

Der Einfluss von Zahnpasten auf die gingivale epitheliale Barrierefunktion

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Gebhardt, Stefanie

aus Schmalkalden/Thüringen

Gießen 2016

Aus dem
Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Poliklinik für Parodontologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. J. Meyle

Gutachter: Prof. Dr. Meyle
Gutachter: PD Dr. Dr. Streckbein

Tag der Disputation: 19.10.2017

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	III
1. Einleitung	1
2. Wissenschaftliche Grundlagen	2
2.1 Das Epithel der Mundhöhle	2
2.2 Das Gingivaepithel	4
2.3 Keratinozyten/Keratine/Intermediärfilamente	6
2.4 Die Barrierefunktion des gingivalen Epithels.....	8
2.5 Zellkontakte im Gingivaepithel.....	9
2.5.1 Die Adhärenz-Kontakte.....	9
2.5.2 Die Desmosomen	10
2.5.3 Die Tight junctions	11
2.5.3.1 Integrale Membranproteine: Occludin, Claudin und JAM	11
2.5.3.2 Die Bedeutung der Zonula occludens Proteine.....	13
2.6 Tight junctions und TER in vitro.....	15
2.7 Laktatdehydrogenase.....	16
2.8 Inhaltsstoffe von Zahnpasten und deren Wirkung.....	17
2.8.1 Natriumlaurylsulfat.....	18
2.8.2 Triclosan.....	18
2.8.3 Zahnpasten mit Pflanzenauszügen.....	21
2.8.4 Zink	21
3. Studienziel.....	22
4. Arbeitshypothesen.....	22
5. Material und Methode.....	23
5.1 Eingesetzte Zellen.....	23
5.2 Verwendete Zahnpasten	24
5.3 Zellbiologische Methoden.....	25
5.3.1 Kultivierung der Zellen	25
5.3.2 Passagieren	26
5.3.3 Zellzählung	27
5.4 Vorbereitungen zum Versuchsstart für den TER	27
5.5 Herstellung der Zahnpastaverdünnungen.....	28
5.6 Versuchsdurchführung TER	29

5.7	Manuelle Messung des TER	29
5.8	Erfassen der Daten für den TER	29
5.9	Statistische Datenauswertung TER und LDH	30
5.10	Vorbereitungen für den Zytotoxizitätstest (LDH-Release)	30
5.11	Versuchsdurchführung LDH	30
5.12	Erfassen der Daten für den LDH	32
6.	Ergebnisse	33
6.1	Entwicklung des TER nach Applikation der Zahnpastaverdünnungen	33
6.2	Paarweise Vergleiche	39
6.3	Zytotoxizität der Zahnpastaverdünnungen	47
6.4	Signifikanzwerte der Zytotoxizitätsmessung	51
7.	Diskussion	54
7.1	TER	54
7.2	Zytotoxizität	62
8.	Zusammenfassung	65
9.	Summary	67
10.	Abkürzungsverzeichnis	V
11.	Abbildungsverzeichnis	VIII
12.	Tabellenverzeichnis	IX
13.	Literaturverzeichnis	XI
14.	Anhang	XXI
14.1	TER – Mittelwerte	XXI
14.2	TER – Paarweise Vergleiche der Mittelwerte mit Signifikanzwerten	XXVI
14.3	TER – Mittelwerte der Verdünnungsstufen	XXXII
14.4	TER – Paarweise Vergleiche der Verdünnungsstufen	XXXVIII
14.5	LDH – Mittelwerte über den Zeitverlauf	XLIX
14.6	LDH – Paarweise Vergleiche mit Signifikanzwerten	LI
14.7	Verbrauchsmaterialien und Geräte	LV
15.	Ehrenwörtliche Erklärung	LVII
16.	Danksagung	LVIII

1. Einleitung

Die gingivale epitheliale Barrierefunktion kann auf physiologische, pharmakologische und pathologische Bedingungen reagieren [118]. Die Integrität des Epithels wird durch verschiedene interzelluläre Kontakte, wie die Tight junctions (TJ), aufrechterhalten. Die Hauptfunktion der TJ besteht in der Ausbildung einer parazellulären, reguliert durchlässigen Barriere und in der Ausbildung einer „Zaunfunktion“ mit der die Zellpolarität aufrechterhalten werden kann. Diese funktionell wichtige Barriere beeinflusst den elektrischen Widerstand zwischen der apikalen Region und der basalen Region des Epithels [118]. TJ sind für die Regulation des parazellulären Flusses von Ionen, Makromolekülen und Immunzellen verantwortlich [8]. Zwischen der Anzahl der TJ-Stränge und dem transepithelialen elektrischen Widerstand (TER) besteht ein logarithmischer Zusammenhang [34, 113].

Die Reaktionen, ausgelöst durch Inhaltsstoffe aus Zahnpasten, auf die Haut oder auf die Mukosa wurden in der Vergangenheit in verschiedenen Studien untersucht [12, 14, 15, 89, 95]. Bestimmte Stoffe, wie z. B. Natrium-Laurylsulfat (SLS), haben ein allergenes Potential und können eine Kontaktdermatitis hervorrufen [9, 17]. Dosisabhängig kann SLS die Zellkontakte der oralen Mukosa und somit die Barriere zerstören [68]. Es kann die Zerstörung der Lipidbarriere auslösen [60, 66]. Zudem kann SLS die Keratinozytenkohäsion negativ beeinträchtigen und Keratine denaturieren, welche für die Struktur von Desmosomen und Tonofilamenten maßgeblich sind [103]. Ebenso wird diskutiert ob SLS Glykoproteine denaturiert [66, 103]. Triclosan und Zink vermögen die desquamative Wirkung von SLS zu vermindern [66].

Das Ziel vorliegender Arbeit war den Einfluss von Zahnpasten auf die gingivale epitheliale Barrierefunktion von immortalisierten Keratinozyten *in vitro* zu untersuchen. Zudem wurden zytotoxische Effekte der Zahnpasten untersucht.

2. Wissenschaftliche Grundlagen

2.1 Das Epithel der Mundhöhle

Epithelien sind Grenzgewebe und kleiden innere Hohlräume des Körpers aus. Sie bilden eine schützende Schicht für tieferliegende Gewebe. Haben diese Epithelien Kontakt zur Außenwelt werden diese als Exoepithelien bezeichnet. Charakteristisch für Exoepithelien ist das Vorhandensein von Desmosomen und Zytokeratinfilamenten.

Die Schichtung des Mundhöhlenepithels ist das Ergebnis von Proliferation und Differenzierung der Stammzellen im Epithel und der sogenannten Transit-amplifying cells (TA), welche neben den Keratinozyten in der Basalzellschicht zu finden sind. Die TA Zellen gehen aus der Teilung von Stammzellen hervor, wobei eine Tochterzelle wieder als Stammzelle fungiert, die andere als TA Zelle. Die Differenzierung von Stammzelle zur TA Zelle wird durch den Transkriptionsfaktor c-Myc reguliert [136]. Bei den TA Zellen handelt es sich um aktive, schnell teilende Zellen mit kurzer Lebensdauer [26]. Sie exprimieren genau wie die Stammzellen Keratin 19 (K19), besitzen wenige Keratin Filamente und einen hohen Gehalt an β -1 Integrinen [75, 136]. Die auslösenden Signalkaskaden für die Differenzierung sind komplex. So verursacht zum Beispiel die Loslösung des α -6/ β -4 Integrin von seinem Liganden in der Basallamina, dem Laminin 5, eine Differenzierung der Zellen [126]. Des Weiteren lösen die Keratinozyten selbst durch autokrine, über Vitamin D3, oder parakrine Prozesse ihre Differenzierung aus [19]. Auch Zytokine und Wachstumsfaktoren aus dem Bindegewebe kontrollieren die Proliferation und Differenzierung [21]. Das Mundhöhlenepithel gliedert sich in das *Stratum (Str.) basale*, *Str. spinosum*, *Str. granulosum* und *Str. corneum* [41, 138].

Bei den Basalzellen handelt es sich um kuboidale Zellen mit runden Zellkernen. Die vorhandenen Zellorganellen nehmen ein geringes zytoplasmatisches Volumen ein. Filamente, bestehend aus K5 und K14, benötigen 25 % des zytoplasmatischen Volumens. Die Basalzellen synthetisieren Typ IV und Typ VII Kollagene, Laminin, Perlecan, ein Proteoglykan, welches in der Basalmembran als Strukturprotein an andere Proteine bindet, Parathyroid hormone-related peptide und Zytokine [55]. Die Basalzellen sind über die darunterliegende Basalmembran mit dem Bindegewebe assoziiert. Die Verbindung zur Basallamina basiert auf einem Zusammenspiel zwischen Zytoplasma, Basalmembran und extrazellulären Proteinen. Hemidesmosomen gelten als Verankerungen für die zytoplasmatischen Keratin-Filamente über verschiedene Proteine. Ankerfilamente bestehend aus Laminin 5

verbinden die hemidesmosomalen Plaques mit der Basallamina und gelten ebenso für die Ankerfibrillen als Terminus. Die Basallamina wird über diese Ankerfibrillen und über Anker-Plaques mit dem Kollagen des Bindegewebes verbunden [55]. Die *Lamina densa* der Basallamina besteht aus Kollagen IV, Laminin, Nidogen, Perlecan und Fibronectin [72]. Interzelluläre Verbindungen zwischen den basalen Zellen werden über Cadherine vermittelt sowie über direkte Verbindungen von α -2/ β -1 mit α -3/ β -1 Integrinen [55].

Im *Str. spinosum* werden vermehrt die Keratine 1 und 10 nachgewiesen, wohingegen die Konzentration der Keratine 5 und 14 sinkt [47]. Charakteristisch sind vermehrte Zellkontakte vermittelt über Desmosomen, Adhärenz Kontakte und Gap junctions [127].

Im *Str. granulosum* sinken die frühen Differenzierungsmarker der Keratinozyten K1 und K10. Während des Verhornungsprozesses bilden das hier auftretende Filaggrin und die K1/K10 Filamente eine stabile Matrix aus [55].

Die Zellen des *Str. corneum* sind ausdifferenziert. Die oberste Zellschicht besteht aus avitalen Zellen, welche sämtliche Organellen autolytisch haben. Diese Zellen weisen keine Bcl2 Expression mehr auf. Bcl2 dient in basalen Keratinozyten als Apoptose-Inhibitor [99].

2.2 Das Gingivaepithel

Die gesunde Gingiva bedeckt den Alveolarknochen und erstreckt sich von marginal der Schmelz-Zement-Grenze bis zur mukogingivalen Grenzlinie. Diese stellt die Grenze zwischen der keratinisierten Gingiva und der nicht keratinisierten Alveolarmukosa dar [28]. Anatomisch teilt sich die Gingiva in die freie, die interdentale und die befestigte Gingiva. Die freie Gingiva umgibt den Zahn und ist nur indirekt mit dem Zahn verbunden. Die befestigte Gingiva ist fest und hat in 40 % der Fälle eine makroskopisch erkennbare Stippelung [28]. Histologisch betrachtet bedeckt das Epithel das darunter lokalisierte zellarme Bindegewebe.

Allgemein wird das Gingivaepithel in das Orale Epithel (OE), das Orale Sulkusepithel (OSE), und das Saumepithel (JE) gegliedert [41, 138].

Das Orale Epithel verläuft von der mukogingivalen Grenzlinie nach marginal und ist ca. 0,2 bis 0,3 mm dick [16]. Es weist eine vierlagige Schichtung bestehend aus *Str. basale*, *Str. spinosum*, *Str. granulare* und *Str. corneum* auf. Im *Str. basale* proliferieren kuboidale Stammzellen durch mitotische Teilung und anschließende Differenzierung. Basalzellen funktionieren als Verbindung des Epithels mit dem Bindegewebe über Hemidesmosomen. Die ausladenden Zellfortsätze der Keratinozyten in der basalen Zellschicht und die sogenannten *Rete Pegs* (Papillarkörper), welche Ausstülpungen der Basalmembran bzw. des Epithels darstellen, ziehen in das darunterliegende Bindegewebe. Die Basalzellen sind über Hemidesmosomen mit der *Lamina densa* der Basallamina verbunden. Typ VII Ankerfibrillen verbinden die *Lamina densa* mit Kollagenfibrillen des Typs I und III fest mit dem darunterliegenden Bindegewebe [55]. Das *Str. spinosum* ist charakterisiert durch die höhere Anzahl an Desmosomen. Namensgebend sind die prominenten, peripheren, zytoplasmatischen Fortsätze. Das Zytoplasma der Zellen ist reich an Tonofilamenten, welche in Plaqueproteine der Desmosomen inserieren. Sie ist die dickste der vier Schichten. Merkelzellen, Langerhanszellen und Melanozyten sind vorhanden [55]. Im *Str. granulosum* sind Keratohyalin granula und viele Tonofibrillen zu finden. Die Zellen dieser Schicht sind aufgrund reduzierter Organellen flach. Die ortho- oder parakeratinisierten Zelllagen des *Str. corneum* bilden abschließend eine schützende Schicht aus flachen pyknotischen Zellen mit sehr vielen Tonofilamenten.

Als orales Sulkusepithel wird ein unverhorntes mehrschichtiges Plattenepithel bezeichnet. Es grenzt marginal an das OE und kleidet die laterale Wand des Sulkus bis zum Saumepithel aus. Im gesunden Epithel beträgt seine Dicke 0,5 mm. Es verläuft

orbikular um den Zahn [16]. Am Boden des Sulkus werden Zellen, die das Saumepithel durchwandert haben, exfoliert. Der Differenzierungsanteil dieses Epithels gliedert sich in eine innere und eine äußere Zone. Die Innere ist ähnlich aufgebaut wie das *Str. spinosum* aber mit weniger Desmosomen und Tonofibrillen. Die Äußere besteht aus Zellen mit reichlichen Organellen [55]. Während einer Gingivitis ist das OSE mit polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten und Lymphozyten infiltriert [56].

Im Saumepithel sind die Basalzellen durch die äußere Basallamina mit dem Bindegewebe verbunden aber im gesunden Epithel nicht verzahnt. Die externe Basallamina besteht aus Kollagen Typ IV, Laminin, Fibronectin und Proteoglykanen [108]. Das Saumepithel besteht aus zwei Schichten. Aus dem *Str. basale*, mit schnell proliferierenden Basalzellen, und dem *Str. suprabasale*, mit Zellen ohne mitotische Aktivität. Die Saumepithelzellen sind parallel zur Zahnoberfläche angeordnet. Die apikale Begrenzung besteht aus wenigen Zellen und endet auf Höhe der Zement-Schmelz-Grenze. Hier geht die interne in die externe Basallamina über. Die Tochterzellen der Basalzellen wandern in Richtung Sulkus. Koronal sind mehr Zellschichten vorhanden, welche sich bis zum Boden des Sulkus ziehen. Über die innere Basallamina der Saumepithelzellen findet eine Verbindung zur Schmelzoberfläche statt, die gebildet wird, sobald die Tochterzellen mit der Zahnoberfläche in Kontakt treten. Die innere Basallamina teilt sich lichtmikroskopisch in zwei Anteile, die *Lamina densa* und die *Lamina lucida*. Über die *Lamina lucida* sind die Epithelzellen über zahlreiche Hemidesmosomen mit der inneren Lamina verbunden, wobei hier keine Keratin Tonofilamente inserieren [55]. Die innere Basallamina enthält Laminin, Proteoglykane und Glykoproteine [108]. An das Laminin können die Zellen über einen Lamininrezeptor binden [55]. Charakteristisch für das JE sind die weiten interzellulären Räume und die hohe Permeabilität für wasserlösliche Substanzen [115]. Bakterielle Antigene, Lipopolysaccharide (LPS) und Enzyme können vom Sulkus zum Bindegewebe durchdringen [84]. Sulkusfluid fließt nach außen in Richtung Sulkus ab. Es enthält Antikörper, Komplementfaktoren und Enzyme. Ebenso bildet das Saumepithel eine Schleuse für neutrophile Granulozyten. [55].

2.3 Keratinozyten/Keratine/Intermediärfilamente

Das Gingivaepithel besteht zu 90 % aus Keratinozyten [46]. Zusätzlich sind Melanozyten, Langerhanszellen und Merkelzellen zu finden [110]. Keratinozyten sind epitheliale Zellen, welche die erste Abwehr gegen bakterielle Infektionen bilden [147]. Verschiedene Mechanismen steuern die Proliferation und die Differenzierung der Epithelien. Keratinozyten exprimieren Zytokine. Nach Stimulation sind sie in der Lage, 20 verschiedene Zytokine zu produzieren. Diese diffundieren in die *Lamina propria* und wirken dort auf Endothelzellen, Fibroblasten und Makrophagen und können chemotaktische Stimuli an Leukozyten vermitteln [46, 55]. Keratinozyten produzieren IL-1 und den IL-1-Rezeptor, ebenso IL-6 und GM-CSF (Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor). Die Freisetzung führt zu einer Aktivierung immunaktiver Zellen. Langerhanszellen reagieren nach Stimulierung mittels IL-1 und GM-CSF mit einer erhöhten Antigen-Prozessierung und Präsentation an Lymphozyten [55]. Nach Stimulierung durch TNF- α oder Interferon- γ produzieren Keratinozyten IL-8, das unter anderem für die Migration und phagozytotische Aktivität der Neutrophilen verantwortlich ist. Des Weiteren können Keratinozyten nach Zytokinstimulierung Kollagen auflösende Enzyme produzieren [55]. Fibroblasten aus der *Lamina propria* sezernieren einen Keratinozyten-Wachstumsfaktor (KGF) [23]. Der analoge Rezeptor wird von Keratinozyten der oralen Mukosa exprimiert [98]. Die parakrine Wirkung des KGF stimuliert die Zellproliferation [109]. Die von Keratinozyten exprimierte Transglutaminase (TGase-K) ist für die Quervernetzung von Zellhüllproteinen mit Glutamin und Lysin verantwortlich [74].

Als wichtige Komponente der zellulären Kontakte stellen die Intermediärfilamente einen bedeutenden Bestandteil der epithelialen Struktur dar. Die Filamente des Gingivaepithels setzen sich aus Proteinen zusammen, welche von den Keratinozyten sezerniert werden, den Keratinen. Die Keratinfamilie besteht aus 20 Mitgliedern. Keratine treten in Epithelien in zwei Formen auf: Typ 1 (sauer) und Typ 2 (neutral-basisch). Bei den neutral-basischen handelt es sich um die Keratine K1 bis K8. Bei den sauren, um die Keratine K9 bis K20. Beide Keratinmonomere haben eine zentrale Domäne bestehend aus vier α -Helices (1A, 1B, 2A und 2B). Diese werden wiederum von drei Segmenten separiert (L1, L2 und L3), welche keine Alpha-Struktur einnehmen. Der strukturelle Unterschied der beiden Typen liegt außerhalb der zentralen Region. So flankieren bei Typ 2-Keratinen, H-1 und H-2 Regionen den zentralen Kern. Bei Typ 1-Keratinen ist dies nicht der Fall. Die H-Domänen sind an der Zusammenlagerung der Filamente beteiligt. Der N-Terminus besteht jeweils aus der

variablen V-1-Domäne und der Amino-Domäne. Der C-Terminus besteht jeweils aus der variablen V-2-Domäne und dem Carboxy-Terminus. Beide Typen der Keratine werden in Epithelien synthetisiert und treten als Heterodimer auf. Die Monomere lagern sich paarig, je ein Typ 1 beziehungsweise ein Typ 2, parallel aneinander und bilden das Dimer. Zwei Heterodimere werden antiparallel zu einem Tetramer organisiert, wobei diese sich zu Protofilamenten zusammenlagern und diese zu Intermediärfilamenten aggregieren [48]. Die Keratine 5 und 14 werden in allen geschichteten Epithelien exprimiert. Die Keratine 1, 2, 10 und 11 werden lediglich in den suprabasalen Zellen verhornender Epithelien, die Keratine 4 und 13 in den suprabasalen Zellen nicht verhornender Epithelien exprimiert. Die Keratine 7, 8, 18, 19 stellen Marker für Merkelzellen dar [110, 114]. Filaggrin wird im *Str. granulosum* synthetisiert und spielt eine Rolle bei der Zusammenlagerung der Zytokeratinbündel im keratinisierten Epithel [122].

2.4 Die Barrierefunktion des gingivalen Epithels

Maßgeblich für die Barrierefunktion des gingivalen Epithels ist die Kohäsion zwischen den einzelnen Zellen, und zwischen dem Epithel und dem darunter befindlichen Gewebe. Durch charakteristische strukturelle Modifikationen der Plasmamembran, bestehend aus Proteoglykanen, entstehen sogenannte Zell-Zell-Kontakte. Dazu gehören Desmosomen und Tight junctions. Epithelien unterscheiden sich von anderen Geweben in ihrer Fähigkeit den Transport von Ionen und ungeladenen Lösungen durch den parazellulären Raum zu regulieren. Dies ist die Voraussetzung um getrennte Kompartimente mit unterschiedlichen Ionenkonzentrationen zu bilden, beziehungsweise zu erhalten. Die Diffusionsbarriere von Epithelien wird über zwei verschiedene Mechanismen kontrolliert, zum einen über den transzellulären Weg, der auf energieabhängigen Transportern und Kanälen beruht. Diese sind apikal und basolateral lokalisiert. Zum anderen über den parazellulären Weg, dessen dichter Verschluss die Ausbildung großer Gradienten erlaubt, ein Charakteristikum „dichter“ Epithelien (z. B. distales Nephron). In permeablen Epithelien ist der Verschluss weniger dicht und erlaubt einen transepithelialen Transport (z. B. proximales Nephron). Der Grad der „Dichtheit“ hängt von der Anzahl der TJ-Stränge ab. TJ sind keine starren Barrieren sondern dynamisch regulierbar [113, 116]. Ferner spielen sie eine Rolle bei der Zellproliferation, der Differenzierung und sie organisieren morphogenetische Prozesse [13, 83, 116]. Beteiligte Proteine sind hier das Occludin, Claudin und Zonula-occludens-Proteine (ZO). Beteiligte Claudine bilden kationenselektive und ladungsselektive Kanäle [6, 35]. Ein anderes Protein namens Tricellulin ist assoziiert mit einem Kontakt der zwischen drei Zellen stattfindet [71]. Zusammen mit Occludin gehört es in die Familie der MARVEL-domain Proteine [116]. Die zytoplasmatischen Plaqueproteine ZO-1, ZO-2 und ZO-3 und die ZO-1 assoziierte Proteinkinase ZAK können untereinander und mit Aktin-Mikrofilamenten interagieren [43, 113].

2.5 Zellkontakte im Gingivaepithel

Neben den Tight junctions sind Adhärenz-Kontakte (AJ), Desmosomen und Gap junctions für die Aufrechterhaltung der epithelialen Integrität und Funktion verantwortlich. AJ und TJ sind mit dem Aktin-Zytoskelett assoziiert.

2.5.1 Die Adhärenz-Kontakte

Die Adhärenz-Kontakte sind Adhäsionsstrukturen, welche zwei benachbarte Zellmembranen bis auf einen 10 – 20 nm breiten Raum verengen, und die Zellen gürtelförmig verbinden. Sie separieren die apikale und die basolaterale Membran von polarisierten Zellverbänden [45]. Sie vermitteln nicht nur Zellkontakte, sondern sind auch wesentlich an Signalwegen, welche das Zellwachstum, die Morphologie und die Differenzierung kontrollieren, beteiligt [61]. Integrierte Cadherin-Moleküle sind Adhäsionsmoleküle und sind über Catenin an zytoskelettale Komponenten gebunden [25]. Ultrastrukturell bilden sich gegenüberliegende Plaques aus, wobei die Aktin-Filamente die Hauptbestandteile dieser Plaques sind [45, 104]. AJ, welche aus Cadherinen aufgebaut sind, stellen Calcium-sensitive Strukturen dar [143]. Die klassischen Cadherine bestehen aus einer Protein-Familie von 20 Mitgliedern, unter ihnen das E-Cadherin [25]. Die extrazelluläre Domäne der Cadherine ist in fünf Subdomänen unterteilt und wird auch EC-Domain genannt. Die Subdomänen enthalten Calcium-bindende Sequenzen, welche die Anordnung der extrazellulären Domänen steuern. Die extrazellulären Domänen benachbarter Zellen gehen homologe Wechselwirkungen ein. Die zytoplasmatischen Domänen der klassischen Cadherine binden an das zytoplasmatische Protein Catenin, wobei der juxtamembranöse Anteil an p120-Catenin und das COOH-terminale Ende an das β -Catenin oder γ -Catenin bindet [30, 86, 101, 102]. Die Catenine wiederum interagieren mit den Aktin-Filamenten. α -Catenin, bindet an β -Catenin wodurch der Cadherin- β -Catenin- α -Catenin-Komplex entsteht. Alpha-Catenin kann mit den Aktin-Filamenten interagieren und mit den Aktin-Bindungs-Proteinen Formin und Vinculin aber auch mit EPLIN (epithelial protein lost in neoplasm) interagieren [40]. EPLIN bindet hierbei an α -Catenin, sobald dieses in oben genannten Komplex eingebunden ist, und verknüpft diesen mit F-Aktin [1].

Nectin gehört zur Familie der Immunglobulinähnlichen Transmembranproteine und ist ebenfalls mit AJ assoziiert. Sie können homo- oder heterophil mit anderen Nectinen interagieren. Das zytoplasmatische Afadin ist der Bindungspartner von Nectin und verbindet dies mit Aktin [94]. Die später entdeckten nicht klassischen Cadherine umfassen die desmosomalen Cadherine, die Protocadherine, Fat, Flamingo und Daschous Cadherine, wobei die desmosomalen den klassischen am ähnlichsten sind [86].

2.5.2 Die Desmosomen

Die Desmosomen wurden erstmals von Bizzozero (1846 – 1901) im *Str. spinosum* der Epidermis beschrieben. Desmosomen nehmen zirkuläre Bereiche benachbarter Plasmamembranen ein. Sie fangen durch die Verbindung mit den intermediären Filamenten Scherkräfte und Druck auf. Zonula adhaerens und Desmosomen bilden zusammen mit den Tight junctions den sogenannten Haftkomplex [44]. Desmosomen zählen zu den interzellulären Verbindungen und fügen die Gewebe mechanisch aneinander [57, 118]. Der Interzellularspalt beträgt 20 – 40 nm. Um eine solche Verbindung der Zellen zu gewährleisten gibt es Zelladhäsionsmoleküle. Die nicht klassischen Cadherine der Cadherin-Superfamilie Desmoglein und Desmocollin sind als Adhäsionsmoleküle beteiligt [31, 32, 63]. Morphologisch können im Desmosom drei Zonen unterschieden werden. Die extrazelluläre Region sowie eine äußere (ODP) und eine innere (IDP) Zone mit dichten Plaques [39]. Die desmosomalen Cadherine Desmocollin und Desmoglein sind Calcium-abhängige Glykoproteine und überbrücken den Interzellularraum, wo sie mit ihrem extrazellulären Anteil die Adhäsion initiieren. Es existieren drei Isoformen von Desmocollin und vier von Desmoglein [31, 36]. Die zytoplasmatischen Anteile sind mit Proteinen der desmosomalen Plaque verbunden. Diese sind Plakoglobin, Plakophilin und Desmoplakin [54, 64, 65]. Plakoglobin bindet direkt an die zytoplasmatischen Schwänze der desmosomalen Cadherine und ist Mitglied der Armadillo Gen-Familie [135]. Desmoplakin, als Mitglied der Plakin Familie, interagiert über sein Aminoende sowohl mit Plakoglobin als auch mit einem anderen Mitglied der Armadillo Familie, dem Plakophilin [33, 58]. Ebenso kontrolliert Desmoplakin über seine Glycin-Serin-Arginin-reiche Domäne am C-Terminus die Verbindung zu den Keratin-Intermediär-Filamenten im Bereich der IDP [58].

2.5.3 Die Tight junctions

Tight junctions werden aus 40 verschiedenen Proteinen gebildet. Beteiligt sind Mitglieder aus Multigen Familien und die drei Transmembranproteine Claudin, Occludin und Junctional Adhesion Molecule (JAM). Des Weiteren sind zytoplasmatische Proteine beteiligt [118]. Die integralen TJ Proteine überspannen apikal den interzellulären Raum ringförmig und kontinuierlich. Zwischen zwei benachbarten Zellmembranen ist der interzelluläre Raum obliteriert. Die TJ sind für die Regulation des parazellulären Flusses von Ionen, Makromolekülen und Immunzellen verantwortlich [8]. Sie regulieren passiv die Diffusion von Ionen und kleinen ungeladenen gelösten Molekülen durch den parazellulären Raum. Die TJ Barriere ist kationenselektiv. Auf zytoplasmatischer Seite der TJ befinden sich elektronenmikroskopisch sichtbare Plaques welche mit Proteinen assoziiert sind [113]. Es wird vermutet, dass TJ Poren bilden können, welche in der Lage sind dynamisch zu reagieren [6, 35, 113, 116]. Weiterhin bestehen sie aus Plaqueproteinen welche PDZ-Domänen exprimieren, die als Verbindung zwischen integralen TJ Proteinen und dem Aktin-Zytoskelett dienen [113]. Die TJ können mit regulatorischen Proteinen, tumorsupprimierenden-, transkriptionellen- und posttranskriptionellen Faktoren assoziiert sein [7].

2.5.3.1 Integrale Membranproteine: Occludin, Claudin und JAM

Occludin wurde 1993 als erstes Transmembranprotein beschrieben [51]. Es handelt sich hierbei um ein ca. 60 kDa großes Protein, welches die Membran vierfach durchspannt. Es besitzt zwei extrazelluläre Schleifen, welche je durch eine kurze zytoplasmatische Schleife voneinander getrennt sind. Sowohl das Amino- als auch das Carboxyende sind zytoplasmatisch lokalisiert. Das Carboxyende ist reich an Serin, Threonin und Tyrosin. Durch die Bindung von ZO-1 stellt es eine Verbindung zum Zytoskelett her. In der ersten extrazellulären Schleife befindet sich ein hoher Gehalt (~63 %) an Tyrosin und Glycin, in der Zweiten ein erhöhter Anteil an Tyrosin. Die extrazellulären Schleifen halten die Zell-Zell-Verbindung aufrecht und sind vermutlich an der Ausbildung der parazellulären Barriere beteiligt [113]. Occludin liegt in Tight junctions vor allem Serin/Threonin phosphoryliert vor [107]. Es wird vermutet, dass Occludin wegen seiner ungeladenen extrazellulären Reste und da es nur in zwei Isoformen vorkommt, nicht fähig ist Poren zu bilden. Die Rolle des Occludins für die Barrierefunktion der Epithelzellen ist nicht hinreichend geklärt. In Versuchen mit

Mäusen, denen das Occludin fehlte, blieben epithelialer und parazellulärer Widerstand gleich [106, 117]. Jedoch konnten barriereähnliche Eigenschaften in Bezug auf Ionen und kleine gelöste Teilchen in anderen Experimenten bestätigt werden [85, 145]. Eine Überexpression in MDCK (Madin Darby canine kidney) Zellen steigert sowohl den TER, dies ist zurückzuführen auf eine reduzierte Ionenpermeabilität, als auch den transepithelialen Fluss [113].

Claudin gehört zu einer Protein-Familie von 24 Mitgliedern. Die Gene dieser Familie codieren Proteine mit einer molekularen Größe von 20 – 27 kDa [92, 130]. Es handelt sich um ein die Membran vierfach durchspannendes Protein, mit kurzen zytoplasmatischen Amino- und Carboxyenden [49]. Claudine setzen sich aus zwei extrazellulären Schleifen mit variabel geladenen Aminosäuren und zwei kurzen intrazellulären Schwänzen zusammen. Die erste extrazelluläre Schleife besteht aus 49 – 52 Aminosäuren und beeinflusst die parazelluläre Ladungselektivität. Die Zweite besteht aus 16 – 33 Aminosäuren. Sie fungiert als Rezeptor für bakterielle Toxine [130]. Der COOH-Terminus endet mit YV (Valin und Tyrosin), außer bei Claudin-12. YV binden an sogenannte PDZ-Domänen von Proteinen und an die Zonula Occludens Proteine ZO-1, ZO-2 und ZO-3. Alle Claudine besitzen am Carboxyende eine PDZ-Domäne welche zytoplasmatische Proteine über deren PDZ-Domäne bindet [92, 113, 116]. Die große Anzahl der verschiedenen Claudine und ein großer Bereich des isoelektrischen Punkts lassen darauf schließen, dass diese Proteine den Bereich der Ionenselektivität in verschiedenen Epithelien beeinflussen und an der Bildung von ionenselektiven Poren beteiligt sind [113]. Claudine sind nahezu essentiell für die Aufrechterhaltung der Barrierefunktion. In Versuchen mit Claudin-1-Knockout Mäusen starben die Tiere innerhalb von 24 Stunden nach Geburt aufgrund von massiven Flüssigkeits- und Elektrolytverlusten [50, 52]. Als Barriere-formendes Element können einige Claudine Kanäle bilden [92]. So ist das Claudin-2 häufig in permeablen Epithelien anzutreffen und formt dort kationenselektive Kanäle [6, 35, 144].

JAM's sind Mitglieder der Immunglobulin Superfamilie und sind ebenfalls mit TJ assoziiert. JAM durchspannt die Plasmamembran einfach und hat zwei extrazelluläre V-Typ Ig-Domänen, dessen NH₂-Ende mit dem homologen Partner der Nachbarzelle interagieren kann. Bei JAM-1 handelt es sich um ein 43 kDa großes glykolisiertes Protein. JAM-1 ist ein Kalzium-abhängiges Adhäsionsprotein. Sein transmembranärer Anteil hat auf der intrazellulären Seite ein COOH-Ende, welches mit der PDZ 3-Domäne des ZO-1 und der PDZ 9-Domäne des Multi-PDZ-Domain-Proteins (MUPP-1) Verbindungen eingehen kann. JAM-1 erleichtert die Migration von Monozyten durch den parazellulären Weg. Weitere Mitglieder dieser Familie sind JAM-2, auf

endothelialen Zellen, JAM-3, auf T-Zellen und Endothelzellen, und JAM-4 auf intestinalen Epithelzellen und auf den Glomeruli der Niere. In Studien konnte herausgefunden werden, dass ZO-1 als Verbindung zwischen JAM-1 und Claudin über seine PDZ 3- und PDZ 1-Domäne dient [82].

2.5.3.2 Die Bedeutung der Zonula occludens Proteine

Die ZO-Proteine spielen eine wesentliche Rolle in der Organisation des Epithels, der Zellstruktur und der Formation der Barriere. Es wird angenommen, dass die ZO-Proteine ebenfalls von großer Bedeutung im Zusammenhang mit der epithelialen Morphogenese und der zytoskelettalen Architektur sind [76]. Die ZO-Proteine gehören zur Familie der Membrane-Associated Guanylate Kinase (MAGUK) Proteine [113]. Es handelt sich hierbei um Multidomain-Polypeptide. ZO-1 ist 255 kDa groß und wurde 1986 entdeckt [125]. Es existieren zwei Isoformen, Zo-1- α^+ und ZO-1- α^- . Der N-Terminus besteht aus drei PDZ-Domänen und kann Verbindungen mit allen TJ Proteinen eingehen. Seine PDZ 1-Domäne kann Claudin binden. Seine PDZ 2-Domäne kann mit ZO-2 und ZO-3 sowie mit dem Gap junction Protein Connexin 43 interagieren. Außerdem kann es mit Occludin Verbindungen eingehen und dieses zum Aktin-Zytoskelett verbinden. Seine PDZ 3-Domäne kann JAM Proteine binden und mit anderen Proteinen wie Ras und Cingulin interagieren. Das ZO-1 Protein hat somit eine Gerüstfunktion. Sein COOH-Terminus dient als Anker zum Aktin-Zytoskelett. Auch die AJ Proteine α -Catenin und Afadin können an den N-Terminus von ZO-1 und ZO-2 binden [73, 81].

Während der Morphogenese oder Reparaturvorgängen von Epithelien müssen neue TJ-Barrieren ausgebildet werden. Während dieser komplexen Prozesse ist die initiale Bildung von adhäsiven Zell-Zell-Kontakten und die Rekrutierung der Transmembranproteine Claudin, JAM, Occludin und Tricellulin, welche an der Ausbildung der parazellulären Barriere beteiligt sind, notwendig [3, 42]. Dabei bildet sich zunächst ein umschriebener Bereich aus Cadherin-Catenin Komplexen zwischen zwei Membranen aus. Diese initialen Kontakte bilden die Zonula adhaerens aus. Es wird hierbei eine Wechselwirkung mit dem Aktin-Zytoskelett über komplexe Signalwege vermutet [142]. Den ZO-1 und ZO-2 Proteinen kommt bei diesen Prozessen die Rolle des TJ-Zusammenbaus zu. In Studien wurden die Auswirkungen des Mangels von ZO-1 und ZO-2 untersucht. Der TJ-Zusammenbau war dadurch verhindert. In anderen Studien konnte im Mausexperiment gezeigt werden, dass eine gezielte

Desorganisation von ZO-1 oder ZO-2 zu Letalität führt, sowie zu einer Störung der parazellulären Barriere und dem Strukturverlust der Zellkontakte [77, 140]. Es wird vermutet, dass die ZO-Proteine an dem Einbau der TJ-Transmembranproteine in die Barriere-Stränge, und an der Eingliederung dieser in den AJC (Apical junctional complex) beteiligt sind. Sie können als vorübergehendes Gerüst für andere Proteine wie Claudin, Occludin oder Tricellulin fungieren. Ihre Fähigkeit Komponenten des Aktin-Zytoskeletts zu binden und Cadherin vermittelte Zell-Zell Kontakte zu fördern, spielen hierbei eine Rolle. Die ZO-Proteine können eine direkte Verbindung des Cadherin-Catenin-Komplexes steuern [73, 81].

2.6 Tight junctions und TER *in vitro*

Das Gingivaepithel hat die Fähigkeit *in vitro* Tight junctions auszubilden ebenso einen transepithelialen elektrischen Widerstand. Dies wurde bereits 1999 in einer Studie von Meyle et al. bestätigt. Humane gingivale Keratinozyten (HGK), MDCK Zellen und HaCaT Zellen wurden im Vergleich mittels Gefrierbruchtechnik, elektronenmikroskopisch und durch Messung des TER untersucht. Bei allen drei Zelltypen konnte das Vorhandensein von Tight junctions demonstriert werden. Bei den HGK konnten *in vitro* Tight junctions geringer Komplexität dargestellt werden. Diese waren größtenteils im Gefrierbruch auf der protoplasmatischen Seite der Zellmembran lokalisiert. Auch Desmosomen wurden nachgewiesen. Die gemessenen TER bewegten sich zwischen den Werten der low resistance-MDCK Zellen und den high resistance-MDCK Zellen [88]. In früheren Studien konnte ebenfalls gezeigt werden, dass MDCK Zellen in der Lage sind, polarisierte Epithelien *in vitro* auszubilden. Des Weiteren waren diese in der Lage Tight junctions als effektive Barriere auszubilden. Dies konnte über einen hohen TER als Marker für die Barrierefunktion gezeigt werden [27].

Die Barrierefunktion des Epithels wird durch Messung des elektrischen Widerstands über dem Epithel bestimmt. Die Fähigkeit einen messbaren TER auszubilden wird in Studien genutzt, um die Integrität eines Epithels unter verschiedenen Einflüssen testen zu können. Es können verschiedene Epithelien verschiedener Organismen miteinander verglichen werden, und der Einfluss verschiedener Substanzen auf verschiedene Epitheltypen untersucht werden. Die Tatsache, dass immortalisierte Keratinozyten ähnliche Eigenschaften aufweisen wie Primärkulturen, erleichtert die wissenschaftliche Arbeit auf unterschiedlichen Forschungsgebieten [59]. Der TER als zuverlässiger Marker für den Nachweis von interzellulären Kontakten wie Tight junctions, dient als solcher auch als Nachweis einer Barriere des Zellverbundes [59]. Der TER wird auf die Epithelfläche bezogen und hat die Einheit $\Omega \times \text{cm}^2$. Eine Zerstörung der TJ Proteine geht mit einer Erniedrigung des TER einher. Der TER ist von der intrazellulären Calcium-Konzentration abhängig. Steigt die Ca^{2+} -Konzentration, sinkt die NaCl Diffusion [97].

2.7 Laktatdehydrogenase

Um die Zytotoxizität der Inhaltsstoffe *in vitro* nachzuweisen, wurde in vorliegender Studie die Enzymaktivität der Laktatdehydrogenase genutzt. Diese wird von zerstörten Zellen freigesetzt und kann im Zellkulturmedium nachgewiesen werden. Die Aktivität der LDH wird mittels eines enzymatischen Tests ermittelt. Nach der Oxidation von Laktat zu Pyruvat durch LDH und einer Reduktion von NAD^+ zu NADH/H^+ folgt die Übertragung von Wasserstoff, katalysiert durch die Diaphorase, auf das Tetrazolium-Salz 2-[4-Iodophenyl]-3-[4-nitrophenyl]-5-phenyltetrazoliumchlorid (INT). In zwei Redoxreaktionen entsteht das rot gefärbte Formazan-Salz, dessen optische Dichte (OD) kolorimetrisch bei 490nm (Referenzwellenlänge 690 nm) gemessen wurde [105]. Die Menge an LDH ist proportional der Menge des Formazan-Salz und proportional der Anzahl der geschädigten Zellen [132].

2.8 Inhaltsstoffe von Zahnpasten und deren Wirkung

Um die orale Mundhygiene effektiv zu gestalten, empfiehlt es sich Zahnpasta zu benutzen. Verbraucher erwarten von einer Zahnpasta mehr, als nur die Entfernung von Nahrungsresten und weichen Belägen. Sie sollte kariespräventiv wirksam sein und in diesem Zusammenhang die Demineralisation reduzieren und die Remineralisation fördern. Sie soll vorbeugend auf bakterielle Plaque und Gingivitis wirken und supragingivale Zahnsteinbildung reduzieren sowie Hypersensibilitäten vermindern. Außerdem sollte sie den Atem erfrischen und gegebenenfalls aufhellende Wirkung besitzen. Der Schwerpunkt der Forschung, die sich mit Zahnpasta beschäftigt, liegt auf dem Ziel multifunktionelle Produkte herzustellen. Die Inhaltsstoffe bedingen die Eigenschaften der Zahnpasten. Sie schützen die Paste vor dem Austrocknen, sind Konsistenzbildner, verbessern den Geschmack und die Farbe. Sie schäumen, bestimmen die Abrasivität und sind Lösungsmittel für nicht wasserlösliche Substanzen. Sie konservieren die Paste und können therapeutische Wirkung haben. Inhaltsstoffe sind unter anderem Wasser (20 – 40 %) und Putzkörper (20 – 40 %), wie Kreide Kalziumkarbonat, Dikalziumkarbonat, Dikalziumphosphatdihydrat, Natriummetaphosphat, Kieselgele, feindisperse Kieselsäure und Aluminiumoxidhydrate. Des Weiteren Feuchthaltemittel (z. B. Glycerin, Sorbit) und Bindemittel wie z. B. Xanthan. Außerdem sind Aromastoffe wie Pfefferminzöl, Menthol oder Eukalyptusöl und Süsstoffe (Saccharin, Aspartam, Xylit) enthalten. Tenside, wie das anionische Natriumlaurylsulfat aber auch kationische, nichtionische Tenside und Amphotenside gehören zu den Inhaltsstoffen. Ebenso sind Konservierungsstoffe (z. B. PHB-Ester, Benzoesäure) und Farbstoffe (z. B. Indigotin) enthalten. Als therapeutische Wirkstoffe werden Fluoride (Natriumfluorid, Natriummonofluorophosphat, Zinnfluorid) für die Karieshemmung und die Remineralisierungsförderung zugesetzt, außerdem Plaquehemmer wie Chlorhexidin oder Triclosan. Pyrophosphate, Polyphosphate, Phosphonate und Zinkcitrat als Zahnsteininhibitoren. Vitamine und Pflanzenextrakte können enthalten sein, außerdem Adstringenzen wie Aluminiumchlorid oder Aluminiumlaktat [123, 137].

2.8.1 Natriumlaurylsulfat

Beim Natriumlaurylsulfat (Sodiumlaurylsulphate) handelt es sich um ein anionisches Tensid. Chemisch handelt es sich um ein Monoester der Schwefelsäure, bestehend aus einer langkettigen Alkylgruppe (C₁₂) und einem modifizierten Sulfatanion mit einem Natriumkation. Es besitzt ein gutes Schaum-, Netz- und Waschvermögen [29]. Es ist ein wichtiger Bestandteil einiger Zahnpasten, ebenso gehört es zu den Inhaltsstoffen einiger Shampoos, Handwaschmittel und Waschmittel. SLS ist ein potenter antimikrobieller Zusatz mit antibakteriellen Effekten *in vitro* und *in vivo* [90, 91]. Verschiedene Studien haben einen möglichen allergieauslösenden und hautreizenden Effekt durch SLS untersucht. Die Applikation von SLS kann zu einer dosisabhängigen Kontakt-Dermatitis führen. Die Ursache darin liegt in einem dosisabhängigen Anstieg der Wasserdurchlässigkeit der Epidermis [9, 17].

2.8.2 Triclosan

Das nichtionische, antimikrobielle Triclosan gehört zu den polychlorierten Phenoxyphenolen. Triclosan wird in Kosmetikartikeln, wie zum Beispiel Zahncreme, Deodorants und Seifen eingesetzt, auch in Haushaltsreinigern und Waschmitteln. Es besitzt eine antiseptische und desodorierende Wirkung. Es ist ein biozider Wirkstoff und ein Bestandteil von Desinfektionsmitteln, die in Arzt- und Zahnarztpraxen sowie in Krankenhäusern eingesetzt werden. Häufig ist er als bakterienhemmender Zusatz und Konservierungsmittel in Zahnpasten enthalten [66]. In der Vergangenheit wurde in mehreren Studien bereits darüber berichtet, dass Triclosan eine potente antibakterielle Wirkung hat. So verglichen Wade und Addy 1992 vier verschiedene triclosanhaltige Zahnpasten mit Fluoridzahnpasten und mit Lösungen, welche Triclosan und SLS in Kombination oder einzeln beinhalten, bezüglich ihrer antibakteriellen Wirkung. Die meisten Mikroorganismen reagierten ähnlich auf Triclosan wie auf SLS. Ausnahmen bildeten *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.) Stämme, deren Proliferation mehr durch Triclosan gehemmt wurde und *Prevotella intermedia*, deren Proliferation mehr durch SLS gehemmt wurde. Zur antibakteriellen Aktivität triclosanhaltiger Zahnpasten wurde gezeigt, dass Zahnpasten welche zusätzlich Zinkcitrat enthalten effektiver sind, als solche die keines enthalten. Die antibakterielle Wirkung von SLS und Triclosan in Kombination ist nur geringfügig höher als die Verwendung der einzelnen Substanzen, beide ergänzen sich jedoch in ihrer Wirkung gegenüber verschiedenen Mikroorganismen [134]. Die Antiplaque-Aktivität und der Effekt auf die

Entwicklung einer Gingivitis durch Triclosan untersuchte Saxton et al. (1986). Die Forschungsgruppe untersuchte den Effekt von Zahnpasten, welche in Kombination oder einzeln, 1 % Zinkcitrat und 0,5 % Triclosan enthielten. Zinkcitrat und Triclosan in Kombination zeigten die deutlichste Verminderung der Plaqueakkumulation [111]. In weiteren Studien konnten diese Ergebnisse unter Verwendung niedrigerer Konzentrationen von Zinkcitrat (0,5 %) und von Triclosan (0,2 %) bestätigt werden [112, 124]. In früheren Studien wurde demonstriert, dass nach der Spülung mit wässrigen Verdünnungen (Slurriers) von Colgate Total (Natriumfluoride, Triclosan 0,3 %, Sodymlaurylsulphate) über vier Tage eine plaquehemmende Wirkung eintrat [20]. Zudem können Kurzzeiteffekte einer Parodontalbehandlung unter Verwendung einer triclosanhaltigen Zahnpasta verlängert werden. Kerdvongbundit et al. (2003) untersuchte den Effekt einer Triclosan/Copolymer/Fluorid-Zahnpaste auf den Heilungsprozess nach einer PAR Therapie bei Rauchern. Als Ergebnis der 24-monatigen Studie wurden bei der Testgruppe deutlich verbesserte Mundhygiene-Bedingungen, gingivale Gesundheit und ein verbesserter parodontaler Status ermittelt. [78]. Die Wirkung von Triclosan auf die Mediatoren der gingivalen Entzündung untersuchten Gaffar et al. (1995). Die Forschergruppe zeigte, dass die antiinflammatorische Wirkung von Triclosan auf einer Hemmung der Stoffwechselwege, welche Entzündungsmediatoren bereitstellen, beruht. So wurden die Enzyme Cyclooxygenase I und II, die 5-Lipoxygenase und die 15-Lipoxygenase durch Triclosan gehemmt [53]. Triclosan kann die Nebenwirkungen von SLS, wie Abschuppung des Epithels und brennende Schmerzen, reduzieren [133]. Auch die Hautreaktionen, die SLS auslöst, können von Triclosan gemindert werden [14]. Eine Studie untersuchte die Wirkung von Triclosan nach Nিকেlexposition auf der Haut mittels Patch-Test. Die lokalen Symptome der Patienten mit Nickelallergie konnten durch die Applikation von Triclosan reduziert werden. Die Autoren vermuteten, dass Triclosan die von den Lymphozyten exprimierten Entzündungsmediatoren hemmt [15].

Bei dem vermehrten Einsatz von Triclosan, in für den Verbraucher zugänglichen Produkten (Haushaltsreiniger oder Körperpflegeprodukte) mit geringen Konzentrationen, kann es zur Selektion resistenter Erreger kommen. So können *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* Resistenzen gegenüber Triclosan entwickeln [22]. Der Hemmmechanismus von Triclosan zielt auf die in Mikroorganismen vorhandene Enoyl-Acyl-Carrier Protein-Reductase ab. Triclosan bindet an die aktive Seite des Enzyms und hemmt dieses. Das Enzym ist essentiell für die Fettsäure-Biosynthese von grampositiven und gramnegativen Bakterien. Bei niedrigen Konzentrationen von Triclosan kann es zu Punktmutationen

und Resistenzbildungen kommen [22]. 2004 zeigten Randall et al. in einer *in vitro* Studie, dass sich die durchschnittliche Mutationshäufigkeit von Antibiotika- oder Cyclohexanresistenzen um den Faktor 10 bis 100 bei Stämmen von *Salmonella enterica* erhöhten, wenn diese zuvor mit Triclosan behandelt wurden [100].

Die Struktur von Triclosan ist ähnlich derer von Schilddrüsenhormonen. Bei Tierversuchen kam es bei Ratten zu einer dosisabhängigen Reduktion von Thyroid-Hormonen [148]. Beim Menschen konnte dieser Effekt nicht nachgewiesen werden. Ein Einsatz triclosanhaltiger Zahnpasta über vier Jahre führte zu keiner klinisch relevanten Veränderung der Schilddrüsenfunktion [5]. In einer weiteren Studie wurde eine gestörte Genexpression von Thyroid-Hormonen, nach Exposition von Triclosan, in Kaulquappen analysiert, was eine verfrühte Metamorphose induzierte [131]. Es besteht außerdem ein Zusammenhang zwischen der Exposition mit Triclosan und dem Nachweis von Triclosan in Muttermilch, Plasma und Urin [4]. Triclosan kann vom Menschen absorbiert und im Körperkreislauf verteilt werden. Die Plasmakonzentrationen können mit der Verwendung von triclosanhaltigen Produkten korrelieren [4]. Bei Tierversuchen mit Mäusen konnte gezeigt werden, dass eine Triclosanverabreichung chronische Leberschäden und Apoptose verursachte. Überlebende Hepatozyten proliferierten kompensatorisch, und es entwickelte sich eine Leberfibrose. Die beschriebenen hepatischen Veränderungen könnten mögliche ätiologische Faktoren für die Entstehung von Leberkrebs beim Menschen darstellen [146].

Durch den vermehrten Einsatz von Triclosan in z. B. Handwaschseifen, Deodorants oder Zahnpasten in den letzten Jahrzehnten kam es zu einer Anreicherung von Triclosan in Abwässern. Aufbereitetes Abwasser enthält immer noch Reste von Triclosan. Diese können durch Einwirkung von Sonnenstrahlung in giftige Dioxinverbindungen übergehen [24].

2.8.3 Zahnpasten mit Pflanzenauszügen

Die multifaktoriellen Eigenschaften pflanzlicher Inhaltsstoffe können sowohl antiseptische, antiinflammatorische, antibakterielle, antifungale, fungistatische, virustatische, antiallergene, adstringierende und antispasmodische Wirkung aufweisen [38, 62, 132]. Sie können jedoch auch Kontaktallergien und Ekzeme auslösen oder zytotoxisch wirken [38, 79, 96, 128, 132].

Die antibakteriellen Eigenschaften von Pflanzenauszügen wurden in der Vergangenheit in verschiedenen Studien untersucht [67, 129]. Van der Weijden et al. (1998) testeten *in vitro* die hemmende Wirkung von drei pflanzlichen Auszügen. Es handelte sich dabei um eine Mischung aus Wacholder, Nesseln und Schafgarbe 1:1:1. Diese wurden gegen Mikroorganismen eingesetzt. Außerdem untersuchten sie *in vivo* den Effekt von Mundspülungen, die Auszüge dieser Kräuter enthielten, auf Plaque und Gingivitis. In der Studie hatten die Mundspüllösungen keinerlei Wirkung auf Plaque und Gingivitis. Es konnte eine geringe antibakterielle Wirkung gegen *Streptococcus mutans* gezeigt werden. *Streptococcus mitis* reagierte auf die Pflanzenauszüge am sensitivsten, es resultierte eine Wachstumshemmung [129]. Heisey et al. (1992) testeten die antibakteriellen Effekte von 60 Pflanzenauszügen auf *S. mutans* und andere Mikroorganismen. Wachholder zeigte einen inhibitorischen Effekt auf das Wachstum von *S. mutans*. Brennnessel und Schafgarbe wiederum zeigten keinerlei antimikrobielle Aktivität [67]. Die Zahnpasta Parodontax enthält eine Mischung aus Myrrhe, Echinacea, Kamille und Ratanhia. Versuche zeigten, dass diese das Wachstum von *S. mutans* und *Actinomyces viscosus* hemmen kann [141]. In einer Vergleichsstudie, zwischen einer Zahnpasta ohne pflanzliche Auszüge und Parodontax, gab es keine signifikanten Unterschiede in der Effektivität hinsichtlich der Plaque- und Gingivitis-Kontrolle. Beide Zahnpasten waren diesbezüglich ähnlich wirksam [93].

2.8.4 Zink

Zink hat einen stabilisierenden Effekt auf die Mukosa. Es reagiert mit negativ geladenen Membranproteinen [18]. Die Kombination von Triclosan und Zink vermindert durch SLS hervorgerufene Hautirritationen stärker als Triclosan allein [120]. Lösungen mit Triclosan und Zink verminderten signifikant erythematöse Effekte von SLS auf oraler Mukosa [119].

3. Studienziel

Das Ziel dieser Studie war die Untersuchung des Einflusses verschiedener kommerziell erhältlicher Zahnpasten auf die gingivale epitheliale Barriere *in vitro*. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen dazu beitragen, aufzuklären, ob Inhaltsstoffe die Barrierefunktion des Gingivaepithels beeinflussen. Es sollte der Verlauf der Entwicklung des TER unter Einfluss der Zahnpasten in den Verdünnungsstufen 1:100 und 1:1000 untersucht werden. Weiterhin sollte die Zytotoxizität der Zahnpasten getestet werden.

4. Arbeitshypothesen

H1 = Die Inhaltsstoffe von Zahnpasten haben einen Einfluss auf die epitheliale Barrierefunktion. Sie zerstören Zellkontakte konzentrationsabhängig und induzieren dadurch einen Zusammenbruch des TER.

H2 = Die Inhaltsstoffe von Zahnpasten haben konzentrationsabhängig ein zytotoxisches Potential.

5. Material und Methode

Es handelte sich um eine *in vitro* Studie. Die Zahnpasten wurden einfach verblindet getestet. Die Auswirkungen auf die Barrierefunktion des Epithels wurden mit Hilfe der Messung des transepithelialen elektrischen Widerstands und eventuelle zytotoxische Wirkungen der Zahnpasten mittels LDH-Release-Test (Laktat-Dehydrogenase Test) ermittelt.

Sämtliche Arbeiten wurden unter einer sterilen Werkbank durchgeführt. Alle verwendeten Lösungen und Medien wurden auf 37°C temperiert.

5.1 Eingesetzte Zellen

Primäre humane Keratinozyten sind *in vitro* nur bedingt einsetzbar. Neben ihrer begrenzten Verfügbarkeit haben sie eine kurze Lebensspanne und können oft nur 6 – 10 Passagen kultiviert werden [88]. In einer früheren Studie wurden, mittels der Onkoproteine E6 und E7 des Humanen Papillomavirus (HPV), primäre Keratinozyten immortalisiert [59]. Mittels Durchflusszytometrie konnte der Nachweis eines vergleichbaren Zytokeratinmusters zwischen primären Keratinozyten und den genetisch veränderten Zellen gezeigt werden. Es konnten in beiden Zellarten die Zytokeratine 2, sowie Involucrin und Filaggrin als Marker für die Differenzierung von Zellen nachgewiesen werden. Zytokeratin 19, als Marker für die proliferative Kapazität von einfachen Epithelien, wurde sowohl in primären als auch in immortalisierten Zellen gefunden. Claudin 1 als eine der Hauptkomponenten der Tight junctions [49], wurde durch Immunfärbung ebenfalls in den immortalisierten Zelllinien nachgewiesen. Die Zelllinien waren in der Lage einen transepithelialen elektrischen Widerstand auszubilden, was mit der Ausbildung von Tight junctions korreliert [88]. Sowohl primäre als auch immortalisierte Keratinozyten wiesen einen über mehrere Tage stabilen TER auf.

In vorliegender Studie kamen immortalisierte humane gingivale Keratinozyten der Zelllinie Gie NO3B11 (applied Biological Materials Inc, Richmond, Canada) zum Einsatz.

5.2 Verwendete Zahnpasten

Vier verschiedene Zahnpasten (Tabelle 1), in jeweils 2 Chargen, wurden untersucht. Die Versuche erfolgten jeweils in drei unabhängigen Ansätzen.

Tabelle 1: Verwendete Zahnpasten und deren Inhaltsstoffe

Substanz	Hersteller	Ort	Land	Inhaltsstoffe / Herstellerangaben
Colgate Total Advanced whithening	Colgate Palmolive	Hamburg	DE	Aqua ,Hydrated Silica, Glycerin, Sorbitol, PVM/MA Copolymer, Sodium Lauryl Sulfate , Aroma, Cellulose Gum, Sodium Hydroxide, Sodium Fluoride, Carrageenan, Triclosan , Sodium Saccharin, Mica, Limonene, CI 77891, CI 42090
Dontodent Kräuter	dm- Drogerie- Markt	Karlsruhe	DE	Aqua, Sorbitol, Hydrated Silica, Sodium C14-16 Olefin Sulfonate, Aroma, Cellulose Gum, Disodium Pyrophosphate, Tetrapotassium Pyrophosphate, Chamomilla Recutita Flower Extract, Salvia Triloba Leaf Extract, Commiphora Abyssinica Resin Extract, Mentha Arvensis Herb Oil , Sodium Fluoride, Sodium Saccharin, CI 42090, CI 47005, CI 77891
Rot Weiss	DENTAL Kosmetik GmbH + Co KG	Dresden	DE	Aqua, Calcium Carbonate, Hydrated Silica, Propylene Glycol, Glycerin, Sorbitol, Sodium Lauryl Sulfate , Cellulose Gum, Aroma, Sodium Monofluorophosphat, Sodium Saccharin, Sodium Methyparaben, Limonene
Aronal	GABA	Lörrach	DE	Aqua, Aroma, Cellulose Gum (Carboxymethylcellulose) CI 77891 (Titanium Dioxide, weiß) Glycerin, Hydrated Silica, Limonene, PEG-12, Potassium Hydroxide, Potassium Nitrate, PVM/MA Copolymer, Sodium Fluoride, Sodium Lauryl Sulfate , Sodium Saccharin, Sorbitol, Tetrapotassium, Pyrophosphate, Xanthan Gum, Zinc Citrate

5.3 Zellbiologische Methoden

5.3.1 Kultivierung der Zellen

Als Zellkulturmedium für die immortalisierten Keratinozyten wurde ein Medium modifiziert nach LAUER verwendet [80]. Für 200 ml Medium wurde eine Lösung aus den in Tabelle 2 dargestellten Substanzen hergestellt.

Tabelle 2: Substanzen Medium modifiziert nach LAUER

Substanz	Hersteller	Ort	Land
Cholera Toxin (10^{-7} M/ml) Vibrio cholera Type Inaba 569 B Azide free	List Biological Laboratories, Inc.	California	USA
DMEM (Dulbecco's modified Eagle's minimal essential medium), High Glucose 1x, no Glutamine, no Calcium, no HEPES, no Sodium Pyruvate	Invitrogen Gibco 21068028	Auckland	NZ
Ham's-F12 Nutrient Mixture 1x + L-Glutamine	Invitrogen Gibco	Auckland	NZ
HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) Buffer (1 M)	Gibco life Technologies	Auckland	NZ
Human-Epidermal Growth Factor (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Gibco	Auckland	NZ
Hydrocortison (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	Sigma-Aldrich	St.Louis	USA
Insulin-Transferrin-Selenium-X 100 x	Invitrogen Gibco	Auckland	NZ
Pen/Strep (Penicillin-Streptomycin Mixtur) (10^4 U/ml)	Gibco	Auckland	NZ

Die Zellen wurden in 200 ml Zellkulturflaschen in 15 ml Zellkulturmedium modifiziert nach LAUER kultiviert.

5.3.2 Passagieren

Bei Bildung eines homogenen Zelllayers tritt eine Kontaktinhibition auf. Um dies zu vermeiden wurden die Zellen zweimal wöchentlich passagiert, nachdem die Konfluenz lichtmikroskopisch überprüft wurde. Zunächst wurde das verbrauchte Medium mit einer sterilen Glaspipette entfernt. Danach erfolgte ein PBS (Phosphate Buffered Saline) - Waschschrift.

Tabelle 3: Substanzen Passagieren

Substanz	Hersteller	Ort	Land
Fetales Kälberserum (FCS) 10 % (komplementinaktiviert)	Biochrom AG	Berlin	DE
Medium (modifiziert nach LAUER)	SIEHE ÜBERSICHT MEDIUM MODIFIZIERT NACH LAUER		
PBS-/-, pH 7,4 Phosphate Buffered Saline 10x	Invitrogen Gibco	Auckland	NZ
Trypsin-EDTA-Lösung 10 x (mit PBS verdünnt → 1 x)	Gibco	Auckland	NZ

Anschließend wurden die Zellen mit 2 ml Trypsin-EDTA (-Ethyldiamintetraacetat) benetzt und inkubiert, bis sie sich vom Boden der Zellkulturflasche ablösten. Danach wurde den Zellen Medium modifiziert nach LAUER (4 ml), versetzt mit 5 % Fetalem Kälberserum, hinzugefügt. Fetales Kälberserum (FCS) enthält eine Reihe natürlicher Proteaseinhibitoren, welche die Wirkung des Trypsins stoppen. Die Lösung wurde sorgfältig resuspendiert. Die Menge an Suspension wurde 1:3 auf zwei große Flaschen gesplittet. Die neue Passagennummer wurde registriert.

5.3.3 Zellzählung

Von der gelösten homogenen Zellsuspension wurden 10 µl mit der Neubauer-Zählkammer unter dem Lichtmikroskop analysiert. Ausgezählt wurden die vier Eckquadrate, anschließend wurde der Mittelwert gebildet. Aus der Größe der Zählkammer ergibt sich der Multiplikator 10^4 mit der die Zellzahl pro Volumeneinheit (ml) ermittelt wurde.

5.4 Vorbereitungen zum Versuchsstart für den TER

Die Zellen wurden wie beschrieben mittels Trypsin gelöst und mit Medium (modifiziert nach LAUER, 2 ml/5 % FCS) abgestoppt. Anschließend wurden sie ausgezählt. Verwendet wurden Zellkulturplatten mit 24 Vertiefungen (Well) und zugehörige Einsätze (Insert) (Tabelle 64). Pro Insert sollte die definierte Zellzahl $3,25 \times 10^5$ Zellen betragen. Nach Berechnung der benötigten Menge der Zellsuspension und des Mediums wurde die jeweilige Menge an Suspension für 5 Minuten bei 1000 Rotationen pro Minute (Rpm) zentrifugiert. Der Überstand wurde entfernt und verworfen und das Pellet mit dem berechneten frischen Medium versehen. Auf die 24-Well-Platte wurden folgende Ansätze verteilt.

- 1 × Blank: basal 900 µl Medium (modifiziert nach LAUER), apikal 400 µl Medium (modifiziert nach LAUER)
- 2 × Kontrolle: basal 900 µl Medium (modifiziert nach LAUER), apikal 400 µl Zellsuspension
- Pro Zahnpasta je zwei Wells/Inserts für die Verdünnungsstufen 1:100 und 1:1000, basal 900 µl Medium (modifiziert nach LAUER), apikal 400 µl Zellsuspension

Die Well-Platte wurde inkubiert und nach 24 Stunden (Adhärenz) die erste TER-Messung durchgeführt.

Anschließend wurde das apikale und das basolaterale Medium in allen Ansätzen gegen ein Kulturmedium gewechselt, welches die Differenzierung der Zellen induzieren soll. Das Fehlen proliferationsfördernder Substanzen wie Epidermal Growth Factor (EGF), Hydrocortison, Insulin-Transferrin-Selenium sowie der Zusatz von Kalzium (264

mg/L) und FCS soll die Differenzierung der Zellen induzieren (Tabelle 4). Der Prozess der Differenzierung beinhaltet die Bildung von TJ und ist eine Voraussetzung für die Entwicklung des TER [88].

Tabelle 4: Substanzen Kulturmedium zur Differenzierung

Substanz	Hersteller	Ort	Land
DMEM (Dulbecco's modified Eagle's minimal essential medium), Low Glucose, L-Glutamine, Sodium Pyruvate, no HEPES	Invitrogen Gibco 31885023	Auckland	NZ
Fetales Kälberserum (FCS) 10 % (komplementinaktiviert)	Biochrom AG	Berlin	DE
Ham's-F12 Nutrient Mixture 1x + L-Glutamine	Invitrogen Gibco	Auckland	NZ
HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) Buffer (1 M)	Gibco life Technologies	Auckland	NZ

Nach weiteren 24 Stunden wurde erneut eine TER-Messung (0 Stunden-Wert) durchgeführt um festzustellen, ob der TER ausgebildet und stabil ist.

5.5 Herstellung der Zahnpastaverdünnungen

5 g der entsprechenden Zahnpasta wurden abgewogen und mit 5 ml sterilem destilliertem Wasser versetzt. Anschließend wurde beides im Vortex-Mischer gründlich vermischt (für ca. 10 min). Danach wurde die Mischung für 15 min bei 6000 Rpm zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde mit Kulturmedium zur Differenzierung auf die Verdünnungsstufen 1:100 und 1:1000 verdünnt.

5.6 Versuchsdurchführung TER

Das Kulturmedium wurde sowohl apikal als auch basolateral in allen Ansätzen vorsichtig abpipettiert und verworfen. Bei den Blanks und den Kontrollen wurde apikal und basolateral das Kulturmedium zur Differenzierung erneuert. Bei den Ansätzen der Zahnpastaverdünnung wurde basolateral das Kulturmedium zur Differenzierung erneuert. Je 400 µl der einzelnen Verdünnungsstufen der Zahnpasten wurden in die dafür vorgesehenen Inserts apikal auf die Zellen gegeben. Die Zahnpastaverdünnungen verblieben während des gesamten Versuchszeitraums auf den Zellen. Die Messung des TER erfolgte zu Versuchsbeginn $t = 1$ h stündlich bis $t = 8$ h. Anschließende Messungen erfolgten nach $t = 24$ h, $t = 48$ h und $t = 72$ h. In allen Ansätzen erfolgte während des Versuchs basolateral ein Wechsel des Kulturmediums zur Differenzierung.

5.7 Manuelle Messung des TER

Die Widerstandsmessungen wurden mittels Voltohmmeter (Millipore) durchgeführt. Die Messung erfolgte für jedes Insert an drei verschiedenen Stellen. Die Messelektrode wurde anschließend für 15 min in 70 % Ethanol desinfiziert und danach bis zur nächsten Messung in PBS -/- aufbewahrt.

5.8 Erfassen der Daten für den TER

Für die Kontrollen, die Blanks und die Ansätze der Zahnpastaverdünnungen wurden jeweils drei Einzelwerte gemessen. Diese Daten wurden in eine Excel-Tabelle übertragen. Aus den Einzelwerten wurde je Ansatz der Mittelwert ermittelt. Anschließend wurde dieser mit der Epithelfläche multipliziert und der Leerwiderstand wurde subtrahiert. Man erhält den berechneten TER in $\Omega \times \text{cm}^2$. Aus dem berechneten TER-Werten wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen für die einzelnen Zahnpasten und deren Verdünnungsstufen gebildet. Diese wurden grafisch in Microsoft Excel dargestellt. Die Entblindung erfolgte vor der statistischen Auswertung.

5.9 Statistische Datenauswertung TER und LDH

Die statistische Auswertung der drei Versuche erfolgte mittels einer mehrfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholungen (engl. Analysis of variance, kurz: ANOVA) im Institut für medizinische Informatik und Statistik der Justus-Liebig-Universität Giessen. Es handelte sich um eine explorative Datenanalyse. Die Ergebnisse der Signifikanztests wurden als adjustierte p-Werte dargestellt ($p_{adj\ fdr}$). Die fdr (false discovery rate) wurde von Benjamini und Hochberg (1995) entwickelt, um den p-Wert für multiples Testen zu adjustieren. Dabei wird der p-Wert der größten Unterschiede am wenigsten korrigiert. Der p-Wert der kleinsten Unterschiede am stärksten.

5.10 Vorbereitungen für den Zytotoxizitätstest (LDH-Release)

Für die Zeitpunkte 8 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden und 72 Stunden wurde jeweils eine 96-Well Platte vorbereitet. Die eingesetzte Zellzahl pro Well betrug $0,5 \times 10^4$ Zellen/100 μ l. Diese wurde rechnerisch nach Auszählung der Zellen ermittelt. Für jede Verdünnungsstufe wurden drei Wells mit 100 μ l Zellsuspension versetzt. Zusätzlich wurden drei Wells für die Low Control (Negativ-Kontrolle) und die High Control (Positiv-Kontrolle) mit 100 μ l Zellsuspension bestückt. Die Negativ-Kontrolle bestimmt die LDH-Freisetzung der unbehandelten Zellen. Die Positiv-Kontrolle bestimmt die maximale LDH-Aktivität der Zellen nach Zugabe von 5 μ l Lyse-Lösung. Des Weiteren wurden drei Kontrollen für den Farbhintergrund (Blank) mit 100 μ l zellfreiem Medium angesetzt. Diese bestimmen die LDH-Aktivität des zellfreien Kulturmediums. Die Platten wurden anschließend inkubiert. Nach 24 Stunden erfolgte der Ersatz des Mediums durch Kulturmedium zur Differenzierung (100 μ l) auf allen Wells.

5.11 Versuchsdurchführung LDH

Nach weiteren 24 Stunden erfolgte lichtmikroskopisch die Kontrolle der Adhärenz. Anschließend wurden die Zahnpastaverdünnungen analog zum Versuch des TER ebenfalls in den Verdünnungsstufen 1:100 und 1:1000 hergestellt (vgl. 5.5).

Das verstoffwechselte Kulturmedium wurde in allen Wells vorsichtig abpipettiert. Jeweils 100 µl jeder Verdünnungsstufe wurden, einem zuvor erstellten Pipettierschema folgend, auf die Zellen gegeben. Bei den Blanks und den Kontrollen erfolgte gleichzeitig der Wechsel des Mediums. Auf die Platte zur Messung des 8 Stunden-Wertes wurde 5 µl Lyse-Lösung auf die Positiv-Kontrolle appliziert. Bei den übrigen Platten erfolgte die Zugabe der Lyse-Lösung auf die Positiv-Kontrolle 18 Stunden vor der jeweiligen Messung. Anschließend wurden die Platten inkubiert.

Tabelle 5: Substanzen Zytotoxizitätstest

Substanz	Hersteller	Ort	Land
Cytotoxicity Detection Kit plus (LDH): <ul style="list-style-type: none"> • Färbelösung: Iodotetrazolium chloride, sodium lactate • Katalysator: Diaphorase/NAD⁺ • Lyse-Lösung: Triton X 100 • Stopp-Lösung 	Roche	Mannheim	DE

Beim ersten Ansatz eines neuen Testkits wurde der Katalysator unmittelbar vor der Messung der Platten in 1 ml destilliertem Wasser für 10 min aufgelöst und gründlich vermischt. Für jede Messung wurden je 250 µl dieser Mischung mit 11,25 ml der Färbelösung frisch angesetzt (= Reaktions-Lösung). Anschließend wurde auf jedes Well 100 µl Reaktions-Lösung gegeben und die Platte für weitere 30 min ohne Lichteinwirkung bei +15 °C bis +25 °C inkubiert. Danach wurde jedem Well 50 µl der Stopp-Lösung hinzugegeben und die Platte für 10 Sekunden vorsichtig geschüttelt. Anschließend erfolgte die Messung der Absorption mittels MITHRAS LB 940 und die Zytotoxizität wurde ermittelt. Die Intensität der Farbgebung nach Applikation der Testsubstanzen ist proportional zu der Anzahl der zerstörten Zellen. Die Menge an

LDH ist proportional der Menge des Formazan-Salz und proportional der Anzahl der geschädigten Zellen [132].

5.12 Erfassen der Daten für den LDH

Die Einzelwerte des LDH-Tests wurden mittels Mithras LB 940 gemessen und archiviert. Zur Auswertung erfolgte eine Übertragung der Daten der Versuche in eine Excel-Tabelle. Die Entblindung erfolgte im Zuge der statistischen Auswertung.

6. Ergebnisse

6.1 Entwicklung des TER nach Applikation der Zahnpastaverdünnungen

In nachfolgenden Abbildungen sind die Mittelwerte des TER ($n = 12$) der immortalisierten Keratinozyten vor Zugabe der Zahnpasten (0 Stunden), sowie nach deren Applikation in den Verdünnungen 1:100 und 1:1000, zusammen mit der Kontrolle grafisch dargestellt. Vor Einsatz der Zahnpastaverdünnungen lagen die TER-Mittelwerte bei allen Ansätzen zwischen 154 und $157 \Omega \times \text{cm}^2$. Nach einer Versuchsdauer von 5 Stunden stiegen die Werte der Kontrolle bis zu $161 \Omega \times \text{cm}^2$. Die Proben mit der Verdünnung 1:100 zeigten dagegen einen niedrigeren TER um Werte von $150 \Omega \times \text{cm}^2$. Nach 4 bis 6 Stunden waren diese Unterschiede zwischen Kontrolle und den Zahnpasten signifikant ($p < 0,01$). Bei Rot Weiss 1:100 fielen die Werte nach 6 Stunden auf $145 \Omega \times \text{cm}^2$. Nach einer Versuchsdauer von 8 Stunden stiegen die Werte der beiden Verdünnungen aller Zahnpasten über die Kontrolle. Bei Rot Weiss 1:100 konnte dies nicht beobachtet werden. Bei der Verdünnung 1:1000 der Zahnpasten resultierte ein TER-Anstieg ($5 - 13 \Omega \times \text{cm}^2$) nach 24 bis 72 Stunden. Dieser Effekt war am stärksten bei der Zahnpasta welche zusätzlich Zink enthielt. Während die Werte der Kontrolle begannen ab 24 bis 72 Stunden leicht zu fallen, auf Werte um $153 \Omega \times \text{cm}^2$ ($p < 0,05$).

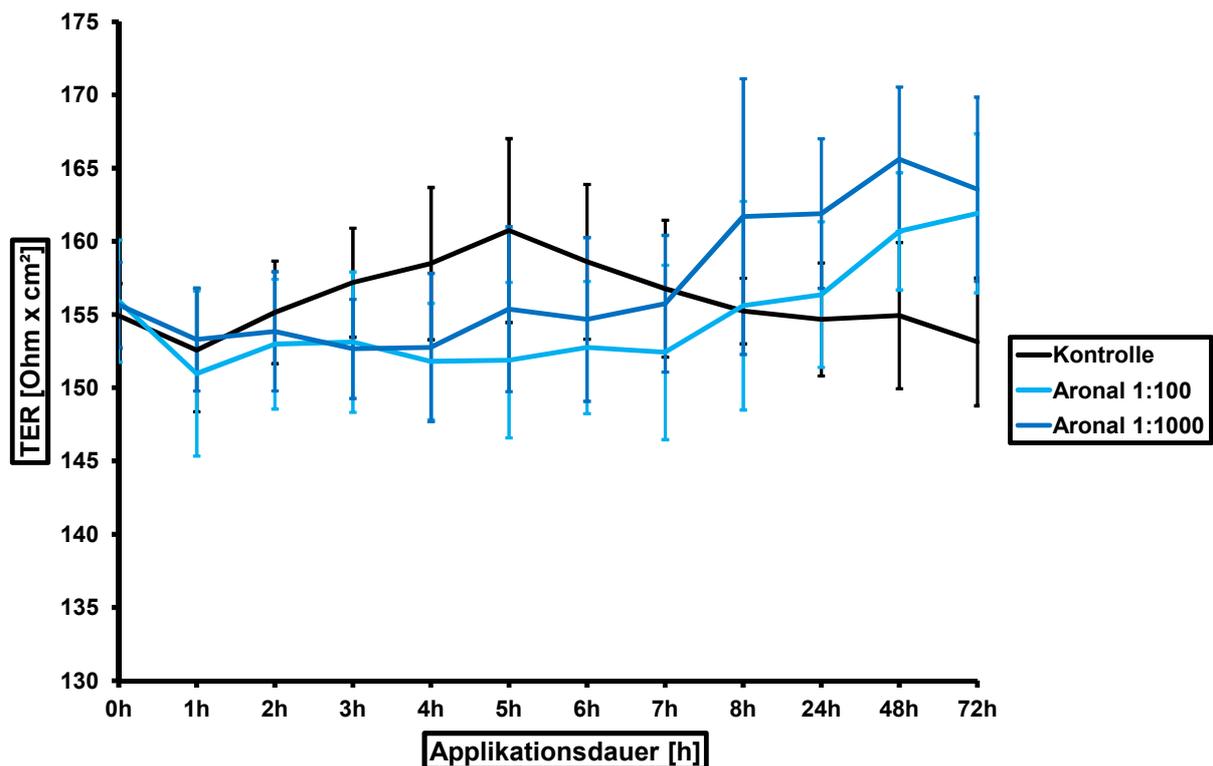


Abbildung 1: Aronal - Kinetik des TER der immortalisierten humanen gingivalen Keratinozyten der Zelllinie Gie-No3B11. Unbehandelte Probe (Kontrolle) und Proben behandelt mit Verdünnung 1:100 und 1:1000. Mittelwerte des TER vor Versuchsbeginn (0 Stunden) und nach 1 bis 72 Stunden Applikationsdauer.

Unter der Applikation der Zahnpasta Aronal stiegen sowohl die Werte des gemessenen TER der Verdünnungsstufe 1:100, als auch die der Verdünnungsstufe 1:1000, bis zum Zeitpunkt der letzten Messung nach 72 Stunden an. Zunächst sanken die Messwerte der beiden Verdünnungen nach 1 bis 7 Stunden Versuchsdauer unter die Messwerte der Kontrolle. Die Unterschiede zwischen Kontrolle und Verdünnung 1:100 waren zum Zeitpunkt 4 Stunden, 5 Stunden und 6 Stunden signifikant (Tabellen 27 - 29, 39 - 41). Die Messwerte der Verdünnung 1:100 waren ab 4 Stunden Versuchsdauer geringer gegenüber den Werten der Verdünnung 1:1000. Nach 8 Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden Applikation der Verdünnung 1:1000 stiegen die Mittelwerte des TER signifikant gegenüber den Werten unter Verwendung der Verdünnung 1:100 ($p < 0,05$) (Tabellen 54 - 56). Nach 48 Stunden und 72 Stunden waren die Mittelwerte der Verdünnung 1:1000 signifikant höher gegenüber der Kontrolle ($p < 0,01$) (Tabellen 21, 22, 33, 34, 45, 46).

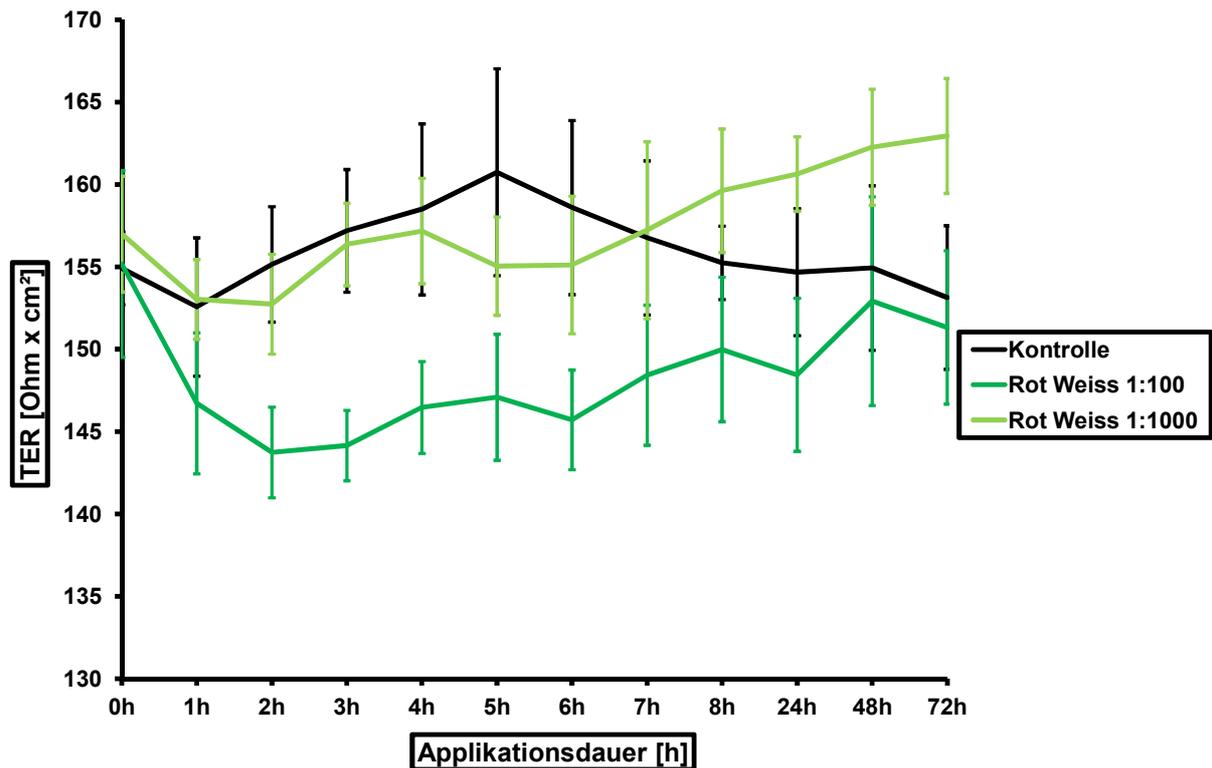


Abbildung 2: Rot Weiss - Kinetik des TER der immortalisierten humanen gingivalen Keratinozyten der Zelllinie Gie-No3B11. Unbehandelte Probe (Kontrolle) und Proben behandelt mit Verdünnung 1:100 und 1:1000. Mittelwerte des TER vor Versuchsbeginn (0 Stunden) und nach 1 bis 72 Stunden Applikationsdauer.

Unter Einsatz der Verdünnung 1:100 der Zahnpasta Rot Weiss waren die Mittelwerte des TER über den Versuchszeitraum signifikant niedriger als die Mittelwerte unter Gebrauch der Verdünnung 1:1000 ($p < 0,01$) (Tabellen 47 - 57). Nach 2 Stunden bis 6 Stunden Applikation sanken die Mittelwerte von Rot Weiss 1:100 signifikant unter die Werte der Kontrolle ($p < 0,01$) (Tabellen 13 – 17, 25 - 29, 37 - 41). Nach 8 Stunden Applikation begannen die Werte in der Verdünnung 1:1000 über die Werte der Kontrolle zu steigen. Der höchste Wert der Verdünnungsstufe 1:1000 trat nach 72 Stunden auf (Tabellen 22, 34, 46).

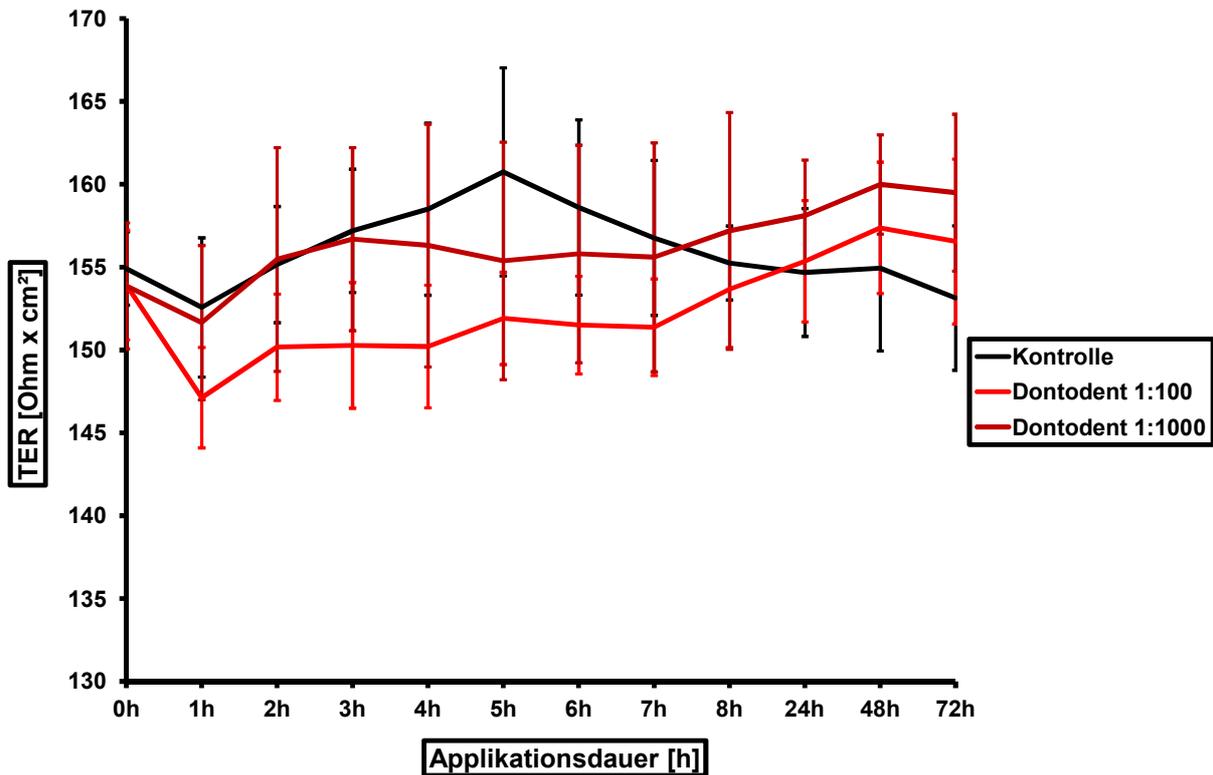


Abbildung 3: Dontodent - Kinetik des TER der immortalisierten humanen gingivalen Keratinozyten der Zelllinie Gie-No3B11. Unbehandelte Probe (Kontrolle) und Proben behandelt mit Verdünnung 1:100 und 1:1000. Mittelwerte des TER vor Versuchsbeginn (0 Stunden) und nach 1 bis 72 Stunden Applikationsdauer.

Die niedrigsten Werte der jeweiligen Verdünnungsstufe der Zahnpasta Dontodent traten nach 1 Stunde Applikation auf. Die höchsten Werte der Verdünnungsstufen 1:100 und 1:1000 traten nach 48 Stunden auf. In der Verdünnung 1:100 waren die Mittelwerte des TER über alle Zeitpunkte hinweg geringer als die Mittelwerte der Verdünnung 1:1000. Nach 1 Stunde bis 4 Stunden unterschieden sich die Werte der Verdünnungsstufen signifikant voneinander ($p < 0,01$) (Tabellen 47 - 50). Nach 4 Stunden bis 6 Stunden waren die Mittelwerte der Verdünnung 1:100 verglichen mit den Werten der Kontrolle signifikant niedriger ($p < 0,01$) (Tabellen 15 - 17, 27 - 29, 39 - 41). Nach 72 Stunden stiegen die Messwerte unter Einsatz der Verdünnung 1:1000 signifikant über die Werte der Kontrolle ($p < 0,05$) (Tabellen 22, 34, 46).

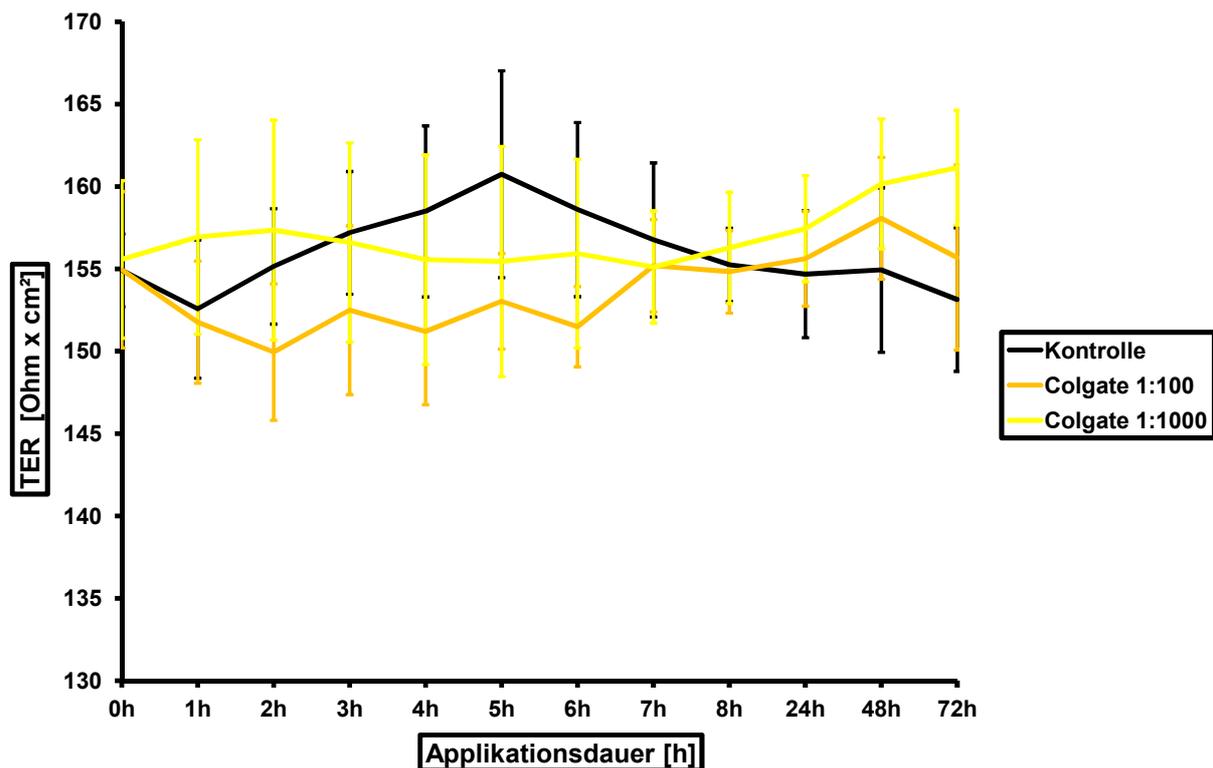


Abbildung 4: Colgate - Kinetik des TER der immortalisierten humanen gingivalen Keratinozyten der Zelllinie Gie-No3B11. Unbehandelte Probe (Kontrolle) und Proben behandelt mit Verdünnung 1:100 und 1:1000. Mittelwerte des TER vor Versuchsbeginn (0 Stunden) und nach 1 bis 72 Stunden Applikationsdauer.

Im Mittel stiegen die Werte des gemessenen TER der eingesetzten Verdünnungsstufen bis zum Zeitpunkt der letzten Messung nach 72 Stunden an. Eine Ausnahme bildeten die Messwerte nach Applikation der Verdünnung 1:100, welche nach 72 Stunden sanken. Unter Verwendung von Colgate implizierte die Verdünnung 1:100 die niedrigeren Messwerte der beiden untersuchten Verdünnungsstufen. Nach einer Versuchsdauer von 1 Stunde, 2 Stunden und 4 Stunden sowie nach 72 Stunden waren die Unterschiede zwischen den Messwerten der Verdünnungsstufen signifikant ($p < 0,05$) (Tabellen 47, 48, 50, 57). Nach 4 - 6 Stunden unterschieden sich die Mittelwerte der Verdünnung 1:100 zur Kontrolle. Sie waren signifikant niedriger (Tabellen 15 – 17, 27 – 29, 39 – 41). Der TER der Keratinozyten war nach 72 Stunden Applikation der Verdünnung 1:1000 signifikant höher als die Messwerte der Kontrolle ($p < 0,05$) (Tabellen 22, 34, 46).

Der Vergleich der beiden Verdünnungen mit der unbehandelten Probe (Kontrolle) zeigte bei allen eingesetzten Zahnpasten nach 4 Stunden bis 6 Stunden Versuchsdauer signifikante Unterschiede zwischen der Verdünnung 1:100 und der Kontrolle: Die Werte unter Zahnpastaapplikation waren signifikant niedriger gegenüber den Messwerten der Kontrolle. Nach 48 Stunden und 72 Stunden zeigten sich signifikante Effekte zwischen der Verdünnung 1:1000 und der Kontrolle: Die Werte von Colgate und Dontodent stiegen nach 72 Stunden signifikant gegenüber den Werten der Kontrolle. Gleiches war bei der Zahnpasta Aronal nach 48 Stunden und 72 Stunden zu beobachten.

Bei der Untersuchung der Verdünnungen 1:100 zeigten sich bei Applikation der Zahnpasta Rot Weiss die niedrigsten Messwerte über den Zeitverlauf. Die Zahnpasten Aronal, Dontodent und Colgate, in der Verdünnung 1:100, induzierten höhere Mittelwerte. Die niedrigsten Messwerte der Zahnpasta Rot Weiss traten nach 2 – 3 Stunden Versuchsdauer auf. Die höchsten Werte der drei anderen Zahnpasten traten nach 48 – 72 Stunden auf.

6.2 Paarweise Vergleiche

Im folgenden Abschnitt wurden die Mittelwerte des TER nach Zugabe der Zahnpasten in ihren jeweiligen Verdünnungsstufen untereinander paarweise verglichen.

Die Abbildungen 5 - 12 zeigen den Vergleich der Messwerte des TER nach Zugabe der einzelnen Zahnpasten in den applizierten Verdünnungen. Dargestellt sind die Paare, welche signifikante Unterschiede zwischen den Messwerten unter Applikation der Zahnpasten aufwiesen. Messwerte deren $p \text{ adj fdr} < 0,05$ lag, galten als signifikant. Messwerte deren $p \text{ adj fdr} < 0,01$ lag, galten als hoch signifikant.

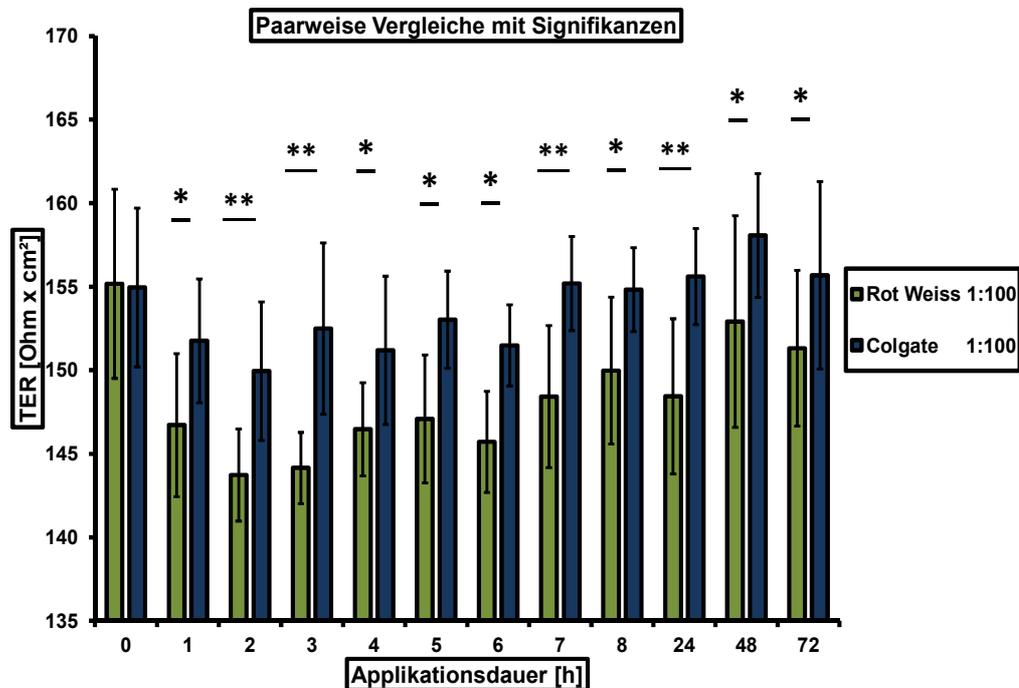


Abbildung 5: TER-Messwerte unter Applikation von Rot Weiss und Colgate in der Verdünnung 1:100. Mittelwerte und Standardabweichungen in $\Omega \times \text{cm}^2$ für die Zeitwerte 0 bis 72 Stunden. Messwerte der unbehandelten Ansätze vor Applikation der Zahnpasten (0 Stunden-Wert).

* statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte ($p \text{ adj fdr} < 0,05$);

** statistisch hoch signifikanter Unterschied der Messwerte ($p \text{ adj fdr} < 0,01$)

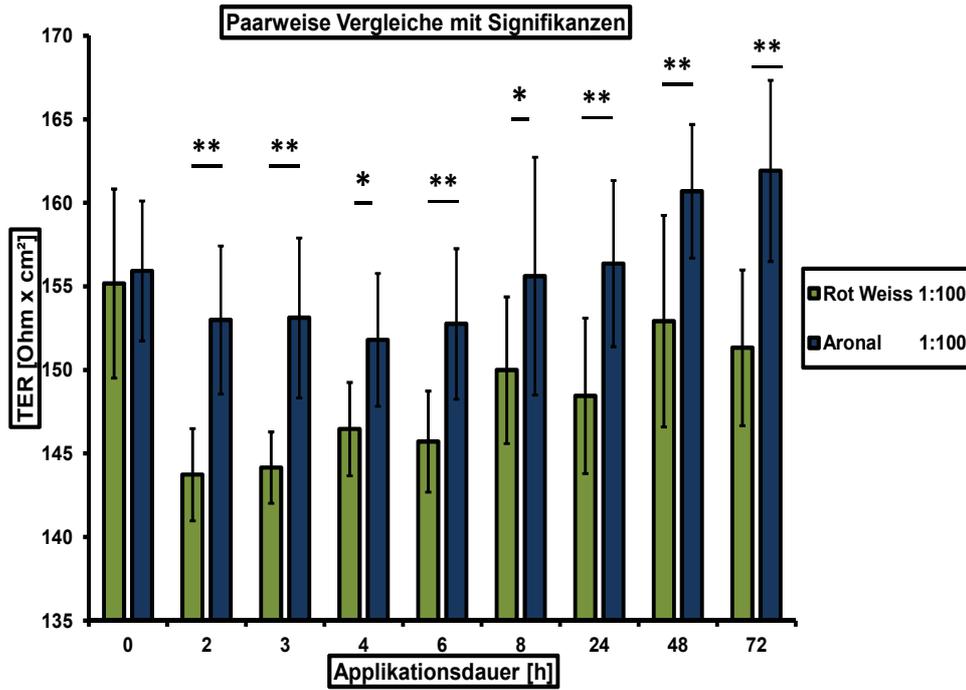


Abbildung 6: TER-Messwerte unter Applikation von Rot Weiss und Aronal in der Verdünnung 1:100. Mittelwerte und Standardabweichungen in $\Omega \times \text{cm}^2$ für die Zeitwerte 0, 2, 3, 4, 6 und 8 bis 72 Stunden. Messwerte der unbehandelten Ansätze vor Applikation der Zahnpasten (0 Stunden-Wert).

* statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,05);

** statistisch hoch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,01)

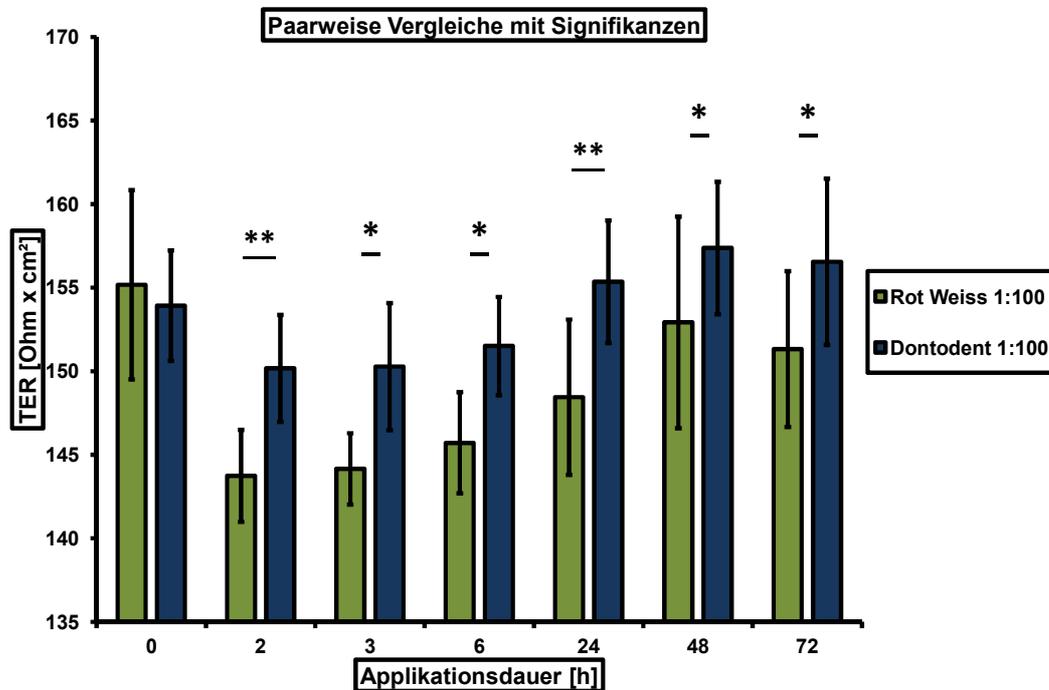


Abbildung 7: TER-Messwerte unter Applikation von Rot Weiss und Dontodent in der Verdünnung 1:100. Mittelwerte und Standardabweichungen in $\Omega \times \text{cm}^2$ für die Zeitwerte 0, 2, 3, 6 und 24 bis 72 Stunden. Messwerte der unbehandelten Ansätze vor Applikation der Zahnpasten (0 Stunden-Wert).

* statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,05);

** statistisch hoch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,01)

Zunächst wurden die Effekte der Zahnpasten in den Verdünnungen 1:100 untereinander untersucht. Die statistische Analyse ergab, dass die Mittelwerte unter Applikation der Zahnpasta Colgate, Aronal und Dontodent nach Beginn der Applikation über den gesamten Versuchszeitraum höher als die Werte nach Applikation der Zahnpasta Rot Weiss waren (Abb. 5 – 7). Der statistische Vergleich der Mittelwerte unter Verwendung der Zahnpasta Rot Weiss und Colgate war zu allen Zeitpunkten signifikant oder hoch signifikant unterschiedlich (Abb. 5) (entsprechende p-Werte siehe Tabellen 47 - 57).

Zum Vergleich wurden auch die Werte unter der Zahnpasta Rot Weiss und Aronal herangezogen. Diese waren zu fast allen Zeitpunkten signifikant oder hoch signifikant unterschiedlich (Abb. 6) (entsprechende p-Werte siehe Tabellen 47 - 57). Zum Zeitpunkt 1 Stunde, 5 Stunden und 7 Stunden gab es keine signifikanten Unterschiede.

Bei der Gegenüberstellung der Mittelwerte unter Applikation der Zahnpasta Rot Weiss und Dontodent unterschieden sich einzelne Zeitwerte (nach 2 Stunden, 3 Stunden, 6 Stunden und 24 bis 72 Stunden) signifikant oder hoch signifikant (Abb. 7) (entsprechende p-Werte siehe Tabellen 47 - 57).

Aronal erreichte im Mittel die höchsten Messwerte gegenüber den drei übrigen Zahnpasten. In der Verdünnung 1:100 waren diese Unterschiede gegenüber den Zahnpasten Dontodent und Colgate nach 72 Stunden signifikant ($p = 0,01$; $p = 0,00$).

Bei dem Vergleich der Mittelwerte der Verdünnung 1:100 der Zahnpasta Colgate und Dontodent unterschied sich der Zeitwert nach einer Stunde Applikation signifikant ($p = 0,04$) (Tabelle 47). Über den Versuchszeitraum hatte Dontodent leicht niedrigere Werte gegenüber Colgate (Tabellen 36 - 46).

Im Folgenden zeigen die Abbildungen 8 – 11 die statistische Analyse der Unterschiede zwischen den beiden Verdünnungsstufen für jede Zahnpasta.

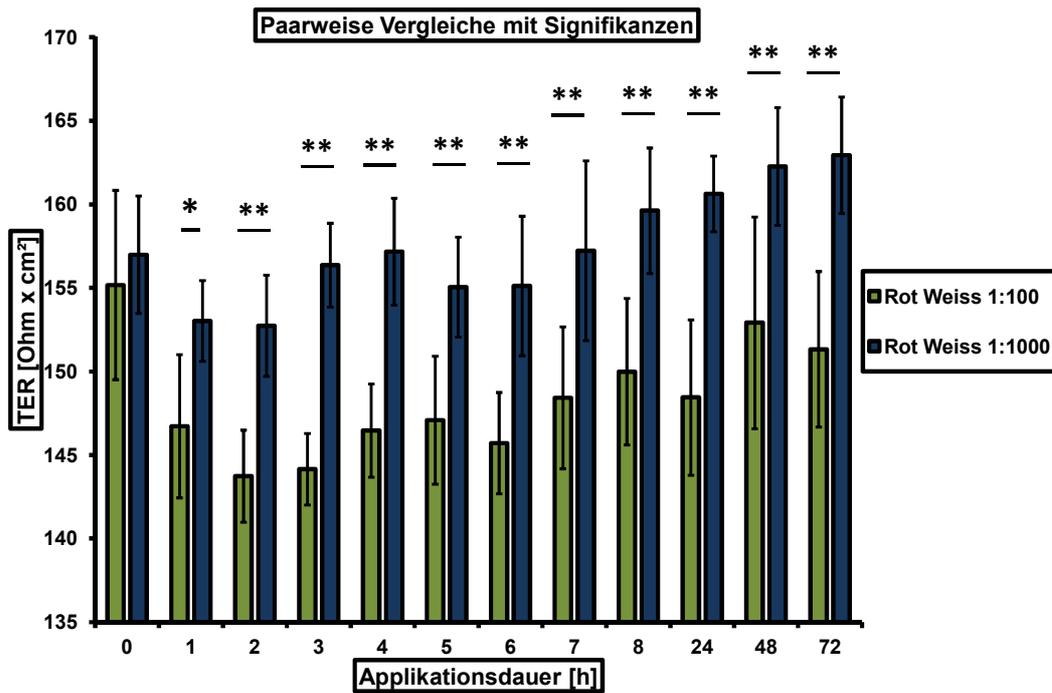


Abbildung 8: TER-Messwerte unter Applikation von Rot Weiss in der Verdünnung 1:100 und 1:1000. Mittelwerte und Standardabweichungen in $\Omega \times \text{cm}^2$ für die Zeitwerte 0 bis 72 Stunden. Messwerte der unbehandelten Ansätze vor Applikation der Zahnpasten (0 Stunden-Wert).

* statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,05);

** statistisch hoch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,01)

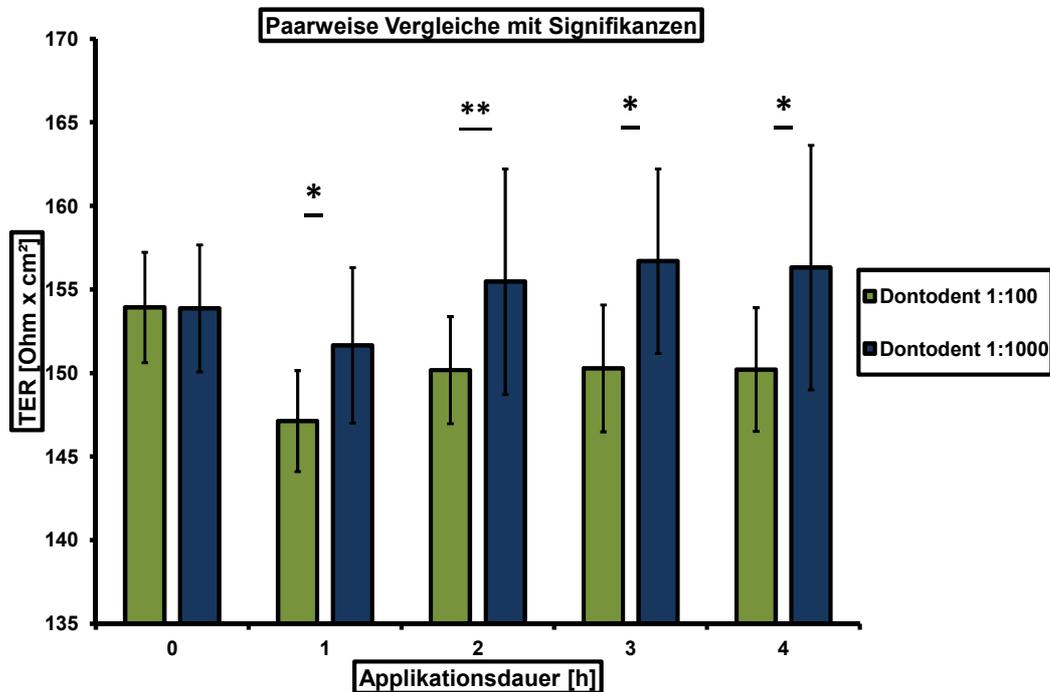


Abbildung 9: TER-Messwerte unter Applikation von Dontodent in der Verdünnung 1:100 und 1:1000. Mittelwerte und Standardabweichungen in $\Omega \times \text{cm}^2$ für die Zeitwerte 0 bis 4 Stunden. Messwerte der unbehandelten Ansätze vor Applikation der Zahnpasten (0 Stunden-Wert).

* statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,05);

** statistisch hoch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,01)

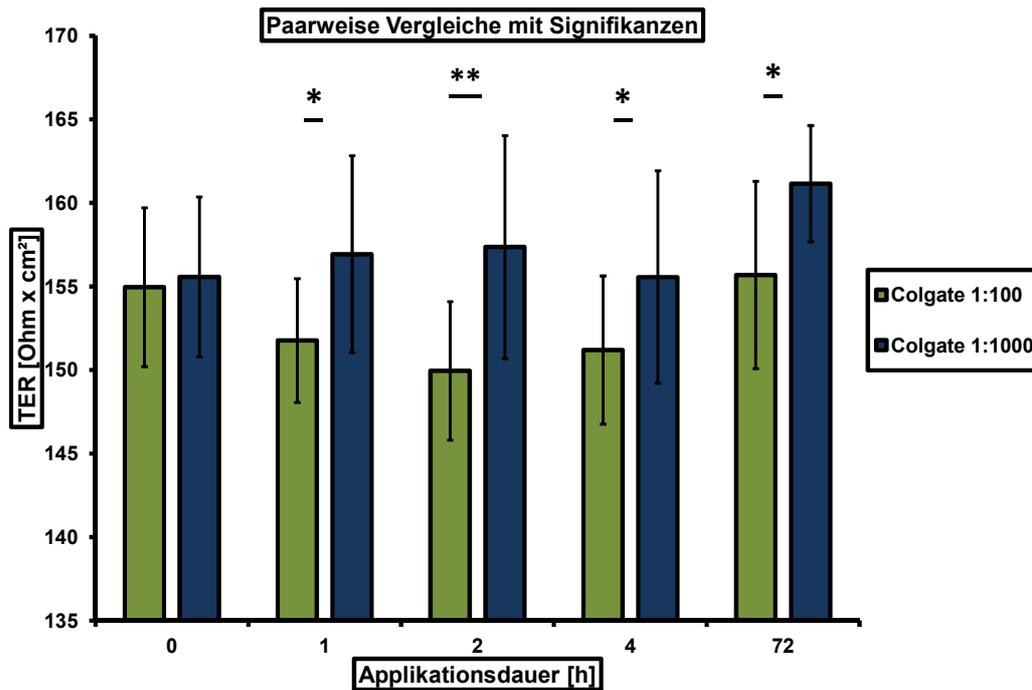


Abbildung 10: TER-Messwerte unter Applikation von Colgate in der Verdünnung 1:100 und 1:1000. Mittelwerte und Standardabweichungen in $\Omega \times \text{cm}^2$ für die Zeitwerte 0 bis 2 Stunden, 4 Stunden und 72 Stunden. Messwerte der unbehandelten Ansätze vor Applikation der Zahnpasten (0 Stunden-Wert).

* statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,05);

** statistisch hoch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,01)

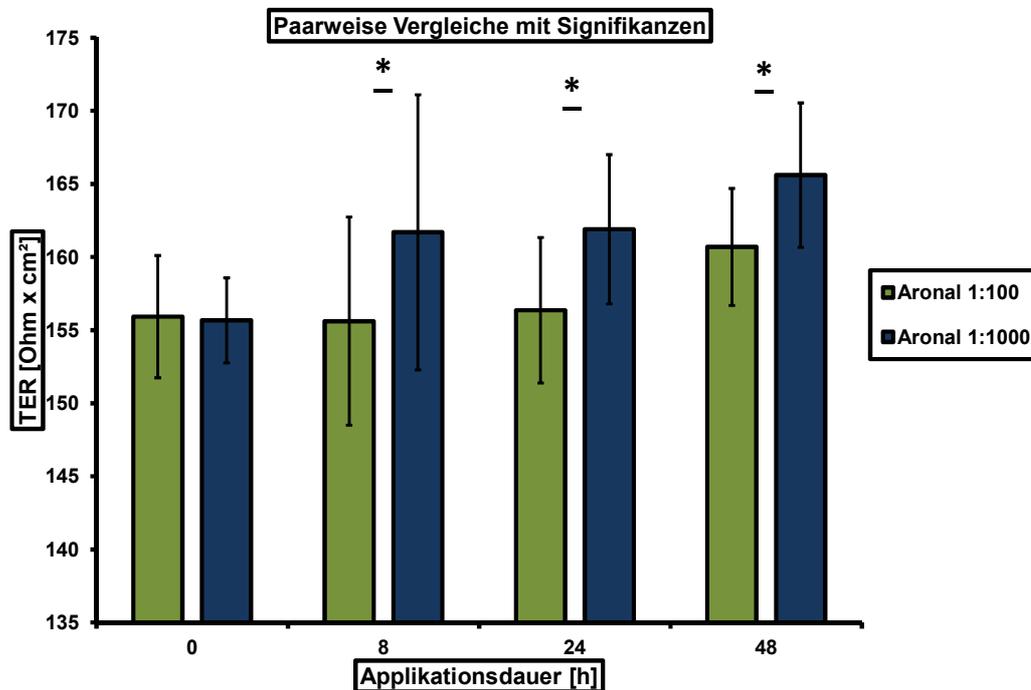


Abbildung 11: TER-Messwerte unter Applikation von Aronal in der Verdünnung 1:100 und 1:1000. Mittelwerte und Standardabweichungen in $\Omega \times \text{cm}^2$ für die Zeitwerte 0 und 8 Stunden sowie 24 Stunden und 48 Stunden. Messwerte der unbehandelten Ansätze vor Applikation der Zahnpasten (0 Stunden-Wert).

* statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,05);

** statistisch hoch signifikanter Unterschied der Messwerte (p adj fdr < 0,01)

Der statistische Vergleich der resultierenden Mittelwerte der ausschließlich SLS-haltigen Zahnpasta (Rot Weiss) zeigte signifikant oder hoch signifikant unterschiedliche Werte über den gesamten Versuchszeitraum (Abb. 8) (entsprechende p-Werte siehe Tabellen 47 - 57).

Die Gegenüberstellung der Mittelwerte unter Applikation der kräuterhaltigen Zahnpasta (Dontodent) in den Verdünnungen 1:100 und 1:1000 zeigte nach 1 Stunde bis 4 Stunden Applikation, statistisch signifikant und hoch signifikant unterschiedliche Werte (Abb. 9) (entsprechende p-Werte siehe Tabellen 47 - 50).

Bei der SLS/Triclosan-haltigen Zahnpasta (Colgate) unterschieden sich nach Applikation die Mittelwerte der beiden Verdünnungsstufen in den Stunden 1, 2, 4 und 72 signifikant und hoch signifikant (Abb. 10) (entsprechende p-Werte siehe Tabellen 47, 48, 50, 57).

Die Mittelwerte unter Verwendung der SLS/Zink-haltigen Zahnpasta (Aronal) in den Verdünnungen 1:100 und 1:1000 zeigten nach ihrer vergleichenden Betrachtung signifikante Unterschiede zu den Zeitpunkten 8 Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden (Abb. 11) (Tabellen 54 - 56).

Unter Verwendung der Verdünnung 1:100 waren die Mittelwerte des TER über alle Zeitpunkte hinweg geringer als die Mittelwerte der Verdünnung 1:1000. Am ausgeprägtesten war dies bei der Zahnpasta Rot Weiss zu beobachten.

Nachfolgend wurden ergänzend die Unterschiede zwischen den Zahnpasten in der Verdünnungsstufe 1:1000 untersucht.

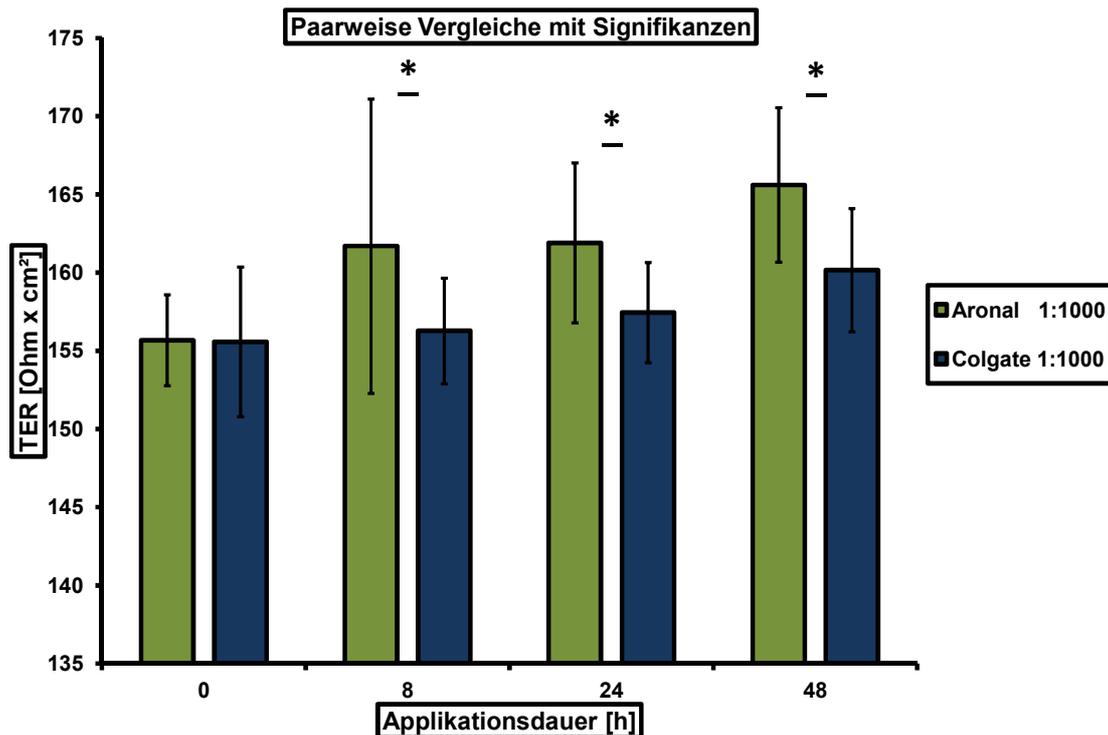


Abbildung 12: TER-Messwerte unter Applikation von Aronal und Colgate in der Verdünnung 1:1000. Mittelwerte und Standardabweichungen in $\Omega \times \text{cm}^2$ für die Zeitwerte 0 und 8 Stunden sowie 24 Stunden und 48 Stunden. Die Messwerte der unbehandelten Ansätze vor Applikation der Zahnpasten (0 Stunden-Wert).

* statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte ($p \text{ adj fdr} < 0,05$);

** statistisch hoch signifikanter Unterschied der Messwerte ($p \text{ adj fdr} < 0,01$)

Die Messwerte nach Applikation von Aronal 1:1000 stiegen nach 8 Stunden an, sodass die Mittelwerte signifikant höher gegenüber den Werten der Zahnpasta Colgate 1:1000 waren ($p = 0,01$) (Abb. 12). Gleiches war nach 24 Stunden und 48 Stunden Applikation zu beobachten ($p = 0,04$; $p = 0,02$). Nach Anstieg der Messwerte nach 8 Stunden Versuchsdauer lagen die Messwerte ebenfalls über den Werten von Rot Weiss 1:1000 (Tabellen 43 – 46). Nach 48 Stunden waren die Werte zusätzlich signifikant höher gegenüber den Werten von Dontodent 1:1000 ($p = 0,01$).

Nach einer Stunde Applikation hatte Colgate in der Verdünnung 1:1000 signifikant höhere Messwerte gegenüber der Applikation von Dontodent 1:1000 ($p = 0,02$). Nach zwei Stunden, gegenüber der Zahnpasta Rot Weiss 1:1000 ($p = 0,04$). Nach 8 Stunden Applikation begannen ebenfalls die Werte unter der Verwendung der Zahnpasta Rot Weiss in der Verdünnung 1:1000 zu steigen. Sie waren ab diesem Zeitpunkt höher als die Werte der Zahnpasten Dontodent 1:1000 und Colgate 1:1000 (Tabellen 43 – 46).

Nach Applikation von Colgate und Dontodent 1:1000 über 48 und 72 Stunden lagen die Werte von Colgate 1:1000 geringfügig über denen von Dontodent 1:1000 (Tabellen 45, 46).

Aronal 1:1000 erreichte die höchsten Messwerte des registrierten TER. Der Anstieg des TER konnte nach einer Versuchsdauer von 8 Stunden detektiert werden. Die Zahnpasten Colgate und Dontodent zeigten signifikant niedrigere TER-Werte im Vergleich zu Aronal (Tabellen 43 - 46, 54 - 56).

Zusammenfassend induzierten alle Zahnpasten in der Verdünnung 1:100 eine TER-Erniedrigung während der ersten 8 Stunden ($8 - 13 \Omega \times \text{cm}^2$). Dieser Effekt war am stärksten bei der ausschließlich SLS-haltigen Zahnpasta zu beobachten. Die Analyse der paarweisen Vergleiche der Zahnpasten zeigte, dass Rot Weiss in der Verdünnung 1:100 die niedrigsten TER-Werte nach 2 bis 3 Stunden Applikation induzierte. Es traten signifikante Unterschiede zu den Messwerten der drei anderen getesteten Zahnpasten in der Verdünnung 1:100 auf. Dieser Effekt war auch nach 48 Stunden und 72 Stunden noch nachweisbar. Aronal, Colgate und Dontodent 1:100 erreichten zu fast allen Zeitpunkten signifikant höhere Mittelwerte als Rot Weiss 1:100 ($p < 0,01$). Bei der Untersuchung der beiden Verdünnungsstufen untereinander, induzierten die hohen Konzentrationen aller getesteter Zahnpasten niedrigere TER-Werte (Abb. 8 - 11). Aronal implizierte in beiden Verdünnungsstufen die höchsten TER-Messwerte. Im Vergleich zu den Werten von Colgate 1:1000 waren sie signifikant höher nach 8 bis 48 Stunden ($p < 0,05$). Nach 48 Stunden waren die Werte zusätzlich signifikant höher im Vergleich zu Dontodent 1:1000 ($p < 0,05$). In der Verdünnung 1:100 zeigten sich nach 72 Stunden signifikante Unterschiede zu Colgate und Dontodent ($p < 0,01$). Rot Weiss 1:100 wies signifikante Unterschiede nahezu über den gesamten Versuchszeitraum auf. Die Messwerte von Colgate und Dontodent unterschieden sich über den Versuchszeitraum in beiden Verdünnungen nur geringfügig.

6.3 Zytotoxizität der Zahnpastaverdünnungen

Im nächsten Abschnitt wurden die Messwerte der Zytotoxizitätsmessung nach Applikation der Zahnpasten betrachtet. Der Mittelwert, aus den Verdünnungen 1:100 und 1:1000, wurde für die Zeitpunkte 8, 24, 48 und 72 Stunden im Vergleich zur Positiv- und Negativ-Kontrolle dargestellt (Abb. 13 – 16).

Die Messwerte der mit Lyse behandelten Ansätze (Positiv-Kontrolle) lagen zum Zeitpunkt 8 Stunden über den Werten der Zahnpastaansätze. Die erhöhte Freisetzung des Enzyms LDH, durch die Applikation der Lyse, hatte nach Zugabe der Reaktionslösung eine erhöhte Bildung von Formazan zur Folge. Die Intensität der Farbgebung nach Zusatz der Testsubstanzen ist proportional zu der Anzahl der beschädigten Zellen. Die Werte der Negativ-Kontrolle lagen unter den Werten der Zahnpastaansätze. Gleiches galt für die Zeitpunkte 24, 48 und 72 Stunden (Tabellen 58, 59).

Zum Zeitpunkt 8 Stunden induzierte Aronal die stärkste Freisetzung von LDH. Diese unterschied sich jedoch nicht signifikant von den Werten der Negativ-Kontrolle (Tabelle 6). Dontodent, Rot Weiss und Colgate, wiesen Messwerte im Bereich zwischen Aronal und der Negativ-Kontrolle auf (Abb. 13, Tabelle 58).

Zum Zeitpunkt 24 Stunden induzierte Colgate den höchsten Messwert, Dontodent und Aronal die niedrigsten. Die Zahnpasta Rot Weiss lag mit ihren Messwerten zwischen denen von Aronal, Dontodent und Colgate (Abb. 14, Tabelle 58).

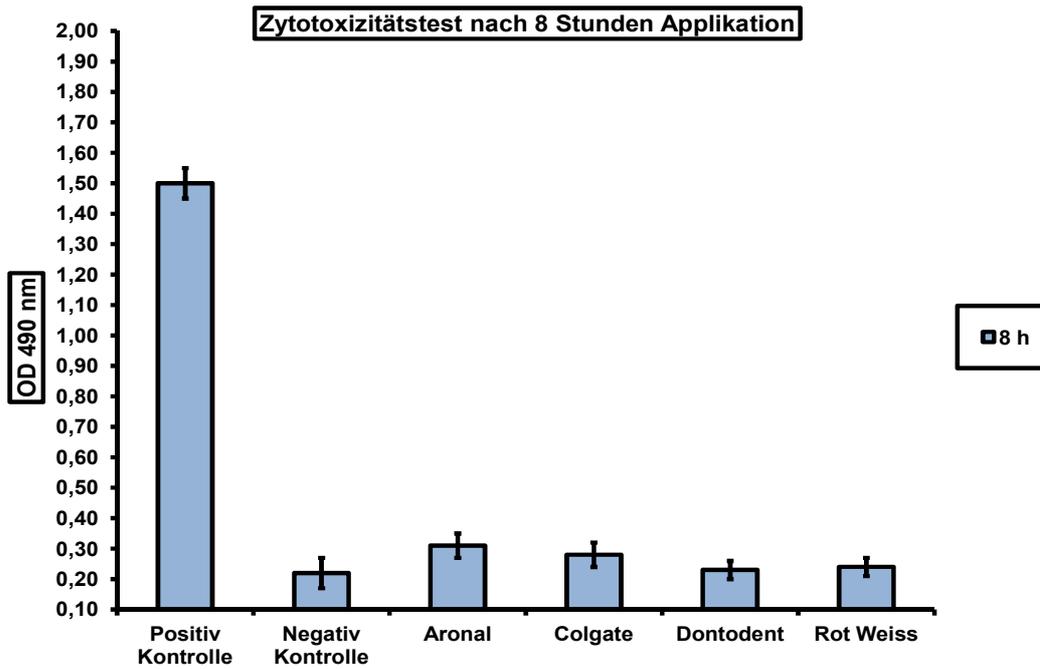


Abbildung 13: LDH-Aktivität nach 8 Stunden Applikation. Die Absorption des rot gefärbten Formazan-Salz wurde kolorimetrisch mittels MITHRAS LB 940 bei 490nm (Referenzwellenlänge 690 nm) gemessen. Dargestellt sind die Mittelwerte der Verdünnungsstufen und dazugehörige Standardabweichungen nach Applikation der Zahnpasten. Positiv Kontrolle: Maximale LDH-Aktivität der Zellen nach Zugabe von 5 µl Lyse-Lösung. Negativ Kontrolle: LDH-Freisetzung der unbehandelten Zellen. OD: optische Dichte.

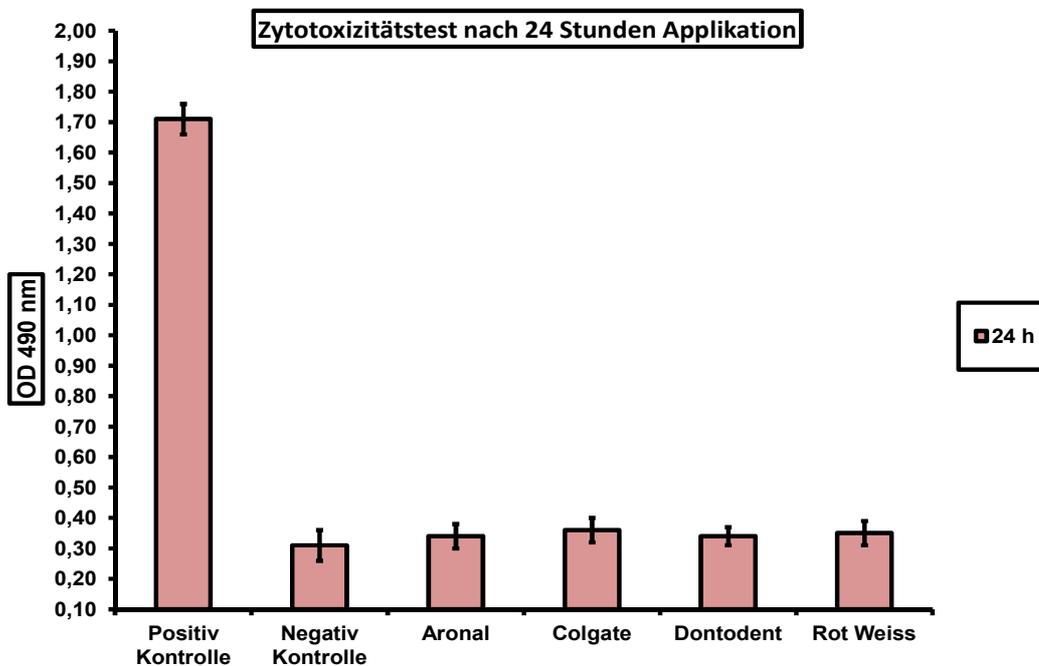


Abbildung 14: LDH-Aktivität nach 24 Stunden Applikation. Die Absorption des rot gefärbten Formazan-Salz wurde kolorimetrisch mittels MITHRAS LB 940 bei 490nm (Referenzwellenlänge 690 nm) gemessen. Dargestellt sind die Mittelwerte der Verdünnungsstufen und dazugehörige Standardabweichungen nach Applikation der Zahnpasten. Positiv Kontrolle: Maximale LDH-Aktivität der Zellen nach Zugabe von 5 µl Lyse-Lösung. Negativ Kontrolle: LDH-Freisetzung der unbehandelten Zellen. OD: optische Dichte.

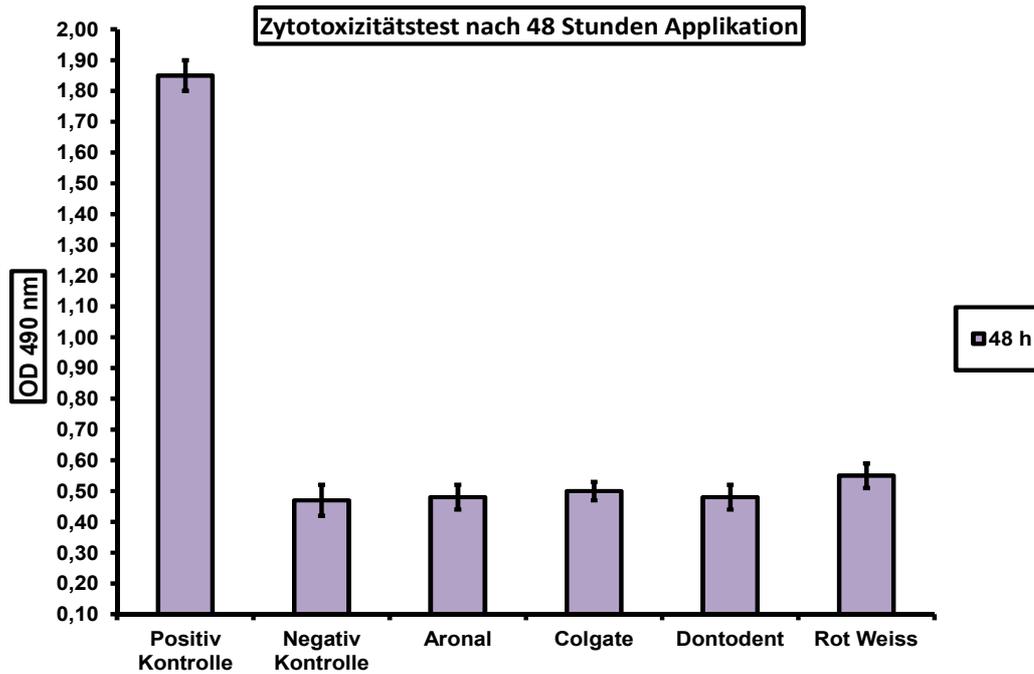


Abbildung 15: LDH-Aktivität nach 48 Stunden Applikation. Die Absorption des rot gefärbten Formazan-Salz wurde kolorimetrisch mittels MITHRAS LB 940 bei 490nm (Referenzwellenlänge 690 nm) gemessen. Dargestellt sind die Mittelwerte der Verdünnungsstufen und dazugehörige Standardabweichungen nach Applikation der Zahnpasten. Positiv Kontrolle: Maximale LDH-Aktivität der Zellen nach Zugabe von 5 µl Lyse-Lösung. Negativ Kontrolle: LDH-Freisetzung der unbehandelten Zellen. OD: optische Dichte.

Nach 48 Stunden Applikation induzierte der Zusatz der Zahnpasta Rot Weiss den höchsten Messwert, der Zusatz der Zahnpasten Dontodent und Aronal die niedrigsten. Die Zahnpasta Colgate lag mit ihren Messwerten zwischen denen von Aronal, Dontodent und Rot Weiss (Abb. 15, Tabelle 59).

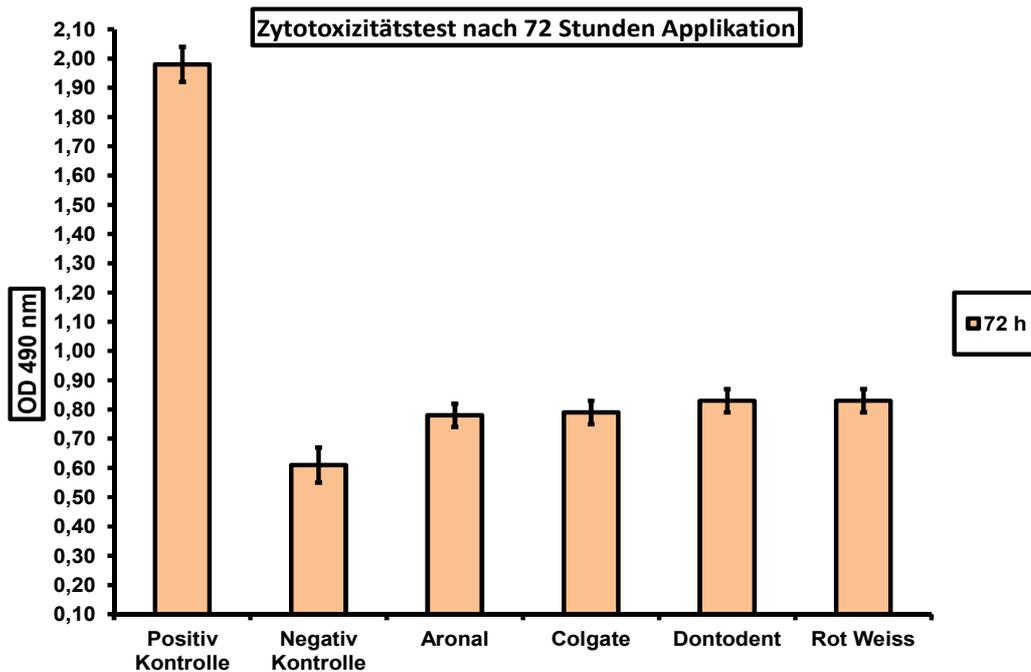


Abbildung 16: LDH-Aktivität nach 72 Stunden Applikation. Die Absorption des rot gefärbten Formazan-Salz wurde kolorimetrisch mittels MITHRAS LB 940 bei 490nm (Referenzwellenlänge 690 nm) gemessen. Dargestellt sind die Mittelwerte der Verdünnungsstufen und dazugehörige Standardabweichungen nach Applikation der Zahnpasten. Positiv Kontrolle: Maximale LDH-Aktivität der Zellen nach Zugabe von 5 µl Lyse-Lösung. Negativ Kontrolle: LDH-Freisetzung der unbehandelten Zellen. OD: optische Dichte.

Zum Zeitpunkt 72 Stunden wiesen die Ansätze der applizierten Zahnpasten Rot Weiss und Dontodent die höchsten Messwerte auf. Die Zahnpasta Aronal, die niedrigsten. Die Zahnpasta Colgate lag mit ihren Messwerten zwischen denen von Aronal, Dontodent und Rot Weiss (Abb. 16, Tabelle 59).

6.4 Signifikanzwerte der Zytotoxizitätsmessung

Im nächsten Abschnitt sind die Mittelwerte, aus den Verdünnungen 1:100 und 1:1000, im Vergleich zur Negativ-Kontrolle dargestellt. Zusammengefasst sind jeweils die Zeitpunkte 8, 24, 48 und 72 Stunden.

Vergleicht man die behandelten Ansätze der einzelnen Formulierungen mit den unbehandelten Ansätzen (Negativ-Kontrolle) traten keine signifikanten Unterschiede nach 8, 24 und 48 Stunden auf (Tabellen 6 - 8).

Messwerte deren $p \text{ adj fdr} < 0,05$ lag, galten als signifikant. Messwerte deren $p \text{ adj fdr} < 0,01$ lag, galten als hoch signifikant.

Tabelle 6: LDH – Signifikanzwert zum Zeitpunkt 8. Vergleiche zwischen Negativ-Kontrolle und Zahnpastaapplikation.

Ansatz	p adj. fdr
Negativ-Kontrolle - Aronal	0.28
Negativ-Kontrolle - Colgate	0.45
Negativ-Kontrolle - Dontodent	0.88
Negativ-Kontrolle - Rot Weiss	0.80

p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 7: LDH – Signifikanzwert zum Zeitpunkt 24. Vergleiche zwischen Negativ-Kontrolle und Zahnpastaapplikation.

Ansatz	p adj. fdr
Negativ-Kontrolle - Aronal	0.81
Negativ-Kontrolle - Colgate	0.64
Negativ-Kontrolle - Dontodent	0.81
Negativ-Kontrolle - Rot Weiss	0.75

p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 8: LDH – Signifikanzwert zum Zeitpunkt 48. Vergleiche zwischen Negativ-Kontrolle und Zahnpastaapplikation.

Ansatz	p adj. fdr
Negativ-Kontrolle - Aronal	0.91
Negativ-Kontrolle - Colgate	0.79
Negativ-Kontrolle - Dontodent	0.89
Negativ-Kontrolle - Rot Weiss	0.29

p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Nach 72 Stunden traten zwischen der Negativ-Kontrolle und den behandelten Ansätzen Signifikanzen auf (Tabelle 9). Die gemessenen Mittelwerte der behandelten Ansätze waren jedoch signifikant unterschiedlich zur Positiv-Kontrolle ($p = 0,00$) und Negativ-Kontrolle (Tabellen 9, 63).

Tabelle 9: LDH – Signifikanzwert zum Zeitpunkt 72. Vergleiche zwischen Negativ-Kontrolle und Zahnpastaapplikation.

Ansatz	p adj. fdr
Negativ-Kontrolle - Aronal	0.04
Negativ-Kontrolle - Colgate	0.03
Negativ-Kontrolle - Dontodent	0.01
Negativ-Kontrolle - Rot Weiss	0.00

p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Im nächsten Schritt wurden die Werte der LDH-Aktivität unter Applikation der einzelnen Verdünnungen für alle Zeitpunkte zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 10: LDH - Zahnpasta und Verdünnung. Mittelwerte über alle Zeitpunkte.

Zahnpasta	Verdünnung	lsmean	group
Dontodent	100	0.43	1
Aronal	100	0.47	1
Rot Weiss	100	0.50	1
Colgate	100	0.48	1
Dontodent	1000	0.47	1
Aronal	1000	0.46	1
Rot Weiss	1000	0.46	1
Colgate	1000	0.45	1

lsmean: least square means (Mittelwert des unteren und oberen Konvidenzintervalls), group: Gruppeneinteilung

Tabelle 10 zeigt, dass weder die Verdünnung 1:100 noch die Verdünnung 1:1000 einen zytotoxischen Effekt auf die Zellen ausübt. Die gemessene LDH-Freisetzung nach Zugabe der Zahnpasten war zu allen Zeitpunkten deutlich geringer gegenüber den Werten der Positiv-Kontrolle (Tabellen 58, 59). Es traten zu keinem Zeitpunkt und in keiner Verdünnung signifikant zytotoxische Effekte unter Zahnpastaapplikation auf (Tabellen 60 – 63).

7. Diskussion

7.1 TER

In vorliegender Studie wurden Zahnpasten mit den Wirkstoffen SLS, SLS/Triclosan und SLS/Zinkcitrat sowie eine Zahnpasta mit Pflanzenauszügen aus Kamille, Myrrhe, Salbei und Minze untersucht. Das anionische Tensid SLS besitzt ein gutes Schaum-, Netz- und Waschvermögen und ist damit ein wichtiger Bestandteil einiger Zahnpasten. Ebenso gehört es zu den Inhaltsstoffen von Shampoos, Handwaschmittel und Waschmittel [29]. SLS ist ein potenter antimikrobieller Zusatz mit antibakteriellen Effekten *in vitro* und *in vivo* [90, 91].

In verschiedenen Studien wurde der Effekt von SLS auf die Mukosa untersucht. Herlofson und Barkvoll (1993) konnten die Induktion von mukosaler Desquamation und die Zerstörung der Integrität der oralen Mukosa durch SLS nachweisen. Sie untersuchten Zahnpasten mit unterschiedlichen SLS Konzentrationen von 0,01 % bis 1,5 %. Diese wurden mit Hilfe einer Schiene direkt auf die Mukosa der Testpersonen appliziert. Es konnte gezeigt werden, dass die hoch konzentrierten Proben eine Desquamation des Epithels verursachten [68]. In einer anderen Studie von Healy et al. (2000) wurde der Effekt von SLS auf die Permeabilität der oralen Mukosa getestet. Die Autoren vermuteten, dass SLS die Kontakte zwischen den Keratinozyten zerstört. SLS bewirkte einen deutlichen Anstieg der Wasserdurchlässigkeit. Histologisch konnte eine Zerstörung der epithelialen Oberfläche gezeigt werden. Diese Effekte wurden jedoch nicht in Kombination des SLS mit Triclosan und Zink beobachtet [66]. In einer weiteren Studie wurde der Effekt von SLS-haltigen Zahnpasten an Patienten mit wiederkehrenden ulzerösen Aphten getestet. Das Wiederauftreten der Aphten war hier signifikant höher als bei der Verwendung der Vergleichszahnpasten ohne SLS [70]. In klinischen Studien wurde nach Anwendung SLS-haltiger Zahnpasten über ein brennendes Gefühl im Mund und epitheliale Ablösung berichtet [69].

Die Schutzfunktion der oralen Mukosa wird durch verschiedene Mechanismen gesichert. So wird die Proliferation von Basalzellen bei Zellverlust in der obersten Zellschicht verstärkt. Zusätzlich verstärken eine Lipidbarriere der obersten Epithelschicht und E-Cadherine die Schutzfunktion. Neppelberg et al. (2007) untersuchten den Effekt von SLS auf ein *in vitro* rekonstruiertes dreidimensionales Modell oraler Mukosa, generiert aus humanen primären Keratinozyten und Fibroblasten. Die Mukosa wurde SLS in Konzentrationen zwischen 0,015 % und 1,5 % für sieben Minuten ausgesetzt. Die Proben wurden immunhistochemisch, per TUNEL-

Methode und histomorphologisch beurteilt. Bei der TUNEL-Methode handelt es sich um eine Technik zum Nachweis von DNA-Strangbrüchen in fixierten Zellen und Gewebeschnitten. Die freien 3'-OH Enden der gebrochenen DNA werden mit fluoreszierenden Nukleotiden markiert. Sie dient vor allem zum Nachweis von apoptotischen Zellen, die in frühen Phasen der Apoptose eine ausgeprägte DNA-Fragmentierung in niedrigmolekulare Doppelstränge (Mono- und Oligosomen) zeigen. Neppelberg et al. zeigten, dass niedrige Konzentrationen (0,015 %) von SLS im Vergleich zur Negativ-Kontrolle eine signifikante Erhöhung der Dicke des Epithels, eine gesteigerte Proliferation und eine verstärkte Expression von E-Cadherinen verursachten. Bei hohen Konzentrationen ($\geq 0,15$ %) SLS lösten sich Zellen voneinander und von der Epitheloberfläche. Es resultierten sinkende epitheliale Dicke, gehemmte Proliferation der Zellen und erniedrigte Expression von E-Cadherinen. Bei Konzentrationen von 1,5 % wurde das Epithel komplett zerstört [95, 121]. Diese Beobachtungen lassen einen dualen Effekt abhängig von der SLS-Konzentration auf die rekonstruierte orale Mukosa vermuten. Die Ergebnisse legen nahe, dass die nach Einsatz niedriger SLS-Konzentrationen resultierende erhöhte Dicke des Epithels, die gesteigerte Proliferation und die verstärkte Expression von E-Cadherinen, als eine schützende, positive Stressreaktion der Mukosa angesehen werden können, wohingegen die höheren Konzentrationen SLS destruktive Reaktionen der Mukosa zur Folge hatten [95].

Ebenso wie von anderen Arbeitsgruppen konnte in der vorliegenden Arbeit ein dualer Effekt der verschiedenen Konzentrationen auf die Barrierefunktion der Keratinozyten *in vitro* gezeigt werden. Während die hohen Konzentrationen der eingesetzten Zahnpastaverdünnungen einen signifikanten Abfall des TER in den ersten 24 Stunden induzierten, verursachten die niedrigeren Konzentrationen einen TER Anstieg nach 24 Stunden Versuchsdauer bis Versuchsende. Dieser war nach 48 Stunden bis 72 Stunden signifikant höher gegenüber der Kontrolle.

Die eingesetzten Konzentrationen von SLS in Zahnpasten reichen in Europa von 0,5 % bis zu 2 % [14]. Die in vorliegender Arbeit getesteten Verdünnungen von 1:1000 und 1:100 enthielten somit SLS in den Konzentrationen 0,0005 % bis 0,002 % bzw. 0,005 % bis 0,02 %. Der Anstieg des TER, als Marker einer gut ausgebildeten epithelialen Barriere, weist auf einen schützenden Effekt niedriger SLS-Konzentrationen hin, wohingegen hohe Konzentrationen die epitheliale Barriere beeinträchtigen. In vorliegender Arbeit zeigte die Verdünnungsstufe 1:100 niedrigere TER-Mittelwerte als die Verdünnungsstufe 1:1000. Dieser Effekt war für alle untersuchten Zahnpasten nachweisbar. Die in der vorliegenden Studie detektierten dosisabhängigen Effekte

waren, im Einklang mit den Ergebnissen anderer Studiengruppen, bei der Verwendung der SLS-haltigen Zahnpasta am ausgeprägtesten [68, 95]. Die Ergebnisse legen nahe, dass bei niedrigen SLS-Konzentrationen eine vermehrte Zell-Zell-Interaktion mit steigender Quantität der Tight junctions verursacht wird. Der Anstieg des TER könnte somit als Marker der verstärkten epithelialen Barriere *in vitro* betrachtet werden. Dieser TER-steigernde Effekt war bei allen getesteten Zahnpasten in der Verdünnung 1:1000 nach 8 Stunden bis Versuchsende am ausgeprägtesten.

Drei der vier in vorliegender Studie eingesetzten Zahnpasten enthielten SLS. Durch welche Mechanismen SLS seine Effekte auf die Mukosa ausübt, ist nicht ausreichend geklärt. Angenommen wird, dass die teilweise Entfernung des Cholesterols und der freien Fettsäuren aus der Lipidschicht, die Zerstörung der Lipidbarriere auslösen können [60, 66]. Rhein et al. (1986) vermuteten, dass SLS in intrazelluläre Lipidschichten eingebaut wird und auf diesem Weg die Keratinozytenkohäsion beeinträchtigt werden kann. Außerdem kann SLS Keratine denaturieren, welche für die Struktur von Desmosomen und Tonofilamenten maßgeblich sind. Es wird zudem diskutiert, ob SLS die Muzinschicht der Schleimhaut zerstört, indem es Glykoproteine denaturiert [66, 103].

Die verschiedenen Inhaltsstoffe der untersuchten Zahnpasten resultierten in unterschiedlich ausgeprägten Effekten auf die Barriere: Die SLS-haltige Zahnpasta, ohne Zusatz von Triclosan oder Zink, induzierte in vorliegender Studie die niedrigsten TER-Messwerte in der Verdünnung 1:100. Die Mittelwerte des TER nach Verwendung der SLS-haltigen Zahnpasta lagen im Versuchszeitraum unter den Werten nach Einsatz der Zahnpasta mit SLS/Triclosan. Bereits nach 1 Stunde waren die Mittelwerte der SLS-haltigen Zahnpasta signifikant niedriger. Die vorliegenden Ergebnisse lassen vermuten, dass die negativen Effekte von SLS auf den TER durch das Vorhandensein von Triclosan gemindert werden können. Bezüglich der Effekte von Triclosan liegen einige Studien vor. Triclosan scheint einen mindernden Effekt auf die durch SLS verursachte Desquamation der oralen Mukosa zu haben. Dieser Effekt ist offenbar dosisabhängig [119, 121]. In einer 1996 durchgeführten Studie wurde Zahnpasta mittels Tiefziehschiene direkt auf die Mukosa von Probanden appliziert. Getragen wurde diese einmal täglich für 5 Minuten über 5 Tage. SLS Konzentrationen zwischen 1,5 % bis 3 % zusammen mit 0,3 % Triclosan wurden untersucht. Im Gegensatz zur Positiv-Kontrolle (ausschließlich 1,5 % SLS ohne Triclosan-Zusatz) wurde bei der Kombination 1,5 % SLS und 0,3 % Triclosan keine Desquamation der Mukosa ausgelöst. Bei der Verwendung von 3 % SLS und 0,3 % Triclosan konnten gravierende Desquamationen statistisch signifikant reduziert werden [119]. Auch von anderen

Autoren wurden Ergebnisse beschrieben, die auf eine mögliche Abschwächung der Effekte von SLS durch Triclosan hinweisen [15, 16, 120, 133]. In vorliegender Studie waren die TER-Werte unter Einsatz der Zahnpasta mit den Inhaltsstoffen SLS und Triclosan signifikant höher als die Werte der ausschließlich SLS-haltigen Zahnpasta. Dies weist auf eine Erhöhung der Barrierefunktion unter Einfluss der Wirkstoffe SLS und Triclosan im Vergleich zu der Probe mit ausschließlich SLS hin. Dies konnte über den gesamten Versuchszeitraum bei der Verdünnung 1:100 beobachtet werden. Im Gegensatz zu den bereits diskutierten Studien und der vorliegenden Studie demonstrierten Baert et al. (1996), dass Triclosan die Schleimhaut vor den negativen Einflüssen von SLS nicht schützt. Sie untersuchten die Effekte von SLS und Triclosan auf die Wangenschleimhaut von Hamstern. Im Gegensatz zu SLS hatte Triclosan jedoch keine Irritation der Schleimhaut zur Folge [12]. Der Wirkmechanismus von Triclosan auf SLS ist bis heute nicht hinreichend geklärt. Als Tensid hat SLS einen hydrophoben Kohlenwasserstoffrest und einen hydrophilen Anteil. Die SLS-Monomere können mit ihren hydrophoben Schwänzen Schleimhäute durchdringen. Triclosan bindet wahrscheinlich an die hydrophoben Enden des SLS-Monomers und reduziert oder verhindert damit das Eindringen von SLS in die Schleimhaut. Das Triclosan wird dabei in SLS-Mizellen aufgenommen und verändert den zerstörenden Effekt von SLS. Die Mizellen ordnen sich erst ab einer kritischen Konzentration, der sogenannten kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC), von SLS an. Die CMC liegt bei SLS bei 8 mM [103]. Unterhalb der CMC liegen die Moleküle frei vor. Rhein et al. (1986) untersuchten den Einfluss von Tensiden, unter anderem auch von SLS, auf eine Schwellung des Stratum corneum abdominaler Haut. Die Schwellung trat dosisabhängig auf. Ab der CMC trat eine Sättigung der Reaktion auf. Dies lässt darauf schließen, dass die durch SLS ausgelösten Effekte über die SLS-Monomere induziert werden [103]. Eine weitere Hypothese ist, dass sich das fettlösliche Triclosan in der Membran der Schleimhaut auflöst und somit die oberste Epithelschicht stabilisiert. Dadurch wird die Schleimhaut vor SLS geschützt [14, 119, 121].

Der Zusatz von Zink in Zahnpasten kann die Plaqueakkumulation vermindern und kann sich positiv auf den Verlauf einer Gingivitis auswirken. Es kann Mundgeruch vermindern und zeigt antibakterielle Eigenschaften, indem es die Adhäsion der Bakterien, deren metabolische Aktivität und deren Wachstum hemmt [37, 111]. Die Ergebnisse vorliegender Studie lassen zusätzlich einen protektiven Effekt von Zink auf die epitheliale Barriere vermuten. Der steigernde Effekt der zinkhaltigen Zahnpasta auf den TER unterschied sich signifikant von den Effekten der drei übrigen Zahnpasten. Die Mittelwerte des TER unter Verwendung der ausschließlich SLS-haltigen Zahnpasta

waren nach 24 Stunden, 48 Stunden und 72 Stunden signifikant und hoch signifikant niedriger als die Mittelwerte nach Einsatz der Zahnpasta mit den Wirkstoffen SLS/Zinkcitrat (Aronal). Nach 48 Stunden und 72 Stunden waren die Werte von Aronal außerdem signifikant höher gegenüber den Werten der Zahnpasta mit den Wirkstoffen SLS/Triclosan (Colgate) und den Werten der kräuterhaltigen Zahnpasta (Dontodent). Die zinkhaltige Zahnpasta induzierte den stärksten TER-Anstieg bei Verwendung der Verdünnung 1:1000 nach 24 Stunden bis 72 Stunden. Auch nach Applikation der Verdünnung 1:100 waren erhöhte TER Werte nach 48 Stunden und 72 Stunden detektierbar. Mercado et al. (2013) zeigten, dass der Einsatz von Zink (100 µM) auf Kulturen epithelialer Zellen von Schweinenieren nach 48 Stunden den TER statistisch signifikant erhöhte [87]. Die zinkhaltige Zahnpasta in vorliegender Studie erhöhte außerdem die Messwerte des TER signifikant gegenüber der Kontrolle nach 48 Stunden und 72 Stunden. Zink scheint die negativen Effekte von SLS auf die Barrierefunktion ebenfalls zu vermindern. Zink bindet an anionische Gruppen von SLS und vermindert so wahrscheinlich den zerstörenden Effekt durch SLS [66].

Ferner weisen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit darauf hin, dass Zink den negativen Effekt auf den TER, ausgelöst durch SLS, deutlicher vermindert als Triclosan. Im Mittel waren die vorliegenden TER-Werte der SLS/Zink-haltigen Zahnpasta höher als die Werte der SLS/Triclosan-haltigen Zahnpasta. In der Verdünnung 1:100 waren diese Unterschiede nach 72 Stunden signifikant. Nach 8 – 48 Stunden gab es signifikante Unterschiede in der Verdünnung 1:1000.

Einen möglichen additiven Effekt der Kombination von Triclosan und Zink beschrieben Healy et al. (2000). Sie untersuchten an 16 Proben von Zungenmukosa den Effekt von SLS, Triclosan und Zink auf die Wasserpermeabilität des Gewebes. Die Behandlung der Mukosa mit 1,5 % SLS für 15 min verursachte einen signifikanten Anstieg der Permeabilität. Die Kombination von 1,5 % SLS mit 0,3 % Triclosan und 0,75 % Zink veränderte die Permeabilität im Vergleich zu Kontrolle nicht [66].

Verschiedene kräuterhaltige Zahnpasten sind kommerziell zu erwerben. Die in der vorliegenden Studie eingesetzte Zahnpasta mit Pflanzenauszügen enthielt als zusätzlichen Inhaltsstoff Natrium C14-16 Olefin-Sulfonat, ein Tensid welches unter anderem in Shampoos und Zahnpasten eingesetzt wird. Es handelt sich um ein effizientes, biologisch gut abbaubares Reinigungsmittel mit hohem Schaum- und Reinigungsvermögen. In humanen Studien wurden milde Hautirritationen in 24-stündigen Patch-Test mit Konzentrationen von 1 % - 2 % nachgewiesen. Bei Versuchen mit Ratten wurde das Natrium C14-16 Olefin-Sulfonat nach oraler

Verabreichung rasch absorbiert. Es wird vorwiegend über den Urin ausgeschieden. Eine Absorption über die Haut ist minimal [10]. Die Effekte von pflanzlichen Inhaltsstoffen auf die gingivale Barrierefunktion wurden bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht untersucht. Bei vorliegender Zahnpasta handelt es sich um eine Wirkstoffkombination aus verschiedenen Kräutern:

Matricaria recutita, die echte Kamille, ist eine einjährige, krautige, 20 - 50 cm hoch werdende Pflanze, die heute fast weltweit verbreitet ist. Züchtungsziele sind insbesondere Chemotypen mit einem hohen Gehalt an ätherischen Ölen, Matricin bzw. Chamazulen, Bisabolol und Spiroethern. Matricin wird zu den Azulenbildnern gerechnet. Anwendung findet Kamille vor allem in der Lebensmittelindustrie in Form von Teepräparaten. Innerlich angewendet kann sie gastrointestinale Spasmen und entzündliche Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes lindern. Des Weiteren ergibt sich der Einsatz von Kamille zur Inhalationstherapie bei Reizzuständen der Luftwege. Kamillenöl ist in der Lage die humane neutrophile Elastase zu hemmen, es eignet sich somit zur Behandlung von COPD [62]. Äußerliche Anwendungsmöglichkeiten ergeben sich bei Haut- und Schleimhauterkrankungen einschließlich der Mundhöhle und des Zahnfleisches sowie bei Erkrankungen im Anal- und Genitalbereich [62]. Als einen Inhaltsstoff der Kamille muss das Cumarin Herniarin als mögliches Kontaktallergen erwähnt werden [62]. Das Auftreten von Kontaktallergien bei echter Kamille ist jedoch sehr selten. Enthaltenes Bisabolol wirkt entzündungshemmend [62]. Die antiinflammatorischen Eigenschaften der Kamille gehen mit einer Verminderung der IL-1 β und TNF- α Spiegel in oraler Mukosa einher [38].

Myrrhe besteht aus dem an der Luft gehärteten Gummiharz, das aus dem Stamm und Ästen von *Commiphora molmol* oder anderen *Commiphora*-Arten gewonnen wird. *C. abyssinica* ist eine von 100 Arten. Myrrhe stammt ausschließlich aus Wildsammlungen. Ätherische Öle, in Ethanol lösliche Harzfraktion und ein wasserlöslicher Gummenanteil zählen zu den Hauptbestandteilen. Die enthaltenen Wirkstoffe Sequiterpene haben antiseptische, antiinflammatorische, antibakterielle, antifungale, antiallergene und antispasmodische Wirkung [62]. Seine antiinflammatorische Wirkung wird über eine Inaktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B ausgelöst, was die IL-1 β stimulierte Produktion des inflammatorischen Zytokins IL-6 in Fibroblasten unterdrückt [128].

Die zwei officinellen Salbeiarten, echter und dreilappiger Salbei, enthalten Thujon (α - und β -Thujon), Cineol und Campher. Salbeiblätter werden zur Tinktur und zu Extrakten verarbeitet. Salbei wirkt antibakteriell, fungistatisch, virustatisch,

adstringierend, sekretionsfördernd, schweißhemmend und antioxidativ. Anwendung findet es zum Beispiel bei Entzündungen der Mund- und Rachenschleimhaut.

Die Ackerminze *Mentha arvensis*, ist mehrjährig und wird bis zu 60 cm hoch. Aus dem blühenden Kraut wird durch Wasserdampfdestillation ein ätherisches Öl gewonnen. Anwendungsgebiete sind Magen-Darm-Beschwerden, Gallebeschwerden und Katarrh der Atemwege. Bei Nerven- oder Muskelschmerzen kann es äußerlich angewendet werden. Bei äußerlicher Anwendung kommt es gelegentlich zu Hautreizungen und Ekzemen, bei innerlicher Anwendung können Magenbeschwerden auftreten [79].

Die Wirksamkeit von Pflanzenauszügen in Zahnpasten und Mundspüllösungen auf Plaque, Sulkus-Blutungen und den pH-Wert des Speichels wurde von Willershausen (1991) in einer einfach verblindeten Studie an 50 Probanden untersucht. Herangezogen wurde der Approximalraum-Plaque-Index (API), ein Index zur Verifizierung des Plaquebefalls der Zahnzwischenräume durch Anfärben der Plaque. Die Summe der verschmutzten Flächen wird in Relation zu den untersuchten Flächen gesetzt und mit 100 multipliziert. Es resultiert der API in Prozent, welcher zur Kontrolle der Mundhygiene dient. Außerdem diente der Sulkus-Blutungs-Index (SBI) der Erfassung von Blutungen im Bereich der Interdentalräume. Die Pflanzenauszüge reduzierten sowohl den API als auch den SBI signifikant. Der pH des Speichels wurde in den alkalischen Bereich verschoben. Diese Ergebnisse legen nahe, dass pflanzliche Inhaltsstoffe unterstützend in der Therapie von parodontalen Erkrankungen und zur Routine-Prophylaxe eingesetzt werden können [139].

In vorliegender Studie zeigte die Zahnpasta, welche als zusätzliche Wirkstoffe Pflanzenauszüge enthielt, signifikant höhere Mittelwerte des TER als die SLS-haltige Zahnpasta nach 2 bis 3 Stunden und nach 24 Stunden bis 72 Stunden. Der Einsatz der Wirkstoffkombination Kamille, Myrrhe, Salbei und *M. arvensis* induzierte stabile TER-Werte. Die TER-Mittelwerte bei Einsatz der kräuterhaltigen Zahnpasta blieben während des Versuchszeitraums unterhalb der SLS/Zink-haltigen Zahnpasta. Nach 48 Stunden und 72 Stunden waren diese Unterschiede signifikant. Dies weist auf einen deutlicheren positiven Effekt der SLS/Zink Kombination auf die Barriere im Vergleich zu der kräuterhaltigen Zahnpasta hin.

Die Mittelwerte der kräuterhaltigen Zahnpasta sind verglichen mit den Mittelwerten der SLS/Triclosan-haltigen Zahnpasta geringfügig niedriger, jedoch nicht signifikant unterschiedlich. Dies weist auf einen ähnlich starken positiven Einfluss der beiden

Zahnpasten auf den TER, und einen analog ausgeprägten positiven Effekt auf die Barriere, hin.

Weitere Studien müssen klären, inwieweit die Wirkstoffe der kräuterhaltigen Zahnpasta einzeln oder in Kombination für die Barriere-stärkenden Effekte verantwortlich sind.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass die Inhaltsstoffe der Zahnpasten einen konzentrationsabhängigen Effekt auf die Barrierefunktion haben. Dieser Effekt war am stärksten bei der SLS-haltigen Zahnpasta zu beobachten. Entgegen der Vermutung der Induktion des Zusammenbruchs des TER durch Inhaltsstoffe von Zahnpasten (**H1**) blieben die Messwerte unter Einfluss aller vier getesteten Zahnpasten stabil. Die Ergebnisse lassen eine gegenseitige Wechselwirkung der Inhaltsstoffe bei Wirkstoffkombination in einer Zahnpasta vermuten. Die TER-schwächenden Effekte von SLS wurden durch die Kombination von SLS mit Zink oder mit Triclosan vermindert. Triclosan und Zink zeigten einen protektiven Effekt auf die Barrierefunktion. Die Verwendung der kräuterhaltigen Zahnpasta führte zu einem vergleichbaren Ergebnis.

7.2 Zytotoxizität

Moore et al. (2008) untersuchten mögliche zytotoxische Effekte von Detergenzien wie SLS, außerdem von Adinol, Tego Betain und Pluronic in Konzentrationen von 0,25 % bis 1 % auf TERT-1 Keratinozyten. Der Zelltod wurde spektrometrisch mit einem MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid)-Test festgestellt, einem Test zur Bestimmung der Zellviabilität. Mit Ausnahme von Pluronic induzierten die eingesetzten Detergenzien Zelltod. Die Autoren schlossen daraus, dass die getesteten Detergenzien das Potential haben, Schleimhäute zu schädigen [89].

In der vorliegenden Studie wurde keine signifikante Zytotoxizität der eingesetzten Zahnpastaverdünnungen auf die epithelialen Zellen gezeigt. Dies galt ebenfalls für die SLS-haltige Zahnpasta. Aus den in vorliegender Studie eingesetzten Verdünnungen resultieren SLS-Konzentrationen von 0,0005 % bis 0,002 % bzw. 0,005 % bis 0,02 %. Diese lagen unter den Konzentrationen der Studie von Moore et al., was diese unterschiedlichen Ergebnisse erklären könnte.

Verschiedene Studien zeigten zytotoxische Effekte durch Kräuter und deren Auszüge: Die Ackerminze *Mentha arvensis* wies in Studien zytotoxische Effekte auf. Als Testsystem wurde der Brine-Shrimp-Test mit *Artemia salina* als Testorganismus eingesetzt, der ein schnelles Screening auf Zytotoxizität erlaubt [96]. Durchgeführt wird der Test mit Salinenkrebse, den „brine shrimps“. Dabei wird eine bestimmte Anzahl von Nauplien (Primärlarve) mit der zu untersuchenden Probe inkubiert. Nach einer definierten Inkubationszeit wird durch Auszählen der überlebenden und toten Krebse die Absterberate bestimmt. In einer Studie von Villa et al. (2009) wurde *Salvia somalensis*, eine Salbeiart, im Zytotoxizitätstest auf die Keratinozyten-Zelllinie NCTC 2544 untersucht. Es wurden geringfügige zytotoxische Effekte, weit unter denen der Positiv-Kontrolle, detektiert. Die eingesetzte *Salvia somalensis* enthält kein α - und β -Thujon [132]. Durch Thujon sind sowohl Vergiftungen als auch neurotoxische Effekte bei missbräuchlicher Verwendung möglich [62]. Tipton et al. (2005) konnten die Zytotoxizität von Myrrhe-Öl an gingivalen Epithelzellen (S-G Zellen) mittels eines LDH-Assays zeigen. Bei Konzentrationen $\leq 0,0001$ % betrug die Zytotoxizität < 10 % der Zellen. Bei höheren Konzentrationen ($\geq 0,0025$ %) stieg die Membranzerstörung dosis- und zeitabhängig (50 – 100 % nach 6 bis 24 Stunden). Es konnte ein deutlicher Effekt der Myrrhe auf metabolische Aktivitäten der Zellen und auf die Membranaktivität gezeigt werden [128]. Im Gegensatz dazu demonstrierten die Ergebnisse vorliegender Studie keine signifikante Zytotoxizität der kräuterhaltigen Zahnpasta. Die Kombination

der Kräuter in eingesetzter Zahnpasta, könnte diese unterschiedlichen Ergebnisse erklären.

Abu-Darwish et al. (2013) wiesen ebenfalls keinerlei zytotoxische Effekte von *S. officinalis* auf Keratinozyten (HaCaT) bis zu einer Konzentration von 0,64 µL/ml nach [2].

Die in vorliegender Arbeit untersuchte Zahnpasta mit den Wirkstoffen SLS/Triclosan zeigte ebenfalls keine zytotoxischen Effekte. Zuckerbraun et al. (1998) wiesen hingegen mittels eines Neutral Red-Assays (NR-Assay), ein Test zur Bestimmung der Zellviabilität, die Zytotoxizität von Triclosan nach einer Applikationsdauer von 24 Stunden nach. Toxische Effekte traten bereits bei Konzentrationen von 0,03 mM Triclosan auf. Zudem wurden die Zellmorphologie und der Effekt auf die Plasmamembran untersucht. Die verwendeten Zellen (S-G Humane gingivale epitheliale Zellen) reagierten nach drei Stunden Applikationsdauer ab einer Konzentration von 0,1 mM Triclosan mit einer signifikant erhöhten Freisetzung von LDH [149]. Babich et al. (1997) testeten die *in vitro* Zytotoxizität mittels NR-Assay von SLS und Triclosan, jeweils einzeln und in Kombination, an humanen gingivalen epithelialen S-G Zellen. Nach 24 Stunden lag die mittlere Zytotoxizität von Triclosan bei 0,052 mM und für SLS bei 0,0075 %. Die zytotoxischen Effekte von Triclosan und SLS summierten sich [11].

In der vorliegenden Studie wurde kein zytotoxischer Effekt der untersuchten Zahnpasten an oralen Epithelzellen demonstriert, weder unter Verwendung der Verdünnung 1:100 noch der Verdünnung 1:1000. Die Zahnpastaansätze verhielten sich im Verlauf ähnlich zu den Negativ-Kontrollen. Vergleicht man die behandelten Ansätze der einzelnen Formulierungen mit den unbehandelten Ansätzen (Negativ-Kontrolle) traten keine signifikanten Unterschiede nach 8 Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden auf, jedoch nach 72 Stunden. Die gemessenen Mittelwerte waren dennoch signifikant niedriger zu den Werten der Positiv-Kontrolle. Somit traten zu keinem Zeitpunkt und in keiner Verdünnung bedeutende zytotoxische Effekte unter Applikation der Zahnpasten auf.

Es konnte in vorliegender Studie gezeigt werden, dass die verwendeten Zahnpasten in den eingesetzten Verdünnungen nicht zytotoxisch auf immortalisierte Keratinozyten *in vitro* wirken. Die Hypothese, dass die Inhaltsstoffe von Zahnpasten konzentrationsabhängig ein zytotoxisches Potential haben (**H2**), wurde damit widerlegt.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass SLS-haltige Zahnpasta-Aufbereitungen konzentrationsabhängig die Barrierefunktion eines *in vitro* Modells humaner gingivaler Keratinozyten modulieren, ohne dass zytotoxische Effekte auftreten. Die niedrigeren Konzentrationen wiesen TER-stabilisierende und steigernde Eigenschaften auf. Die höheren Konzentrationen zeigten TER beeinträchtigende Effekte, welche durch die Inhaltsstoffe Zinkcitrat und Triclosan vermindert wurden.

8. Zusammenfassung

Die Integrität des Epithels wird durch verschiedene interzelluläre Kontakte wie Tight junctions aufrechterhalten. Die Hauptfunktion der Tight junctions besteht in der Ausbildung einer parazellulären Barriere, deren Durchlässigkeit einer ausgeprägten Regulation unterliegt. Die gingivale epitheliale Barrierefunktion kann auf physiologische, pharmakologische und pathologische Einflüsse reagieren [118]. Zwischen der Anzahl der Tight junctions Stränge und dem transepithelialen elektrischen Widerstand besteht ein logarithmischer Zusammenhang [34, 113]. Bestimmte Inhaltsstoffe von Zahnpasten (wie SLS) haben dosisabhängig Einfluss auf die Zellkontakte der oralen Mukosa und somit auf die Barriere [68]. Andere Inhaltsstoffe sind in der Lage, die desquamative Wirkung von SLS zu vermindern (Triclosan, Zink) [66]. In zahlreichen Studien wurde die Reaktion der Mukosa auf Inhaltsstoffe von Zahnpasten untersucht. Es konnten dosisabhängige Effekte gezeigt werden [66, 68, 69, 95, 119, 121].

Ziel vorliegender Arbeit war, den Einfluss kommerziell erhältlicher Zahnpasten auf die gingivale epitheliale Barriere *in vitro* zu testen. Des Weiteren sollte die Zytotoxizität der Zahnpasten untersucht werden. Dazu wurden immortalisierte gingivale humane Keratinozyten der Zelllinie Gie No3B11 über einen Zeitraum von 72 Stunden verschiedenen aufbereiteten Zahnpasten ausgesetzt. Getestet wurden die Zahnpasten Colgate (SLS und Triclosan), Rot Weiss (SLS), Dontodent Kräuter (Kamille, Myrrhe, Salbei, *M. arvensis*) und Aronal (SLS und Zink). Es wurden wässrige Aufbereitungen, sog. „Slurries“ in den Verdünnungen 1:100 und 1:1000 eingesetzt. Der transepitheliale elektrische Widerstand wurde mit Hilfe eines Volt-Ohm-Meters über den Versuchszeitraum nach jeweils 1 - 8, 24, 48 und 72 Stunden gemessen. Die Zytotoxizität wurde mit Hilfe eines LDH-Tests bestimmt. Die Messung der Absorption erfolgte mittels eines Multireaders. Die Auswertung zeigte, dass keine der getesteten Zahnpasten zytotoxische Eigenschaften über den Versuchszeitraum hatte. Bei allen eingesetzten Zahnpasten konnten konzentrationsabhängig Einflüsse auf den TER beobachtet werden. Die gemessenen Mittelwerte unter Applikation der Verdünnungen 1:1000 waren zu allen Zeitpunkten höher als die der Verdünnungen 1:100. Aufbereitungen, welche den Wirkstoff SLS enthielten, verursachten signifikante und hoch signifikante Unterschiede. Der stärkste Abfall des TER wurde bei der SLS-haltigen Zahnpasta festgestellt. Der stärkste Anstieg des TER resultierte aus der Applikation der zinkhaltigen Zahnpasta. Die vorliegenden Ergebnisse weisen darauf

hin, dass die negativen Effekte von SLS durch das Vorhandensein von Triclosan oder Zink vermindert wurden. Die Kombination von Zink oder Triclosan im Vergleich zur SLS-haltigen Zahnpasta induzierten eine Erhöhung der TER-Werte. Die Ergebnisse zeigen, dass SLS-haltige Zahnpasta-Aufbereitungen den TER konzentrationsabhängig erniedrigen können. Triclosan und Zink scheinen einen eher protektiven Effekt auf die Barrierefunktion zu haben.

9. Summary

The integrity of the epithelium is maintained by different intercellular contacts, e.g. tight junctions. The main function of the tight junctions is the formation of a regulated para-cellular permeable barrier.

The gingival epithelial barrier function is able to react to physiological, pharmacological and pathological influences [118]. The correlation between the number of tight junctions and the transepithelial electrical resistance has been described as logarithmic [34, 113]. Certain ingredients of tooth pastes (like SLS) affect dose dependently cell-cell contacts of the oral mucosa and its barrier [68]. Other ingredients are able to reduce the desquamative effect of SLS (triclosan, zinc) [66]. Various studies analyzed the reaction of the mucosa to ingredients of dentifrices that demonstrated dose dependent effects [66, 68, 69, 95, 119, 121].

The aim of this study was to analyze the effects of commercial available dentifrices on the gingival epithelial barrier function *in vitro*. In addition, the cytotoxicity of the dentifrices should be investigated. Immortalized human gingival keratinocytes of the cell line Gie No3B11 were exposed to the different toothpaste preparations over a period of 72 hours. The dentifrices Colgate (SLS and triclosan), Rot Weiss (SLS), Dontodent Kräuter (chamomile, myrrh, sage, *M. arvensis*) and Aronal (SLS and zinc) were used. Slurries in the dilutions 1:100 and 1:1000 were used. The transepithelial electrical resistance (TER) was measured after 1 - 8, 24, 48 and 72 hours using a volt ohm meter. The cytotoxicity was determined by LDH-release measuring the absorbance using a multireader device. The results showed that none of the tested dentifrices had cytotoxic properties. Dose dependent reactions on TER could be observed for all dentifrices. The measured values of the dilution 1:1000 were higher compared to the dilution 1:100. Preparations containing the active agent SLS, induced significant and highly significant differences between the two dilutions. The most distinct decrease was observed using the toothpaste without additional components. The most distinct increase was induced by a toothpaste containing zinc. Present results suggest that the barrier-negative effects of SLS may be reduced by triclosan or zinc. The combination of zinc or triclosan and SLS compared to only SLS containing toothpaste increased the TER.

The results of this study suggest that single active agents, especially SLS, dose dependently affect the TER dependent on the concentration. Triclosan and zinc seem to influence the barrier function in a rather protective manner.

10. Abkürzungsverzeichnis

A. a.	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
AJ	Adhärenz-Kontakt
AJC	Apical junctional complex
ANOVA	Analysis of variance
API	Approximalraum-Plaque-Index
A. viscosus	Actinomyces viscosus
Bcl	B - Cell Lymphoma
CMC	kritische Mizellbildungskonzentration
c – Myc	Protein codiert von Myelocytomatose
COOH	Carboxygruppe
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's minimal essential medium
DMSO	Dimethyl sulfoxide minimum
EC -	Extrazellulär Kalziumbindend -
E. coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGF	Epidermal Growth Factor
ELISA	Enzyme - linked Immunosorbent Assay
EPLIN	Epithelial protein lost in neoplasm
FCS	Fetales Kälberserum
GM - CSF	Granulocyte macrophage colony - stimulating factor
HaCaT	Humane Keratinozyten Zell - Linie
HEPES	Hydroxyethylpiperazin - Ethansulfonsäure - Puffer
HGK	Humane Gingivale Keratinozyten
HPV	Humane Papillomaviren

IDP	Inner dense plaque
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
INT	(2-[4-Iodophenyl]-3-[4-nitrophenyl]-5-phenyltetrazoliumchlorid)
JAM	Junctional Adhesion Molecule
JE	Saumepithel
K -	Keratin -
kDa	Kilodalton
KGF	Keratinocyten Wachstumsfaktor
LDH	Laktat - Dehydrogenase
LPS	Lipopolysaccharid
M	Mol
MAGUK	Membrane-associated guanylate kinase
MARVEL	MAL and related proteins for vesicle trafficking and membrane link
M. arvensis	Mentha arvensis; Ackermintze
MDCK	Madin Darby canine kidney
MTT -	Farbstoff : 3 - (4,5 - Dimethylthiazol - 2 - yl) - 2,5 - diphenyltetrazoliumbromid
MUPP	Multi – PDZ – Domain - Protein
MW	Mittelwert
NAD	Nikotinamidadenindinukleotid
NADH	Nikotinamidadenindinukleotid-Hydrid
NCTC	National Collection of Type Cultures
NF - κ B	Nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B-Cells
NH ₂	Aminogruppe
NR	Neutral Red
ODP	Outer dense plaque
OE	Orales Epithel

OSE	Orales Sulkusepithel
PAR	Parodontalbehandlung
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDZ	PSD – 95 (postsynaptic density - 95), D lg (discs large), ZO - 1(Zonula occludens - 1)
PHB	Para-Hydroxy-Benzoessäure
P. intermedia	Prevotella intermedia
pki	isoelektrischer Punkt
Ras	Rat sarcoma
Rpm	Revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)
SBI	Sulkus-Blutungs-Index
SD	Standardabweichung
SLS	Sodiumlaurylsulphate
S. mitis	Streptococcus mitis
S. mutans	Streptococcus mutans
Str.	Stratum
TA	Transit - amplifying cells
TCN	Triclosan
TER	Transepithelialer Elektrischer Widerstand
TGase - K	Transglutaminase von Keratinozyten exprimiert
TJ	Tight junction
TNF	Tumornekrosefaktor
TUNEL	Terminale Desoxyribosyl-Transferase mediated dUTP Nick End Labeling
ZAK	ZO - 1 assoziierte Kinase
ZO	Zonula occludens Proteine

11. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aronal - Kinetik des TER.....	34
Abbildung 2: Rot Weiss - Kinetik des TER.....	35
Abbildung 3: Dontodent - Kinetik des TER.....	36
Abbildung 4: Colgate - Kinetik des TER.....	37
Abbildung 5: TER-Messwerte unter Applikation von Rot Weiss und Colgate in der Verdünnung 1:100.....	39
Abbildung 6: TER-Messwerte unter Applikation von Rot Weiss und Aronal in der Verdünnung 1:100.....	40
Abbildung 7: TER-Messwerte unter Applikation von Rot Weiss und Dontodent in der Verdünnung 1:100.....	40
Abbildung 8: TER-Messwerte unter Applikation von Rot Weiss in der Verdünnung 1:100 und 1:1000	42
Abbildung 9: TER-Messwerte unter Applikation von Dontodent in der Verdünnung 1:100 und 1:1000	42
Abbildung 10: TER-Messwerte unter Applikation von Colgate in der Verdünnung 1:100 und 1:1000	43
Abbildung 11: TER-Messwerte unter Applikation von Aronal in der Verdünnung 1:100 und 1:1000	43
Abbildung 12: TER-Messwerte unter Applikation von Aronal und Colgate in der Verdünnung 1:1000.....	45
Abbildung 13: LDH-Aktivität nach 8 Stunden Applikation.....	48
Abbildung 14: LDH-Aktivität nach 24 Stunden Applikation.....	48
Abbildung 15: LDH-Aktivität nach 48 Stunden Applikation.....	49
Abbildung 16: LDH-Aktivität nach 72 Stunden Applikation.....	50

12. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Zahnpasten und deren Inhaltsstoffe	24
Tabelle 2: Substanzen Medium modifiziert nach LAUER.....	25
Tabelle 3: Substanzen Passagieren	26
Tabelle 4: Substanzen Kulturmedium zur Differenzierung	28
Tabelle 5: Substanzen Zytotoxizitätstest	31
Tabelle 6: LDH – Signifikanzwert zum Zeitpunkt 8. Vergleiche zwischen Negativ- Kontrolle und Zahnpastaapplikation.	51
Tabelle 7: LDH – Signifikanzwert zum Zeitpunkt 24. Vergleiche zwischen Negativ- Kontrolle und Zahnpastaapplikation.	51
Tabelle 8: LDH – Signifikanzwert zum Zeitpunkt 48. Vergleiche zwischen Negativ- Kontrolle und Zahnpastaapplikation.	52
Tabelle 9: LDH – Signifikanzwert zum Zeitpunkt 72. Vergleiche zwischen Negativ- Kontrolle und Zahnpastaapplikation.	52
Tabelle 10: LDH - Zahnpasta und Verdünnung. Mittelwerte über alle Zeitpunkte.....	53
Tabelle 11: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 0.....	XXI
Tabelle 12: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 1.....	XXI
Tabelle 13: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 2.....	XXII
Tabelle 14: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 3.....	XXII
Tabelle 15: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 4.....	XXII
Tabelle 16: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 5.....	XXIII
Tabelle 17: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 6.....	XXIII
Tabelle 18: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 7.....	XXIII
Tabelle 19: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 8.....	XXIV
Tabelle 20: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 24.....	XXIV
Tabelle 21: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 48.....	XXIV
Tabelle 22: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 72.....	XXV
Tabelle 23: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 0.	XXVI
Tabelle 24: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 1	XXVI
Tabelle 25: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 2	XXVII
Tabelle 26: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 3	XXVII
Tabelle 27: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 4	XXVIII
Tabelle 28: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 5	XXVIII
Tabelle 29: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 6	XXIX
Tabelle 30: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 7	XXIX

Tabelle 31: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 8	XXX
Tabelle 32: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 24	XXX
Tabelle 33: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 48	XXXI
Tabelle 34: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 72	XXXI
Tabelle 35: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 0	XXXII
Tabelle 36: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 1	XXXII
Tabelle 37: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 2	XXXIII
Tabelle 38: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 3	XXXIII
Tabelle 39: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 4	XXXIV
Tabelle 40: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 5	XXXIV
Tabelle 41: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 6	XXXV
Tabelle 42: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 7	XXXV
Tabelle 43: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 8	XXXVI
Tabelle 44: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 24	XXXVI
Tabelle 45: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 48	XXXVII
Tabelle 46: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 72	XXXVII
Tabelle 47: TER zum Zeitpunkt 1. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XXXVIII
Tabelle 48: TER zum Zeitpunkt 2. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XXXIX
Tabelle 49: TER zum Zeitpunkt 3. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XL
Tabelle 50: TER zum Zeitpunkt 4. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XLII
Tabelle 51: TER zum Zeitpunkt 5. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XLII
Tabelle 52: TER zum Zeitpunkt 6. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XLIII
Tabelle 53: TER zum Zeitpunkt 7. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XLIV
Tabelle 54: TER zum Zeitpunkt 8. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XLV
Tabelle 55: TER zum Zeitpunkt 24. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XLVI
Tabelle 56: TER zum Zeitpunkt 48. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XLVII
Tabelle 57: TER zum Zeitpunkt 72. Paarweise Vergleiche Verdünnungen	XLVIII
Tabelle 58: LDH - Werte, 8 und 24 Stunden	XLIX
Tabelle 59: LDH- Werte, 48 und 72 Stunden	L
Tabelle 60: LDH – Paarweise Vergleiche. Signifikanzwerte zum Zeitpunkt 8	LI
Tabelle 61: LDH – Paarweise Vergleiche. Signifikanzwert zum Zeitpunkt 24	LII
Tabelle 62: LDH – Paarweise Vergleiche. Signifikanzwert zum Zeitpunkt 48	LIII
Tabelle 63: LDH – Paarweise Vergleiche. Signifikanzwert zum Zeitpunkt 72	LIV
Tabelle 64: Verbrauchsmaterialien und Geräte	LV

13. Literaturverzeichnis

- [1] Abe, K., & Takeichi, M. (2008). EPLIN mediates linkage of the cadherin catenin complex to F-actin and stabilizes the circumferential actin belt. *Proc Natl Acad Sci*, 105, S. 13-19.
- [2] Abu-Darwish, M. S., Cabral, C., Ferreira, I. V., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., et al. (2013). Essential Oil of Common Sage (*Salvia officinalis* L.) from Jordan: Assessment of Safety in Mammalian Cells and Its Antifungal and Anti-Inflammatory Potential. *BioMed Research International*, Article ID 538940.
- [3] Adams, C. L., & Nelson, W. J. (1998). Cytomechanics of cadherin-mediated cell-cell adhesion. *Curr. Opin. Cell Biol*, 10, S. 572-577.
- [4] Allmyr, M., et al. (2006). Triclosan in plasma and milk from Swedish nursing mothers and their exposure via personal care products. *Sci. Total Environ.*, 372, S. 87–93.
- [5] Allmyr, M., et al. (2009). Human exposure to triclosan via toothpaste does not change CYP3A4 activity or plasma concentrations of thyroid hormones. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 105, S. 339–44.
- [6] Amasheh, S., et al. (2002). Claudin-2 expression induces cation-selective channels in tight junctions of epithelial cells. *J Cell Sci*, 115, S. 4969-4976.
- [7] Anderson, J. M., & Van Itallie, C. M. (2009). Physiology and Function of the Tight Junction. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1, S. a002584.
- [8] Anderson, J. M., Van Itallie, C. M., & Fanning, A. S. (2004). Setting up a selective barrier at the apical junction complex. *Curr Opin Cell Biol*, 16, S. 140-145.
- [9] Aramaki, J., Effendy, I., Happle, R., Kawana, S., Löffler, C., & Löffler, H. (2001). Which bioengineering assay is appropriate for irritant patch testing with sodium lauryl sulfate? *Contact Dermatitis*, 45 (5), S. 286-290.
- [10] Arthur, D. Little, Inc. (1993). Environmental and human safety of major surfactants. Volume 1. Anionic surfactants. Part 4. Alpha olefin sulfonates. *National Technical Service (NTIS) report* No.PB94-102423.
- [11] Babich, H., & Babich, J. (1997). Sodium lauryl sulfate and triclosan: in vitro cytotoxicity studies with gingival cells. *Toxicology Letters* (91), S. 189-196.
- [12] Baert, J. H., et al. (1996). The effect of sodium lauryl sulphate and triclosan on hamster cheek pouch mucosa. *J Exp Path*, 77, S. 73-78.
- [13] Balda, M. S., & Matter, K. (2003). Epithelial cell adhesion and the regulation of gene expression. *Trends Cell Biol*, 13, S. 310-318.
- [14] Barkvoll, P., & Rolla, G. (1994). Triclosan protects the skin against dermatitis caused by sodium lauryl sulphate exposure. *J Clin Periodontol*, 21 (10), S. 717-719.

- [15] Barkvoll, P., & Rolla, G. (1995). Triclosan reduces the clinical symptoms of the allergic patch test reaction (APR) elicited with 1 % nickel sulphate in sensitised patients. *J Clin Periodontol*, 22 (6), S. 485-487.
- [16] Bartold, P. M., Walsh, L. J., & Sampath Narayanan, A. (2000). Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontology*, 24, S. 28-55.
- [17] Berardesca, E., & Maibach, H. I. (1988). Sodiumlaurylsulphate-induced cutaneous irritation. Comparison of white and Hispanic subjects. *Contact Dermatitis* (19), S. 136-140.
- [18] Bettger, W. J., & O`Dell, B. L. (1981). A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life sciences*, 28 (13), S. 1425-1438.
- [19] Bikle, D. D. (1997). Vitamin D: A calciotropic hormone regulating calcium-induced keratinocyte differentiation. *J Am Acad Dermatol*, 37, S. 42-52.
- [20] Binney, A., Addy, M., McKeown, S., & Everatt, L. (1996). The choice of controls in toothpaste studies. The effect of a number of commercially available toothpastes compared to water on 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol*, 23, S. 456-459.
- [21] Blumenberg, M., Tomic-Canic, M., Jiang, C. K., Yang, D. R., Magnaldo, T., Bernerd, F., et al. (1993). Regulation of keratin gene expression by hormones, vitamins and growth factors. *Pharmacol Skin*, 5, S. 75-82.
- [22] Braoudaki M, et al. (2004). Adaptive resistance to biocides in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157 and cross-resistance to antimicrobial agents. *J Clin Microbiol.*, 42(1), S. 73-8.
- [23] Brauchle, M., Angermeyer, K., Hübner, G., & Werner, S. (1994). Large induction of keratinocyte growth factor expression by serum growth factors and pro-inflammatory cytokines in cultured fibroblasts. *Onkogene*, 9 (11), S. 3199-3204.
- [24] Buth, J. M., et al. (2010). Dioxin photoproducts of triclosan and its chlorinated derivatives in sediment cores. *Environ Sci Technol.*, 44(12), S. 4545-51.
- [25] Buxton, R. S., & Magee, A. I. (1992). Structure and interactions of desmosomal and other cadherins. *Semin Cell Biol*, 3, S. 157-167.
- [26] Calenic, B., Ishkitiev, N., Yaegaki, K., Imai, T., Kumazawa, Y., Nasu, M., et al. (2010). Magnetic separation and characterization of keratinocyte stem cells from human gingiva. *J Periodont Res*, 45, S. 703-708.
- [27] Cereijido, M., Ehrenfeld, J., Fernandes Castel, S., & Meza, I. (1981). Fluxes, junctions and blister in cultured monolayers of epithelioid cells (MDCK). *Ann NY Acad Sci*, 372, S. 422-441.
- [28] Chapter 1 Histology Section 1, 2. 3. (1996). *Periodontal Literature Reviews, current volume* (first edition), S. 1-11.
- [29] *Chemie.de Information Service GmbH*. (1997 - 2015). Abgerufen am 13. 3. 2015 von <http://www.chemie.de/lexikon/Natriumlaurylsulfat.html>
- [30] Chen, X., Kojima, S., Borisy, G. G., & Green, K. J. (2003). p120 catenin associates with kinesin and facilitates the transport of cadherin-catenin complexes to intercellular junctions. *J Cell Biol*, 163, S. 547-557.

- [31] Chitaev, N. A., & Troyanovsky, S. M. (1997). Direct Ca²-dependent heterophilic interaction between desmosomal cadherins, desmoglein and desmocollin, contributes to cell-cell adhesion. *J Cell Biol*, 138 (1), S. 193-201.
- [32] Choi, H. J., Park-Snyder, S., Pascoe, L. T., Green, K. J., & Weis, W. I. (2002). Structures of two intermediate filament-binding fragments of desmoplakin reveal a unique repeat motif structure. *Nat Structural Biol*, 9, S. 612-620.
- [33] Choi, H. J., & Weis, W. I. (2005). Structure of the armadillo repeat domain of plakophilin 1. *J Mol Biol*, 346, S. 367-376.
- [34] Claude, P. (1978). Morphological factors influencing transepithelial permeability: a model for the resistance of the zonula occludens. *J Membr Biol*, 39, S. 219-232.
- [35] Colegio, O. R., Van Itallie, C. M., McCrea, H. J., Rahner, C., & Anderson, J. M. (2002). Claudins create charge-selective channels in the paracellular pathway between epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 283, S. C142-C147.
- [36] Collins, J. E., Legan, P. K., Kenny, T. P., MacGarvie, J., Holton, J. L., & Garrod, D. R. (1991). Cloning and sequence analysis of desmosomal glycoproteins 2 and 3 (desmocollins): Cadherin-like desmosomal adhesion molecules with heterogeneous cytoplasmic domains. *J Cell Biol*, 113, S. 381-391.
- [37] Cummins, D. (1991). Zinc citrate/Triclosan: a new antiplaque system for the control of plaque and the prevention of gingivitis: short-term clinical and mode of action studies. *J Clin Periodontol*, 18, S. 455-461.
- [38] Curra, M., Martin, M. T., & Lauxen, I. S. (2013). Effect of topical chamomile on immunohistochemical levels of IL-1 β and TNF- α in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *Cancer Chemother Pharmacol*, 71, S. 293-299.
- [39] Delva, E., Tucker, D. K., & Kowalczyk, A. P. (2009). The Desmosome. *Cold Spring Harb Perspect Biol* (doi:10.1101/cshperspect.a002543).
- [40] Drees, F., Pokutta, S., Yamada, S., Nelson, W. J., & Weis, W. I. (2005). Alpha-catenin is a molecular switch that binds E-cadherin-beta-catenin and regulates actin-filament assembly. *Cell*, 123, S. 903-915.
- [41] Drenckhahn, D. (2003). *Anatomie. Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie*. (Bd. 1. 16.Auflage). München: Urban und Fischer Verlag.
- [42] Ebnet, K., Suzuki, A., Ohno, S., & Vestweber, D. (2004). Junctional adhesion molecules (JAMs): more molecules with dual functions? *J Cell Sci*, 117, S. 19-29.
- [43] Fanning, A. S., & Anderson, J. M. (2009). Zonula occludens-1 and -2 are cytosolic scaffolds that regulate the assembly of cellular junctions. *Ann NY Acad Sci*, 1165, S. 113-120.
- [44] Fanning, A. S., Van Itallie, C. M., & Anderson, J. M. (2012). Zonula occludens-1 and -2 regulate apical cell structure and the zonula adherens cytoskeleton in polarized epithelia. *Mol BiolCell*, 23 (4), S. 577-590.
- [45] Farquhar, M. G., & Palade, G. E. (1963). Junctional complexes in various epithelia. *J Cell Biol*, 17, S. 375-412.

- [46] Formanek, M., Knerer, B., & Kornfehl, J. (1999). Cytokine expression of human oral keratinocytes. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 61 (2), S. 103-107.
- [47] Fuchs, E. (1993). Epidermal differentiation and keratin gene expression. *J Cell Sci*, 106, S. 197-208.
- [48] Fuchs, E., & Weber, K. (1994). Intermediate filaments: Structure, dynamics, function and disease. *Annu Rev Biochem*, 63, S. 345-382.
- [49] Furuse, M., Fujita, K., Hiiragi, T., Fujimoto, K., & Tsukita, S. (1998). Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol*, 141, S. 1539-1550.
- [50] Furuse, M., & Hata, M. K. (2002). Claudin based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice. *J Cell Biol*, 156, S. 1099-1111.
- [51] Furuse, M., Hirase, T., Itoh, M., et al. (1993). Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol*, 123, S. 1777-1788.
- [52] Furuse, M., & Moriwaki, K. (2005). The role of claudin-based tight junctions in morphogenesis. *Ann NY Acad Sci*, 1165, S. 58-61.
- [53] Gaffar, A., Scherl, D., Afflitto, J., & Coleman, E. J. (1995). The effect of triclosan on mediators of gingival inflammation. *J Clin Periodontol*, 22 (6), S. 480-484.
- [54] Gallicano, G. I., Kouklis, P., Bauer, C., Yin, M., Vasioukhin, V., Degenstein, L., et al. (1998). Desmoplakin is required early in development for assembly of desmosomes and cytoskeletal linkage. *J Cell Biol*, 143, S. 2009-2022.
- [55] Garant, P. R. (2003). *Oral cells and tissues*. Illinois: Quintessence Publishing.
- [56] Gavin, J. (1970). Ultrastructural features of chronic marginal gingivitis. *J Periodontal Res*, 5, S. 19-29.
- [57] Green, K. J., Getsios, S., Troyanovsky, S., & Godsel, L. M. (2009). Intercellular junction assembly, dynamics and homeostasis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* (1:a000125).
- [58] Green, K. J., Stappenbeck, T. S., Parry, D. A., & Virata, M. L. (1992). Structure of desmoplakin and its association with intermediate filaments. *J Dermatol*, 19, S. 765-769.
- [59] Gröger, S., Michel, J., & Meyle, J. (2008). Establishment and characterization of immortalized human gingival keratinocyte cell lines. *J Periodont Res*, 43, S. 604-614.
- [60] Grubauer, G., Feingold, K. R., Harris, R. M., et al. (1989). Lipid content and lipid type as determinants of the epidermal permeability barrier. *J Lipid Res*, 30, S. 89-96.
- [61] Halbleib, J. M., & Nelson, W. J. (2006). Cadherins in development: cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis. *Genes Dev*, 20 (23), S. 3199-3214.

- [62] Hänsel, R., & Sticher, O. (2010). *Pharmakognosie, Phytopharmazie 9. Auflage*. Heidelberg: Springer, S. 1005 ff.
- [63] Hatakeyama, S., Yaegashi, T., Oikawa, Y., Fujiwara, H., Mikami, T., Takeda, Y., et al. (2006). Expression pattern of adhesion molecules in junctional epithelium differs from that in other gingival epithelia. *J Periodont Res*, *41*, S. 322-328.
- [64] Hatzfeld, M. (2007). Plakophilins: Multifunctional proteins or just regulators of desmosomal adhesion? *Bioch Biophys Acta*, *1773*, S. 69-77.
- [65] Hatzfeld, M., Haffner, C., Schulze, K., & Vizens, U. (2000). The function of plakophilin 1 in desmosome assembly and actin filament organization. *J Cell Biol*, *149*, S. 209-222.
- [66] Healy, C. M., et al. (2000). The effect of sodium lauryl sulphate, triclosan and zinc on the permeability of normal oral mucosa. *Oral Diseases*, *6*, S. 118-123.
- [67] Heisey, R. M., & Gorham, B. K. (1992). Antimicrobial effect of plant extracts on *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum*, and other micro-organisms. *Letters in Applied Microbiology*, *14*, S. 136-139.
- [68] Herlofson, B. B., & Barkvoll, P. (1993). Desquamative effect of sodium lauryl sulfate on oral mucosa. A preliminary study. *Acta Odontol Scand*, *51*, S. 39-43.
- [69] Herlofson, B. B., & Barkvoll, P. (1996). Oral mucosal desquamation caused by two toothpaste detergents in an experimental model. *Eur J Oral Sci*, *104*, S. 21-26.
- [70] Herlofson, B. B., & Barkvoll, P. (1996). The effect of two toothpaste detergents on the frequency of recurrent aphthous ulcers. *Acta Odontol Scand*, *54*, S. 150-153.
- [71] Ikenouchi, J., Furuse, M., Furuse, K., et al. (2005). Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *J Cell Biol*, *171*, S. 939-945.
- [72] Inoue, S. (1994). Basic structure of basement membranes is a fine network of "cords", irregular anastomosing strands. *Microsc Res Tech*, *28*, S. 29-47.
- [73] Itoh, M., Nagafuchi, A., Moroi, S., & Tsukita, S. (1997). Involvement of ZO-1 in cadherin-based cell adhesion through its direct binding to alpha catenin and actin filaments. *J Cell Biol*, *138*, S. 181-192.
- [74] Jeon, S., Dijan, P., & Green, H. (1998). Inability of keratinocytes lacking their specific transglutaminase to form cross-linked envelopes: Absence of envelopes as a simple diagnostic test for lamellar ichthyosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, *95*, S. 687-690.
- [75] Jones, P. H. (1997). Epithelial stem cells. *Bioessays*, *19* (8), S. 683-690.
- [76] Jung, A. C., Ribeiro, C., Michaut, L., Certa, U., & Affolter, M. (2006). Polyacetoid/ZO-1 is required for cell specification and rearrangement during *Drosophila* tracheal morphogenesis. *Curr Biol*, *16*, S. 1224-1231.
- [77] Katsuno, T., Umeda, K., Matsui, T., et al. (2008). Deficiency of zonula occludens-1 causes embryonic lethal phenotype associated with defected yolk

sac angiogenesis and apoptosis of embryonic cells. *Mol Cell Biol*, 19, S. 2465-2475.

- [78] Kerdvongbundit, V., & Wikesjo U, M. E. (2003). Effect of triclosan on healing following nonsurgical periodontal therapy in smokers. *J Clin Periodontol*, 30, S. 1024-1030.
- [79] *Kooperation Phytopharmaka*. (2004 - 2015). Abgerufen am 27. 2. 2015 von <http://www.koop-phyto.org/arzneipflanzenlexikon/minze.php>
- [80] Lauer G. (1994). Autografting of feeder-cell free cultured gingival epithelium. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 22, S 18-22.
- [81] Mandai, K., Nakanishi, H., Satoh, A., et al. (1997). Afadin: A novel actin filament-binding protein with one PDZ domain localized at cadherin-based cell-to-cell adherens junction. *J Cell Biol*, 139, S. 517-528.
- [82] Martin-Padura, I., Lostgallio, S., Schneemann, M., et al. (1998). Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Biol Chem*, 142, S. 117-127.
- [83] Matter, K., & Balder, M. S. (2003). Signalling to and from tight junctions. *Nat Mol Cell Biol*, 4, S. 225-236.
- [84] Mc Dougall, W. A. (1971). Penetration pathways of a topically applied foreign protein into rat gingival. *J Periodontal Res*, 6, S. 89-99.
- [85] McCarthy, K. M., Skare, I. B., Stankewich, M. C., Furuse, M., Tsukita, S., Rogers, R. A., et al. (1996). Occludin is a functional component of the tight junction. *J Cell Sci*, 109, S. 2287-2298.
- [86] Meng, W., & Takeichi, M. (2009). Adherens Junction: Molecular Architecture and Regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* (doi:10.1101/cshperspect.a002899).
- [87] Mercado, J., Valenzano, M. C., Jeffers, C., Sedlak, J., Cugliari, M. K., et al. (2013). Enhancement of Tight Junctional Barrier Function by Micronutrients: Compound-Specific Effects on Permeability and Claudin Composition. *PLoS ONE*, 8811 (e 78775 doi:10.1371/journal.pone.0078775).
- [88] Meyle, J., Gültig, L., Rascher, G., & Wolburg, H. (1999). Transepithelial electrical resistance and tight junctions of human gingival keratinocytes. *J Periodont Res*, 34, S. 214-222.
- [89] Moore, C., Addy, M., & Moran, J. (2008). Toothpaste detergents: a potential source of oral soft tissue damage? *Int J Dent Hygiene*, 6, S. 193-198.
- [90] Moran, J., Addy, M., & Newcombe, R. (1988). The antibacterial effect of toothpastes on the salivary flora. *J Clin Periodontol*, 15 (3), S. 193-199.
- [91] Moran, J., Addy, M., & Wade, W. G. (1988). Determination of minimum inhibitory concentrations of commercial toothpastes using an agar dilution method. *J Dent*, 16, S. 27-31.
- [92] Morita, K., Furuse, M., Fujimoto, K., et al. (1999). Claudin multigene family encoding four-transmembrane domain protein components of tight junction strands. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (2), S. 511-516.

- [93] Mullally, B. H., James, J. A., Coulter, W. A., & Linden, G. J. (1995). The efficacy of a herbal-based toothpaste on the control of plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol*, 22, S. 686-689.
- [94] Nakanishi, H., & Takai, Y. (2004). Roles of nectins in cell adhesion, migration and polarization. *Biol Chem*, 385, S. 885-892.
- [95] Neppelberg, E., Costea, D. E., Vintermyr, O. K., & Johannessen, A. C. (2007). Dual effects of sodium lauryl sulphate on human oral epithelial structure. *Experimental Dermatology*, 16, S. 574-579.
- [96] Nripendra, N. B., Subarna, S., & Mohammed, K. A. (2014). Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and analgesic activities of ethanolic extract of *Mentha arvensis* L. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4 (10), S. 792-797.
- [97] Palant, C. E., Duffey, M. E., Mookerjee, B. K., Ho, S., & Bentzel, C. J. (1983). Ca²⁺ + regulation of tight-junction permeability and structure in *Necturus* gallbladder. *Am J Physiol*, 245, S. C203-C212.
- [98] Patridge, M., Kiguwa, S., Lugmani, Y., & Langdon, J. D. (1996). Expression of bFGF, KGF and FGF receptors on normal oral mucosa and SCC. *Eur J Cancer B Oral Oncol*, 32B, S. 76-82.
- [99] Polakowska, R. R., Piacentini, M., Barlett, R., Goldsmith, L. A., & Haake, A. R. (1994). Apoptosis in human skin development: Morphogenesis, periderm, and stem cells. *Dev Dyn*, 199, S. 176-188.
- [100] Randall, L.P., et al. (2004). Effect of triclosan or a phenolic farm disinfectant on the selection of antibiotic-resistant *Salmonella enterica*. *J Antimicrob Chemother*. 54(3) S. 621-7.
- [101] Reynolds, A. B. (2007). p120-catenin: Past and present. *Biochem Biophys Acta*, 1773, S. 2-7.
- [102] Reynolds, A. B., Herbert, L., Cleveland, J. L., Berg, S. T., & Gaut, J. R. (1992). p120, a novel substrate of protein tyrosine kinase receptors and of p60v-src, is related to cadherin-binding factors beta-catenin, plakoglobin and armadillo. *Oncogene*, 7, S. 2439-2445.
- [103] Rhein, L. D., Robbins, C. R., Fernee, K., & Cantore, R. (1986). Surfactant structure effects on swelling of isolated human stratum corneum. *J Soc Cosmet Chem*, 37, S. 125-139.
- [104] Rimm, D. L., Koslov, E. R., Kebriaei, P., Cianci, C. D., & Morrow, J. S. (1995). α 1 (E)-catenin is an actin-binding and -bundling protein mediating the attachment of F-actin to the membrane adhesion complex. *Proc Natl Acad Sci*, 92, S. 8813-8817.
- [105] Roche Diagnostics. (1996 - 2016). Abgerufen am 29.6.2016 von <http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Roche/Bulletin/1/cytodetrobul.pdf>
- [106] Saitou, M., Furuse, M., Sasaki, H., et al. (2000). Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol Biol Cell*, 11, S. 4131-4142.

- [107] Sakakibara, A., Furuse, M., Saitou, M., Ando-Akatsuka, Y., & Tsukita, Y. (1997). Possible involvement of phosphorylation of occluding in tight junction formation. *J Cell Biol*, 137, S. 1393-1401.
- [108] Salonen, J., Pelliniemi, L. J., Foidart, J., Risteli, L., & Santti, R. (1983). Immunohistochemical characterization of the basement membranes of the human oral mucosa. *J Periodontal Res*, 18, S. 311-317.
- [109] Sato, C., et al. (1995). Comparative study of hepatocyte growth factor/ scatter factor and keratinocyte growth factor effects on human keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 104, S. 958-963.
- [110] Sawaf, M. H., Ouhayoun, J. P., & Forest, N. (1991). Cytokeratin profiles in oral epithelia: A review and a new classification. *J Biol Buccale*, 19, S. 187-198.
- [111] Saxton, C. A. (1986). The effects of a Dentifrice containing zink citrate and 2,4,4' trichloro-2'- hydroxydiphenyl ether. *J Periodontol*, 57 (9), S. 555-561.
- [112] Saxton, C. A., Svaton, & Lloyd, A. M. (1988). Antiplaque effects and mode of action of a combination of zinc citrate and nonionic antimicrobial agent. *Scand J Dent Res*, 96, S. 212.
- [113] Schneeberger, E. E., & Lynch, R. D. (2004). The tight junction: a multifunctional complex. *Am J Physiol Cell Physiol*, 286, S. 1213-1228.
- [114] Schroeder, H. E., & Listgarten, M. A. (1997). The gingival tissues: The architecture of periodontal Protection. *periodontology 2000*, 13, S. 91-120.
- [115] Schroeder, H. E., & Münzel-Pedrazzoli, S. (1970). Morphometric analysis comparing junctional and oral epithelium of normal human gingival. *Helv Odontol Acta*, 14, S. 53-66.
- [116] Schulzke, J. D., & Fromm, M. (2009). Molecular Structure and Function of the Tight Junctions. *Ann NY Acad Sci*, 1156, S. 1-6.
- [117] Schulzke, J. D., Gitter AH, J., Mankertz, J., et al. (2005). Epithelial transport and barrier function in occluding deficient mice. *Biochim Biophys Acta*, 1669, S. 34-42.
- [118] Shimono, M., Sugira, K., & Yamamura, T. (1981). Interzellular junctions of normal human gingival epithelium. A study using freeze-fracture. *Bull Tokyo Dent Coll*, 22, S. 223-236.
- [119] Skaare, A., et al. (1996). The effect of toothpaste containing triclosan on oral mucosal desquamation. A model study. *J Clin Periodontol*, 23, S. 1100-1103.
- [120] Skaare, A., et al. (1997). Skin reactions and irritation potential of four commercial toothpastes. *Acta Odontol Scand*, 55, S. 133-136.
- [121] Skaare, A., et al. (1997). The influence of triclosan, zinc or propylene glycol on oral mucosa exposed to sodium lauryl sulphate. *Eur J Oral Sci*, 105, S. 527-533.
- [122] Smith, S. A., & Dale, B. A. (1986). Immunologic localization of filaggrin in human oral epithelia and correlation with keratinization. *J Invest Dermatol*, 86, S. 168-172.

- [123] Stamm, J. W. (2007). Multi-function toothpastes for better oral health: a behavioural perspective. *International Dental Journal*, 57, S. 351-363.
- [124] Stephen, K. W., et al. (1990). Control of Gingivitis and Calculus by a dentifrice containing Zinc Salt and Triclosan. *J Periodontol*, 61 (11), S. 674-679.
- [125] Stevenson, B. R., Siliciano, J. D., Mooseker, J. D., & Goodenough, D. A. (1986). Identification of ZO-1: a high molecular weight polypeptide associated with the tight junction (zonula occludens) in a variety of epithelia. *J Cell Biol*, 103, S. 755-766.
- [126] Tennenbaum, T., Li, L., Belanger, A. J., DeLuca, L. M., & Yupsa, S. H. (1996). Selective changes in laminin adhesion and $\alpha 6 \beta 4$ integrin regulation are associated with the initial steps in keratinocyte maturation. *Cell Growth Differ*, 7, S. 615-628.
- [127] Thilander, H., & Bloom, G. D. (1968). Cell contact in oral epithelia. *J Periodont Res*, 3, S. 96-110.
- [128] Tipton, D. A., Hamman, N. R., & Dabbous, M. K. (2005). Effect of myrrh oil on IL-1 β stimulation of NF- κ B activation and PGE2 production in human gingival fibroblasts and epithelial cells. *Toxicology in Vitro*, 20, S. 248-255.
- [129] Van der Weijden, G. A., Timmer, C., Timmerman, M. F., Reifese, E., Mantel, M. S., & Van der Velden, U. (1998). The effect of herbal extracts in an experimental mouthrinse on established plaque and gingivitis in man. *J Clin Periodontol*, 25, S. 399-403.
- [130] Van Itallie, C. M., & Anderson, J. M. (2005). Claudins and epithelial paracellular transport. *Annu Rev Physiol*, 68, S. 403-429.
- [131] Veldhoen, N., et al. (2006). The bactericidal agent triclosan modulates thyroid-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquat Toxicol.*, 80(3), S. 217-27.
- [132] Villa, C., Trucchi, B., Bertoli, A., Pistelli, L., Parodi, A., Bassi, A. M., et al. (2009). *Salvia somalensis* essential oil as a potential cosmetic ingredient: solvent-free microwave extraction, hydrodistillation, GC-MS analysis, odour evaluation and in vitro cytotoxicity assays. *International Journal of Cosmetic Science*, 31, S. 55-61.
- [133] Waaler, S. M., & Rolla, G. (1992). Experiments with triclosan and sodium lauryl sulphate mouthrinses. *Journal of Dental Research*, 71 (abstr. 1558).
- [134] Wade, W. G., & Addy, M. (1992). Antibacterial Activity of Some Triclosan-Containing Toothpastes and Their Ingredients. *J Periodontol*, 63 (4), S. 280-282.
- [135] Wahl, J. K., Sacco, P. A., McGranahan-Sadler, T. M., Sauppe, L. M., Wheelock, M. J., & Johnson, K. R. (1996). Plakoglobin domains that define its association with the desmosomal cadherins and the classical cadherins: Identification of unique and shared domains. *J Cell Sci*, 109, S. 1143-1154.
- [136] Watt, F. M. (1998). Epidermal stem cells: Markers, patterning and the control of stem cell fate. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 353, S. 831-837.
- [137] Weber, T. (2003). *Memorix Zahnmedizin. 2. Auflage*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

- [138] Welsch, U. (2010). *Lehrbuch Histologie. 3. Auflage*. München: Urban und Fischer.
- [139] Willershausen, B. Gruber, I., Hamm, G. (1991). The influence of herbal ingredients on the plaque index and bleeding tendency of the gingiva. *J Clin Dent*, 2 (3), S. 75-8.
- [140] Xu, J., Kausalya, P. J., Phua, D. C., et al. (2008). Early embryonic lethality of mice lacking ZO-2, but not ZO-3, reveals critical and non-redundant roles for individual ZO proteins in mammalian development. *Mol Cell Biol*, 28, S. 1669-1678.
- [141] Yankell, S. L., Dolan, M. M., & Emling, R. C. (1988). Laboratory evaluations of a herbal sodium bicarbonate dentifrice. *Journal of Clinical Dentistry*, 1 (suppl A), S. 6-8.
- [142] Yap, A. S., Ali, R., Goodwin, M., et al. (2001). E cadherin signaling to the actin assembly machinery is necessary for dynamic adhesive recognition. *Mol Cell Biol*, 21, S. 349A-350A.
- [143] Yoshida, C., & Takeichi, M. (1982). Teratocarcinoma cell adhesion: Identification of a cell-surface protein involved in calcium-dependent cell aggregation. *Cell*, 28, S. 217-224.
- [144] Yu A, S. L. (2009). Molecular basis for cation selectivity in claudin-2-based pores. *Ann NY Acad Sci*, 1165, S. 53-57.
- [145] Yu A, S. L., McCarthy, K. M., Francis, S. A., et al. (2005). Knockdown of occludin expression leads to diverse phenotypic alterations in epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 288, S. C1231-C1241.
- [146] Yueh, M., et al. (2014). The commonly used antimicrobial additive triclosan is a liver tumor promoter. *PNAS*, 111 (48), S.17200-17205.
- [147] Zhang, J., et al. (1999). IL-8 degradation by P.g.proteases. *Microb Pathog*, 26, S. 275-280.
- [148] Zorilla, L. M., Gibson, E. K., Jeffay, S. C., Crofton, K. M., Setzer, W. R., et al. (2009). The effects of triclosan on puberty and thyroid hormones in male Wistar rats. *Toxicol. Sci.*, 107, S.56-64.
- [149] Zuckerbraun, H. L., Babich, H., May, R. J., & Sinensky, M. C. (1998). Triclosan: cytotoxicity, mode of action, and induction of apoptosis in human gingival cells in vitro. *Eur J Oral Sci*, 106, S. 628-636.

14. Anhang

14.1 TER – Mittelwerte

Tabelle 11: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 0

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	0.00	154.92	1.53	107.00	151.88	157.95	1
Aronal	0.00	155.79	1.08	103.00	153.64	157.94	1
Colgate	0.00	155.26	1.08	103.00	153.11	157.41	1
Dontodent	0.00	153.90	1.08	103.00	151.75	156.04	1
Rot Weiss	0.00	156.07	1.08	103.00	153.93	158.22	1

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 12: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 1

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	1.00	152.57	1.53	107.00	149.53	155.60	12
Aronal	1.00	152.13	1.08	103.00	149.98	154.28	12
Colgate	1.00	154.34	1.08	103.00	152.19	156.49	1
Dontodent	1.00	149.38	1.08	103.00	147.23	151.53	2
Rot Weiss	1.00	149.88	1.08	103.00	147.73	152.02	2

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 13: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 2

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	2.00	155.15	1.53	107.00	152.11	158.19	1
Aronal	2.00	153.42	1.08	103.00	151.27	155.57	1
Colgate	2.00	153.65	1.08	103.00	151.50	155.80	1
Dontodent	2.00	152.82	1.08	103.00	150.68	154.97	1
Rot Weiss	2.00	148.23	1.08	103.00	146.08	150.38	2

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degree of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 14: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 3

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	3.00	157.19	1.53	107.00	154.15	160.23	1
Aronal	3.00	152.89	1.08	103.00	150.74	155.04	12
Colgate	3.00	154.56	1.08	103.00	152.41	156.71	1
Dontodent	3.00	153.49	1.08	103.00	151.34	155.64	12
Rot Weiss	3.00	150.26	1.08	103.00	148.11	152.41	2

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degree of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 15: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 4

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	4.00	158.49	1.53	107.00	155.45	161.53	1
Aronal	4.00	152.27	1.08	103.00	150.13	154.42	2
Colgate	4.00	153.38	1.08	103.00	151.23	155.53	12
Dontodent	4.00	153.26	1.08	103.00	151.11	155.41	2
Rot Weiss	4.00	151.82	1.08	103.00	149.67	153.97	2

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degree of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 16: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 5

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	5.00	160.74	1.53	107.00	157.70	163.78	1
Aronal	5.00	153.63	1.08	103.00	151.48	155.78	2
Colgate	5.00	154.23	1.08	103.00	152.08	156.38	2
Dontodent	5.00	153.64	1.08	103.00	151.49	155.79	2
Rot Weiss	5.00	151.07	1.08	103.00	148.92	153.22	2

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degree of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 17: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 6

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	6.00	158.59	1.53	107.00	155.55	161.63	1
Aronal	6.00	153.71	1.08	103.00	151.56	155.86	12
Colgate	6.00	153.71	1.08	103.00	151.56	155.86	12
Dontodent	6.00	153.65	1.08	103.00	151.50	155.79	12
Rot Weiss	6.00	150.42	1.08	103.00	148.27	152.57	2

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degree of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 18: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 7

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	7.00	156.77	1.53	107.00	153.73	159.80	1
Aronal	7.00	154.08	1.08	103.00	151.93	156.23	1
Colgate	7.00	155.15	1.08	103.00	153.01	157.30	1
Dontodent	7.00	153.49	1.08	103.00	151.34	155.64	1
Rot Weiss	7.00	152.82	1.08	103.00	150.67	154.97	1

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degree of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 19: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 8

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	8.00	155.23	1.53	107.00	152.20	158.27	1
Aronal	8.00	158.66	1.08	103.00	156.51	160.81	1
Colgate	8.00	155.55	1.08	103.00	153.40	157.69	1
Dontodent	8.00	155.67	1.08	103.00	153.52	157.82	1
Rot Weiss	8.00	154.81	1.08	103.00	152.66	156.96	1

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degress of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 20: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 24

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	24.00	154.68	1.53	107.00	151.64	157.71	12
Aronal	24.00	159.13	1.08	103.00	156.98	161.28	1
Colgate	24.00	156.53	1.08	103.00	154.38	158.68	12
Dontodent	24.00	156.72	1.08	103.00	154.57	158.87	12
Rot Weiss	24.00	154.54	1.08	103.00	152.39	156.69	2

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degress of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 21: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 48

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	48.00	154.94	1.53	107.00	151.90	157.98	1
Aronal	48.00	163.15	1.08	103.00	161.00	165.30	2
Colgate	48.00	159.11	1.08	103.00	156.96	161.26	12
Dontodent	48.00	158.69	1.08	103.00	156.54	160.84	1
Rot Weiss	48.00	157.60	1.08	103.00	155.45	159.75	1

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degress of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konvidenzlimit, Konvidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 22: TER - Mittelwerte für Zeitpunkt 72

ZP	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Kontrolle	72.00	153.15	1.53	107.00	150.11	156.19	1
Aronal	72.00	162.75	1.08	103.00	160.60	164.90	2
Colgate	72.00	158.43	1.08	103.00	156.28	160.57	3
Dontodent	72.00	158.03	1.08	103.00	155.88	160.17	1 3
Rot Weiss	72.00	157.13	1.08	103.00	154.98	159.28	1 3

ZP: Zahnpasta, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

14.2 TER – Paarweise Vergleiche der Mittelwerte mit Signifikanzwerten

Tabelle 23: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 0.

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	-0.87	1.88	0.64	0.85
Kontrolle - Colgate	-0.35	1.88	0.85	0.85
Kontrolle - Dontodent	1.02	1.88	0.59	0.85
Kontrolle - Rot Weiss	-1.16	1.88	0.54	0.85
Aronal - Colgate	0.53	1.53	0.73	0.85
Aronal - Dontodent	1.90	1.53	0.22	0.85
Aronal - Rot Weiss	-0.28	1.53	0.85	0.85
Colgate - Dontodent	1.37	1.53	0.37	0.85
Colgate - Rot Weiss	-0.81	1.53	0.60	0.85
Dontodent - Rot Weiss	-2.18	1.53	0.16	0.85

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 24: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 1

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	0.43	1.88	0.82	0.82
Kontrolle - Colgate	-1.77	1.88	0.35	0.43
Kontrolle - Dontodent	3.18	1.88	0.09	0.22
Kontrolle - Rot Weiss	2.69	1.88	0.15	0.22
Aronal - Colgate	-2.21	1.53	0.15	0.22
Aronal - Dontodent	2.75	1.53	0.08	0.22
Aronal - Rot Weiss	2.26	1.53	0.14	0.22
Colgate - Dontodent	4.96	1.53	0.00	0.02
Colgate - Rot Weiss	4.47	1.53	0.00	0.02
Dontodent - Rot Weiss	- 0.49	1.53	0.75	0.82

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false dicoverly rate

Tabelle 25: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 2

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	1.73	1.88	0.36	0.60
Kontrolle - Colgate	1.50	1.88	0.43	0.61
Kontrolle - Dontodent	2.32	1.88	0.22	0.44
Kontrolle - Rot Weiss	6.92	1.88	0.00	0.00
Aronal - Colgate	-0.23	1.53	0.88	0.88
Aronal - Dontodent	0.59	1.53	0.70	0.78
Aronal - Rot Weiss	5.19	1.53	0.00	0.00
Colgate - Dontodent	0.83	1.53	0.59	0.74
Colgate - Rot Weiss	5.42	1.53	0.00	0.00
Dontodent - Rot Weiss	4.60	1.53	0.00	0.01

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false dicoverly rate

Tabelle 26: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 3

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	4.30	1.88	0.02	0.08
Kontrolle - Colgate	2.63	1.88	0.16	0.23
Kontrolle - Dontodent	3.70	1.88	0.05	0.10
Kontrolle - Rot Weiss	6.93	1.88	0.00	0.00
Aronal - Colgate	-1.67	1.53	0.28	0.35
Aronal - Dontodent	-0.60	1.53	0.70	0.70
Aronal - Rot Weiss	2.63	1.53	0.09	0.15
Colgate - Dontodent	1.07	1.53	0.49	0.54
Colgate - Rot Weiss	4.30	1.53	0.01	0.03
Dontodent - Rot Weiss	3.22	1.53	0.04	0.09

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false dicoverly rate

Tabelle 27: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 4

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	6.22	1.88	0.00	0.01
Kontrolle - Colgate	5.11	1.88	0.01	0.02
Kontrolle - Dontodent	5.23	1.88	0.01	0.02
Kontrolle - Rot Weiss	6.68	1.88	0.00	0.01
Aronal - Colgate	-1.11	1.53	0.47	0.65
Aronal - Dontodent	-0.99	1.53	0.52	0.65
Aronal - Rot Weiss	0.46	1.53	0.77	0.85
Colgate - Dontodent	0.12	1.53	0.94	0.94
Colgate - Rot Weiss	1.57	1.53	0.31	0.58
Dontodent - Rot Weiss	1.45	1.53	0.35	0.58

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false dicoverly rate

Tabelle 28: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 5

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	7.11	1.88	0.00	0.00
Kontrolle - Colgate	6.51	1.88	0.00	0.00
Kontrolle - Dontodent	7.10	1.88	0.00	0.00
Kontrolle - Rot Weiss	9.68	1.88	0.00	0.00
Aronal - Colgate	-0.60	1.53	0.69	0.78
Aronal - Dontodent	-0.01	1.53	0.99	0.99
Aronal - Rot Weiss	2.56	1.53	0.10	0.14
Colgate - Dontodent	0.59	1.53	0.70	0.78
Colgate - Rot Weiss	3.17	1.53	0.04	0.08
Dontodent - Rot Weiss	2.58	1.53	0.10	0.14

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false dicoverly rate

Tabelle 29: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 6

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	4.88	1.88	0.01	0.03
Kontrolle - Colgate	4.88	1.88	0.01	0.03
Kontrolle - Dontodent	4.95	1.88	0.01	0.03
Kontrolle - Rot Weiss	8.18	1.88	0.00	0.00
Aronal - Colgate	-0.00	1.53	1.00	1.00
Aronal - Dontodent	0.07	1.53	0.97	1.00
Aronal - Rot Weiss	3.30	1.53	0.03	0.05
Colgate - Dontodent	0.07	1.53	0.97	1.00
Colgate - Rot Weiss	3.30	1.53	0.03	0.05
Dontodent - Rot Weiss	3.23	1.53	0.04	0.05

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false dicoverly rate

Tabelle 30: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 7

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	2.68	1.88	0.16	0.39
Kontrolle - Colgate	1.61	1.88	0.39	0.59
Kontrolle - Dontodent	3.27	1.88	0.08	0.39
Kontrolle - Rot Weiss	3.95	1.88	0.04	0.38
Aronal - Colgate	-1.07	1.53	0.49	0.61
Aronal - Dontodent	0.59	1.53	0.70	0.70
Aronal - Rot Weiss	1.26	1.53	0.41	0.59
Colgate - Dontodent	1.66	1.53	0.28	0.56
Colgate - Rot Weiss	2.33	1.53	0.13	0.39
Dontodent - Rot Weiss	0.67	1.53	0.66	0.70

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false dicoverly rate

Tabelle 31: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 8

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	-3.42	1.88	0.07	0.18
Kontrolle - Colgate	-0.31	1.88	0.87	0.94
Kontrolle - Dontodent	-0.43	1.88	0.82	0.94
Kontrolle - Rot Weiss	0.43	1.88	0.82	0.94
Aronal - Colgate	3.11	1.53	0.04	0.18
Aronal - Dontodent	2.99	1.53	0.05	0.18
Aronal - Rot Weiss	3.85	1.53	0.01	0.14
Colgate - Dontodent	-0.12	1.53	0.94	0.94
Colgate - Rot Weiss	0.74	1.53	0.63	0.94
Dontodent - Rot Weiss	0.86	1.53	0.58	0.94

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 32: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 24

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	-4.46	1.88	0.02	0.10
Kontrolle - Colgate	-1.86	1.88	0.32	0.41
Kontrolle - Dontodent	-2.04	1.88	0.28	0.40
Kontrolle - Rot Weiss	0.13	1.88	0.94	0.94
Aronal - Colgate	2.60	1.53	0.09	0.29
Aronal - Dontodent	2.42	1.53	0.12	0.29
Aronal - Rot Weiss	4.59	1.53	0.00	0.03
Colgate - Dontodent	-0.18	1.53	0.90	0.94
Colgate - Rot Weiss	1.99	1.53	0.20	0.33
Dontodent - Rot Weiss	2.18	1.53	0.16	0.32

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 33: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 48

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	-8.21	1.88	0.00	0.00
Kontrolle - Colgate	-4.17	1.88	0.03	0.06
Kontrolle - Dontodent	-3.75	1.88	0.05	0.08
Kontrolle - Rot Weiss	-2.66	1.88	0.16	0.23
Aronal - Colgate	4.04	1.53	0.01	0.02
Aronal - Dontodent	4.46	1.53	0.00	0.01
Aronal - Rot Weiss	5.55	1.53	0.00	0.00
Colgate - Dontodent	0.43	1.53	0.78	0.78
Colgate - Rot Weiss	1.51	1.53	0.33	0.41
Dontodent - Rot Weiss	1.09	1.53	0.48	0.53

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 34: TER – Paarweise Vergleiche Mittelwerte zum Zeitpunkt 72

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Kontrolle - Aronal	-9.60	1.88	0.00	0.00
Kontrolle - Colgate	-5.27	1.88	0.01	0.01
Kontrolle - Dontodent	-4.87	1.88	0.01	0.02
Kontrolle - Rot Weiss	-3.98	1.88	0.04	0.05
Aronal - Colgate	4.32	1.53	0.01	0.01
Aronal - Dontodent	4.72	1.53	0.00	0.01
Aronal - Rot Weiss	5.62	1.53	0.00	0.00
Colgate - Dontodent	0.40	1.53	0.79	0.79
Colgate - Rot Weiss	1.30	1.53	0.40	0.50
Dontodent - Rot Weiss	0.90	1.53	0.56	0.62

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

14.3 TER – Mittelwerte der Verdünnungsstufen

Tabelle 35: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 0

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	0.00	155.92	1.34	95.00	153.26	158.57	1
Colgate	1:100	0.00	154.96	1.34	88.00	152.30	157.62	1
Dontodent	1:100	0.00	153.93	1.34	88.00	151.27	156.58	1
Rot Weiss	1:100	0.00	155.18	1.34	88.00	152.52	157.83	1
Aronal	1:1000	0.00	155.67	1.34	88.00	153.01	158.32	1
Colgate	1:1000	0.00	155.57	1.34	88.00	152.91	158.22	1
Dontodent	1:1000	0.00	153.87	1.34	88.00	151.21	156.52	1
Rot Weiss	1:1000	0.00	156.98	1.34	88.00	154.32	159.63	1

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 36: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 1

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	1.00	150.98	1.34	95.00	148.32	153.63	12
Colgate	1:100	1.00	151.77	1.34	88.00	149.11	154.42	123
Dontodent	1:100	1.00	147.12	1.34	88.00	144.46	149.77	1
Rot Weiss	1:100	1.00	146.73	1.34	88.00	144.07	149.38	1
Aronal	1:1000	1.00	153.29	1.34	88.00	150.63	155.95	23
Colgate	1:1000	1.00	156.92	1.34	88.00	154.26	159.57	3
Dontodent	1:1000	1.00	151.65	1.34	88.00	148.99	154.31	123
Rot Weiss	1:1000	1.00	153.03	1.34	88.00	150.37	155.68	23

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 37: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 2

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	2.00	153.00	1.34	95.00	150.34	155.66	12
Colgate	1:100	2.00	149.93	1.34	88.00	147.28	152.59	1
Dontodent	1:100	2.00	150.18	1.34	88.00	147.52	152.83	1
Rot Weiss	1:100	2.00	143.73	1.34	88.00	141.07	146.38	3
Aronal	1:1000	2.00	153.83	1.34	88.00	151.18	156.49	12
Colgate	1:1000	2.00	157.37	1.34	88.00	154.71	160.02	2
Dontodent	1:1000	2.00	155.48	1.34	88.00	152.82	158.13	12
Rot Weiss	1:1000	2.00	152.73	1.34	88.00	150.08	155.39	12

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 38: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 3

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	3.00	153.12	1.34	95.00	150.46	155.77	12
Colgate	1:100	3.00	152.51	1.34	88.00	149.85	155.17	12
Dontodent	1:100	3.00	150.28	1.34	88.00	147.63	152.94	1
Rot Weiss	1:100	3.00	144.16	1.34	88.00	141.50	146.82	3
Aronal	1:1000	3.00	152.66	1.34	88.00	150.00	155.32	12
Colgate	1:1000	3.00	156.61	1.34	88.00	153.95	159.27	2
Dontodent	1:1000	3.00	156.69	1.34	88.00	154.03	159.35	2
Rot Weiss	1:1000	3.00	156.37	1.34	88.00	153.71	159.02	2

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 39: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 4

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	4.00	151.80	1.34	95.00	149.14	154.46	1234
Colgate	1:100	4.00	151.20	1.34	88.00	148.54	153.86	123
Dontodent	1:100	4.00	150.21	1.34	88.00	147.55	152.87	12
Rot Weiss	1:100	4.00	146.46	1.34	88.00	143.80	149.12	1
Aronal	1:1000	4.00	152.75	1.34	88.00	150.09	155.41	234
Colgate	1:1000	4.00	155.57	1.34	88.00	152.91	158.22	234
Dontodent	1:1000	4.00	156.32	1.34	88.00	153.66	158.97	34
Rot Weiss	1:1000	4.00	157.18	1.34	88.00	154.52	159.83	4

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 40: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 5

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	5.00	151.88	1.34	95.00	149.23	154.54	12
Colgate	1:100	5.00	153.03	1.34	88.00	150.37	155.68	1
Dontodent	1:100	5.00	151.91	1.34	88.00	149.25	154.57	12
Rot Weiss	1:100	5.00	147.08	1.34	88.00	144.43	149.74	2
Aronal	1:1000	5.00	155.38	1.34	88.00	152.72	158.03	1
Colgate	1:1000	5.00	155.44	1.34	88.00	152.78	158.10	1
Dontodent	1:1000	5.00	155.38	1.34	88.00	152.72	158.03	1
Rot Weiss	1:1000	5.00	155.05	1.34	88.00	152.39	157.71	1

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 41: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 6

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	6.00	152.75	1.34	95.00	150.09	155.41	1
Colgate	1:100	6.00	151.50	1.34	88.00	148.84	154.16	12
Dontodent	1:100	6.00	151.52	1.34	88.00	148.86	154.17	12
Rot Weiss	1:100	6.00	145.70	1.34	88.00	143.04	148.36	2
Aronal	1:1000	6.00	154.68	1.34	88.00	152.02	157.33	1
Colgate	1:1000	6.00	155.93	1.34	88.00	153.27	158.58	1
Dontodent	1:1000	6.00	155.78	1.34	88.00	153.12	158.43	1
Rot Weiss	1:1000	6.00	155.13	1.34	88.00	152.48	157.79	1

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 42: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 7

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	7.00	152.43	1.34	95.00	149.77	155.08	12
Colgate	1:100	7.00	155.19	1.34	88.00	152.53	157.85	1
Dontodent	1:100	7.00	151.38	1.34	88.00	148.73	154.04	12
Rot Weiss	1:100	7.00	148.42	1.34	88.00	145.76	151.07	2
Aronal	1:1000	7.00	155.74	1.34	88.00	153.08	158.40	1
Colgate	1:1000	7.00	155.12	1.34	88.00	152.46	157.77	1
Dontodent	1:1000	7.00	155.60	1.34	88.00	152.94	158.26	1
Rot Weiss	1:1000	7.00	157.23	1.34	88.00	154.57	159.88	1

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 43: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 8

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	8.00	155.61	1.34	95.00	152.95	158.26	123
Colgate	1:100	8.00	154.83	1.34	88.00	152.17	157.48	123
Dontodent	1:100	8.00	153.68	1.34	88.00	151.02	156.33	12
Rot Weiss	1:100	8.00	149.99	1.34	88.00	147.33	152.65	1
Aronal	1:1000	8.00	161.71	1.34	88.00	159.05	164.37	4
Colgate	1:1000	8.00	156.27	1.34	88.00	153.61	158.92	234
Dontodent	1:1000	8.00	157.66	1.34	88.00	155.00	160.32	234
Rot Weiss	1:1000	8.00	159.63	1.34	88.00	156.97	162.28	34

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 44: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 24

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	24.00	156.38	1.34	95.00	153.72	159.03	12
Colgate	1:100	24.00	155.63	1.34	88.00	152.97	158.28	1
Dontodent	1:100	24.00	155.35	1.34	88.00	152.69	158.01	1
Rot Weiss	1:100	24.00	148.45	1.34	88.00	145.79	151.11	3
Aronal	1:1000	24.00	161.89	1.34	88.00	159.23	164.55	2
Colgate	1:1000	24.00	157.44	1.34	88.00	154.78	160.10	12
Dontodent	1:1000	24.00	158.08	1.34	88.00	155.43	160.74	12
Rot Weiss	1:1000	24.00	160.63	1.34	88.00	157.98	163.29	12

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 45: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 48

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	48.00	160.69	1.34	95.00	158.04	163.35	12
Colgate	1:100	48.00	158.08	1.34	88.00	155.42	160.73	1 3
Dontodent	1:100	48.00	157.38	1.34	88.00	154.73	160.04	1 3
Rot Weiss	1:100	48.00	152.93	1.34	88.00	150.27	155.58	3
Aronal	1:1000	48.00	165.61	1.34	88.00	162.95	168.27	2
Colgate	1:1000	48.00	160.15	1.34	88.00	157.49	162.81	12
Dontodent	1:1000	48.00	159.99	1.34	88.00	157.33	162.65	12
Rot Weiss	1:1000	48.00	162.28	1.34	88.00	159.62	164.93	12

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 46: Mittelwerte der Verdünnungen zum Zeitpunkt 72

ZP	Vdg	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Aronal	1:100	72.00	161.93	1.34	95.00	159.27	164.58	12
Colgate	1:100	72.00	155.69	1.34	88.00	153.03	158.35	34
Dontodent	1:100	72.00	156.55	1.34	88.00	153.89	159.21	1 34
Rot Weiss	1:100	72.00	151.33	1.34	88.00	148.67	153.98	3
Aronal	1:1000	72.00	163.58	1.34	88.00	160.92	166.23	2
Colgate	1:1000	72.00	161.16	1.34	88.00	158.50	163.82	12 4
Dontodent	1:1000	72.00	159.50	1.34	88.00	156.84	162.16	12 4
Rot Weiss	1:1000	72.00	162.93	1.34	88.00	160.28	165.59	2

ZP: Zahnpasta, Vdg: Verdünnung, lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

14.4 TER – Paarweise Vergleiche der Verdünnungsstufen

Tabelle 47: TER zum Zeitpunkt 1. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	-0.79	1.89	0.68	0.79
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	3.86	1.89	0.04	0.08
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	4.25	1.89	0.03	0.05
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-2.32	1.89	0.22	0.35
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	4.65	1.89	0.02	0.04
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	5.04	1.89	0.01	0.03
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-5.15	1.89	0.01	0.02
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	0.39	1.89	0.84	0.90
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-4.53	1.89	0.02	0.04
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-6.30	1.89	0.00	0.01
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	-3.62	1.89	0.06	0.10
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	1.64	1.89	0.39	0.54
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	0.27	1.89	0.89	0.92
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	5.27	1.89	0.01	0.02
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	3.89	1.89	0.04	0.08
Dontodent,1:1000 - RotWeiss,1:1000	-1.37	1.89	0.47	0.60

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 48: TER zum Zeitpunkt 2. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	3.07	1.89	0.11	0.18
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	2.83	1.89	0.14	0.21
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	9.28	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-0.83	1.89	0.66	0.71
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	-0.24	1.89	0.90	0.90
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	6.21	1.89	0.00	0.00
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-7.43	1.89	0.00	0.00
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	6.45	1.89	0.00	0.00
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-5.30	1.89	0.01	0.02
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-9.01	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	-3.53	1.89	0.07	0.11
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	-1.64	1.89	0.39	0.45
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	1.10	1.89	0.56	0.63
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	1.89	1.89	0.32	0.39
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	4.63	1.89	0.02	0.04
Dontodent,1:1000 - RotWeiss,1:1000	2.74	1.89	0.15	0.21

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 49: TER zum Zeitpunkt 3. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	0.61	1.89	0.75	0.91
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	2.83	1.89	0.14	0.19
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	8.96	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	0.46	1.89	0.81	0.94
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	2.22	1.89	0.24	0.31
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	8.35	1.89	0.00	0.00
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-4.10	1.89	0.03	0.08
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	6.12	1.89	0.00	0.01
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-6.41	1.89	0.00	0.00
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-12.21	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	-3.95	1.89	0.04	0.08
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	-4.03	1.89	0.04	0.08
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-3.71	1.89	0.05	0.09
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	-0.08	1.89	0.96	0.96
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	0.24	1.89	0.90	0.96
Dontodent,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	0.32	1.89	0.86	0.96

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 50: TER zum Zeitpunkt 4. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	0.60	1.89	0.75	0.75
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	1.59	1.89	0.40	0.50
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	5.34	1.89	0.01	0.02
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-0.95	1.89	0.62	0.69
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	0.99	1.89	0.60	0.69
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	4.74	1.89	0.01	0.03
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-4.37	1.89	0.02	0.04
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	3.75	1.89	0.05	0.08
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-6.11	1.89	0.00	0.01
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-10.72	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	-2.82	1.89	0.14	0.21
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	-3.57	1.89	0.06	0.10
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-4.42	1.89	0.02	0.04
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	-0.75	1.89	0.69	0.72
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-1.61	1.89	0.40	0.50
Dontodent,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-0.86	1.89	0.65	0.70

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 51: TER zum Zeitpunkt 5. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	-1.14	1.89	0.55	0.74
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	-0.02	1.89	0.99	1.00
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	4.80	1.89	0.01	0.05
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-3.49	1.89	0.07	0.15
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	1.12	1.89	0.56	0.74
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	5.94	1.89	0.00	0.01
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-2.42	1.89	0.20	0.34
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	4.83	1.89	0.01	0.05
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-3.47	1.89	0.07	0.15
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-7.97	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	-0.07	1.89	0.97	1.00
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	0.00	1.89	1.00	1.00
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	0.33	1.89	0.86	1.00
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	0.07	1.89	0.97	1.00
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	0.39	1.89	0.84	1.00
Dontodent,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	0.32	1.89	0.86	1.00

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 52: TER zum Zeitpunkt 6. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	1.25	1.89	0.51	0.66
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	1.23	1.89	0.52	0.66
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	7.05	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-1.93	1.89	0.31	0.46
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	-0.02	1.89	0.99	0.99
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	5.80	1.89	0.00	0.01
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-4.43	1.89	0.02	0.07
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	5.82	1.89	0.00	0.01
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-4.26	1.89	0.03	0.07
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-9.43	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	1.25	1.89	0.51	0.66
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	-1.10	1.89	0.56	0.68
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-0.46	1.89	0.81	0.87
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	0.15	1.89	0.94	0.97
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	0.79	1.89	0.68	0.79
Dontodent,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	0.64	1.89	0.74	0.82

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 53: TER zum Zeitpunkt 7. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	-2.77	1.89	0.15	0.26
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	1.04	1.89	0.58	0.74
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	4.01	1.89	0.04	0.10
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-3.32	1.89	0.08	0.18
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	3.81	1.89	0.05	0.12
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	6.78	1.89	0.00	0.00
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	0.07	1.89	0.97	0.97
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	2.97	1.89	0.12	0.22
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-4.22	1.89	0.03	0.09
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-8.81	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	0.62	1.89	0.74	0.89
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	0.14	1.89	0.94	0.97
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-1.48	1.89	0.44	0.58
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	-0.48	1.89	0.80	0.89
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-2.11	1.89	0.27	0.42
Dontodent,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-1.62	1.89	0.39	0.55

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 54: TER zum Zeitpunkt 8. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	0.78	1.89	0.68	0.70
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	1.93	1.89	0.31	0.38
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	5.62	1.89	0.00	0.01
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-6.10	1.89	0.00	0.01
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	1.15	1.89	0.54	0.59
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	4.83	1.89	0.01	0.03
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-1.44	1.89	0.45	0.52
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	3.68	1.89	0.05	0.10
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-3.98	1.89	0.04	0.07
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-9.63	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	5.44	1.89	0.01	0.01
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	4.05	1.89	0.04	0.07
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	2.08	1.89	0.27	0.38
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	-1.39	1.89	0.46	0.52
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-3.36	1.89	0.08	0.13
Dontodent,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-1.97	1.89	0.30	0.38

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 55: TER zum Zeitpunkt 24. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	0.75	1.89	0.69	0.75
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	1.02	1.89	0.59	0.66
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	7.92	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-5.52	1.89	0.00	0.01
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	0.27	1.89	0.88	0.88
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	7.18	1.89	0.00	0.00
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-1.82	1.89	0.34	0.45
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	6.90	1.89	0.00	0.00
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-2.73	1.89	0.15	0.25
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-12.18	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	4.45	1.89	0.02	0.04
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	3.81	1.89	0.05	0.09
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	1.26	1.89	0.51	0.62
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	-0.64	1.89	0.74	0.76
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-3.19	1.89	0.10	0.17
Dontodent,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-2.55	1.89	0.18	0.28

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 56: TER zum Zeitpunkt 48. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	2.62	1.89	0.17	0.25
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	3.31	1.89	0.08	0.15
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	7.77	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-4.92	1.89	0.01	0.03
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	0.69	1.89	0.72	0.77
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	5.15	1.89	0.01	0.02
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-2.08	1.89	0.28	0.35
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	4.46	1.89	0.02	0.04
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-2.61	1.89	0.17	0.25
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-9.35	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	5.46	1.89	0.00	0.02
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	5.62	1.89	0.00	0.01
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	3.33	1.89	0.08	0.15
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	0.16	1.89	0.93	0.93
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-2.13	1.89	0.26	0.35
Dontodent,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-2.28	1.89	0.23	0.32

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 57: TER zum Zeitpunkt 72. Paarweise Vergleiche Verdünnungen

Zahnpasta	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Aronal,1:100 - Colgate,1:100	6.23	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:100 - Dontodent,1:100	5.37	1.89	0.01	0.01
Aronal,1:100 - Rot Weiss,1:100	10.60	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:100 - Aronal,1:1000	-1.65	1.89	0.39	0.45
Colgate,1:100 - Dontodent,1:100	-0.86	1.89	0.65	0.70
Colgate,1:100 - Rot Weiss,1:100	4.37	1.89	0.02	0.04
Colgate,1:100 - Colgate,1:1000	-5.47	1.89	0.00	0.01
Dontodent,1:100 - Rot Weiss,1:100	5.23	1.89	0.01	0.02
Dontodent,1:100 - Dontodent,1:1000	-2.95	1.89	0.12	0.18
Rot Weiss,1:100 - Rot Weiss,1:1000	-11.61	1.89	0.00	0.00
Aronal,1:1000 - Colgate,1:1000	2.42	1.89	0.20	0.27
Aronal,1:1000 - Dontodent,1:1000	4.08	1.89	0.03	0.06
Aronal,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	0.64	1.89	0.74	0.74
Colgate,1:1000 - Dontodent,1:1000	1.66	1.89	0.38	0.45
Colgate,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-1.77	1.89	0.35	0.45
Dontodent,1:1000 - Rot Weiss,1:1000	-3.43	1.89	0.07	0.11

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

14.5 LDH – Mittelwerte über den Zeitverlauf

Tabelle 58: LDH - Werte, 8 und 24 Stunden

Ansatz	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Blank	8.00	0.14	0.04	114.00	0.06	0.22	1
Negativ-Kontrolle	8.00	0.22	0.05	108.00	0.11	0.32	12
Dontodent	8.00	0.23	0.03	108.00	0.16	0.29	12
Rot Weiss	8.00	0.24	0.03	108.00	0.17	0.31	12
Colgate	8.00	0.28	0.04	108.00	0.20	0.36	12
Aronal	8.00	0.31	0.04	108.00	0.24	0.38	2
Positiv-Kontrolle	8.00	1.51	0.05	108.00	1.40	1.61	3
Blank	24.00	0.14	0.04	114.00	0.06	0.22	1
Negativ-Kontrolle	24.00	0.31	0.05	108.00	0.20	0.41	12
Dontodent	24.00	0.34	0.03	108.00	0.27	0.40	2
Rot Weiss	24.00	0.35	0.04	108.00	0.28	0.43	2
Colgate	24.00	0.37	0.04	108.00	0.29	0.44	2
Aronal	24.00	0.34	0.04	108.00	0.27	0.41	2
Positiv-Kontrolle	24.00	1.71	0.05	108.00	1.61	1.82	3

lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

Tabelle 59: LDH- Werte, 48 und 72 Stunden

Ansatz	Zeit	lsmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Blank	48.00	0.14	0.05	114.00	0.05	0.23	1
Negativ-Kontrolle	48.00	0.47	0.05	108.00	0.36	0.58	2
Dontodent	48.00	0.48	0.04	108.00	0.42	0.55	2
Rot Weiss	48.00	0.55	0.04	108.00	0.48	0.62	2
Colgate	48.00	0.50	0.03	108.00	0.43	0.57	2
Aronal	48.00	0.48	0.04	108.00	0.41	0.55	2
Positiv-Kontrolle	48.00	1.85	0.05	108.00	1.76	1.95	3
Blank	72.00	0.13	0.05	114.00	0.03	0.23	1
Negativ-Kontrolle	72.00	0.61	0.06	108.00	0.48	0.73	2
Dontodent	72.00	0.83	0.04	108.00	0.75	0.91	23
Rot Weiss	72.00	0.83	0.04	108.00	0.76	0.91	3
Colgate	72.00	0.79	0.04	108.00	0.71	0.87	23
Aronal	72.00	0.78	0.04	108.00	0.69	0.86	23
Positiv-Kontrolle	72.00	1.98	0.06	108.00	1.85	2.10	4

lsmean: least square means (Mittelwert von lower CL und upper CL) SE: Standardfehler, df: degrees of freedom (Freiheitsgrade), CL: Konfidenzlimit, Konfidenzintervall oberer und unterer, group: Gruppeneinteilung

14.6 LDH – Paarweise Vergleiche mit Signifikanzwerten

Tabelle 60: LDH – Paarweise Vergleiche. Signifikanzwerte zum Zeitpunkt 8

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj.fdr
Blank - Negativ-Kontrolle	-0.07	0.07	0.28	0.42
Blank - Positivkontrolle	-1.37	0.07	0.00	0.00
Blank - Aronal	-0.17	0.05	0.00	0.01
Blank - Colgate	-0.14	0.06	0.02	0.04
Blank - Dontodent	-0.08	0.05	0.12	0.23
Blank - Rot Weiss	-0.10	0.05	0.07	0.17
Negativ-Kontrolle - Positivkontrolle	-1.29	0.08	0.00	0.00
Negativ-Kontrolle - Aronal	-0.09	0.07	0.17	0.28
Negativ-Kontrolle - Colgate	-0.06	0.07	0.34	0.45
Negativ-Kontrolle - Dontodent	-0.01	0.06	0.88	0.88
Negativ-Kontrolle - Rot Weiss	-0.02	0.06	0.73	0.80
Positivkontrolle - Aronal	1.20	0.07	0.00	0.00
Positivkontrolle - Colgate	1.23	0.07	0.00	0.00
Positivkontrolle - Dontodent	1.28	0.06	0.00	0.00
Positivkontrolle - Rot Weiss	1.27	0.06	0.00	0.00
Aronal - Colgate	0.03	0.05	0.61	0.71
Aronal - Dontodent	0.08	0.05	0.11	0.22
Aronal - Rot Weiss	0.07	0.05	0.17	0.28
Colgate - Dontodent	0.05	0.05	0.30	0.42
Colgate - Rot Weiss	0.04	0.05	0.43	0.53
Dontodent - Rot Weiss	-0.01	0.05	0.79	0.83

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 61: LDH – Paarweise Vergleiche. Signifikanzwert zum Zeitpunkt 24

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Blank - Negativ-Kontrolle	-0.16	0.07	0.02	0.03
Blank - Positivkontrolle	-1.57	0.07	0.00	0.00
Blank - Aronal	-0.20	0.05	0.00	0.00
Blank - Colgate	-0.22	0.06	0.00	0.00
Blank - Dontodent	-0.19	0.05	0.00	0.00
Blank - Rot Weiss	-0.21	0.06	0.00	0.00
Negativ-Kontrolle - Positivkontrolle	-1.41	0.07	0.00	0.00
Negativ-Kontrolle - Aronal	-0.04	0.07	0.58	0.81
Negativ-Kontrolle - Colgate	-0.06	0.07	0.37	0.64
Negativ-Kontrolle - Dontodent	-0.03	0.06	0.64	0.81
Negativ-Kontrolle - Rot Weiss	-0.05	0.07	0.47	0.75
Positivkontrolle - Aronal	1.37	0.06	0.00	0.00
Positivkontrolle - Colgate	1.35	0.06	0.00	0.00
Positivkontrolle - Dontodent	1.38	0.06	0.00	0.00
Positivkontrolle - Rot Weiss	1.36	0.06	0.00	0.00
Aronal - Colgate	-0.02	0.05	0.66	0.81
Aronal - Dontodent	0.01	0.05	0.90	0.90
Aronal - Rot Weiss	-0.01	0.05	0.82	0.87
Colgate - Dontodent	0.03	0.05	0.56	0.81
Colgate - Rot Weiss	0.01	0.05	0.83	0.87
Dontodent - Rot Weiss	-0.02	0.05	0.72	0.84

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 62: LDH – Paarweise Vergleiche. Signifikanzwert zum Zeitpunkt 48

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Blank - Negativ-Kontrolle	-0.33	0.07	0.00	0.00
Blank - Positivkontrolle	-1.71	0.07	0.00	0.00
Blank - Aronal	-0.34	0.06	0.00	0.00
Blank - Colgate	-0.36	0.06	0.00	0.00
Blank - Dontodent	-0.35	0.06	0.00	0.00
Blank - Rot Weiss	-0.42	0.06	0.00	0.00
Negativkontrolle - Positivkontrolle	-1.38	0.07	0.00	0.00
Negativkontrolle - Aronal	-0.01	0.07	0.87	0.91
Negativkontrolle - Colgate	-0.03	0.06	0.60	0.79
Negativkontrolle - Dontodent	-0.02	0.06	0.81	0.89
Negativkontrolle - Rot Weiss	-0.08	0.06	0.19	0.29
Positivkontrolle - Aronal	1.37	0.06	0.00	0.00
Positivkontrolle - Colgate	1.35	0.06	0.00	0.00
Positivkontrolle - Dontodent	1.37	0.06	0.00	0.00
Positivkontrolle - Rot Weiss	1.30	0.06	0.00	0.00
Aronal - Colgate	-0.02	0.05	0.66	0.81
Aronal - Dontodent	-0.01	0.05	0.92	0.92
Aronal - Rot Weiss	-0.07	0.05	0.15	0.26
Colgate - Dontodent	0.02	0.05	0.72	0.84
Colgate - Rot Weiss	-0.05	0.05	0.30	0.41
Dontodent - Rot Weiss	-0.07	0.05	0.17	0.27

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, p adj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

Tabelle 63: LDH – Paarweise Vergleiche. Signifikanzwert zum Zeitpunkt 72

Ansatz	Estimate	Std.Error	p unadj.	p adj. fdr
Blank - Negativkontrolle	-0.47	0.08	0.00	0.00
Blank - Positivkontrolle	-1.84	0.08	0.00	0.00
Blank - Aronal	-0.64	0.07	0.00	0.00
Blank - Colgate	-0.65	0.07	0.00	0.00
Blank - Dontodent	-0.69	0.07	0.00	0.00
Blank - Rot Weiss	-0.70	0.06	0.00	0.00
Negativkontrolle - Positivkontrolle	-1.37	0.09	0.00	0.00
Negativkontrolle - Aronal	-0.17	0.07	0.03	0.04
Negativkontrolle - Colgate	-0.18	0.07	0.02	0.03
Negativkontrolle - Dontodent	-0.22	0.07	0.00	0.01
Negativkontrolle - Rot Weiss	-0.23	0.07	0.00	0.00
Positivkontrolle - Aronal	1.20	0.07	0.00	0.00
Positivkontrolle - Colgate	1.19	0.07	0.00	0.00
Positivkontrolle - Dontodent	1.15	0.07	0.00	0.00
Positivkontrolle - Rot Weiss	1.14	0.07	0.00	0.00
Aronal - Colgate	-0.01	0.06	0.85	0.89
Aronal - Dontodent	-0.05	0.06	0.38	0.46
Aronal - Rot Weiss	-0.06	0.06	0.31	0.41
Colgate - Dontodent	-0.04	0.06	0.49	0.54
Colgate - Rot Weiss	-0.05	0.06	0.42	0.49
Dontodent - Rot Weiss	-0.01	0.06	0.92	0.92

Estimate: Schätzung, Std.Error: Standardfehler, p unadj: p-Wert unadjustiert, padj fdr: p-Wert adjustiert false discovery rate

14.7 Verbrauchsmaterialien und Geräte

Tabelle 64: Verbrauchsmaterialien und Geräte

Verbrauchsmaterial/Gerät	Hersteller	Ort	Land
24 Well Cell Culture Plate, sterile with lid	Cellstar/Greiner bio-one	Frickenhausen	DE
96 Well Cell Culture Plate, sterile, F-bottom, with lid	Cellstar/Greiner bio-one	Frickenhausen	DE
Arpege 70	Air Liquide Deutschland GmbH	Düsseldorf	DE
Assistent Reamix 2789	Karl Hecht KG	Sondheim	DE
Autoklav: Systec V X-75	Systec GmbH	Wettenberg	DE
Centrifuge PP-Tubes sterile, conical bottom, blue screw cap, 15 ml/50 ml	Cellstar/Greiner bio-one	Frickenhausen	DE
Clean bench: Hera Safe HS 15	Thermo scientific Heraeus	Hanau	DE
Combitips plus 2 ml/5 ml	Eppendorf AG	Hamburg	DE
Eppendorf Easypet 4420	Eppendorf AG	Hamburg	DE
Eppendorf Multipette pro	Eppendorf AG	Hamburg	DE
epTIPS standard	Eppendorf AG	Hamburg	DE
Finnpipette/Digital Multichannel 50 – 300 µl	Thermo Labsystems	Vantaa	FI
Freezing container "Mr. Frosty"	Nalgene	Rochester	USA
Hot-Air Disinfectable Gassed Incubator BBD 6220	Thermo Scientific/Heraeus-Instrument /	Hanau	DE
Inserts Thin Cert-24 Well, transparent, Membrane: Pore Durchmesser 0.4 µm; PET Membrane; Ro Trac	Greiner bio-one	Frickenhausen	DE
Kühlschrank KGE 3417/D1	Robert Bosch Hausgeräte GmbH	München	DE
Messzylinder 100 ml/250 ml			
Mettler Toledo P 1210 Waage	Mettler Waagen GmbH	Giessen	DE

Miele professional G 7883 CD, Reinigungs- und Desinfektionsautomat	Miele	Gütersloh	DE
Millicell-ERS-System P 17304	Millipore	Eschborn	DE
Multi-Detektions-Mikroplatten-Reader, Mithras (LB 940)	Berthold Technologies	Bad Wildbad	DE
Nikon Diaphot TMD	Nikon	Düsseldorf	DE
Schüttelwasserbad GFL 1038	GFL	Burgwedel	DE
sterile Glaspipetten			
Ultra-Tiefkühlgerät Standard HFU-586 ST DV 12, A-45605 G	Heraeus Instruments	Hanau	DE
Zählkammer nach Neubauer (Tiefe 0,1 mm, 0,0025 mm ²)			
Zellkulturflasche-Cellstar Tissue culture Flasks (75 cm ² , 250 ml red filter cap, sterile)	Greiner bio-one	Frickenhausen	DE
Zentrifuge Megafuge 1.0 und 1.0 R/Thermo electron corporation	Heraeus Sepatech	Hanau	DE

15. Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus - Liebig - Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware beziehungsweise ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort, Datum

Unterschrift

16. Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. Jörg Meyle für die Überlassung des Dissertationsthemas und die gute Betreuung.

Vielen Dank an Dr. Sabine Gröger und Cynthia Woche für die motivierende und gute Zusammenarbeit im Labor.

Bei meiner Familie möchte ich mich für ihre Unterstützung während des gesamten Studiums und besonders während dieser Arbeit bedanken. Ein besonderer Dank gilt meinem Ehemann für die wertvolle Unterstützung während der letzten Jahre.