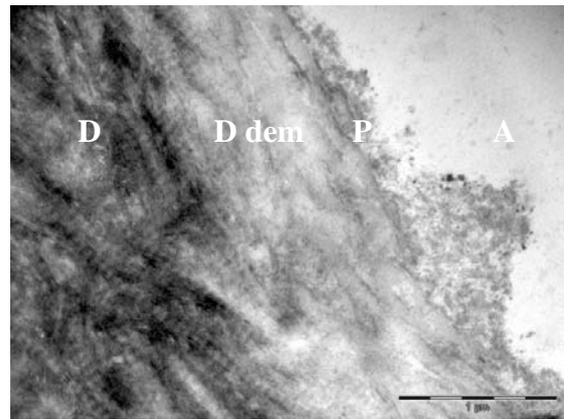


Abb. A220: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

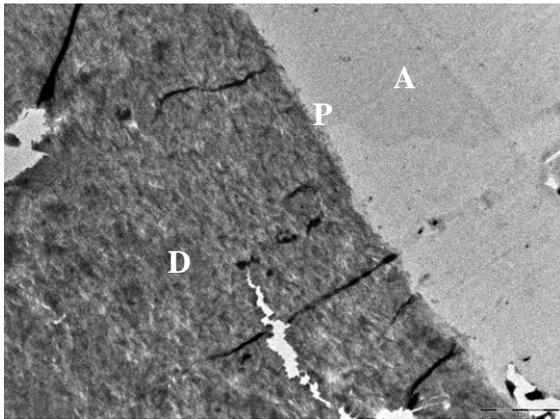


Abb. A221: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

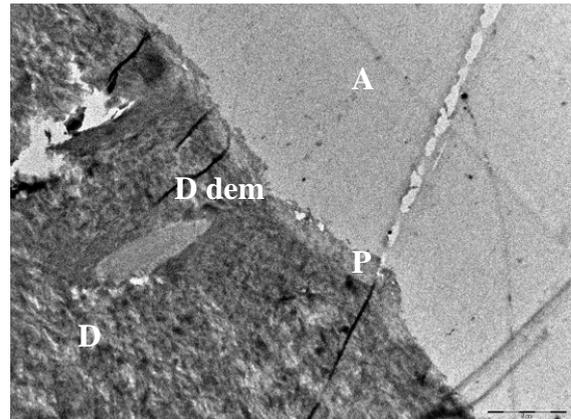


Abb. A222: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

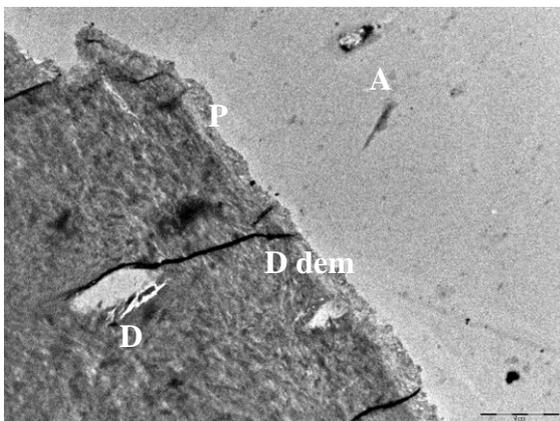


Abb. A223: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

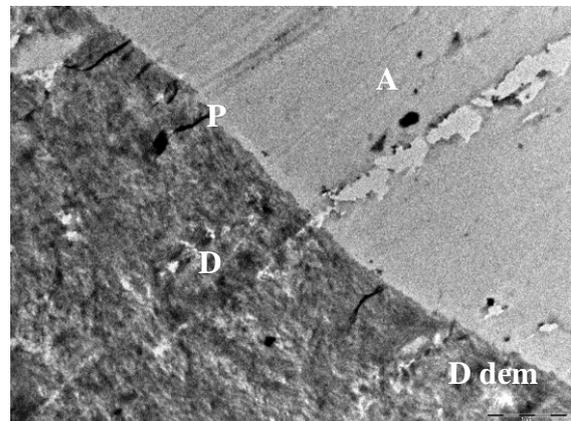


Abb. A224: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

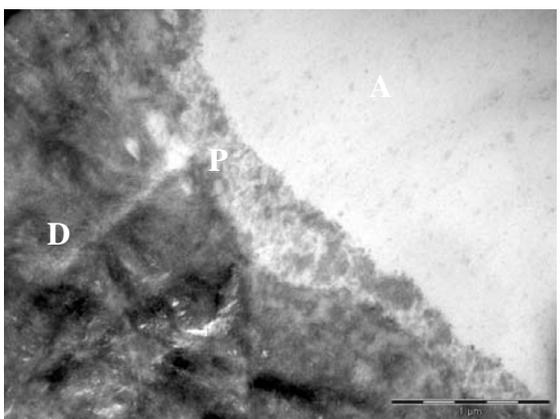


Abb. A225: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

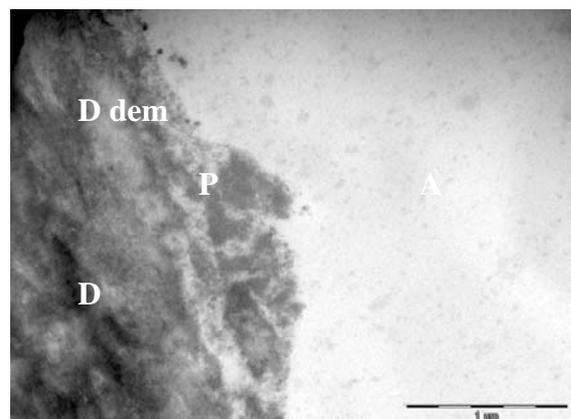


Abb. A226: 30min-Pellikel intraoral über 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

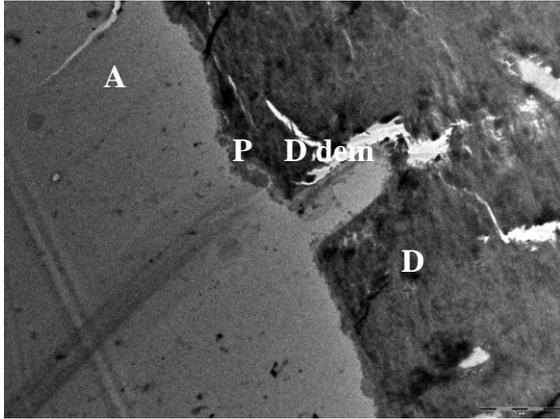


Abb. A227: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

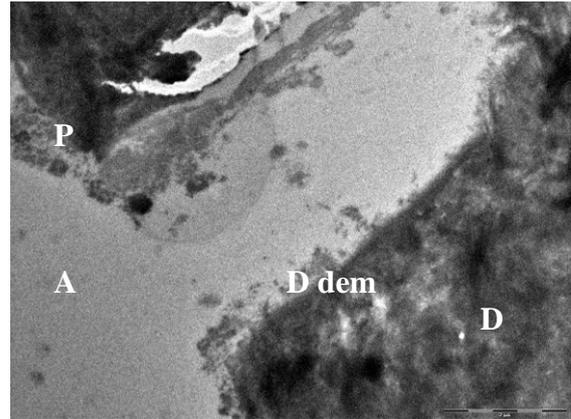


Abb. A228: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

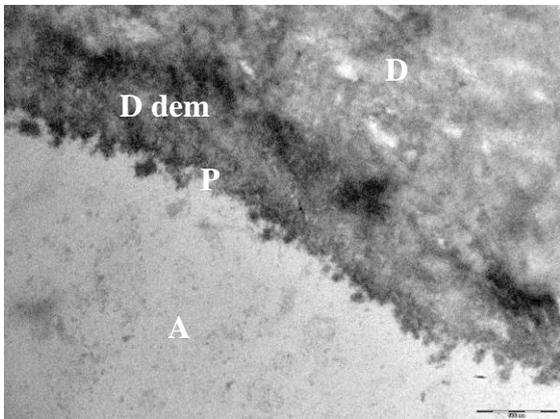


Abb. A229: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

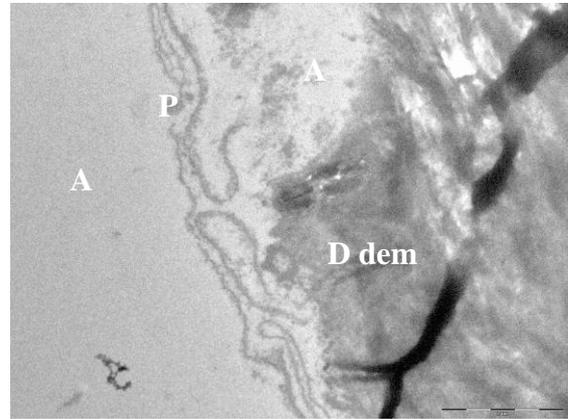


Abb. A230: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

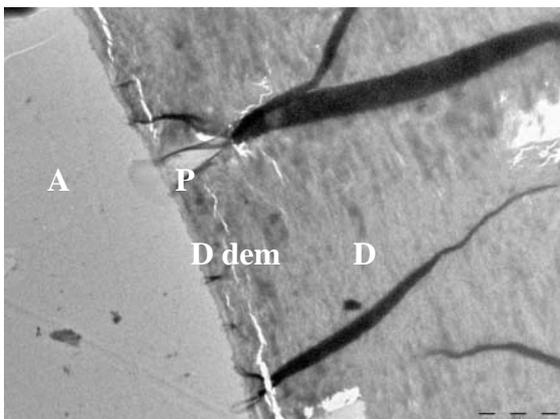


Abb. A231: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

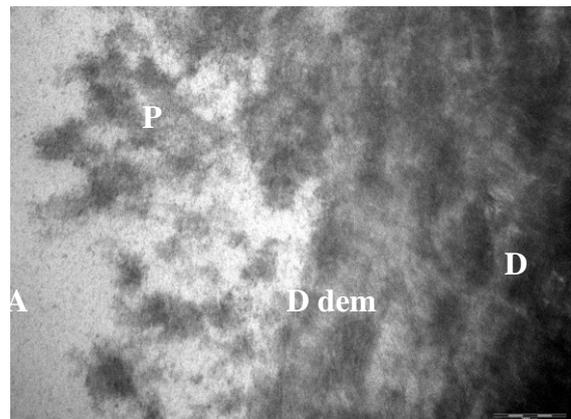


Abb. A232: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 70.000fache Vergrößerung

**30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit**

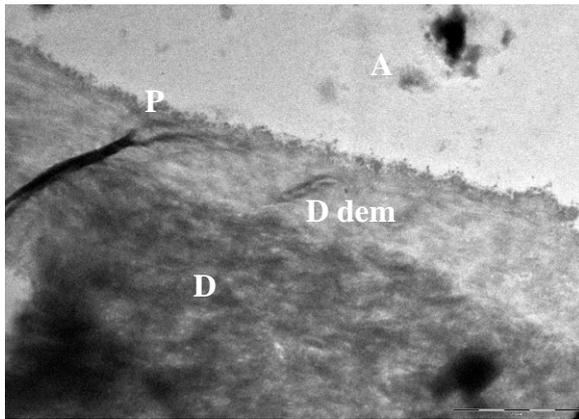


Abb. A233: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

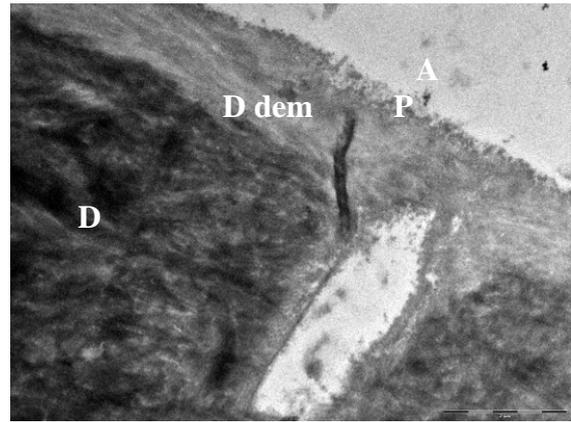


Abb. A234: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

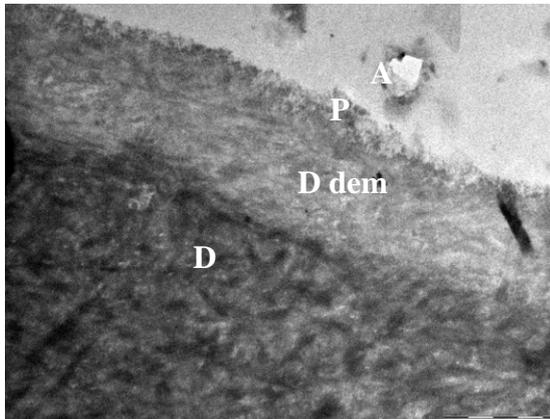


Abb. A235: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

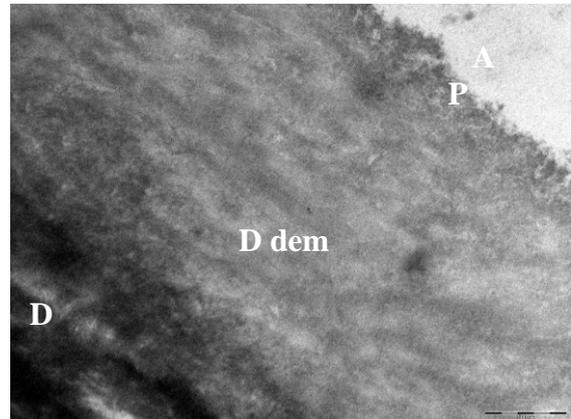


Abb. A236: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)  
30.000fache Vergrößerung

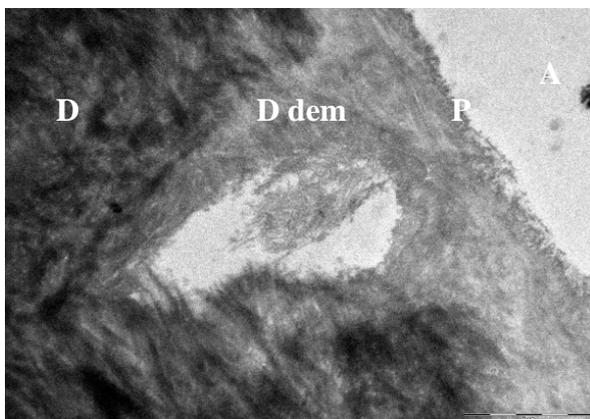


Abb. A237: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 2)  
10.000fache Vergrößerung

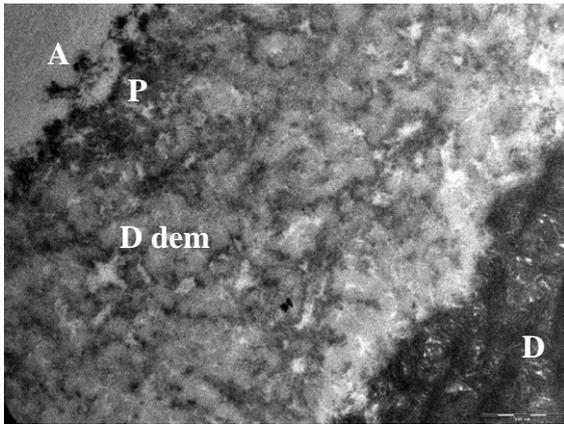


Abb. A238: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

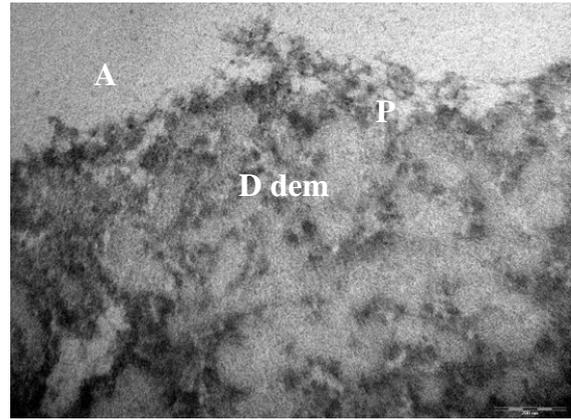


Abb. A239: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 70.000fache Vergrößerung

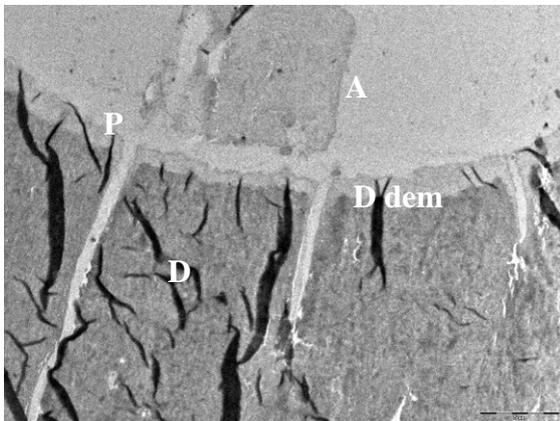


Abb. A240: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

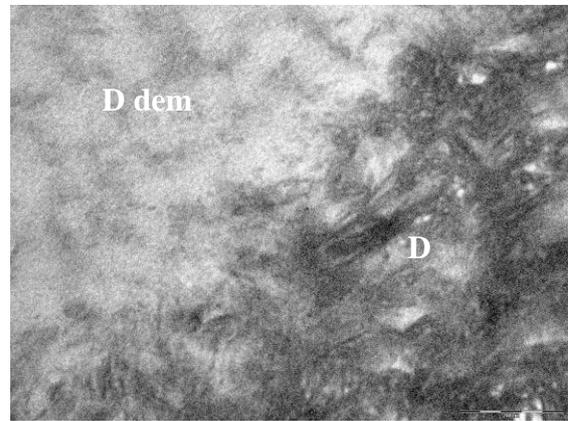


Abb. A241: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 30 Minuten Tragezeit (Proband 3) 100.000fache Vergrößerung

**30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit**

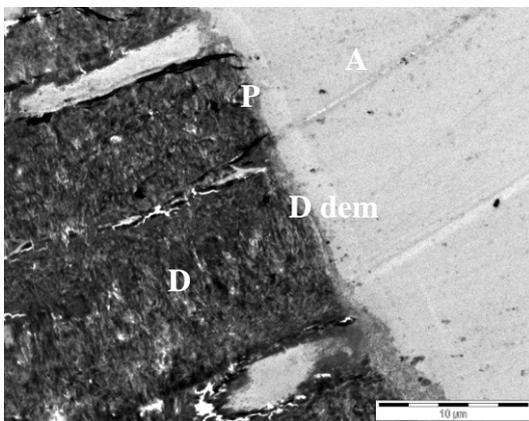


Abb. A242: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

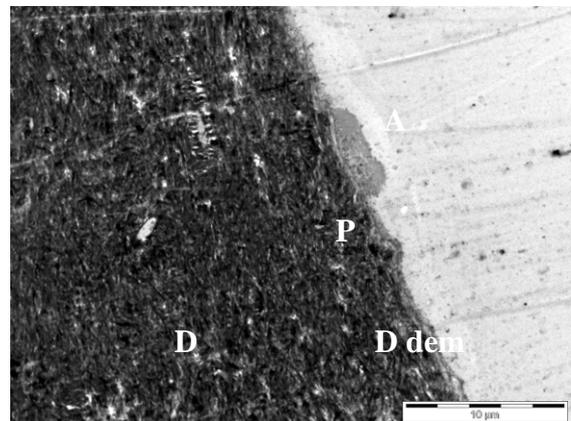


Abb. A243: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

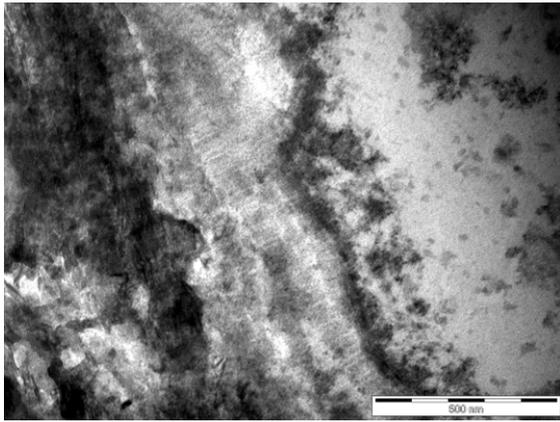


Abb. A244: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 70.000fache Vergrößerung

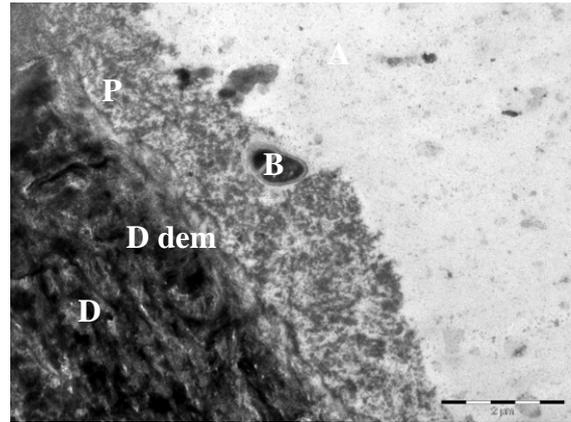


Abb. A245: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

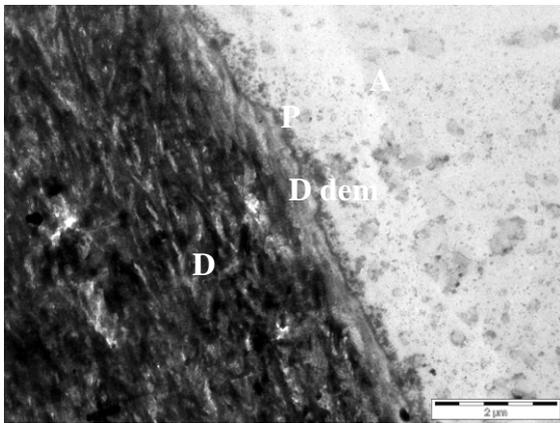


Abb. A246: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

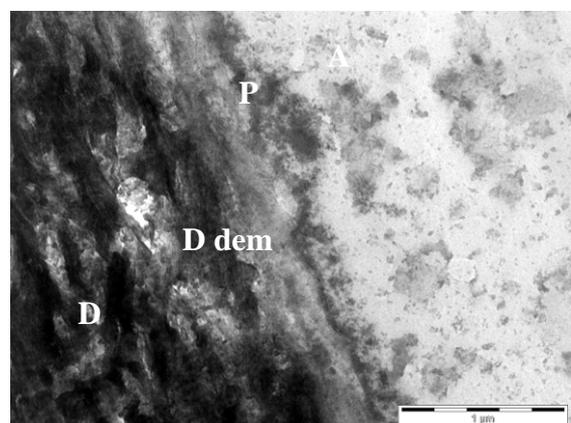


Abb. A247: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

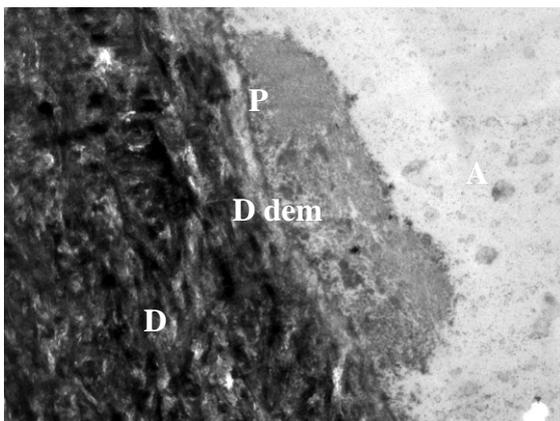


Abb. A248: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

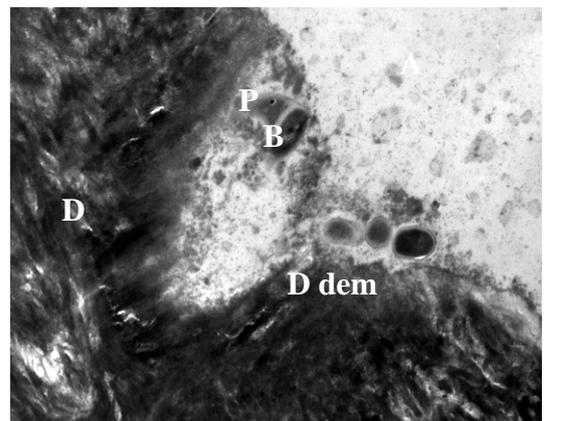


Abb. A249: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

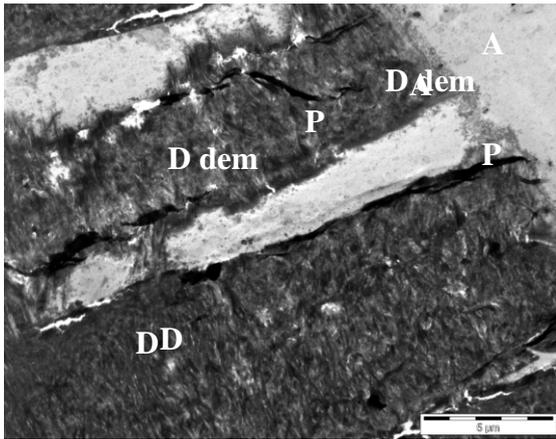


Abb. A250: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

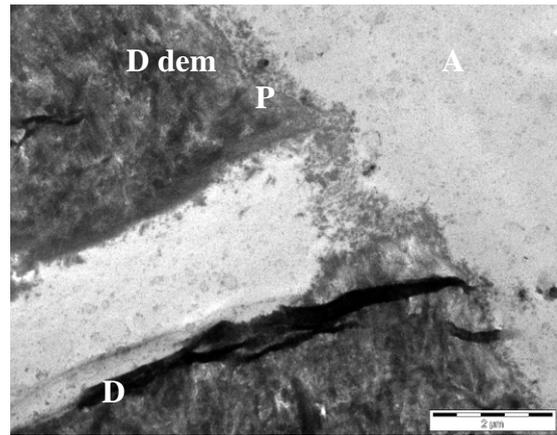


Abb. A251: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 5.000fache Vergrößerung

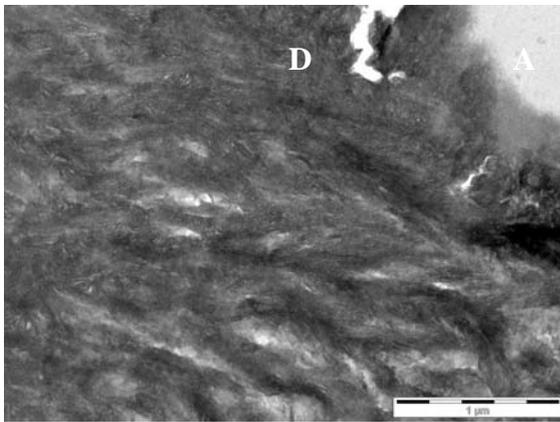


Abb. A252: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

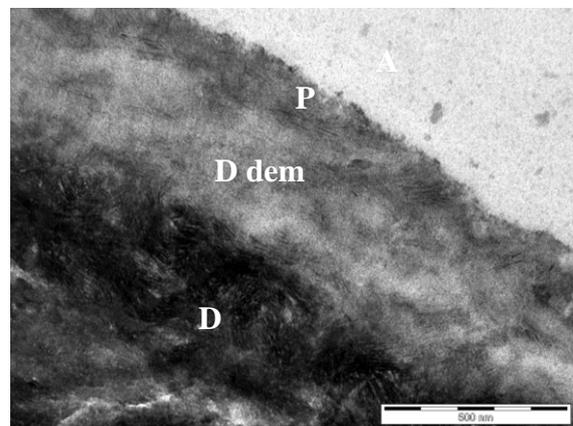


Abb. A253: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 70.000fache Vergrößerung

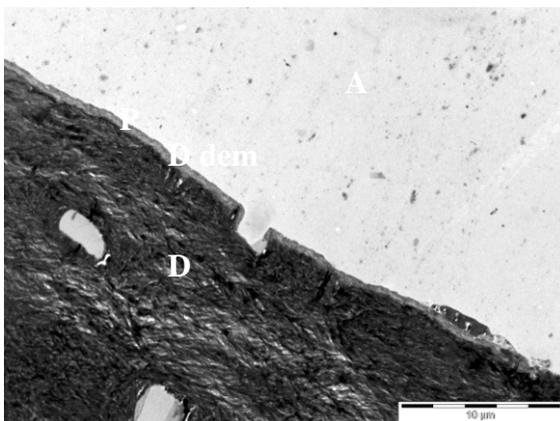


Abb. A254: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

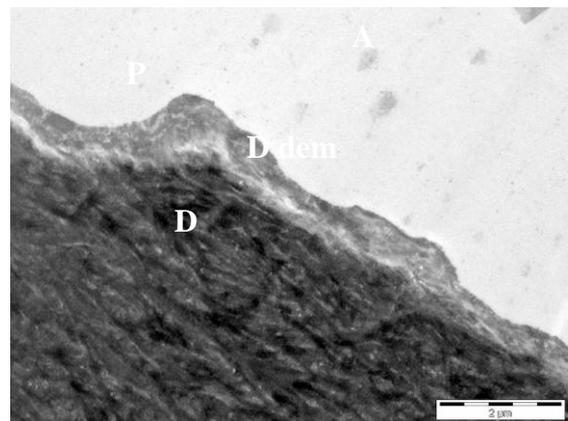


Abb. A255: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

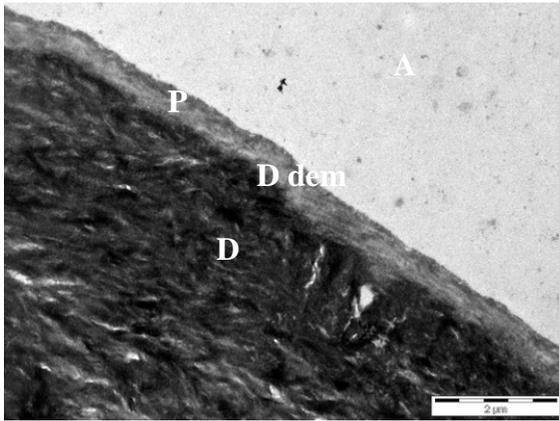


Abb. A256: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

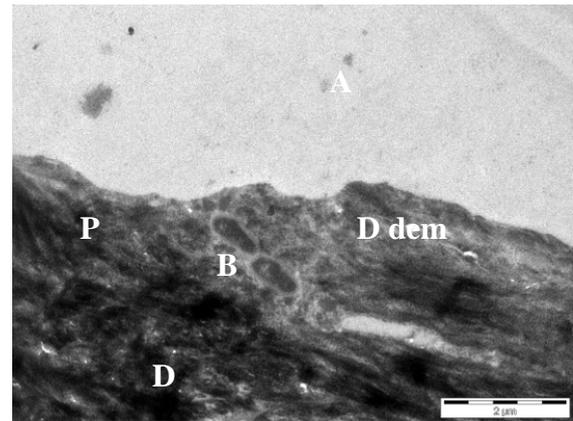


Abb. A257: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

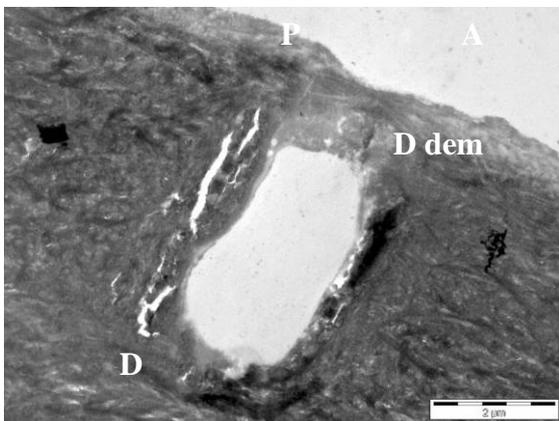


Abb. A258: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 0,1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

**30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit**

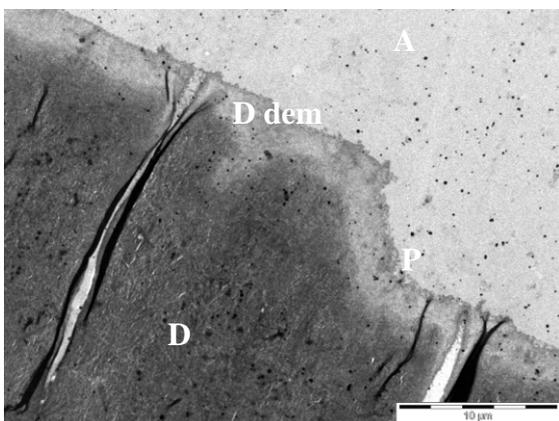


Abb. A259: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 3.000fache Vergrößerung

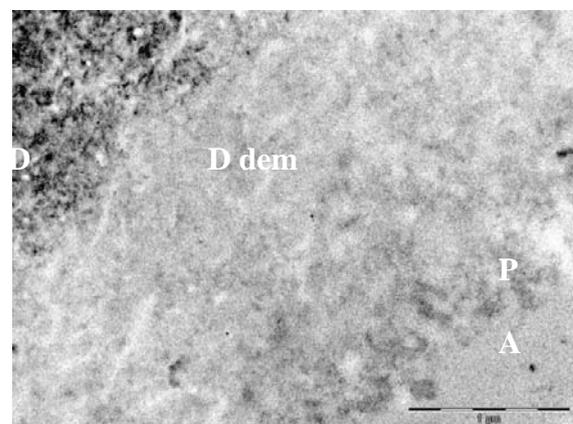


Abb. A260: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

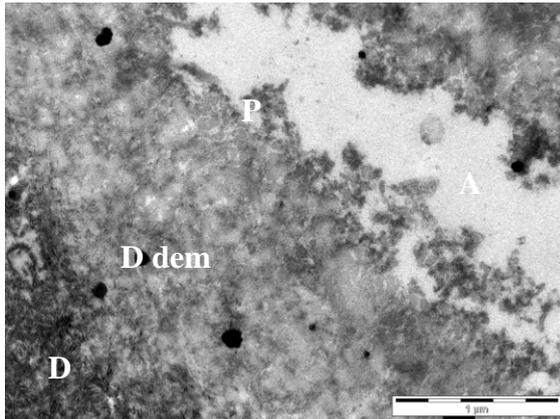


Abb. A261: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 30.000fache Vergrößerung

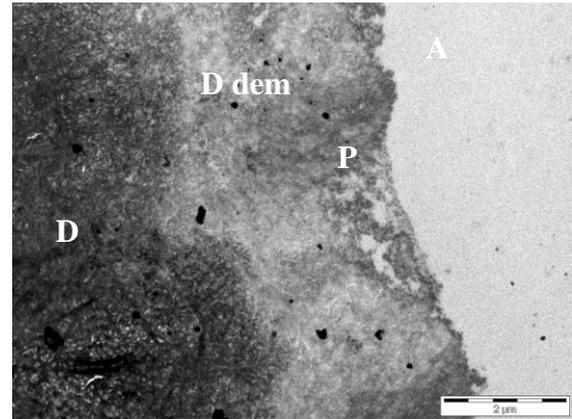


Abb. A262: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

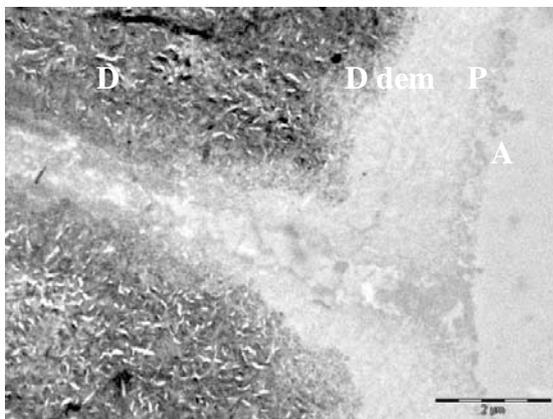


Abb. A263: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

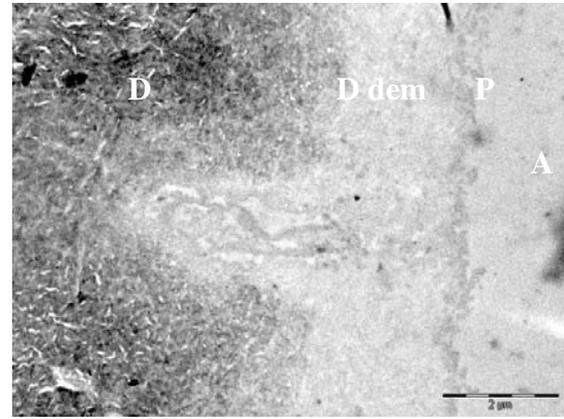


Abb. A264: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 11.000fache Vergrößerung

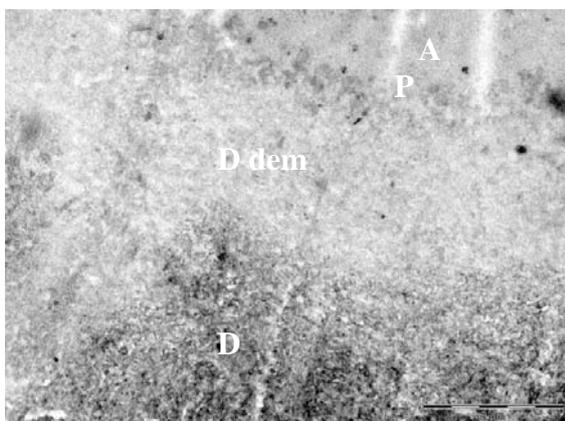


Abb. A265: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 2) 10.000fache Vergrößerung

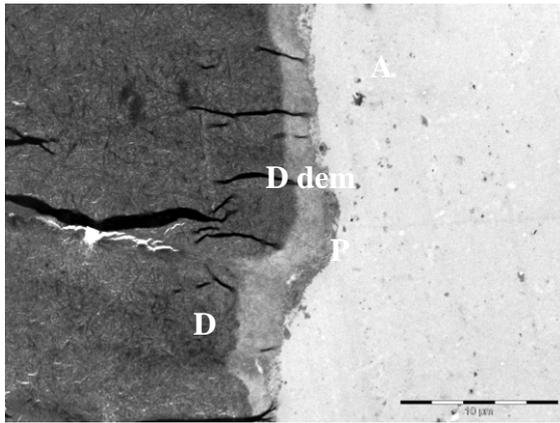


Abb. A266: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

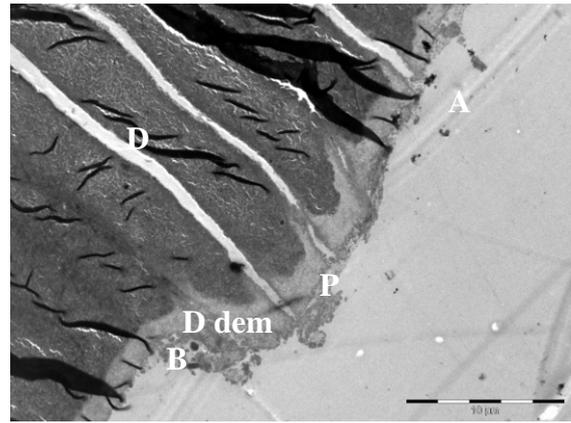


Abb. A267: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

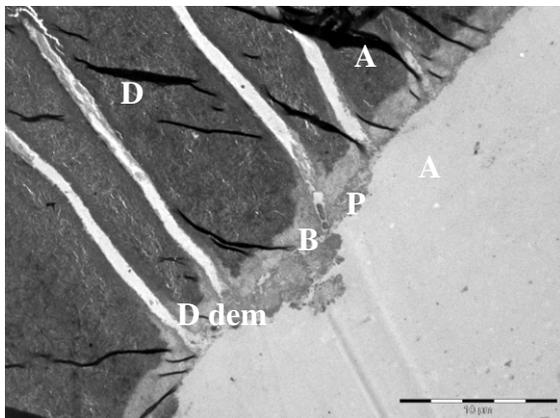


Abb. A268: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

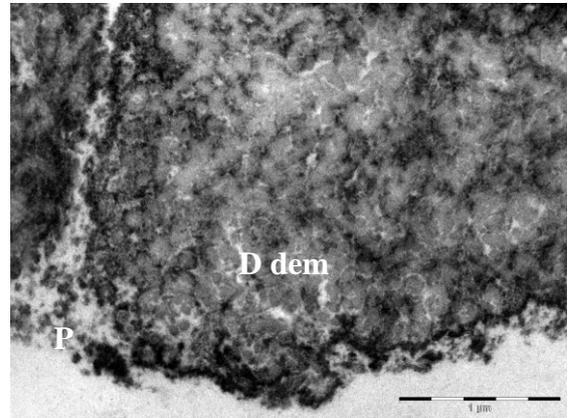


Abb. A269: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

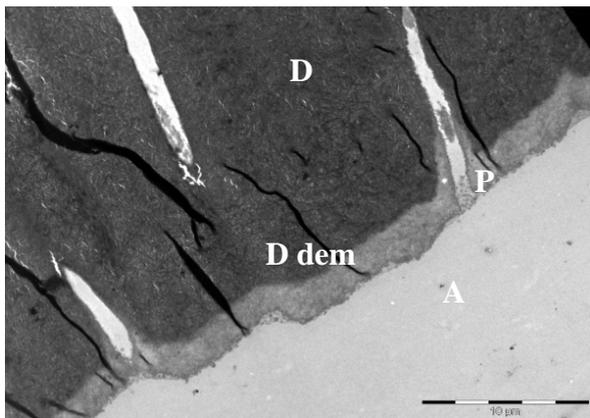


Abb. A270: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

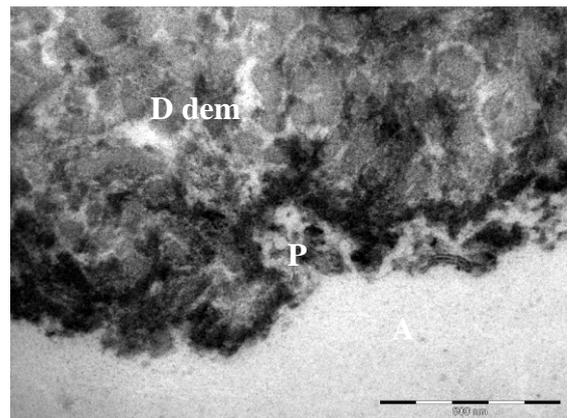


Abb. A271: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 70.000fache Vergrößerung

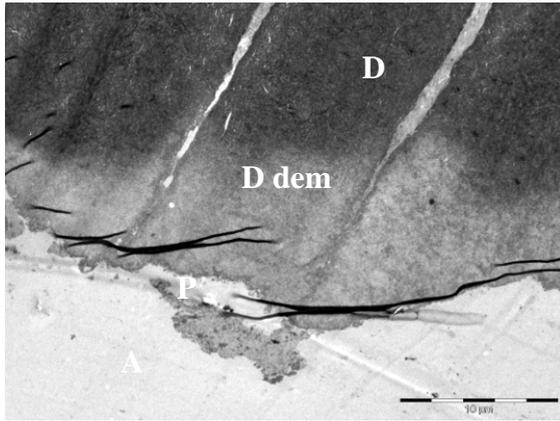


Abb. A272: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 3.000fache Vergrößerung

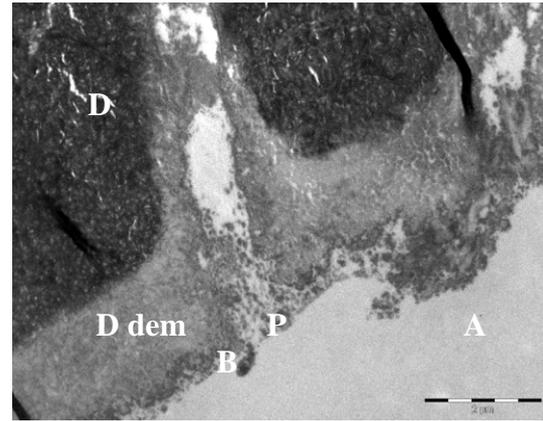


Abb. A273: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

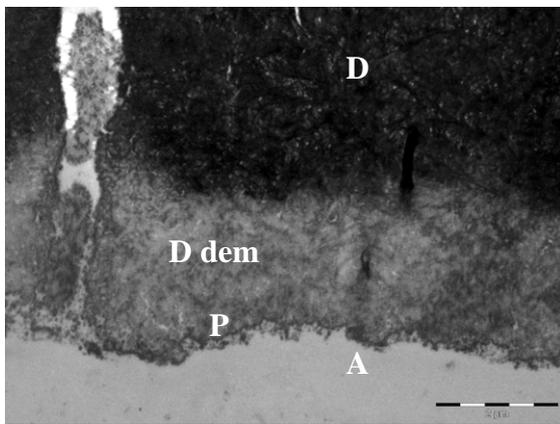


Abb. A274: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

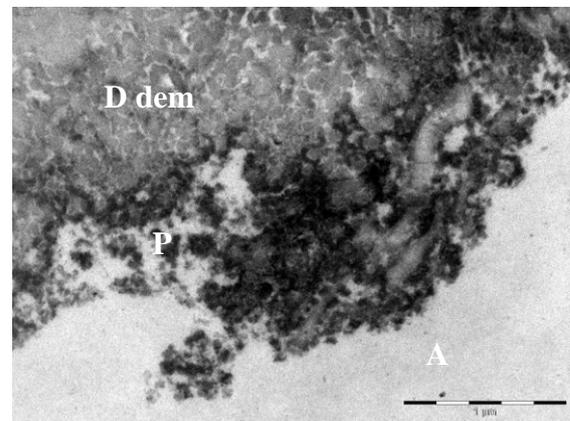


Abb. A275: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

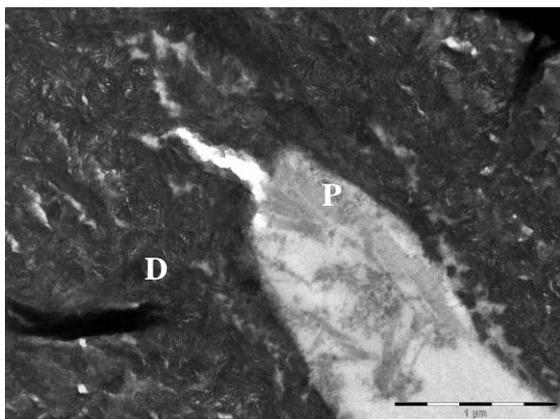


Abb. A276: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung

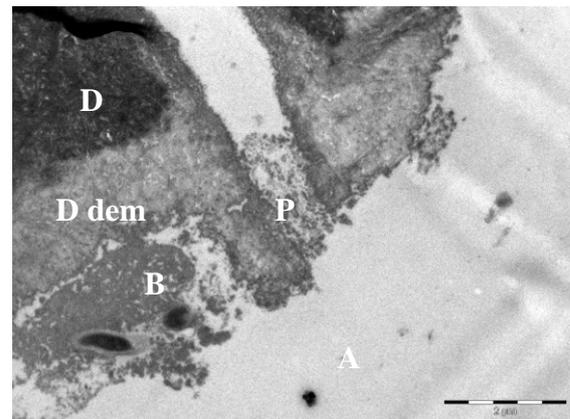


Abb. A277: 30min-Pellikel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 10.000fache Vergrößerung

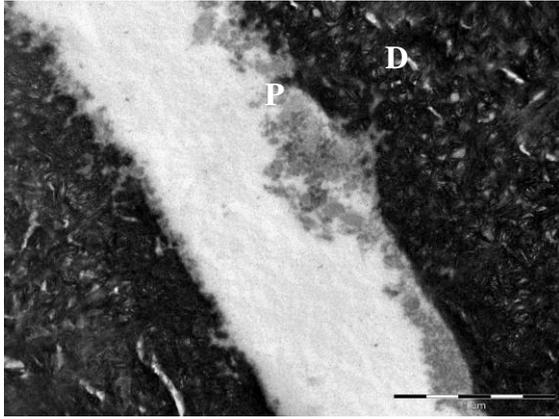


Abb. A278: 30min-Pellicel intraoral 1 Minute mit 1%iger Zitronensäure gespült, danach weitere 60 Minuten Tragezeit (Proband 3) 30.000fache Vergrößerung