

### **3. Modellformen zur Untersuchung biologischer Vorgänge an und in Zahnhartsubstanz**

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

#### **I. Volumenkonstanz**

##### **I.I. Volumenkonstante (Re)Mineralisation**

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

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

Konzentrationen auszugleichen, könnten den Ort des Remineralisationseffektes im Zahnschmelz derart verändern, daß schon oberflächennah interkristalline Poren durch Präzipitate verstopfen, und ein tieferes Eindringen von Ionen verhindert wird (Silverstone et al. 1981).

Außerdem ist die Mineralionenkonzentration ein wichtiger Parameter, das nicht beliebig verändert werden kann.

### I.II. Volumenkonstante Demineralisation

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

## **II. Konzentrationskonstanz (Verfahren mit gleichbleibender Konzentration)**

### II.I. Hochvolumige Durchflußtechnik für De- und Remineralisation

Hierbei wird angestrebt, annähernd gleichbleibende Konzentrationen an wirksamen Stoffen durch den Einsatz besonders hoher Volumina zu erreichen. Ein ständiges konstantes Fließen soll bei Demineralisationen die aus dem Gewebe diffundierten Ionen sofort abtransportieren bzw. bei Mineralisationen einer Verarmung an entsprechenden Stoffen durch ständigen Nachschub vorbeugen. Buskes et al. (1985) verwendeten zur Realisierung dieses Konzeptes eine Apparatur, die bis zu 60 Liter entsprechender Lösungen fassen kann. Kalzium- und phosphatsensitive Elektroden machten eine Kontrolle von Konzentrationsänderungen in den Medien im Bereich von 0,1 Millimol möglich.

Das Problem hierbei besteht im Festlegen der Fließmenge und -geschwindigkeit, die das Auftreten von Erosionen sicher ausschließt. Buskes et al (1985) beschreiben, daß bei ihren Versuchen mit einem Durchfluß von  $300 \text{ ml min}^{-1}$  und einem pH-Wert von 5,0 an den Probenoberflächen kein meßbarer Materialverlust aufgetreten ist

### II.II. Titrationssysteme

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

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

### **3.1. Grundlagen und verschiedene Möglichkeiten zur Erzeugung subfizieller Läsionen**

Um bei in vitro Demineralisationen eine durch ungehinderte Diffusion bewirkte Dissolution der Schmelzkristallite und die dadurch bedingte Entstehung eines Substanzdefektes in Form einer Erosion/Kavitation zu verhindern, müssen Diffusionsbarrieren geschaffen werden, welche die Funktion des intraoral vorhandenen Pellikels und der Plaque simulieren.

Prinzipiell bestehen auf chemischem Weg zwei Möglichkeiten (gel- und lösungspräparierte Läsionen), die Basis unterschiedlicher Modifikationen sind.

Grundlagen für Gele sind hochmolekulare Stoffe, wie z.B. Hydroxyethylzellulose (Sato und Yamamoto 1986) oder Methylzellulose (Ingram und Silverstone 1981), die in gelöster Form die Funktion einer Diffusionsbarriere, in erster Linie für Kalzium- und Phosphationen der Zahnhartsubstanz, übernehmen.

Zur Erzeugung von lösungspräparierten Läsionen werden dem wässrigen Demineralisationsmedium hingegen Kalzium- und Phosphationen zugesetzt, um eine diffusionshemmende Konzentration in Umgebung der Proben zu erreichen und eine "subsurface dissolution" zu fördern (White 1987b). Eine genaue Berechnung der Sättigung gegenüber Hydroxylapatit, dem hauptsächlich vorkommenden Schmelzmineral, ist nötig (Theuns et al. 1983), da bei Übersättigung die Demineralisation zum Erliegen käme.

Magrolis et al. (1985) konnten durch Variation des Sättigungsgrades der Pufferlösung Kavitationen und initialkariöse Veränderungen mit intakter Oberflächenschicht in der selben Zeit erzeugen sowie einen Mineralverlust aus dem Zahnschmelz ganz verhindern. Grundsätzlich gilt: Je höher der

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

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

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

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

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

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

### 3.2. Laborversuche

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

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

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

#### 3.2.1. Demineralisation durch manuelle, einmalige Säureexposition

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

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

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

#### 3.2.2. Demineralisation durch bakteriell produzierte Säuren

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

Hardie et al. (1971) sehen insbesondere darin einen Vorteil, daß von Bakterien produzierte extrazelluläre polymere Oberflächenschichten, speziell Dextran, die Säureeinwirkung modifizieren und "subsurface lesions" liefern, die denen in vivo ähnlicher sind als die anderer Verfahren.

Dummer et al. (1982) führen diese Methode gar als Alternative zur künstlichen Mundhöhle (Kapitel 3.2.4., Seite 12 bis 13) an, da jene kostenintensiv und schwierig zu sterilisieren ist.

### 3.2.3. PH-cycling

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

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

Der Vorteil eines zirkulierenden pH-Wertes liegt in der besseren Nachahmung der Verhältnisse in vivo. Je nach Häufigkeit des Konsumes kariogener Kost treten mehrere Male täglich saure Phasen unterhalb pH 5,7 auf, denen sich nach Neutralisation Remineralisationsintervalle anschließen.

Die diesen Umstand berücksichtigende pH-cycling-Technik wird in vielen unterschiedlichen Modifikationen angewendet. Eine Tage dauernde Demineralisation kann zur Läsionserzeugung dem eigentlichen pH-cycling vorangehen (Hafström-Björkmann et al. 1992), oder es kommt primär gesunder, nicht vorbehandelter Schmelz zum Einsatz (White 1987a; ten Cate et al. 1988; Featherstone et al. 1988). Das Nachschalten einer zweiten kariesfördernden Phase (ten Cate 1982) stellt eine weitere Modifikation des Versuchsablaufes (Abbildung 2, Seite 12) dar.

Ten Cate erwähnte 1989 erstmals einen experimentellen Ablauf mit Hilfe eines Automaten, den er als "pH-cycling robot" bezeichnete. Die Nachteile der manuellen Methode, die in dem hohen Arbeitsaufwand und damit einer relativen Begrenztheit der Zyklen sowie einer Unterbrechung an den Wochenenden bestanden, wurden umgangen. Almqvist et al. (1990, 1993) nutzten eine automatische Versuchsanordnung, die nach dem Prinzip der hochvolumigen

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

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

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

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

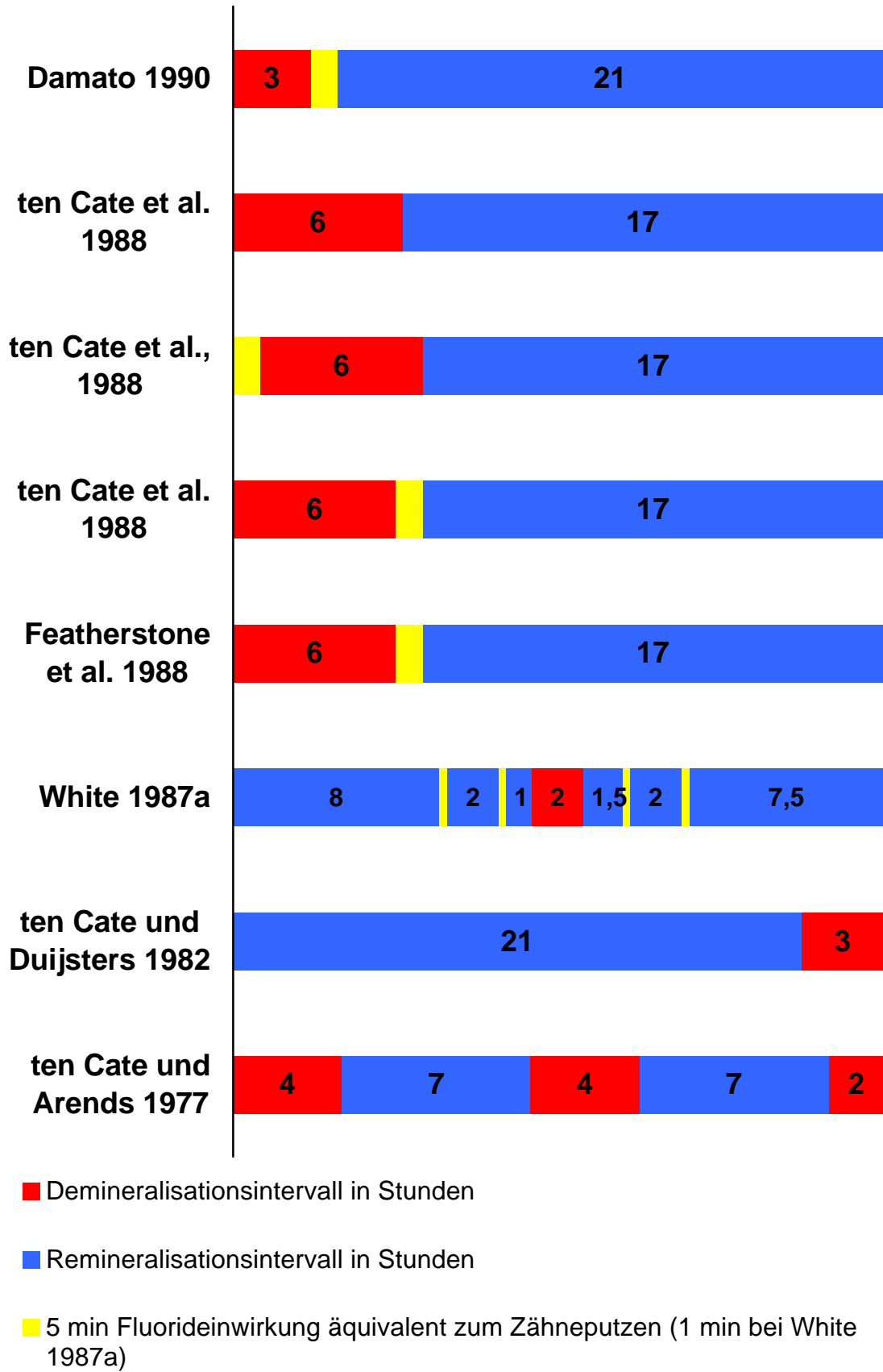


Abb. 1: Tägliche pH-Zyklen mit stündlicher Einwirkdauer verschiedener Medien



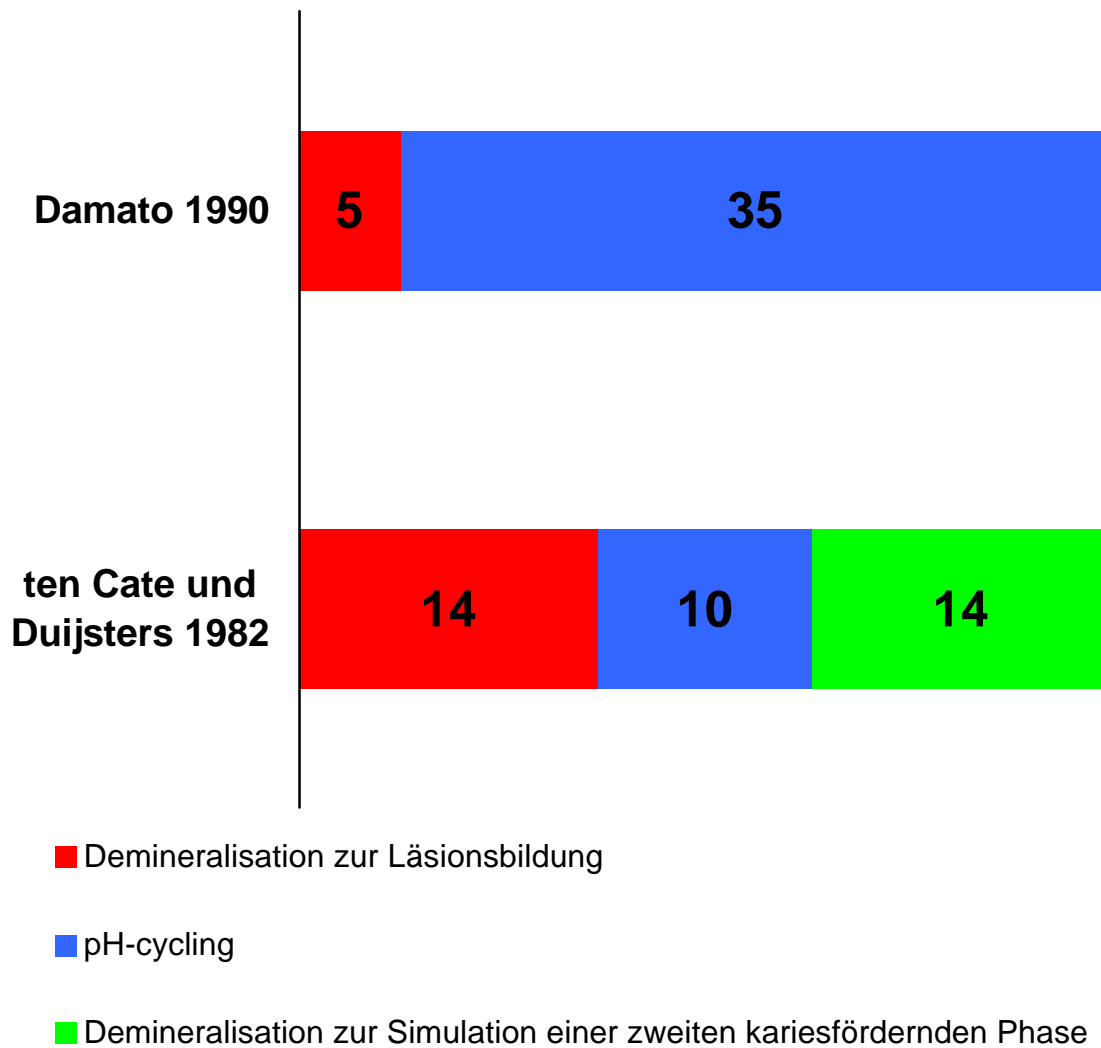


Abb. 2: Gesamtversuchsablauf in Tagen

### 3.2.4. Artificial mouth Systeme

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

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

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

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

### 3.3. In-situ-Modelle

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

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

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

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

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

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

Die Vielzahl zu beachtender Einflüsse, deren eigentliche qualitative und quantitative Erfassung mitunter schon nicht exakt möglich ist (Eßgewohnheiten, bevorzugte Nahrungsmittel), macht deutlich, daß nur Richtwerte berücksichtigt werden können. Absolute Priorität hat jedoch die Compliance, was die Einbeziehung von Kindern und Jugendlichen ausschließt. Stookey (1992) weist darauf hin, daß Erwachsene mit hoher Kariesaktivität zu bevorzugen sind.

Die Kombination einer artifiziell durch pH-cycling erzeugten Karies mit anschließender Remineralisationsbehandlung in situ (Al Katheeb et al. 1997) ist eine Möglichkeit der Kopplung von Labor- mit in-situ-Versuchen.

Die Möglichkeiten der bearbeitbaren Fragestellungen sind äußerst vielfältig. Sie umfassen z.B. die Untersuchung sekundärkariesprotektiver Eigenschaften verschiedener fluoridhaltiger Kompositmaterialien (Dijkman und Arends 1992), den kariesprotektiven Einfluß verschiedener Nahrungs- und Genußmittel (Silva et al. 1986) bzw. deren Einwirkung auf das De- und Remineralisationsgleichgewicht (Lamb et al. 1993) oder das Testen von Kariesprotektiva (Featherstone et al. 1982).

### **3.4. In-vivo-Verfahren**

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

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

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

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

### **3.5. Mathematische Modelle**

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

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

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

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

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

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

### **3.6. Tierversuche**

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

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