

**Aus der Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Tübingen**

**Abteilung Poliklinik für Kieferorthopädie  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Dr. G. R. Göz**

**Immunologische Reaktionen im Sulcus gingivalis  
während  
kieferorthopädischer Behandlung**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Zahnheilkunde**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Lysa Verena Georg**

**aus**

**Herrenberg**

**2009**

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth  
1. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. G. R. Göz  
2. Berichterstatter: Professor Dr. C. Löst

Für  
Claudia und Dieter

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1. EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Entzündungsmediatoren .....</b>	<b>3</b>
1.1.1 Prostaglandine .....	3
1.1.2 Zytokine .....	3
<b>1.2 Das Plasminsystem .....</b>	<b>6</b>
<b>2. MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>8</b>
2.1.1 Studienpopulation .....	8
2.1.2 Beschreibung des Messsystems .....	11
2.1.2.1 Hardware .....	11
2.1.2.2 Software .....	11
2.1.2.3 Messgenauigkeit .....	12
2.1.2.4 Fehlerquellen im ELISA.....	12
<b>2.2 Methoden.....</b>	<b>12</b>
2.2.1 Vorbereitung der Messung .....	12
2.2.1.1 Dokumentation .....	12
2.2.1.2 Kalibrierung des Periotrons .....	13
2.2.1.3 Vorbereitung des Probanden für die Messung .....	13
2.2.2 Probenentnahme.....	14
2.2.2.2 Versuchsablauf .....	15
2.2.2.3 Bestimmung der Prostaglandin-2 Konzentration .....	17
2.2.2.4 Bestimmung der Interleukin-1beta Konzentration.....	20
2.2.2.5 Bestimmung der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-2 Konzentration .....	24
2.2.3 Vorbereiten der Messwerte.....	27
2.2.3.1 Erhalt der Messdaten .....	27
2.2.3.2 Messdaten übertragen .....	27
2.2.5 Statistische Auswertung .....	27
2.2.5.2 Messfehler der Methode.....	28
2.2.5.3 Messfehler Einfaktorielle Analyse .....	28
2.2.5.4 Messwerte Einfaktorielle Analyse .....	29
2.2.5. Definition der Variablen .....	29
2.2.5. Definition der Variablen .....	29
<b>3. ERGEBNISSE .....</b>	<b>32</b>
<b>3.1 Verteilung der Messwerte .....</b>	<b>32</b>
3.1.1 Verteilung der Messwerte nach dem Mittelwert des GCF Volumen .....	32
3.1.2 Verteilung der Messwerte nach dem absoluten Volumen an PAI-2/ml GCF.....	34
3.1.3 Verteilung der Messwerte nach dem absoluten Volumen an PGE2/ml GCF in [ng].....	35
3.1.4 Verteilung der Messwerte nach dem absoluten Volumen an IL-1β/ml GCF in [ng].....	36
<b>3.2 Messwerte einfaktorielle Analysen.....</b>	<b>37</b>
3.2.1 Einfluss der Entnahmestelle (Ober-/Unterkiefer) .....	37
3.2.1.1 GCF Volumen Mittelwert .....	37
3.2.1.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF .....	38
3.2.1.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF .....	39
3.2.1.4 Absolutes Volumen an IL-1β/ml GCF.....	40

# INHALTSVERZEICHNIS

---

3.2.2 Einfluss des Geschlechts .....	41
3.2.2.1 GCF Volumen Mittelwert .....	41
3.2.2.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF .....	42
3.2.2.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF(Kiefer=OK) .....	43
3.2.2.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF(Kiefer = UK) .....	44
3.2.2.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF .....	45
<b>3.3 Messwerte multifaktorielle Analyse .....</b>	<b>46</b>
3.3.1 Einfluss der Entnahmeregion .....	46
3.3.1.1 GCF Volumen Mittelwert .....	46
3.3.1.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF in $\mu\text{g}$ .....	47
3.3.1.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = OK) .....	48
3.3.1.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = UK) .....	49
3.3.1.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF .....	50
3.3.2 Einfluss der Art des Attachments .....	51
3.3.2.1 GCF Volumen Mittelwert .....	51
3.3.2.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF .....	52
3.3.2.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = OK) .....	53
3.3.2.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = UK) .....	54
3.3.2.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF .....	55
3.3.3 Einfluss des Bogenquerschnittes .....	56
3.3.3.1 GCF Volumen Mittelwert .....	56
3.3.3.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF .....	57
3.3.3.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = OK) .....	58
3.3.3.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = UK) .....	59
3.3.3.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF .....	60
3.3.4 Einfluss der Bogenart .....	61
3.3.4.1 GCF Volumen Mittelwert .....	61
3.3.4.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF .....	62
3.3.4.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = OK) .....	63
3.3.4.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer=UK) .....	64
3.3.4.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF .....	65
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>66</b>
<b>4.1 Beurteilung der Methode .....</b>	<b>66</b>
<b>4.2 Diskussion der Ergebnisse .....</b>	<b>67</b>
4.2.1 Einfluss Kiefer/GCF .....	68
4.2.2 Einfluss Geschlecht/GCF .....	68
4.2.3 Einfluss der Entnahmeregion (Zahn) .....	69
4.2.4 Einfluss Band oder Bracket .....	70
4.2.5 Einfluss Bogenquerschnitt .....	71
4.2.6 Einfluss Bogenart .....	71
<b>4.3 Folgerung .....</b>	<b>74</b>
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>75</b>
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>77</b>
<b>7. ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>82</b>

<b>8. TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>83</b>
<b>9. ANHANG .....</b>	<b>84</b>
<b>9.1 Probandeninformation .....</b>	<b>84</b>
<b>9.2 Einverständniserklärung.....</b>	<b>85</b>
<b>10. DANKSAGUNG .....</b>	<b>86</b>
<b>11. LEBENSLAUF .....</b>	<b>87</b>

## 1. Einleitung

Die orthodontische Zahnbewegung, die Grundlage jeder kieferorthopädischen Therapie, ist eine komplexe Interaktion zwischen Kraftapplikation und Reaktion der körpereigenen Gewebe. Diese Reaktion ist vor allem im Bereich der immunologischen Reaktionen noch unzureichend untersucht. Gerade im Hinblick auf die immer mehr zunehmende Forderung nach evidenzbasierten Behandlungsprozeduren ist eine grundlegende Untersuchung dieser immunologischen Abläufe wichtig. Im Fokus dieser Untersuchung stehen als repräsentative Beispiele die Faktoren Gingival Crevicular Fluid (GCF), Prostaglandin E2 (PGE2), Interleukin 1-beta (IL-1 $\beta$ ) und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-2 (PAI-2) mit ihren jeweiligen Veränderungen während der kieferorthopädischen Therapie.

Die orthodontische Zahnbewegung wird in drei Phasen eingeteilt: Die erste Phase läuft innerhalb von fünf Tagen ab. Sie umfasst die initiale ausgleichende Dämpfung und desmodontale Verformung. Bei weiter bestehender Belastung folgt die zweite Phase, die etwa zwei Wochen andauert. Durch auftretende Zirkulationsstörungen im Desmodont gehen angrenzende Gewebestrukturen und Alveolarknochen zugrunde (Hyalinisation). Anschließend folgt Phase drei, in der Resorptionsvorgänge am knöchernen Alveolarfach eine weitere Auslenkung ermöglichen. Diese Resorptionsvorgänge verlaufen nicht immer gleichmäßig, sondern können auch sequenziell einsetzen<sup>[18]</sup>.

Einer erfolgreich abgeschlossenen kieferorthopädischen Behandlung liegt eine Umstrukturierung des Parodontiums, insbesondere des alveolären Knochens, zugrunde<sup>[20]</sup>.

Die erste Reaktion auf die wirksame Belastung erfolgt umgehend innerhalb der ersten fünf Tage. Danach ist die Zahnbewegung aufgrund des Kriechphänomens verlangsamt (bis zu 18 Tagen). Das Kriechphänomen beschreibt die Komprimierung des Desmodonts auf der Druckseite und die Erweiterung auf der Zugseite.

In der letzten Phase wird der Umbau der alveolären Knochenstrukturen noch durch das Modellieren der endostalen Knochenbildung abgeschlossen. Durch

Osteoblasten, Osteoklasten und Osteozyten kommt es zu einer ständigen Remodellierung<sup>[18]</sup>.

Wird über einen längeren Zeitraum (mehr als 18 Tage) eine angemessene kieferorthopädische Kraft ausgeübt (0,15–0,2 N/cm<sup>2</sup>), wird im Parodont ein Entzündungsprozess in Gang gesetzt, der über einen Resorptionsvorgang im Knochen im Ergebnis zu einer Zahnbewegung führt<sup>[20]</sup>. Grundlage dieser Zahnbewegung ist somit eine sterile Entzündung<sup>[18]</sup>.

Es gibt eine große Anzahl an Proteinen, die in der gingivalen Sulkusflüssigkeit (GCF) nachgewiesen werden können. Von den mehr als 100 Regulatorproteinen befasst sich diese Untersuchung mit den Zytokinen. Diese werden vor allem von weißen Blutkörperzellen und einer Reihe anderer Zellen im Körper sezerniert. So auch von parodontalen Gewebezellen, wie Fibroblasten und Osteoblasten<sup>[27,38]</sup>. Zytokine sind am physiologischen Knochenumbau, dem Knochenabbau und -anbau beteiligt<sup>[44]</sup>.

Durch viele ihrer charakteristischen Eigenschaften sind sie interessant für die Kieferorthopädie. Sie sind das Spiegelbild des parodontalen Mikroumfelds. Dies ist der Bereich, in dem sich die Auswirkungen der kieferorthopädischen Kraft zeigen. Zytokine sind lokal über kurze Entfernungen als autokrine oder parakrine interzelluläre Signale im Gewebe tätig. Sie werden am Wirkungsort als zelluläre Antwort auf lokale Signale ausgeschüttet<sup>[36]</sup>.

Zusätzlich haben zahlreiche Untersuchungen gezeigt, dass Zytokine eine wichtige Rolle in der Zelle-zu-Zelle-Signaltransduktion spielen, bei physiologischen als auch bei mechanisch induziertem Knochenumbau<sup>[3,9,15,21,26,30,47]</sup>.

Diese klinische Untersuchung, die sich mit den Regulationsmechanismen der Zytokine in der GCF befasst, soll zeigen, wie stark die Verbindung zu der kieferorthopädischen Behandlung ist. Diese Studie fokussiert sich auf PGE<sub>2</sub>, IL-1 $\beta$  und PAI-2 als repräsentative Beispiele. PGE<sub>2</sub> wirkt vasodilatierend und fördert die Bildung von Osteoklasten, also auch den Knochenabbau<sup>[61]</sup>. IL-1 $\beta$  spielt bei Immunreaktionen besonders in Phasen einer akuten Entzündung eine große Rolle<sup>[20]</sup>. PAI-2 reguliert als Inhibitor der Plasminogen-Aktivatoren proteolytische

Abläufe in der extrazellulären Matrix<sup>[1,2,34,43,44]</sup>. Im Folgenden werden diese Faktoren genauer erläutert.

Das Auftreten von PGE<sub>2</sub>, der Zytokine IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , etc. und PAI-2 während kieferorthopädischer Behandlung wird aktuell in der Literatur diskutiert<sup>[20,34,43]</sup>.

### **1.1 Entzündungsmediatoren**

#### **1.1.1 Prostaglandine**

Prostaglandine (hier PGE<sub>2</sub>), Produkte des Arachnoidsäurekreislaufes, sind lokale hormonähnliche chemische Agenten, die von Mammazellen produziert werden (Osteoblasten eingeschlossen) und als Folge von Zellverletzung sekundenschnell sezerniert werden. Eines der Derivate der Arachnoidsäurekaskade, PGE<sub>2</sub>, wirkt als Vasodilatator, indem es die vaskuläre Permeabilität und die chemotaktischen Eigenschaften erhöht. Es fördert die Bildung von Osteoklasten und somit den Knochenabbau.

Die Enzymfamilie der Cyclooxygenase (COX) besteht aus zwei Proteinen, die arachidonische Säuren umwandeln. Eine Kette aus 20 Kohlenstoffatomen mehrfach ungesättigter Fettsäuren, die ein Bestandteil der Phospholipide der Plasmamembran der meisten Zellen ist, wird in Prostaglandine umgewandelt<sup>[37,56]</sup>. Es gibt bezüglich des Wirkungsgrades viele Untersuchungen die zeigen, dass COX eng mit dem Auftreten einer Parodontitis vergesellschaftet ist und dass Prostaglandine Mediatoren von Zahnfleischentzündungen und Knochenresorptionen sind<sup>[24,40]</sup>. Weiterhin zeigen zahlreiche Studien, dass unter den fettlöslichen Mediatoren die PGE<sub>2</sub>-Level im parodontalen Gewebe, insbesondere im Sulkusfluid, eng mit der Zerstörung von parodontalem Gewebe verknüpft sind<sup>[40,61]</sup>.

#### **1.1.2 Zytokine**

Nach Anwendung orthodontischer Kräfte dilatieren Kapillaren des parodontalen Ligamentes. Entzündungszellen wandern ein und produzieren Zytokine. Darauf zurückführend schrieben einige Studien dem Immunsystem in der Regulierung des Knochenumbaus diverse Rollen zu<sup>[9]</sup>. Zytokine sind Proteine, die als Boten-

stoffe zwischen den Zellen des Immunsystems interagieren. Diese werden während der Aktivierung der Immunzellen sezerniert und wirken meist lokal, dabei kommen einige auch systemisch – mit übergreifender Wirkung – zum Einsatz. Vorausgegangene Studien zeigten, dass bestimmte Zytokine in vivo und in vitro in den Knochenumbau verwickelt sind, so auch IL1<sup>[29,34]</sup>, welches ein Schlüsselmediator ist, und in verschiedenen Mechanismen der Immunantwort und in Phasen der akuten Entzündung eine Rolle spielt.

IL1 liegt in zwei Formen vor;  $\alpha$  und  $\beta$ <sup>[11]</sup>, wobei IL-1 $\beta$  die Form ist, die hauptsächlich in den Knochenstoffwechsel, Anregung zum Knochenabbau und Verhinderung von Knochenumbau mit eingebunden ist<sup>[17,22,51]</sup>. IL-1 $\beta$  spielt außerdem im Verlauf des entzündlichen Prozesses eine entscheidende Rolle. Die Suche nach IL-1 $\beta$  in Zellen des parodontalen Ligamentes bestätigte die Erwartung, dass es wie die Rezeptoren auf Fibroblasten für IL-1 $\beta$  in der Plasmamembran eingebundene Signalkomplexe gibt<sup>[12]</sup>.

Es gibt wenige Untersuchungen mit den Schlagwörtern in Kombination „orthodontic treatment, steel, NiTi, wire, inflammation, cytokine, PGE2, PAI-2; IL1beta, gingival crevicular fluid“ über die Produktion bzw. die Sezernierung dieser Mediatoren während kieferorthopädischer Zahnbewegung beim Menschen. Möglicherweise wird aufgrund der Einwirkung mechanischer Kräfte dieser Zellen des parodontalen Ligamentes eine bestimmte Menge an PGE und IL-1 $\beta$  produziert und an der Oberfläche freigesetzt, um dann in das gingivale Sulcusfluid zu diffundieren. Dies kann der Grund dafür sein, dass die Konzentration dieser Substanzen im gingivalen Sulkusfluid (GCF) während kieferorthopädischer Behandlung ansteigt, ebenso wird gleichzeitig die Möglichkeit eines nicht-invasiven Vorgehens bei einer Untersuchung über Bewegung und Mediatorenproduktion geliefert<sup>[20]</sup>.

Kanda-Nakamura et al. sind der Auffassung, dass eine große Anzahl an IL-1 $\beta$  in entzündetem gingivalen Gewebe zu finden ist und zeigten, dass Makrophagen und neutrophile Granulozyten vorherrschend die Produktion von IL-1 $\beta$  in entzündetem gingivalen Gewebe bestimmen<sup>[35]</sup>. Es wurde ebenfalls angenommen, dass die Antwort von gingivalen Fibroblasten auf IL-1 $\beta$  einen Mechanismus zur Amplifikation von Zahnfleischentzündungen repräsentiert<sup>[25]</sup>.

Zusätzlich wurde dargestellt, dass die IL-1 $\beta$ - und IL-6-Level im Vergleich in entzündetem Gewebe bedeutend höher waren als bei entzündungsfreiem gingivalem Gewebe bei jungen Erwachsenen.

Eine andere Studie befasste sich mit der Sezernierung und zeigte auf, dass IL-6 von IL-1 $\beta$  aus Zellen des parodontalen Ligamentes gebildet wird<sup>[50,60]</sup>.

So wurde auch herausgefunden, dass menschliche polymorphonukleare Leukozyten, die aus dem Alveolarknochen stammen, in entzündeten Bereichen spontan IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  produzieren können, sogar Initiator einer Entzündungsreaktion sein können und in vivo den Ablauf von Knochenresorptionsvorgängen regulieren<sup>[53,61]</sup>.

IL-1 $\beta$  ist als potentes Zytokin bekannt, welches das Überleben, den Zusammenschluss und die Aktivierung von Osteoklasten ermöglicht und somit viel zur Einleitung zur Knochenresorption beiträgt<sup>[23,52]</sup>.

PGE galt lange als potenzieller Indikator für Prozesse, die die Knochenresorption in Gang setzen. Seine Sezernierung wird teilweise von IL-1 beeinflusst<sup>[20]</sup>.

Die meisten Nachforschungen die sich damit befasst haben, welche Rolle PGE und IL-1 während kieferorthopädischer Behandlung spielt, fanden in vitro oder in Tierversuchen statt.

Sowohl menschliche Fibroblasten als auch Knochenzellen, zusammen mit einer erhöhten Produktion an PGE, waren die zelluläre Antwort auf mechanischen Stress in Form von körperlicher Zahnbewegung auf das Parodont<sup>[39,62]</sup>.

Es wurde aufgezeigt, dass das gemeinsame Auftreten von Fibroblasten und IL-1 $\beta$  in einem Synergieeffekt zu einem Anstieg der PGE-Produktion führt.

Ein Versuch an Katzen zeigte, dass sich während der Zahnbewegung sowohl PGE als auch IL-1 $\beta$  im Parodont befindet<sup>[10,48]</sup>. Im Vergleich dieser beiden Studien zusammen, ergibt sich folgende Schlussfolgerung: Die Produktion von PGE und IL-1 $\beta$  steigt bei mechanischem Stress, ausgelöst durch kieferorthopädische Bewegung, in vitro und bei Tierversuchen an.

Ebenso wurde beschrieben, dass zwei potenzielle Knochenresorptionsmediatoren (PGE<sub>2</sub> und IL-1 $\beta$ ) 24 h und 48 h bzw. 1 h und 24 h nach Aktivierung während kieferorthopädischer Behandlung ansteigen. Untersucht wurde je ein zu behandelnder Zahn und ein kontralateraler Kontrollzahn<sup>[20]</sup>.

Es wurde gezeigt, dass Zytokinlevel bei Jugendlichen in der frühen Phase der Zahnbewegung stärker veränderbar sind als bei Erwachsenen. Nach 24 h waren zwei der drei mittels RIA (Radioimmunassay; ein radioaktiver Enzymnachweis kleinster Substanzmengen) bestimmten Mediatoren bei Jugendlichen erhöht. Bei den Erwachsenen war es nur einer<sup>[43]</sup>.

### 1.2 Das Plasminsystem

Die Regulation der Plasminogenaktivierung ist ein Schlüsselement bei der Kontrolle der proteolytischen Abläufe in der extrazellulären Matrix.

Im Plasminogenaktivierungssystem ist das Regulierungspotenzial auf der Entzündungsseite sehr hoch. Plasminogenaktivatoren sind Proteasen, die eine Rolle in der komplexen Enzymkaskade bei der Fibrolyse spielen. Diese Enzyme formen Plasminogen zu Plasmin um, welches eine trypsinähnliche Protease ist, die nicht nur für die Herabsetzung von Fibrin verantwortlich ist. Im Weiteren leistet sie sowohl direkt als auch indirekt einen großen Beitrag, indem sie latente Kollagenasen in aktive Kollagenasen verwandelt. Plasmin kann lokal auf der Entzündungsseite durch begrenzte Proteolyse seines inaktiven Pendantes – Plasminogen – welches in Plasma und Darmflüssigkeit zirkuliert, gebildet werden. Es gibt Typen der Plasminogenaktivatoren (PA); der Gewebe-/Bluttyp (t-PA) und der Urokinasetyp PA<sup>[1,8,49]</sup>.

Die katalytische Reaktion findet im Allgemeinen an der Plasmamembran (u-PA) oder an der Fibrinoberfläche (t-PA) statt. Das am Ende stehende aktivierte Plasmin kann ein großes Ausmaß an Substraten, einschließlich aller extrazellulären Matrixmoleküle (bis auf Kollagen) und Fibrin herabsetzen.

Die Aktivität der PA wird von Inhibitoren gelenkt<sup>[2,28]</sup>. Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1) wird hauptsächlich von Endothelzellen und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-2 (PAI-2) von Makrophagen und Fibroblasten gebildet. Xia et al. waren der Meinung, dass t-PA und PAI-2 möglicherweise eine entscheidende Rolle bei der Zerstörung und der Remodellierung von parodontalem Gewebe spielen. Deshalb können sie auch als klinische Marker bei einer PA und deren Behandlung dienen<sup>[5,59]</sup>.

Das Ziel dieser Untersuchung war es, die Zuverlässigkeit der GCF und der Faktoren PGE, IL-1 $\beta$  und PAI-2 und ihre Veränderungen im Hinblick auf die Einflußfaktoren:

- Entnahmestelle (Oberkiefer/ Unterkiefer)
- Geschlecht (männlich/ weiblich)
- Entnahmeregion (FZ= Frontzahn, CAN= Caninus, PM=Prämolar, M= Molar)
- Bogenquerschnitt (rund/ rechteckig) und
- Bogenart (Stahl/ Nickeltitan/ Twistflex) zu untersuchen.

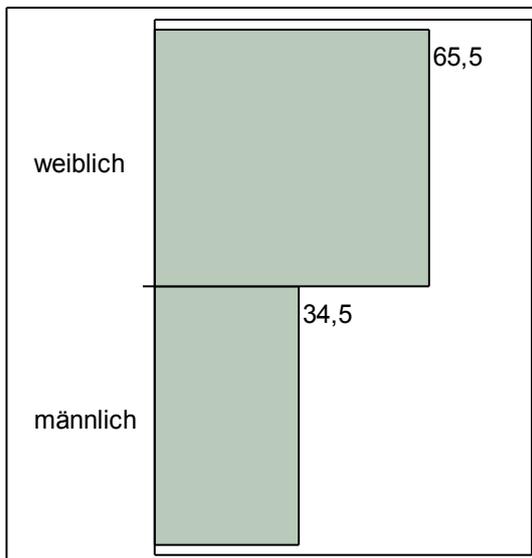
## 2. Material und Methoden

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Studienpopulation

Die Studienpopulation wurde von 25 Patienten gebildet, davon 8 männlich und 17 weiblich. Der Median des Durchschnittsalters zum Zeitpunkt der Untersuchung lag bei 22,5. Der älteste Teilnehmer war 33 Jahre und der jüngste Teilnehmer 12 Jahre alt. Im Folgenden wird die Verteilung nach Geschlecht und Alter dargestellt:

**Distributions**  
**Geschlecht**



**Abbildung 1: Verteilung der Studienpopulation nach dem Geschlecht [%].**

**Frequencies**

Level	Count	Prob
männlich	114	0,34545
weiblich	216	0,65455
Total	330	1,00000

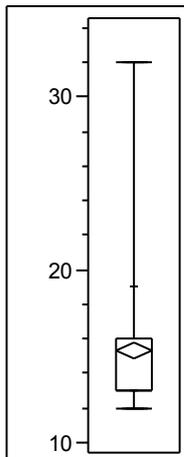
N Missing

0

2 Levels

**Tabelle 1: Verteilung der Studienpopulation nach dem Geschlecht.**

**Distributions  
Alter**



**Abbildung 2: Verteilung der Studienpopulation nach dem Alter [Jahren].**

**Quantiles**

100.0%	maximum	32,000
99.5%		32,000
97.5%		32,000
90.0%		19,000
75.0%	quartile	16,000
50.0%	median	13,000
25.0%	quartile	13,000
10.0%		13,000
2.5%		12,000
0.5%		12,000
0.0%	minimum	12,000

**Moments**

Mean	15,351515
Std Dev	4,2595233
Std Err Mean	0,234479
upper 95% Mean	15,812782
lower 95% Mean	14,890248
N	330

**Tabelle 2: Verteilung der Studienpopulation nach dem Alter [Jahren].**

### **Übersicht der Kriterien:**

- keine Schmelzschädigungen
- keine erkennbaren Wurzelverletzungen
- körperlich gesund
- keine Zahntraumata
- alle Bisslage- und Okklusionsmuster möglich
- alle Wachstumsmuster möglich

### **Medikamente:**

- keine zentral wirksamen Medikamente
- keine Antibiose während der Behandlung/Untersuchung bzw. ein halbes Jahr zuvor
- keine antiphlogistische Medikation während Behandlung/Untersuchung bzw. ein halbes Jahr zuvor
- kein Alkohol

### **Grunderkrankungen:**

- keine Allgemeinerkrankungen
- keine Allergien
- keine genetischen Anomalien
- keine Spalterkrankungen

Alle Teilnehmer der Studie waren Patienten des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Tübingen. Bei allen Patienten wurde im Rahmen der klinischen Routine eine ausführliche Anamnese erhoben, die neben der allgemeinen Anamnese zusätzlich Modell, Röntgenbilder (OPG und FRS) und Fotografien beinhaltete. Begleitend zu dieser Untersuchung erfolgte die Aufklärung über die Studie und die schriftliche Einverständniserklärung des Probanden zur Teilnahme an der Studie sowie die Übergabe der schriftlichen Studieninformation an den Probanden.

Im Verlauf der Bearbeitung der Daten und der Auswertung kam es bei vereinzelten Probanden zu drop outs. Grund hierfür waren Fehler im Messablauf, beim Pipettiervorgang und in der Datenverarbeitung.

### **2.1.2 Beschreibung des Messsystems**

#### **2.1.2.1 Hardware**

Zur Berechnung des entnommenen Volumens an GCF in [ $\mu$ l] wurde das Periotron 6000 ( Harco Electronics Ltd., Winnipeg, Kanada) verwendet. Es wurde zur genauen Bestimmung bei parodontalen Erkrankungen entwickelt und wird im klinischen Alltag eingesetzt.

Zur photometrischen Messung wurde ein ELISA-Photometer (Tecan Deutschland GmbH, Crailsheim, D) verwendet.

#### **2.1.2.2 Software**

Die statistische Auswertung erfolgte über das Programm JMP in der Version 7.0.1, (SAS Institute Inc., Cary, USA).

Die Datenverarbeitung im ELISA-Photometer erfolgte über das Programm BIOLISE (SLT Labinstruments Deutschland GmbH, Crailsheim, D).

### 2.1.2.3 Messgenauigkeit

Die Messgenauigkeit wurde mit neutralen Graufiltern getestet, von denen die optische Dichte bekannt ist. Dafür wurden diese Filter in einem Spektralphotometer und dem zu bestimmenden ELISA vermessen und verglichen.

Folgende Formel berechnete die prozentuelle Abweichung:

$$\% \text{ inaccuracy} = \frac{\text{Abs}_{(\text{ELISA})} - \text{Abs}_{(\text{spectrophotometer})}}{\text{Abs}_{(\text{spectrophotometer})}} \times 100$$

Abs = Absorbance = Extinktion

Die Messgenauigkeit lag zwischen +/-1,5% und +/-0,005% bei einer Wellenlänge von 492 nm, 1,000 Abs.

Die Wiederholungsgenauigkeit lag zwischen +/-0,5% und +/-0,003 Abs.

### 2.1.2.4 Fehlerquellen im ELISA

Es konnten fehlerhafte Messungen entstehen, wenn:

- eine falsche Wellenlänge eingestellt wurde,
- die Reaktion nicht abgestoppt wurde,
- ein Schritt beim Pipettiervorgang vergessen wurde,
- sich Luftblasen in den wells (Mikrotitergefäße, siehe Abbildung 6) befanden, oder
- die Pipettenspitze verunreinigt war.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Vorbereitung der Messung

#### 2.2.1.1 Dokumentation

Es wurden im Rahmen der klinischen Routine mit Alginat Abformungen von Ober- und Unterkiefer genommen und Behandlungsmodelle aus Superhartgips erstellt. Die Modelle wurden nach kieferorthopädischen Richtlinien getrimmt und

beschriftet. Ebenso lagen die Unterlagen vor, die im Rahmen der kieferorthopädischen Behandlung erstellt worden waren, wie FRS, OPT und Fotografien.

### 2.2.1.2 Kalibrierung des Periotrons

Das Periotron maß den Feuchtigkeitsgehalt des eingelegten Teststreifens (Periopaper). Zur Berechnung des Volumens wurde eine Eichung mit Serum vorgenommen. Jeweils 10 Periopapers der bekannten Menge 0,1  $\mu\text{l}$ , 0,2  $\mu\text{l}$ , 0,3  $\mu\text{l}$ , etc. bis 1  $\mu\text{l}$  wurden vermessen und der angegebene Wert in einer Tabelle notiert. Aus diesen 10 Messwerten wurde dann ein Mittelwert errechnet und dieser in einem zweidimensionalen Diagramm gegen die  $\mu\text{l}$ -Menge 0,1  $\mu\text{l}$ , 0,2  $\mu\text{l}$ , etc. bis 1  $\mu\text{l}$  aufgetragen. Dies ergab die Eichgerade. Die beim Probanden gemessenen Periotronwerte waren y-Werte. Die dazugehörigen x-Werte in [ $\mu\text{l}$ ] konnten anhand dieser Geraden abgelesen werden.

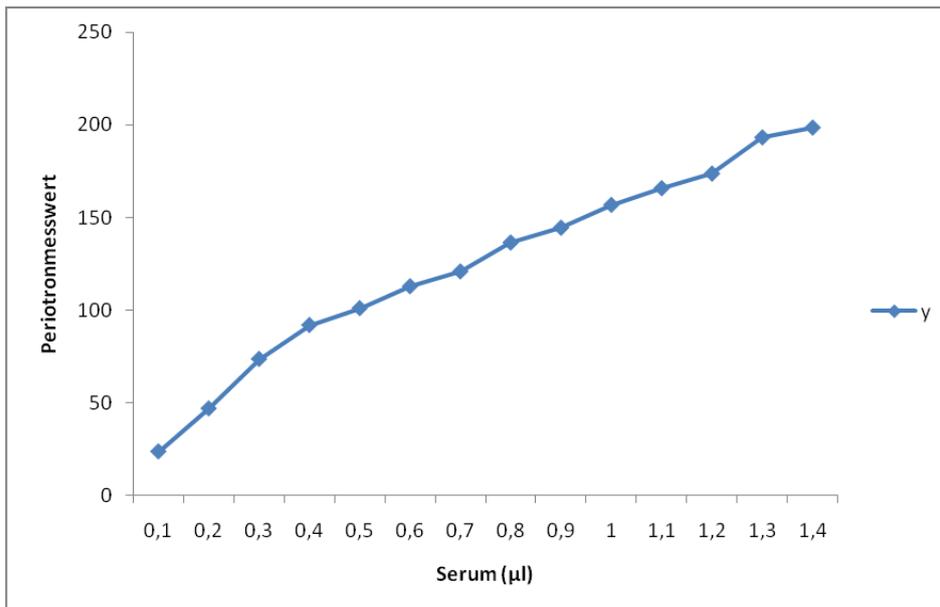


Abbildung 3: Periotronmesswerte im Serum.

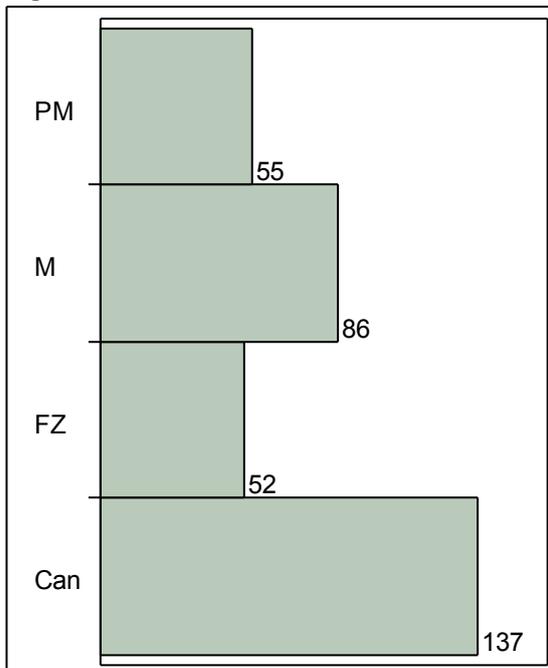
### 2.2.1.3 Vorbereitung des Probanden für die Messung

Um die Konzentrationen der Entzündungsfaktoren bestimmen zu können, wurden zu Beginn und in unterschiedlichen Behandlungsphasen GCF-Proben an immer denselben Zähnen entnommen. Die zu untersuchenden Zähne wurden

mittels eines Luftbläfers getrocknet und es erfolgte eine relative Trockenlegung mittels Watterollen.

Im Folgenden wird die Verteilung der Entnahmestellen (F = Frontzahn, CAN = Eckzahn, PM = Prämolare, M = Molare) dargestellt:

**Distributions  
regio Zahn**



**Abbildung 4: Verteilung der Proben nach ihren Entnahmestellen.**

Frequencies		
Level	Count	Prob
Can	137	0,41515
FZ	52	0,15758
M	86	0,26061
PM	55	0,16667
Total	330	1,00000

N Missing  
0  
4 Levels

**Tabelle 3: Verteilung der Proben nach ihren Entnahmestellen.**

### 2.2.2 Probenentnahme

Es wurden kleine Löschpapierstreifen (Periopaper, Pro Flow Inc., Amytyville, NY, USA) mesial und distal in den Sulkus eingebracht. Die Entnahmezeit betrug 1 Minute.

Nach der Messung im Periotron wurden die Periopapers in Eppendorfgefäßen, die mit 100 µl PBS-Puffer gefüllt waren bis zur Auswertung bei  $-70^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt.



**Abbildung 5: Periopaper**

### **2.2.2.2 Versuchsablauf**

Es wurden 25 µl pro Test entnommen. Die Bestimmung der Konzentrationen in der GCF wurde mithilfe eines Enzyme Linked Immunosorbent Assay Kit (ELISA) nachgewiesen (Firma Tecan Deutschland GmbH, Crailsheim, DE). Der enzymgekoppelte Immunadsorptionstest (EIA) bzw. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) bezeichnet ein immunologisches Nachweisverfahren (Assay), das im Gegensatz zum Radioimmunoassay (RIA) nicht auf einer Radioaktivitätsmessung sondern auf einer enzymatischen Farbreaktion basiert. Wie der Radioimmunoassay gehört auch der ELISA zur Gruppe der Immunoassay-Verfahren.

Mithilfe des ELISA können Proteine, Viren aber auch niedermolekulare Verbindungen wie Hormone, Toxine und Pestizide in einer Probe (Blutserum, Milch, Urin, etc.) nachgewiesen werden. Hierbei wird die Eigenschaft spezifischer Antikörper genutzt, sich die an den nachzuweisenden Stoff (Antigen) zu binden. Antikörper oder Antigen werden zuvor mit einem Enzym markiert. Die durch das Enzym katalysierte Reaktion dient als Nachweis für das Vorhandensein des Antigens. Das sogenannte Substrat wird von dem Enzym umgesetzt, das Reaktionsprodukt kann dann durch Farbumschlag, Fluoreszenz oder Chemolumineszenz nachgewiesen werden. Die Signalstärke ist eine Funktion der Antigen-

konzentration, sodass ELISA auch für quantitative Nachweise verwendet werden kann.

Für die Tests wurde eine Platte und die jeweilig erforderliche Flüssigkeit zur quantitativen Bestimmung des enthaltenen Antigens (AG) benötigt. Die Platte bestand aus 96 wells, die mit Antikörpern (AK) des jeweils zu bestimmenden Faktors bestückt waren.

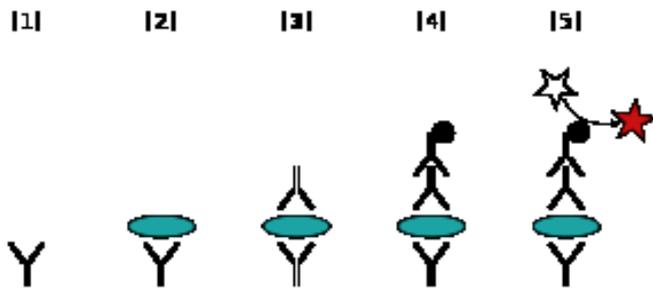


**Abbildung 6: Platte mit 96 wells nach Zugabe von Stopplösung.**

Es werden zwei ELISA- Formen unterschieden:

Häufig wird der kompetitive Immunoassay angewendet. Hierbei wird kein markierter Antikörper verwendet, sondern ein markiertes Kompetitor-Antigen (eine synthetische Verbindung, die dem Analyten strukturell ähnlich ist und auch am Antikörper bindet) eingesetzt. So kommt es zur Kompetition (Konkurrenz) zwischen Analyt und Kompetitor um einen Bindungsplatz am Antikörper. Das Signal ist hier indirekt und nicht direkt proportional zur Analytkonzentration<sup>[14,16]</sup>. Diese Technik wird bei der Auswertung des PGE2 angewandt.

Die zweite der ELISA Techniken (Sandwich-ELISA) verwendet zwei Antikörper (AK), die beide spezifisch an das nachzuweisende Antigen binden. Hierbei ist es wichtig, dass beide Antikörper an unterschiedlichen Stellen an das Antigen binden, da sie sich sonst gegenseitig behindern würden.



**Abbildung 7: Sandwich ELISA**

(1) Mit Coating-Antikörper beschichtete Mikrotiterplatte; (2) Zugabe der Probe und Inkubation; (3) Zugabe des Detektions-Antikörpers; (4) Zugabe und Komplexbildung des enzyme linked Antikörper-Antigen-Antikörper; (5) Zugabe eines zum Enzym passenden Substrats, das zu einem nachweisbaren Reaktionsprodukt umgesetzt wird.

Diese Technik wurde bei der Auswertung des IL-1 $\beta$  und des PAI-2 angewandt.

### 2.2.2.3 Bestimmung der Prostaglandin-2 Konzentration

Die Bestimmung der PGE<sub>2</sub>-Konzentration in GCF wurde mithilfe eines ELISA Kit nachgewiesen (Assay Designs, Inc., Ann Arbor, MI, USA). Der Assay benutzte einen monoklonalen PGE<sub>2</sub> Antikörper um in einer kompetitiven Weise das in den Proben und Standards enthaltene PGE<sub>2</sub> zu binden. Nach simultaner Inkubation bei Raumtemperatur wurden die ungebundenen Reagenzien ausgewaschen und ein Substrat hinzu gegeben. Nach einer kurzen Zeit der Inkubation wurde die Enzymreaktion gestoppt und die gelb generierten Lösungen bei einer Wellenlänge von 405 nm photometrisch vermessen. Die Intensität der Gelbfärbung war umgekehrt proportional zu der Konzentration an PGE<sub>2</sub>.

Im PGE<sub>2</sub> Kit enthaltene Reagenzien:

- PGE<sub>2</sub> Mikrotiterplatte: 96 well polystere Mikroplatte beschichtet mit AntiMäuse IgG
- PGE<sub>2</sub> EIA Konjugat: 6 ml einer blauen Lösung von alkaliner Phosphatase mit PGE<sub>2</sub> versetzt
- PGE<sub>2</sub> EIA Antikörper: 6 ml einer gelben Lösung von monoklonalem Antikörper gegen PGE<sub>2</sub>

- Assay Buffer: 30 ml dreifach gepufferte Salzlösung die Proteine und Natriumazid als Konservierungsstoffe enthält
- Wash-Buffer Konzentrat: 30 ml dreifach gepufferte Salzlösung mit Detergenzien
- PGE2 Standards: 0,5 ml einer Lösung von 50.000 pg/ml PGE2
- pNpp Substrat: 20 ml einer gepufferten *p*-nitrophenyl-Phosphatlösung
- Stopplösung: 5 ml einer wässrigen 3-Natriumphosphatlösung

### **I. Waschpuffer**

5 ml des Konzentrates werden mit 95 ml deionisiertem Wasser aufgefüllt.

### **II. PGE 2 Standards**

Sieben Reaktionsgefäße (Safe Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, D) werden von „a“ bis „g“ gekennzeichnet.

Nun wird in das Gefäß mit der Ziffer „a“ 1 ml Standard Diluent gegeben (Assay Buffer). In die Gefäße mit der Ziffer „b“ bis „g“ gibt man 500 µl Standard Diluent. Danach werden 50 µl aus Gefäß „a“ entnommen und 50 µl des 50,000 pg/ml Standards in Gefäß „a“ hinzu gegeben und mittels eines Vortex (Scientific Industries, INC. Bohemia, N.Y., USA) gemischt. Im Anschluss werden 500 µl aus Gefäß „a“ entnommen und in Gefäß „b“ hinzu gegeben und vollständig vermischt (Vortex). Dasselbe wiederholt sich für die Gefäße „c“-„g“.

Die Konzentrationen an PGE-2 in den Gefäßen „a“ bis „g“ sind 2,500; 1,250; 625; 313; 156; 78,1 und 39,1 pg/ml.

III. Pipettiervorgang

	A 1	B 1	C 1	D 1	E 1	F 1	G 1	H 1	A 2	B 2	C2- H12	Kommentar
100 µl Standard Diluent	X									X		
100 µl der Standards aus Gefäßen „a“-„g“		X	X	X	X	X	X	X				
100 µl der Proben											X	
50 µl Assay Buffer										X		
50 µl des blauen Konjugates		X	X	X	X	X	X	X		X	X	
50 µl des gelben Antikörpers	X	X	X	X	X	X	X	X			X	
Inkubation bei RT für 2 h auf Rüttler bei 500 rpm												In dieser Zeit werden die Antigene der Proben an die Antikörper der Platte gebunden und daran bindet dann der Detektionsantikörper wobei ein AK-AG-AK-Komplex entsteht.
4x Waschen mit 300 µl Waschpuffer												
5 µl des blauen Konjugates									X			

200 µl des pNpp Substrates	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Inkubation bei RT für 45 Min												
50 µl Stopplösung	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

**Tabelle 4: Pipettiervorgang PGE2.**

**IV. Auswertung**

Die Platte wird sofort bei einer Wellenlänge von 405 nm im ELISA-Photometer vermessen.

Vom ELISA-Photometer erzeugte Daten:

- Meas. OD, wobei A1 den Eichwert darstellt und als blank bezeichnet wird
- Meas. OD – blank (A1), wobei A1 somit = 0 ist

**V. Schaubild**

Die gemessenen Daten werden in einem zweidimensionalen Diagramm aufgetragen und ausgewertet. An der y-Achse wird Meas. OD – blank, an der x-Achse die PGE2-Konzentration in µg/ml aufgetragen. Die aufgetragenen Werte der Standards ergeben die Eichkurve in Form eines Polynoms zweiten Grades. Die x-Werte wurden mithilfe der Formel  $y = (a - d) / [1 + (x/c)^b] + d$  berechnet.

Vom ELISA-Photometer erzeugte Daten:

- Statistics Meas. OD – blank für die Standards B1 – H1
- Statistics Meas. OD – blank für die Proben C2 – H12

**2.2.2.4 Bestimmung der Interleukin-1beta Konzentration**

Die Bestimmung der IL-1β Konzentration wurde mithilfe eines ELISA Kit nachgewiesen (R&D Systems Inc. McKinley Place N.E., MN, USA).

Der IL-1β ELISA bestand aus drei Schritten (Sandwich-Technik):

Der spezifische monoklonale Antikörper für IL-1β wird an eine spezielle 96-well Platte gebunden.

Die Standards und Proben wurden in die 96-well Platte gegeben und inkubiert. Während dieser Zeit band der an die Platte gebundene Antikörper das in den Standards und Proben vorhandene IL-1 $\beta$ -Antigen. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die Platte gewaschen. Alle ungebundenen Bestandteile der Standards und der Proben wurden dadurch entfernt und zurück bleibt das am Antikörper gebundene IL-1 $\beta$ -Antigen.

Im nächsten Schritt wurde ein Enzym (Peroxidase)-markierter Antikörper (Detektions-Antikörper) spezifisch für IL-1 $\beta$  in die wells zugegeben.

Während einer erneuten Inkubationszeit band dieser Detektionsantikörper ebenfalls an das Antigen, und es entstand der Antigen-Antikörper-Komplex. Nach der Inkubation entfernte ein Waschschrift die ungebundenen Anteile des Antikörpers. Anschließend erfolgte die Zugabe eines Chromogen Enzymsubstrates.

Die durch das Enzym katalysierte Reaktion diente als Nachweis für das Vorhandensein des Antigens. Die mit Peroxidase markierten Antigen-Antikörper-Komplexe reagierten mit der Substratlösung, was sich durch einen Farbumschlag während der Inkubation zeigte. Die Intensität der gebildeten Farbe war dabei proportional zu der Konzentration des gebundenen IL-1 $\beta$  in den Standards und den Proben.

Nach der Inkubation wurde die Enzymreaktion chemisch gestoppt und photometrisch bei Wellenlängen von 450 nm und 550 nm am ELISA-Reader vermessen.

Im IL-1 $\beta$ -Kit enthaltene Reagenzien:

- IL-1 $\beta$  Mikrotiterplatte: 96-well polystere Mikroplatte beschichtet mit monoklonalem Mäuseantikörper gegen IL-1 $\beta$
- IL-1 $\beta$ -Konjugat: 21 ml polyklonaler Antikörper Anti-IL-1 $\beta$  hinzugegeben zu HRP (Horseradish-Peroxidase) mit Konservierungsstoffen versetzt
- IL-1 $\beta$  Standard: 1,25 ng von rekombiniertem menschlichem IL-1 $\beta$  in gepufferter Proteinbasis mit Konservierungsstoffen, lyophilisiert

- Calibrator Diluent RD5-5: 21 ml einer gepufferten Proteinbasis mit Konservierungsstoffen
- Wash-Buffer Concentrate: 21 ml einer 25-fach konzentrierten Lösung von gepufferter surfactant mit Konservierungsstoffen
- Color Reagent A: 12,5 ml stabilisiertes Wasserstoffperoxid
- Color Reagent B: 12,5 ml stabilisiertes Chromogen (Tetramethylbenzidine)
- Stop-Solution: 6 ml 2 N Schwefelsäure

### I. Waschpuffer

Zur Herstellung der Waschpufferlösung werden 20 ml Wash-Buffer mit 480 ml Aqua destillata zu 500 ml Lösung in einem Becherglas aufgefüllt.

### II. Verdünnungsreihe

Zur Herstellung der Verdünnungsreihe werden zu vorliegendem IL-1 $\beta$  Standard 2,5 ml Diluent hinzu gegeben und bei 100/min für 15 min auf dem Vortex belassen.

Nun werden in sechs Eppendorfgefäße von „a“ bis „f“ gekennzeichnet und je 500  $\mu$ l Diluent eingebracht und eine Standardreihe zur Bestimmung einer Eichkurve wird hergestellt.

### III. Pipettiervorgang

	A 1	B 1	C 1	D 1	E 1	F 1	G 1	H 1	A2- H1 2	Kommentar
150 $\mu$ l Diluent	X									
50 $\mu$ l Diluent		X	X	X	X	X	X	X		
100 $\mu$ l Standard		X								
100 $\mu$ l aus den Eppendorfgefäßen „a“–„f“ der Standardreihe			X	X	X	X	X	X		
125 $\mu$ l Diluent									X	

25 µl der Proben									X	
Inkubation bei RT für 2 h										In der GCF enthaltene Antigene binden an die Antikörper der Platte
4x Waschen mit 300 µl Waschpuffer										
200 µl Konjugat	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Inkubation bei RT für 2 h										Der AG-AK-Komplex wird vom Konjugat erkannt
4x Waschen mit 300 µl Waschpuffer										
200 µl Substrat	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Inkubation bei RT für 30 Min										Blaufärbung proportional zum AG-AK-Komplex
50 µl Stopplösung	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Farbumschlag nach gelb

**Tabelle 5: Pipettiervorgang IL-1β**

**IV. Auswertung**

Vom ELISA-Photometer erzeugte Daten:

- Delta OD, A1 stellt den Eichwert dar und wird als blank bezeichnet
- Delta OD – blank (A1), wobei A1 somit = 0 ist

**V. Schaubild**

Die gemessenen Daten werden mit der linearen Funktion ( $y = a \cdot x + b$ ) ausgewertet. In einem zweidimensionalen Diagramm wird an der y-Achse Delta OD – blank, an der x-Achse die IL-1β -Konzentration in pg/ml aufgetragen. Die Koordinaten der Standards B1–A2 ergeben die Eichgerade linearer Funktion. Die vom ELISA gemessenen und ausgegebenen Daten für OD-blank der Proben

B2–H12 können an der y-Achse aufgetragen und die dazugehörigen IL-1 $\beta$  Konzentrationen der Proben B2–H12 an der x-Achse abgelesen werden.

Vom ELISA erzeugte Daten:

- Delta OD – blank für die Standards B1–A2
- Delta OD – blank für die Proben B2–H12
- STATISTICS – Konzentrationen der Proben B2–H12

### **2.2.2.5 Bestimmung der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-2 Konzentration**

Die Bestimmung der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor in GCF wurde mithilfe eines ELISA Kit nachgewiesen (Firma American Diagnostica GmbH, Pfungstadt, DE). Der PAI-2 ELISA enthielt einen polyklonalen Antikörper gegen menschliches PAI-2 als den tragenden Antikörper. Die Proben inkubierten in einer mit 96-wells beschichteten Platte. Ein zweiter biotinilierter Detektionsantikörper erkannte die gebundenen PAI-2 Moleküle.

Die Zugabe von Streptavidin-konjugierter Meerrettich Peroxidase (HRP von engl. horseradish) vervollständigte den Antikörper-Enzym-Komplex. Nach Zugabe des Substrats Tetramethylbenzidin Perborat kam es nach einer Reaktion mit HRP zur Blaufärbung der Proben. Die Reaktion lief weiter, bis Schwefelsäure als Stopplösung hinzugegeben wurde, wobei es zu einem sofortigen Farbumschlag nach gelb kam.

Die PAI-2 Levels wurden bei 450 nm photometrisch am ELISA-Photometer vermessen und die Werte mit denen der Standardkurve verglichen.

Im PAI-2 Kit enthaltene Reagenzien:

- PAI-2 Mikrotiterplatte: 6-well polystere Mikroplatte beschichtet mit PAI-2 Antikörper
- PAI-2 Standards: 6 vials von 0–10 ng/ml lyophilisiert
- Detektionsantikörper: 2 vials biotinilierter menschlicher PAI-2 Antikörper, lyophilisiert
- Enzym Konjugat: 60  $\mu$ l Streptavidin-Horseradish-Peroxidase

- Enzym-Konjugat Diluent: lyophilisiert
- Substrat: 11 ml (TMB)
- Wash-Buffer: PBS mit 0,1% Triton X-100, pH 7,4

### I.a. Waschpuffer

Zur Herstellung der Waschpufferlösung wird 1 Päckchen PBS (Phosphat Buffered Saline) in 900 ml destilliertem Wasser aufgelöst und mit Ampuva (steriles pyrogenfreies Wasser) aufgefüllt, sodass die Gesamtmenge 1 l beträgt.

### I.b. Probenpuffer

Zur Herstellung der Probenpufferlösung wird 1 g BSA (Bovine Serum Antikörper) in 100 ml Waschpuffer gelöst, welcher unter I.a. hergestellt wird.

## II. Verdünnungsreihe

Zur Herstellung der Verdünnungsreihe werden die Standards zu 0,5; 1; 2,5 und 5 ng/ml Lyophilisat in 1 ml Ampuva, die zu 10 ng/ml in 0,5 ml und die zu 0 ng/ml in 2 ml Ampuva gelöst. Alle werden dann für 15 Min auf einem Schüttler (IKA-Schüttler MTS4, Janke-Kunkel GmbH, Staufen, D) bei 100 rpm belassen.

## III. Pipettiervorgang

	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1-H12	Kommentar
100 µl der Standards aus I.b.	X	X	X	X	X	X		
75 µl Probenpuffer aus I.a.							X	
25 µl der Proben							X	
Inkubation 2 h bei RT ohne Licht								In dieser Zeitbinden die in der GCF enthaltenen Antigene an die Antikörper der Platte
4x Waschen mit 300 µl Waschpuffer								

MATERIAL UND METHODEN

100 µl biotinierter Detektionsantikörper	X	X	X	X	X	X	X	
Inkubation 1 h bei RT ohne Licht								In dieser Zeit wird der AG-AK-Komplex vom biotinierten Antikörper erkannt
4x Waschen mit 300 µl Waschpuffer								
Enzym Konjugat Diluent + 20 ml Ampuva								
12 ml Enzym Konjugat Diluent + 12 µl Enzym Konjugat → davon 100 µl	X	X	X	X	X	X	X	
Inkubation 1 h bei RT ohne Licht								In dieser Zeit vervollständigt die hinzugefügte konjugierte Horseradish-Peroxidase den Antikörper-Enzym-Komplex
4x Waschen mit 300 µl Waschpuffer								
100 µl Substrat	X	X	X	X	X	X	X	
Inkubation 20 min bei RT ohne Licht								In dieser Zeit reagiert das hinzugefügte TMB Substrat mit HRP. Dabei kommt es zu einer Blaufärbung.
50 µl Stopplösung	X	X	X	X	X	X	X	Farbumschlag nach gelb

Tabelle 6: Pipettiervorgang PAI-2

### **IV. Auswertung**

Im Anschluss wird innerhalb von 30 Min die optische Dichte (OD) in einem ELISA bei einer Wellenlänge von 450 nm ausgelesen.

Vom ELISA-Photometer erzeugte Daten:

- Meas. OD, wobei A1 den Eichwert darstellt und als blank bezeichnet wird
- Meas. OD – blank (A1), wobei A1 somit = 0 ist

### **V. Schaubild**

Die gemessenen Daten werden mit einer linearen Funktion ( $y = a \cdot x + b$ ) ausgewertet. An der y-Achse wird Meas. OD – blank, an der x-Achse die PAI-2-Konzentration in  $\mu\text{g/ml}$  aufgetragen. Die aufgetragenen Werte der Standards ergeben die Eichkurve. An dieser können nun die Probenwerte (x-Werte) abgelesen werden.

Vom ELISA erzeugte Daten:

- Statistics Meas. OD – blank für die Standards B1–F1
- Statistics Meas. OD – blank für die Proben G1–H12
- Statistics Concentrations der Standards B1–F1
- Statistics Concentrations der Proben G1–H12

### **2.2.3 Vorbereiten der Messwerte**

#### **2.2.3.1 Erhalt der Messdaten**

Die photometrische Auswertung mit dem ELISA-Photometer lieferte die Konzentrationen der Standards und Proben in den jeweiligen Einheiten.

#### **2.2.3.2 Messdaten übertragen**

Die gewonnenen Daten wurden in eine JMP IN-Tabelle (siehe 2.1.2.2) eingegeben.

#### **2.2.5 Statistische Auswertung**

Die Zielgröße der Auswertung war die gemessene Konzentration an Antigen in der vermessenen GCF, die mithilfe des Programmes BIOLISE bildgebend im

Verlauf mit x- und y-Koordinaten dargestellt wurde. Entscheidende Faktoren der statistischen Auswertung waren das Geschlecht, das Alter, der Kiefer (Ober-, Unterkiefer), die Entnahmeregion (FZ, C, PM, M), der Bogenquerschnitt (rund, rechteckig), das Bogenmaterial (Twistflex, Stahl, Niti) und das Attachment (Band, Bracket).

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm JMP in der Version 7.0.1 (SAS Institute Inc., Cary, USA) verwendet.

### **2.2.5.2 Messfehler der Methode**

Um die Vergleichbarkeit der Daten zu erhöhen, sind Doppelmessungen sinnvoll. Aufgrund der Tatsache, dass jedoch als Ausgangsmenge 100 µl zur Verfügung standen und für jeden der drei Tests 25 µl benötigt wurde, war dies nicht möglich.

Zur Berücksichtigung dieses Messfehlers wurde bei jedem einzelnen Test (Platte) ein Reagenzienleerwert (BLANK) gemessen, der als Differenz von der gemessenen optischen Dichte (OD) in die Messung  $x \text{ (OD) - BLANK}$  mit einging. Außerdem wurde für jeden einzelnen Test eine neue Standardkurve erstellt.

Da die Proben verdünnt vorlagen, lagen manche Werte nicht mehr auf der Eichgeraden. Jedoch handelte es sich um solch geringe Mengen GCF bei der Entnahme, dass auf diese Verdünnung nicht verzichtet werden konnte.

### **2.2.5.3 Messfehler einfaktorielle Analyse**

Zum Vergleich, ob sich die Messfehler zwischen den zwei Leitfaktoren Kiefer (Entnahmestelle) und Geschlecht statistisch signifikant unterscheiden, wurde die einfaktorielle Analyse mit dem non-parametrischen Test: Wilcoxon Rangsummen durchgeführt<sup>[4,7,46,57,58]</sup>. Der Wert  $\text{Prob}>[Z]$  im 2-sample-test bei Normal Approximation zeigt hierbei, ob die zwei verglichenen Werte statistisch signifikant unterschiedlich waren oder nicht. Das Signifikanzniveau für alle statistischen Analysen wurde auf 0,05 festgelegt. Bei allen Variablen, deren Propability Wert  $\leq 0,05$  ist, wurde für den Leitfaktor ein statistisch signifikanter Einfluss auf den Messfehler angenommen.

#### 2.2.5.4 Messwerte einfaktorielle Analyse

Analog zu 2.2.5.3 wurde die einfaktorielle Analyse für den Mittelwert der gemessenen Werte durchgeführt. Hierbei wurde der Einfluss der Leitfaktoren Ober- und Unterkiefer sowie männliches und weibliches Geschlecht betrachtet.

#### 2.2.5. Definition der Variablen

Für jeden der drei Faktoren wurden verschiedene Rechnungen und Formeln benötigt, die aufgrund der Komplexität im Folgenden in einer Tabelle dargestellt werden:

#### 2.2.5. Definition der Variablen

Für jeden der drei Faktoren wurden verschiedene Rechnungen und Formeln benötigt, die aufgrund der Komplexität im Folgenden in einer Tabelle dargestellt werden:

IL-1 $\beta$ Konzentration in pg/ml	Konzentration in der gemessenen Substanz
IL-1 $\beta$ (pg/ml) below cut-off	Die zur gemessenen OD gehörige Konzentration ist kleiner als die des kleinsten Standards (<3,9)
IL-1 $\beta$ (pg/ml) cut-off = zero	Der gemessene Wert, der nicht mehr abgelesen werden kann und nach der Formel if [IL-1 $\beta$ (pg/ml)below cut-off] $\beta$ Konzentration in pg/ml) berechnet wird
Abs. Vol an IL-1 $\beta$ /ml GCF in ng	Abs. Menge in ng
PAI-2 Konzentration in ng/ml	Konzentration in der gemessenen Substanz

PAI-2 (ng/ml) below cut-off	Die zur gemessenen OD gehörige Konzentration ist kleiner als die des kleinsten Standards (<0,5)
PAI-2 (ng/ml) cut-off = zero	Der gemessene Wert, der nicht mehr abgelesen werden kann und nach der Formel if [PAI-2(ng/ml)below cut-off]=<0,5=>0 else => (PAI-2 Konzentration in ng/ml) berechnet wird
Verdünnungsfaktor	Umrechnung in µg/ml nach Anwendung der Formel $f(x)=\text{PAI-2(ng/ml)cut-off=zero}/\text{GCF}(\mu\text{l})/1000$
Abs. Vol an PAI-2/ml GCF in µg	Abs. Menge in µg
PGE2 Konzentration in pg/ml	Konzentration in der gemessenen Substanz
PGE2 (pg/ml) below cut-off	Die zur gemessenen OD gehörige Konzentration ist kleiner als die des kleinsten Standards (<39)
PGE2 (pg/ml) cut-off= zero	Der gemessene Wert, der nicht mehr abgelesen werden kann und nach der Formel if [PGE2(pg/ml)below cut-off] =<39=>0 else => (PGE2 Konzentration in pg/ml) berechnet wird
Abs. Vol an PGE2/ml GCF in ng	Abs. Menge in ng

**Tabelle 7: Definition der Variablen**

Weitere Variablen, die in der JMP-Tabelle (siehe 2.2.4) verwendet wurden:

Patienten-ID	Dient der Anonymisierung der Patienten
Regio vereinfacht	Entnahmestelle der GCF
Periotronprobe #1 und #2	Die mit dem Periotron gemessene und dann an dem dazugehörigen Schaubild (siehe 2.2.1.3) abgelesene Menge an GCF in $\mu\text{l}$
GCF Volumen Summe 1 und 2	Absolute Menge an GCF in $\mu\text{l}$ aus den gemessenen Periotronproben #1 und #2
Band oder Bracket	Mit welcher Art von kieferorthopädischem Attachment der Zahn versehen ist
Bogenquerschnitt	Gibt an, ob es sich um einen runden oder einen vierkantigen Bogen handelt
Bogenart	Gibt an, aus welchem Material der Bogen war (Stahl, etc.)
OD, OD1, OD2	Die mit dem ELISA gemessene optische Dichte für jeden Test
Faktor 4, 41, 42	Die mit dem ELISA gemessene optische Dichte mit dem Faktor 4 multipliziert, da für die Tests je 25 $\mu\text{l}$ entnommen wurden und dies für die gesamte Menge von 100 $\mu\text{l}$ umgerechnet werden muss

**Tabelle 8: Definition weiterer Variablen**

### 3. Ergebnisse

Im Anschluss werden alle relevanten und aussagekräftigen Ergebnisse der Auswertung der Rohdaten aufgeführt. Eine Auflistung der hier nicht enthaltenen Ergebnisse findet sich im Anhang.

#### 3.1 Verteilung der Messwerte

##### 3.1.1 Verteilung der Messwerte nach dem Mittelwert des GCF Volumen

Im Folgenden wird die Verteilung des GCF Volumen nach dem Mittelwert dargestellt.

**Distributions**  
GCF Volumen Mittelwert [ $\mu$ l]

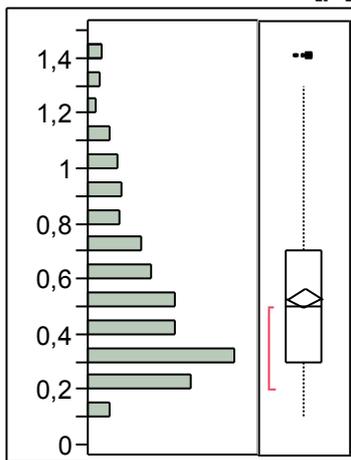


Abbildung 8: Mittelwert an GCF Vol.[ $\mu$ l]

**Quantiles**

100.0%	maximum	1,4000
99.5%		1,4000
97.5%		1,3000
90.0%		1,0000
75.0%	quartile	0,7000
50.0%	median	0,5000
25.0%	quartile	0,3000
10.0%		0,2000
2.5%		0,1000
0.5%		0,1000
0.0%	minimum	0,1000

**Moments**

Mean	0,5309091
Std Dev	0,3136448
Std Err Mean	0,0172656
upper 95% Mean	0,5648739
lower 95% Mean	0,4969442
N	330

**Tabelle 9: Mittelwert an GCF Vol.[µl]**

### 3.1.2 Verteilung der Messwerte nach dem absoluten Volumen an PAI-2/ml GCF in [µg]

Im Folgenden wird die Verteilung nach dem absoluten Volumen an PAI-2 pro ml GCF in µg dargestellt.

#### Distributions

abs. Vol an PAI-2/ml GCF [µg]

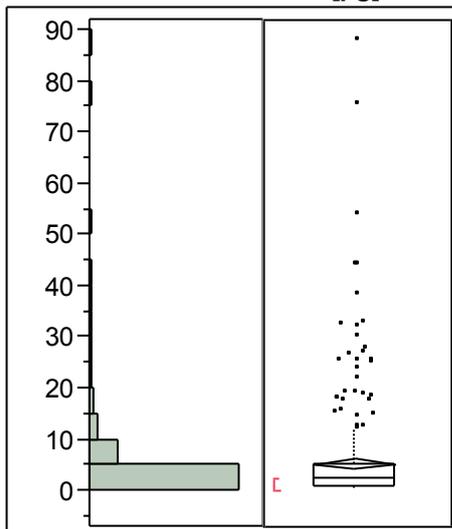


Abbildung 9: Abs. Vol. an PAI-2/ml GCF [µg]

#### Quantiles

100.0%	maximum	87,705
99.5%		79,528
97.5%		32,124
90.0%		12,061
75.0%	quartile	5,228
50.0%	median	2,458
25.0%	quartile	0,823
10.0%		0,000
2.5%		0,000
0.5%		0,000
0.0%	minimum	0,000

#### Moments

Mean	5,3574025
Std Dev	9,6082859
Std Err Mean	0,5305288
upper 95% Mean	6,4010827
lower 95% Mean	4,3137222
N	328

Tabelle 10: Abs. Vol. an PAI-2/ml GCF [µg]

### 3.1.3 Verteilung der Messwerte nach dem absoluten Volumen an PGE2/ml GCF in [ng]

Im Folgenden wird die Verteilung der Messwerte nach dem absoluten Volumen an PGE2 pro ml GCF in ng dargestellt.

#### Distributions

abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng]

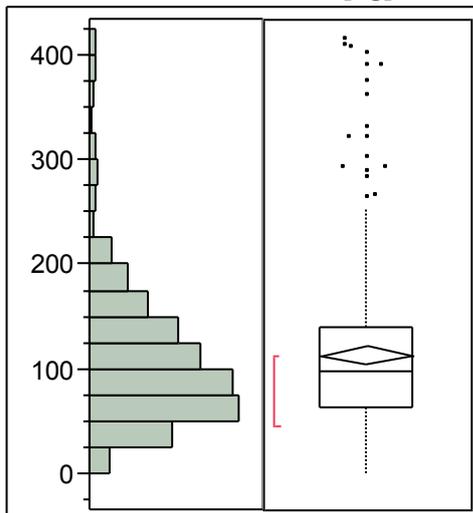


Abbildung 10: Abs. Vol an PGE2 [ng]

#### Quantiles

100.0%	maximum	413,71
99.5%		410,07
97.5%		352,30
90.0%		193,38
75.0%	quartile	140,12
50.0%	median	96,60
25.0%	quartile	62,67
10.0%		44,03
2.5%		23,38
0.5%		0,00
0.0%	minimum	0,00

#### Moments

Mean	113,58281
Std Dev	73,984406
Std Err Mean	4,0788923
upper 95% Mean	121,6069
lower 95% Mean	105,55872
N	329

Tabelle 11: Abs. Vol an PGE2 [ng]

### 3.1.4 Verteilung der Messwerte nach dem absoluten Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF in [ng]

Im Folgenden wird die Verteilung der Messwerte nach dem absoluten Volumen an IL-1 $\beta$  pro ml GCF dargestellt.

**Distributions**  
abs. Vol an IL-1beta/ml GCF [ng]

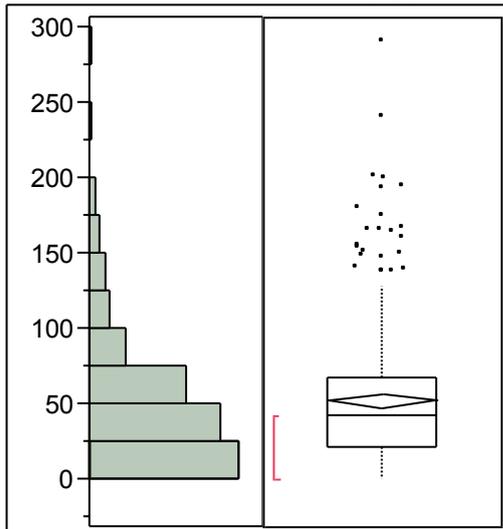


Abbildung 11: Abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

**Quantiles**

100.0%	maximum	289,80
99.5%		257,12
97.5%		171,04
90.0%		120,71
75.0%	quartile	67,13
50.0%	median	41,60
25.0%	quartile	21,65
10.0%		7,82
2.5%		0,00
0.5%		0,00
0.0%	minimum	0,00

**Moments**

Mean	52,06697
Std Dev	45,102938
Std Err Mean	2,482835
upper 95% Mean	56,951204
lower 95% Mean	47,182735
N	330

Tabelle 12: Abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

### 3.2 Messwerte einfaktorielle Analysen

#### 3.2.1 Einfluss der Entnahmestelle ( Ober-/Unterkiefer)

##### 3.2.1.1 GCF Volumen Mittelwert

Oneway Analysis of GCF Volumen Mittelwert [ $\mu\text{l}$ ] By Kiefer

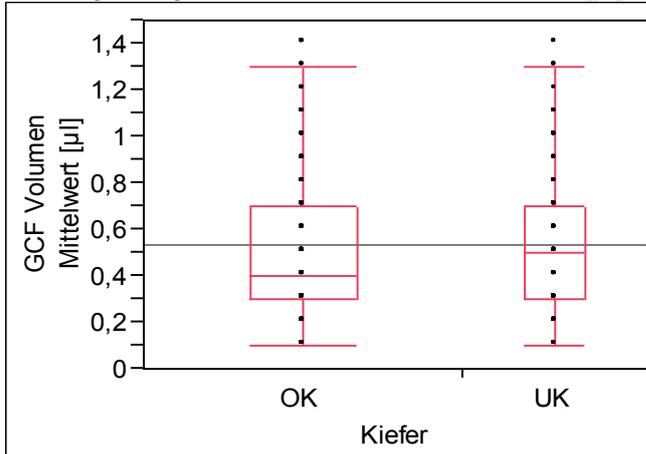


Abbildung 12: Einfl. d. Entnahmestelle auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu\text{l}$ ]

#### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
OK	0,1	0,2	0,3	0,4	0,7	1	1,4
UK	0,1	0,2	0,3	0,5	0,7	1	1,4

#### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
OK	209	33889,5	162,151
UK	121	20725,5	171,285

#### 2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
20725,5	0,84443	0,3984

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,7141	1	0,3981

Tabelle 13: Einfl. d. Entnahmestelle auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu\text{l}$ ]

3.2.1.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an PAI-2/ml GCF [ $\mu\text{g}$ ] By Kiefer

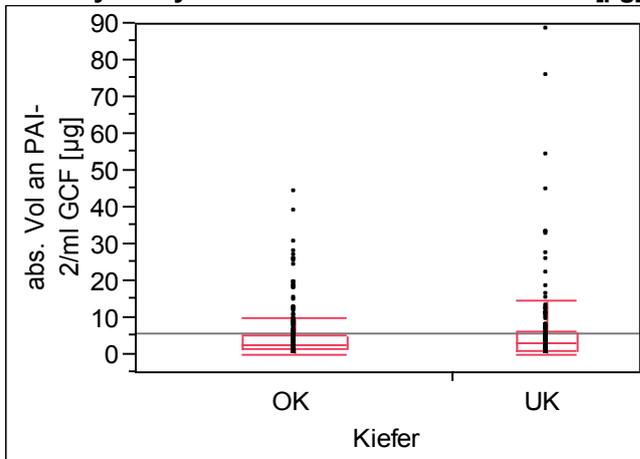


Abbildung 13: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu\text{g}$ ]

Missing Rows

2

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
OK	0	0	1,081843	2,348865	5,024336	11,6178	43,81246
UK	0	0	0,627248	2,683311	6,145509	15,22143	87,70475

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
OK	207	33763,0	163,106
UK	121	20193,0	166,884

2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
20193	0,34799	0,7278

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,1215	1	0,7274

Tabelle 14: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu\text{g}$ ]

3.2.1.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By Kiefer

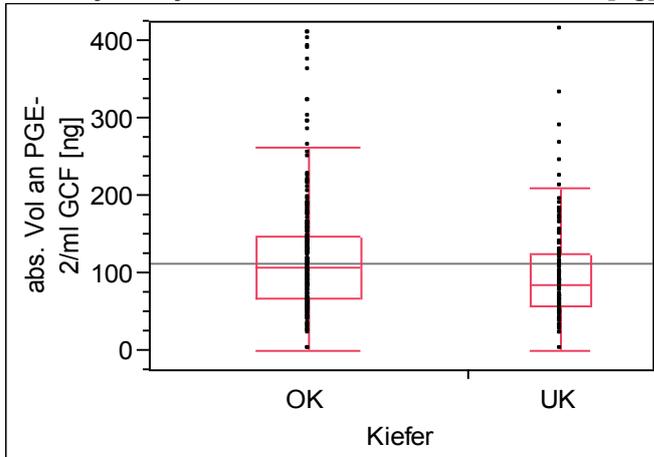


Abbildung 14: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an PGE2 [ng]

Missing Rows

1

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
OK	0	44,55822	68,02957	108,6013	147,9299	214,4895	408,1112
UK	0	41,06666	58,177	84,16266	123,8039	177,6903	413,7058

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
OK	208	36716,0	176,519 2,879
UK	121	17569,0	145,198 -2,879

2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
17569	-2,87942	0,0040

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
8,2945	1	0,0040

Tabelle 15: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an PGE2 [ng]

### 3.2.1.4 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an IL-1beta/ml GCF [ng] By Kiefer

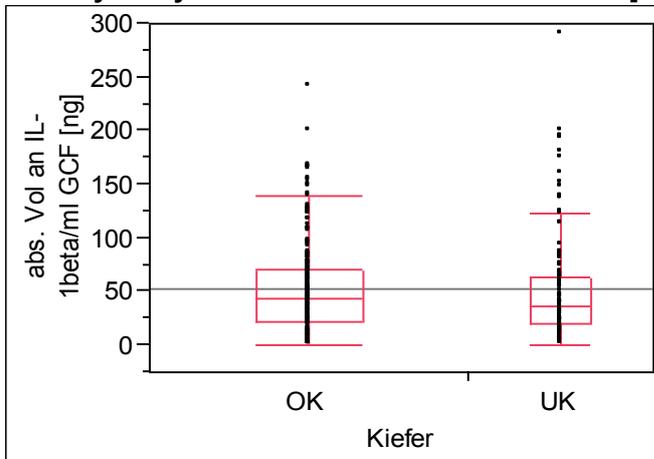


Abbildung 15: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

**Quantiles**

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
OK	0	6,1	22,25	44,5	69,95	115,1	239,9
UK	0	9,34	19,8	36,5	63,7	133,58	289,8

**Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)**

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
OK	209	35421,5	169,481
UK	121	19193,5	158,624

**2-Sample Test, Normal Approximation**

S	Z	Prob> Z
19193,5	-0,99562	0,3194

**1-way Test, ChiSquare Approximation**

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,9925	1	0,3191

Tabelle 16: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

### 3.2.2 Einfluss des Geschlechts

#### 3.2.2.1 GCF Volumen Mittelwert

Oneway Analysis of GCF Volumen Mittelwert [ $\mu\text{l}$ ] By Geschlecht

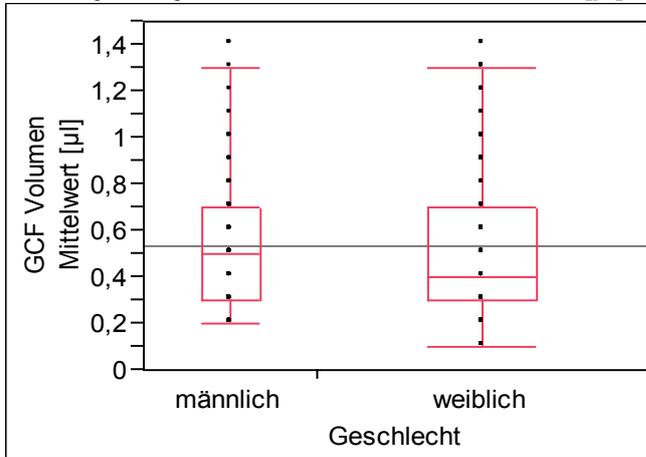


Abbildung 16: Einfluss des Geschlechts auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu\text{l}$ ]

#### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
männlich	0,2	0,2	0,3	0,5	0,7	0,9	1,4
weiblich	0,1	0,2	0,3	0,4	0,7	1,03	1,4

#### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
männlich	114	19741,5	173,171
weiblich	216	34873,5	161,451

#### 2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
19741,5	1,06924	0,2850

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
1,1446	1	0,2847

Tabelle 17: Einfluss des Geschlechts auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu\text{l}$ ]

3.2.2.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an PAI-2/ml GCF [ $\mu\text{g}$ ] By Geschlecht

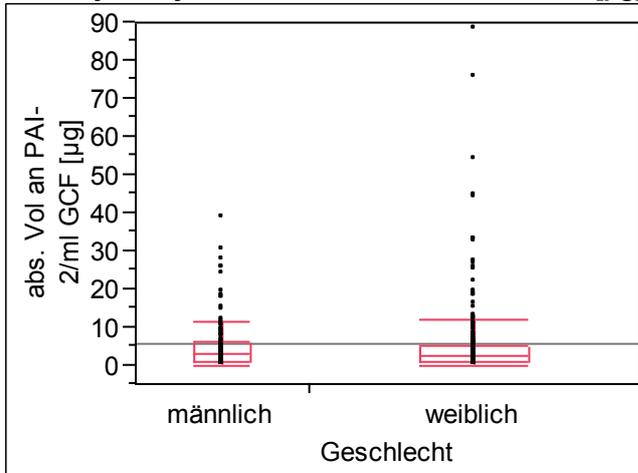


Abbildung 17: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu\text{g}$ ]

Missing Rows

2

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
männlich	0	0	0,936198	2,655422	5,830391	14,46979	38,158
weiblich	0	0	0,806234	2,238223	5,172877	11,93217	87,70475

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
männlich	113	19164,0	169,593 0,705
weiblich	215	34792,0	161,823 -0,705

2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
19164	0,70545	0,4805

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,4985	1	0,4802

Tabelle 18: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu\text{g}$ ]

3.2.2.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF(Kiefer=OK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By Geschlecht Kiefer=OK

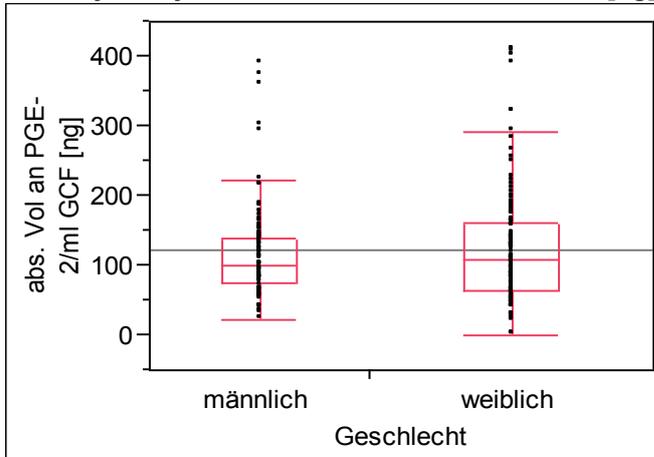


Abbildung 18: Einfluss: Geschlecht auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK)

Missing Rows

1

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
männlich	23,17136	52,32494	75,57153	100,902	139,8967	184,8947	389,5191
weiblich	0	40,51477	63,10741	109,0944	160,094	229,2754	408,1112

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
männlich	91	9354,00	102,791 -0,360
weiblich	117	12382,0	105,829 0,360

2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
9354	-0,35994	0,7189

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,1304	1	0,7180

Tabelle 19: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK)

3.2.2.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF(Kiefer = UK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By Geschlecht Kiefer=UK

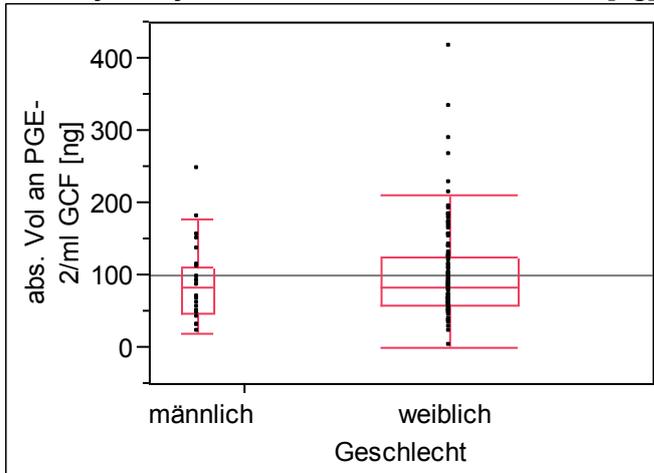


Abbildung 19: Einfluss: Geschlecht auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK)

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
männlich	18,97037	27,30573	47,91528	84,16266	111,8867	168,1587	243,3626
weiblich	0	44,9217	59,20688	83,93223	124,9613	180,4866	413,7058

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
männlich	23	1262,00	54,8696
weiblich	98	6119,00	62,4388

2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
1262	-0,92813	0,3533

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,8676	1	0,3516

Tabelle 20: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK)

### 3.2.2.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an IL-1beta/ml GCF [ng] By Geschlecht

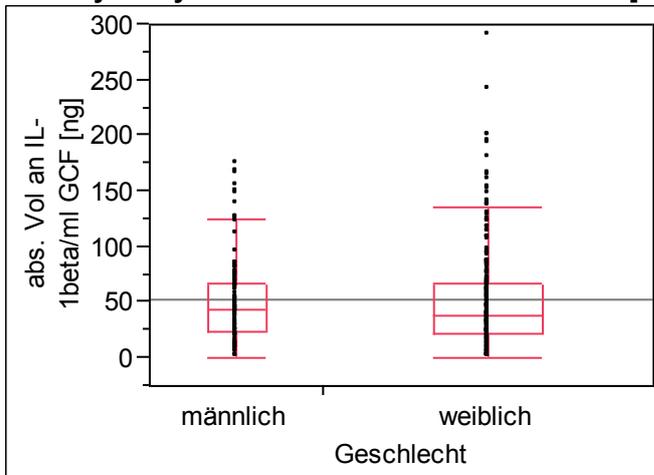


Abbildung 20: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

**Quantiles**

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
männlich	0	9,35	23,05	43,15	66,875	116,45	173,1
weiblich	0	4,58	21,125	38,35	67,575	121,2	289,8

**Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)**

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
männlich	114	19458,5	170,689
weiblich	216	35156,5	162,762

**2-Sample Test, Normal Approximation**

S	Z	Prob> Z
19458,5	0,71714	0,4733

**1-way Test, ChiSquare Approximation**

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,5152	1	0,4729

Tabelle 21: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

### 3.3 Messwerte multifaktorielle Analyse

#### 3.3.1 Einfluss der Entnahmeregion

##### 3.3.1.1 GCF Volumen Mittelwert

Oneway Analysis of GCF Volumen Mittelwert [ $\mu\text{l}$ ] By regio Zahn

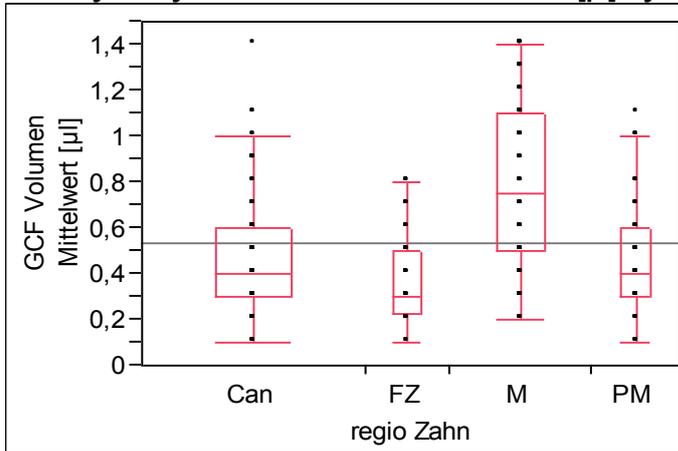


Abbildung 21: Einfluss d. Entnahmeregion auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu\text{l}$ ]

#### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Can	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,9	1,4
FZ	0,1	0,2	0,225	0,3	0,5	0,7	0,8
M	0,2	0,3	0,5	0,75	1,1	1,3	1,4
PM	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	1,1

#### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Can	137	19451,5	141,982
FZ	52	6721,50	129,260
M	86	19868,0	231,023
PM	55	8574,00	155,891

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
57,8910	3	<,0001

Tabelle 22: Einfluss der Entnahmeregion auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu\text{l}$ ]

3.3.1.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF in µg

Oneway Analysis of abs. Vol an PAI-2/ml GCF [µg] By regio Zahn

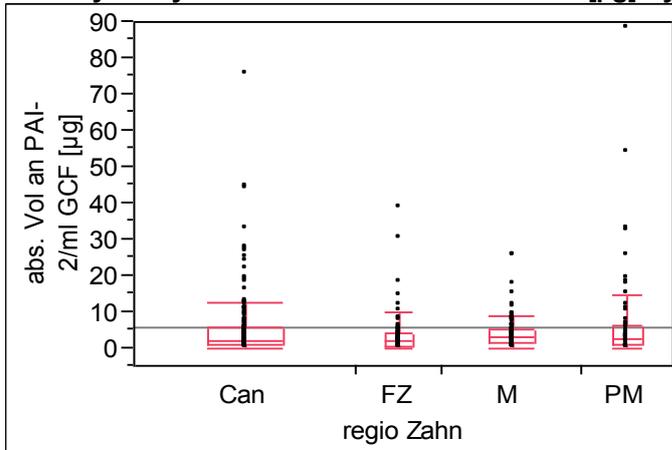


Abbildung 22: Einfluss der Entnahmeregion auf das abs. Vol. an PAI-2 [µg]

Missing Rows

2

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Can	0	0	0,736095	2,105755	5,380069	16,17285	75,02833
FZ	0	0	0,410515	2,049335	4,113936	10,95249	38,158
M	0	0	1,349101	2,683311	5,208187	8,356179	25,26416
PM	0	0	0,710592	2,464023	6,225009	21,26194	87,70475

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Can	136	22112,0	162,588
FZ	52	7803,00	150,058
M	85	14553,0	171,212
PM	55	9488,00	172,509

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
2,0849	3	0,5550

Tabelle 23: Einfluss der Entnahmeregion auf das abs. Vol. an PAI-2 [µg]

3.3.1.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = OK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By regio Zahn Kiefer=OK

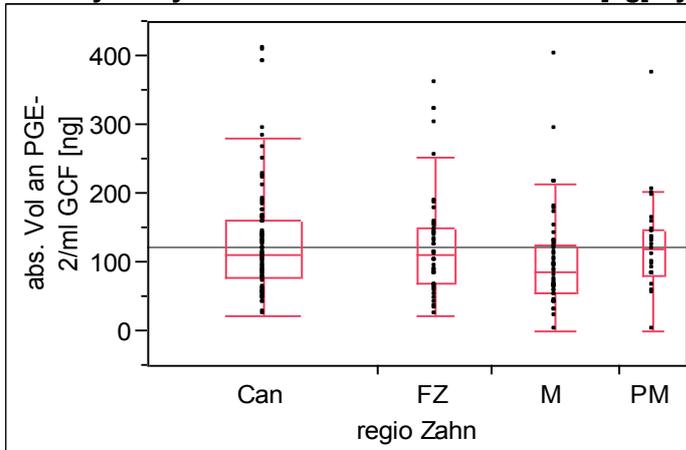


Abbildung 23: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK)

Missing Rows

1

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Can	23,17136	50,83691	77,31901	111,9281	160,0983	224,8225	408,1112
FZ	21,4639	40,87528	68,72774	110,0472	148,8994	276,4434	359,7044
M	0	37,88055	55,71813	84,78914	125,9319	213,5123	399,6705
PM	0	55,5237	80,27502	118,8633	147,3563	198,4104	373,5429

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Can	89	9953,00	111,831 1,518
FZ	44	4689,50	106,580 0,257
M	49	4156,50	84,827 -2,616
PM	26	2937,00	112,962 0,765

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
7,1221	3	0,0681

Tabelle 24: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK)

3.3.1.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = UK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By regio Zahn Kiefer=UK

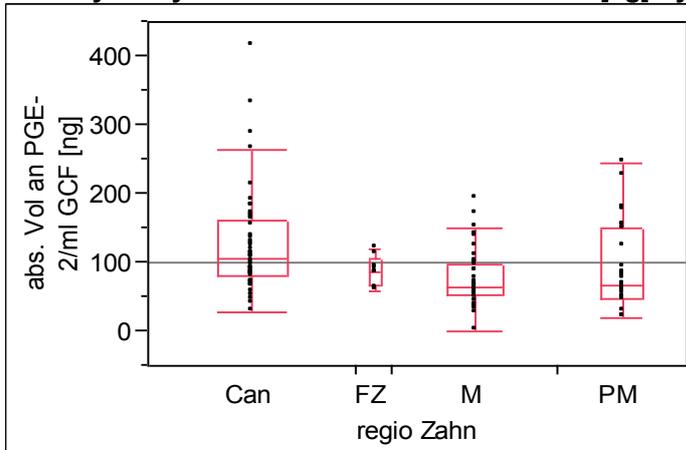


Abbildung 24: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK)

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Can	27,47014	55,04374	79,42959	105,44	161,3343	221,581	413,7058
FZ	58,07538	58,07538	66,93112	85,92271	105,2545	118,3315	118,3315
M	0	32,90033	51,73074	63,36727	97,64849	140,7271	192,6383
PM	18,97037	27,19613	48,07839	67,18593	150,4608	177,7894	243,3626

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Can	47	3567,00	75,8936
FZ	8	496,000	62,0000
M	37	1753,00	47,3784
PM	29	1565,00	53,9655

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
15,2287	3	0,0016

Tabelle 25: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK)

### 3.3.1.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an IL-1beta/ml GCF [ng] By regio Zahn

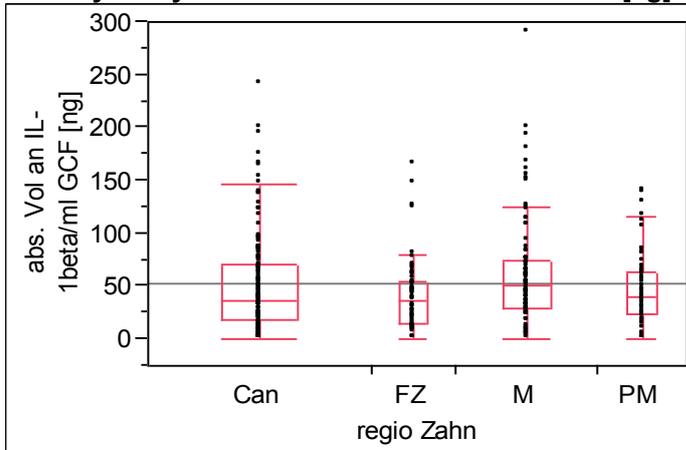


Abbildung 25: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

**Quantiles**

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Can	0	3,78	18,45	37	70,8	121,3	239,9
FZ	0	8,37	14,875	36,65	54,9	79,3	164,6
M	0	10,63	30	50,2	74,75	149,28	289,8
PM	0	7,42	23,8	40,1	63,9	107,48	139,9

**Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)**

Level	Count	Score Sum	Score Mean	(Mean-Mean0)/Std0
Can	137	21502,5	156,953	-1,371
FZ	52	7624,00	146,615	-1,554
M	86	16313,0	189,686	2,733
PM	55	9175,50	166,827	0,112

**1-way Test, ChiSquare Approximation**

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
8,6752	3	0,0339

Tabelle 26: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

### 3.3.2 Einfluss der Art des Attachments

#### 3.3.2.1 GCF Volumen Mittelwert

Oneway Analysis of GCF Volumen Mittelwert [ $\mu$ ] By Band oder Bracket

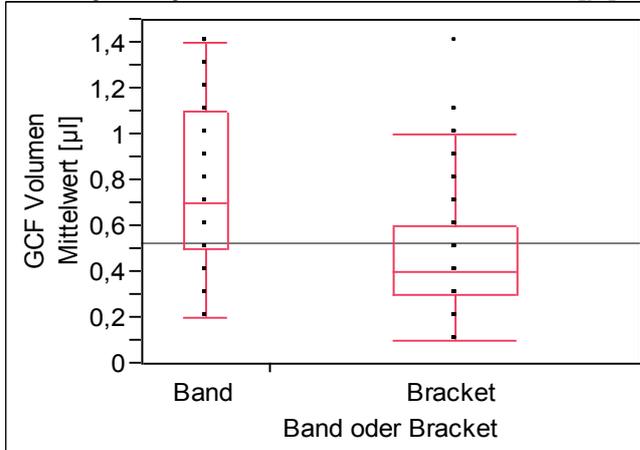


Abbildung 26: Einfluss d. Art d. Attachments auf d. Mittelwert an GCF Vol.[ $\mu$ l]

Missing Rows

3

#### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Band	0,2	0,3	0,5	0,7	1,1	1,3	1,4
Bracket	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	1,4

#### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Band	84	19140,5	227,863
Bracket	243	34487,5	141,924

#### 2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
19140,5	7,24064	<,0001

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
52,4366	1	<,0001

Tabelle 27: Einfluss d. Art des Attachments auf d. Mittelwert an GCF Vol.[ $\mu$ l]

### 3.3.2.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an PAI-2/ml GCF [ $\mu\text{g}$ ] By Band oder Bracket

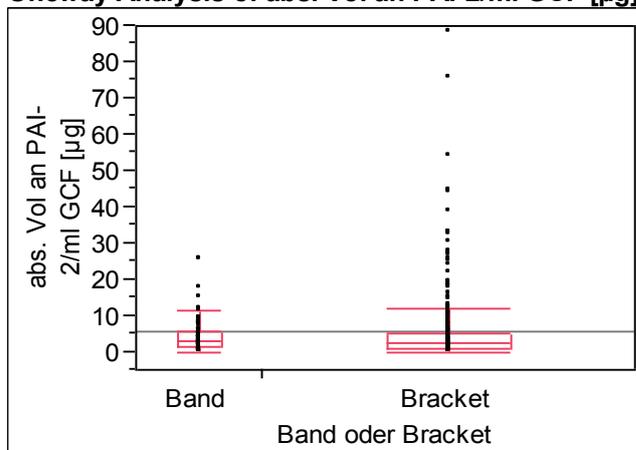


Abbildung 27: Einfluss d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu\text{g}$ ]

Missing Rows

5

**Quantiles**

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Band	0	0	1,363207	2,919838	5,39355	8,399195	25,26416
Bracket	0	0	0,720328	2,277503	5,286449	16,72185	87,70475

**Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)**

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Band	83	14168,	170,699 0,866
Bracket	242	38807,0	160,360 -0,866

**2-Sample Test, Normal Approximation**

S	Z	Prob> Z
14168	0,86551	0,3868

**1-way Test, ChiSquare Approximation**

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,7503	1	0,3864

Tabelle 28: Einfluss d. Art des Attachments auf d. abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu\text{g}$ ]

3.3.2.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = OK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By Band oder Bracket Kiefer=OK

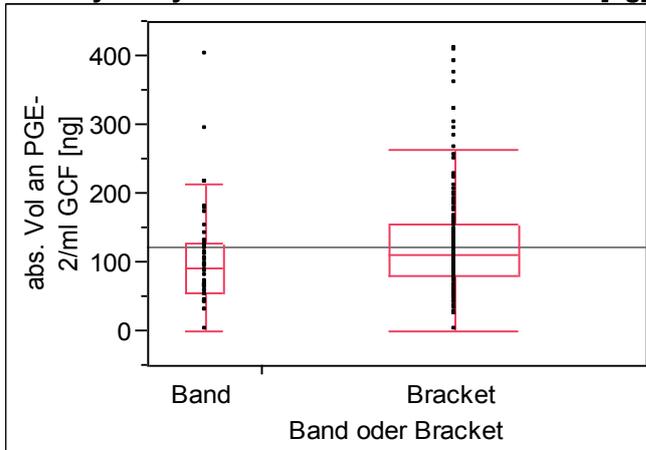


Abbildung 28: Einfl. d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK)

Missing Rows

3

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Band	0	38,6296	56,39323	91,02702	126,638	213,6924	399,6705
Bracket	0	50,83691	79,47396	111,9281	155,2844	221,4538	408,1112

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Band	47	4024,50	85,628 -2,338
Bracket	159	17296,5	108,783 2,338

2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
4024,5	-2,33819	0,0194

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
5,4736	1	0,0193

Tabelle 29: Einfl. d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK)

3.3.2.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = UK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By Band oder Bracket Kiefer=UK

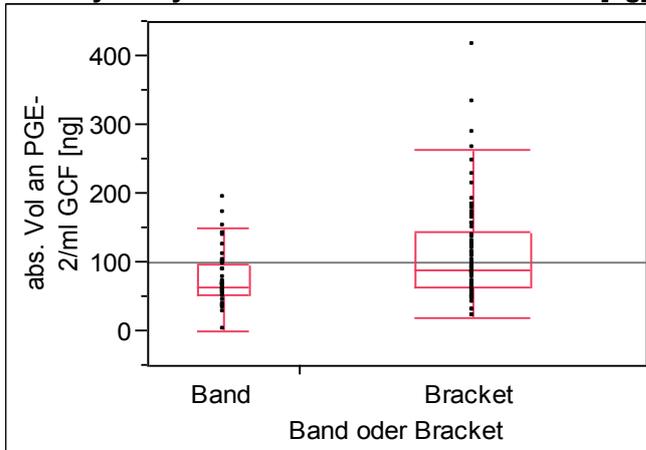


Abbildung 29: Einfl. d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK)

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Band	0	32,90033	51,73074	63,36727	97,64849	140,7271	192,6383
Bracket	18,97037	45,79398	63,25428	88,15657	144,7279	184,8493	413,7058

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Band	37	1753,00	47,3784
Bracket	84	5628,00	67,0000

2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
1753	-2,83250	0,0046

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
8,0390	1	0,0046

Tabelle 30: Einfl. d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK)

### 3.3.2.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an IL-1beta/ml GCF [ng] By Band oder Bracket

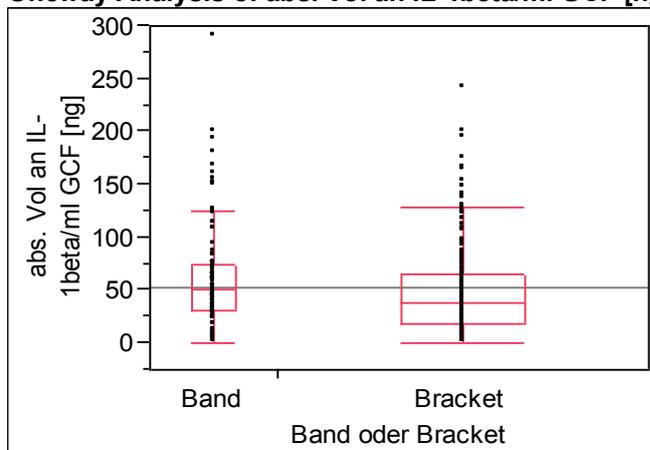


Abbildung 30: Einfluss d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

Missing Rows

3

#### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Band	0	10,25	30,45	50,95	74,85	149,4	289,8
Bracket	0	5,78	18,6	37,4	64,5	109,76	239,9

#### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Band	84	15863,0	188,845
Bracket	243	37765,0	155,412

#### 2-Sample Test, Normal Approximation

S	Z	Prob> Z
15863	2,79352	0,0052

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
7,8075	1	0,0052

Tabelle 31: Einfluss d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

### 3.3.3 Einfluss des Bogenquerschnittes

#### 3.3.3.1 GCF Volumen Mittelwert

Oneway Analysis of GCF Volumen Mittelwert [ $\mu$ ] By Bogen-Querschnitt

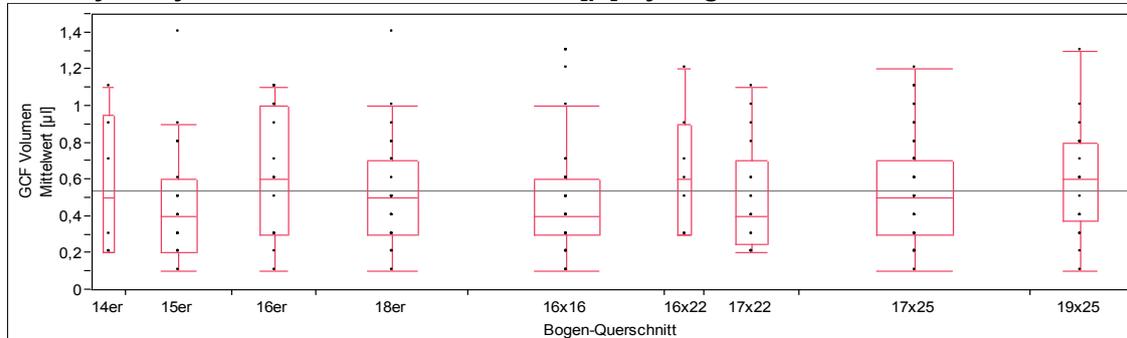


Abbildung 31: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l]

Missing Rows

145

#### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
14er	0,2	0,2	0,2	0,5	0,95	1,1	1,1
15er	0,1	0,2	0,2	0,4	0,6	0,9	1,4
16er	0,1	0,16	0,3	0,6	1	1,1	1,1
18er	0,1	0,2	0,3	0,5	0,7	0,92	1,4
16x16	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	1,24	1,3
16x22	0,3	0,3	0,3	0,6	0,9	1,2	1,2
17x22	0,2	0,2	0,25	0,4	0,7	1,02	1,1
17x25	0,1	0,2	0,3	0,5	0,7	1	1,2
19x25	0,1	0,19	0,375	0,6	0,8	1,03	1,3

#### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
14er	6	558,000	93,000
15er	19	1520,00	80,000
16er	15	1656,00	110,400
18er	27	2408,00	89,185
16x16	35	2979,50	85,129
16x22	7	789,000	112,714
17x22	17	1493,50	87,853
17x25	41	3908,50	95,329
19x25	18	1892,50	105,139

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
5,7801	8	0,6718

Tabelle 32: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l]

### 3.3.3.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF

#### Oneway Analysis of abs. Vol an PAI-2/ml GCF [µg] By Bogen-Querschnitt

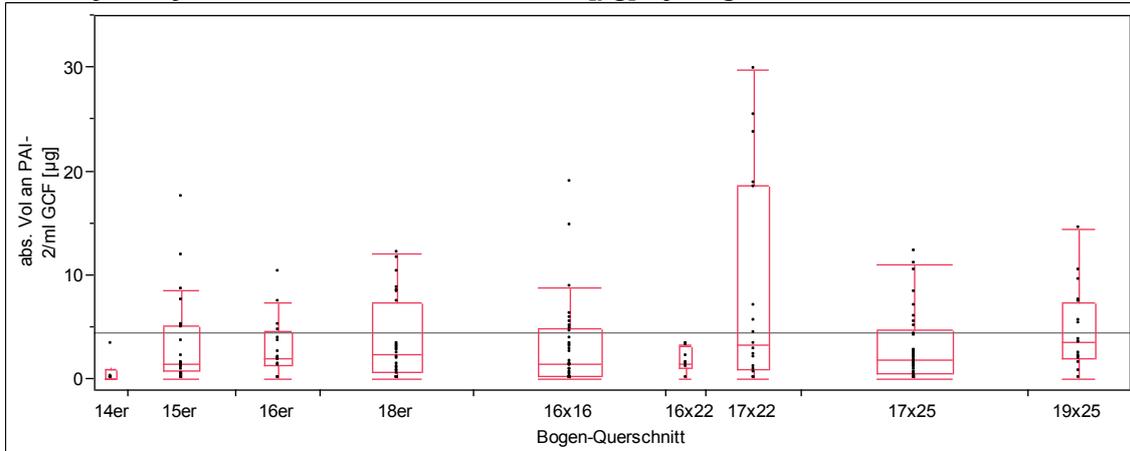


Abbildung 32: Einfluss d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PAI-2 [µg]

Missing Rows

147

#### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
14er	0	0	0	0	0,972468	3,310523	3,310523
15er	0	0	0,864478	1,483573	5,194747	11,85371	17,50647
16er	0	0	1,387881	1,98913	4,625708	8,537023	10,30331
18er	0	0	0,651755	2,369283	7,439482	10,56231	12,04987
16x16	0	0	0,272909	1,538504	4,848756	11,80128	38,158
16x22	0	0	1,10718	1,534342	3,138434	3,259318	3,259318
17x22	0	0	0,950299	3,25611	18,58201	26,15817	29,73421
17x25	0	0	0,603117	1,921068	4,806495	11,0333	53,82725
19x25	0	0,651216	1,966493	3,587096	7,425549	10,78509	14,39552

#### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
14er	6	213,000	35,500
15er	19	1751,00	92,158
16er	15	1433,00	95,533
18er	27	2453,50	90,870
16x16	34	2889,00	84,971
16x22	7	542,500	77,500
17x22	17	1898,00	111,647
17x25	40	3550,50	88,763
19x25	18	2105,50	116,972

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
14,5809	8	0,0678

Tabelle 33: Einfluss d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PAI-2 [µg]

3.3.3.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = OK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By Bogen-Querschnitt Kiefer=OK

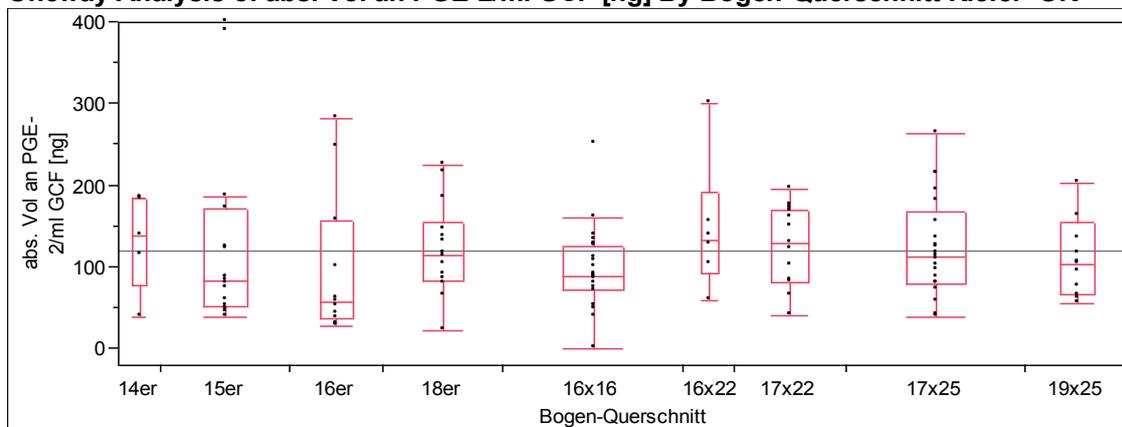


Abbildung 33: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK)

Missing Rows

91

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
14er	39,81975	39,81975	77,55037	138,5904	183,9772	184,7093	184,7093
15er	39,39224	42,5269	51,21562	82,71588	172,1868	392,7639	399,6705
16er	27,83114	28,07597	37,88055	57,85867	156,7291	274,9244	281,8837
18er	21,4639	42,64115	83,70895	114,2168	155,2601	220,0012	224,8225
16x16	0	40,85385	72,48786	87,84826	126,1876	155,5454	251,709
16x22	60,12136	60,12136	92,95449	133,5756	191,7578	301,1779	301,1779
17x22	39,96234	50,07282	81,98681	129,6107	170,083	188,1124	196,1507
17x25	38,81686	44,14454	79,58838	111,9281	168,3628	214,2327	263,1673
19x25	56,36901	57,74367	66,83314	103,5118	155,7925	346,7827	408,1112

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
14er	5	361,000	72,2000
15er	15	798,000	53,2000
16er	11	454,000	41,2727
18er	14	919,000	65,6429
16x16	21	1068,00	50,8571
16x22	6	449,000	74,8333
17x22	13	897,000	69,0000
17x25	21	1336,00	63,6190
19x25	12	739,000	61,5833

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
8,6702	8	0,3709

Tabelle 34: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK)

### 3.3.3.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = UK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By Bogen-Querschnitt Kiefer=UK

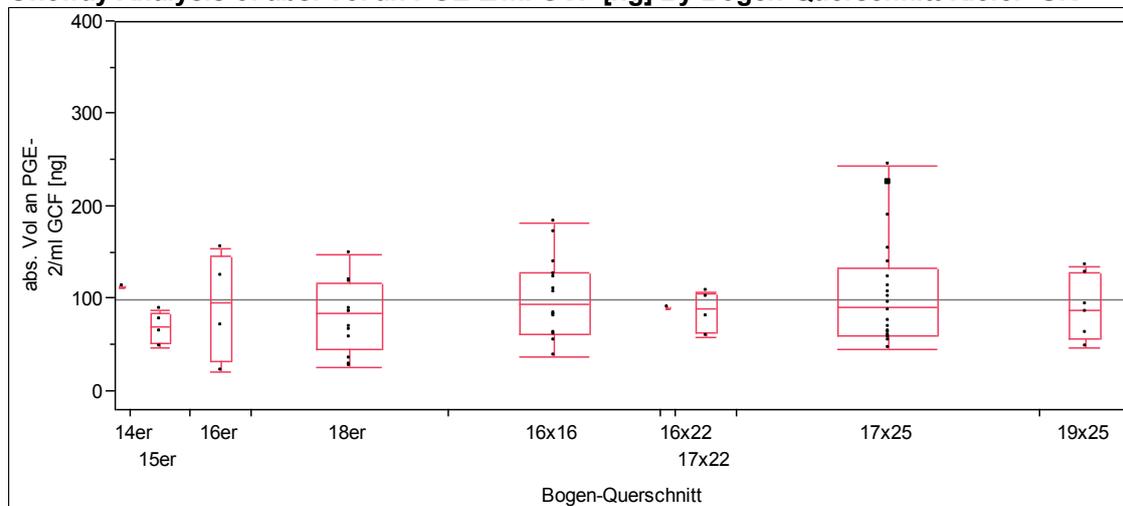


Abbildung 34: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK)

Missing Rows

54

**Quantiles**

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
14er	111,8867	111,8867	111,8867	111,8867	111,8867	111,8867	111,8867
15er	46,637	46,637	50,81957	69,95287	84,73348	87,46514	87,46514
16er	20,64566	20,64566	32,82845	96,36724	146,0814	153,656	153,656
18er	25,02399	25,89284	45,68885	84,16266	117,34	307,1297	413,7058
16x16	37,76986	45,8197	61,33243	94,35416	127,7931	175,4515	181,2303
16x22	89,00509	89,00509	89,00509	89,00509	89,00509	89,00509	89,00509
17x22	58,27863	58,27863	63,5214	89,64956	105,4952	107,3105	107,3105
17x25	44,65832	53,98486	59,62289	90,43018	133,2095	220,1489	243,3626
19x25	46,22972	46,22972	57,22313	88,24221	128,7839	133,8517	133,8517

**Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)**

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
14er	1	47,000	47,0000
15er	4	92,000	23,0000
16er	4	140,000	35,0000
18er	13	394,000	30,3077
16x16	14	518,000	37,0000
16x22	1	38,000	38,0000
17x22	4	128,000	32,0000
17x25	20	714,000	35,7000
19x25	6	207,000	34,5000

**1-way Test, ChiSquare Approximation**

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
2,7696	8	0,9480

Tabelle 35: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK)

### 3.3.3.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an IL-1beta/ml GCF [ng] By Bogen-Querschnitt

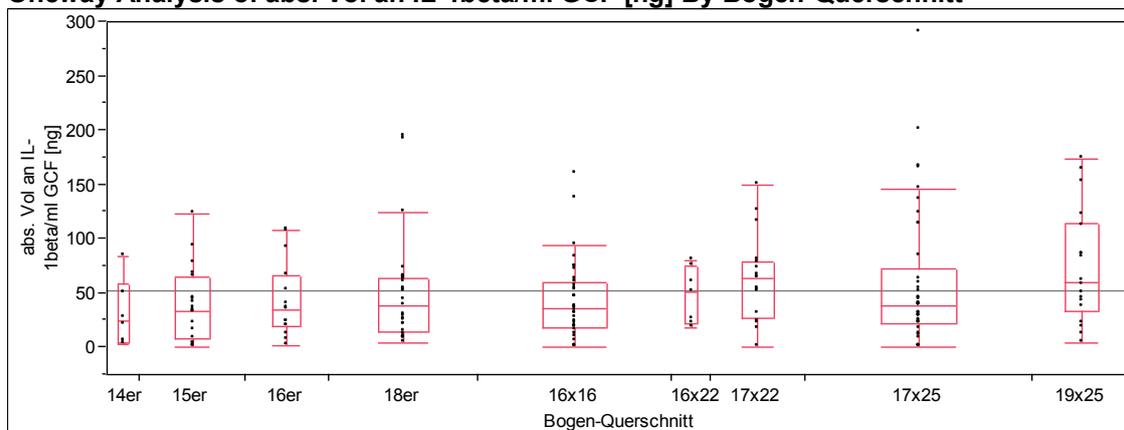


Abbildung 35: Einfluss d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

Missing Rows

145

#### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
14er	3,2	3,2	4,4	23,8	58,025	83,6	83,6
15er	0	0	8,4	33,4	64,4	92,2	122,6
16er	1,4	4,22	19,4	34,4	66,6	107	107,6
18er	3,9	7,7	14,8	38	63,5	137,84	193,3
16x16	0	0	18,6	35,2	59,3	86,96	159,6
16x22	18,6	18,6	22,2	51,5	74,9	80,5	80,5
17x22	0	13,68	27,05	63,7	78,65	130,02	149,7
17x25	0	1,52	22,05	38,1	72,75	160,76	289,8
19x25	4,3	10,6	32,975	59,1	113,7	164,37	173,1

#### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
14er	6	409,000	68,167
15er	19	1530,50	80,553
16er	15	1273,50	84,900
18er	27	2417,50	89,537
16x16	35	2968,50	84,814
16x22	7	697,500	99,643
17x22	17	1942,50	114,265
17x25	41	3840,50	93,671
19x25	18	2125,50	118,083

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
10,3377	8	0,2421

Tabelle 36: Einfluss d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]

### 3.3.4 Einfluss der Bogenart

#### 3.3.4.1 GCF Volumen Mittelwert

Oneway Analysis of GCF Volumen Mittelwert [ $\mu$ ] By Bogen-Art

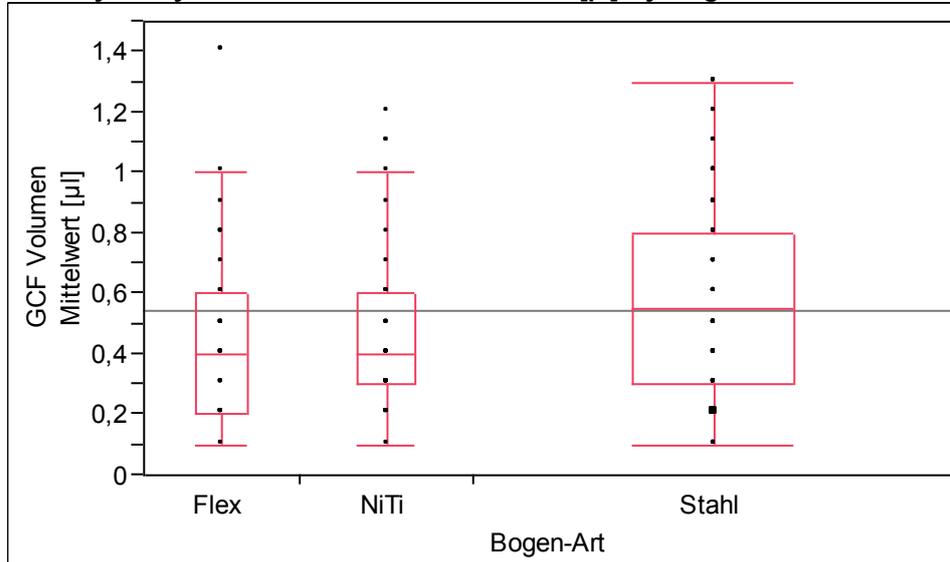


Abbildung 36: Einfluss d. Bogenart auf d. Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ ]

Missing Rows  
148

#### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Flex	0,1	0,2	0,2	0,4	0,6	0,94	1,4
NiTi	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	1	1,2
Stahl	0,1	0,2	0,3	0,55	0,8	1,1	1,3

#### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Flex	35	2859,50	81,700
NiTi	39	2957,50	75,833
Stahl	108	10836,0	100,333

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
7,7979	2	0,0203

Tabelle 37: Einfluss d. Bogenart auf d. Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ ]

3.3.4.2 Absolutes Volumen an PAI-2/ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an PAI-2/ml GCF [µg] By Bogen-Art

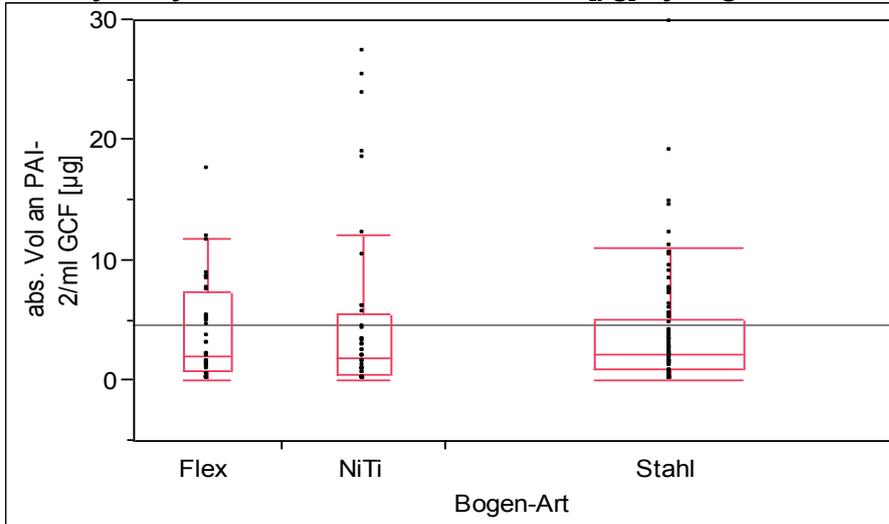


Abbildung 37: Einfluss der Bogenart auf das abs. Vol. an PAI-2/ml GCF [µg]

Missing Rows

150

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Flex	0	0	0,864478	2,092541	7,439482	9,854817	17,50647
NiTi	0	0	0,578555	1,948411	5,602076	18,82442	27,31975
Stahl	0	0	0,960745	2,122743	5,061471	10,39917	53,82725

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Flex	35	3235,00	92,4286 0,243
NiTi	39	3437,00	88,1282 -0,320
Stahl	106	9618,00	90,7358 0,071

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,1315	2	0,9363

Tabelle 38: Einfluss der Bogenart auf das abs. Vol. an PAI-2/ml GCF [µg]

3.3.4.3 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer = OK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By Bogen-Art Kiefer=OK

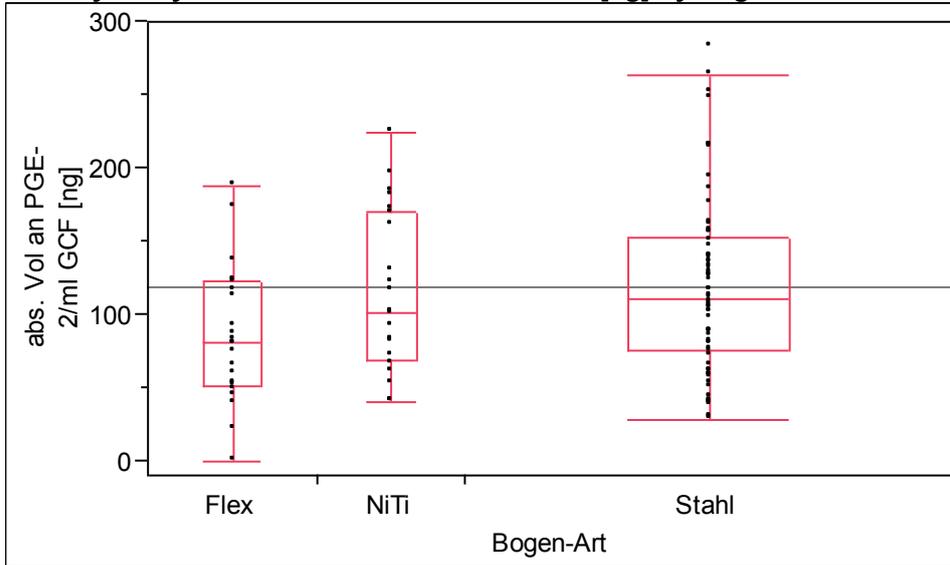


Abbildung 38: Einfl. d. Bogenart auf d. abs. Vol. an PGE2/ml GCF [ng](OK)

Missing Rows  
95

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Flex	0	30,42807	51,43102	81,24335	122,5221	287,6366	399,6705
NiTi	39,81975	42,37354	68,42777	100,8022	170,083	193,5696	224,8225
Stahl	27,83114	43,31869	74,75649	110,9239	152,7011	215,1799	408,1112

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Flex	24	1132,00	47,1667
NiTi	21	1250,00	59,5238
Stahl	69	4173,00	60,4783

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
2,9846	2	0,2249

Tabelle 39: Einfl. d. Bogenart auf d. abs. Vol. an PGE2/ml GCF [ng] (OK)

### 3.3.4.4 Absolutes Volumen an PGE2/ml GCF (Kiefer=UK)

Oneway Analysis of abs. Vol an PGE-2/ml GCF [ng] By Bogen-Art Kiefer=UK

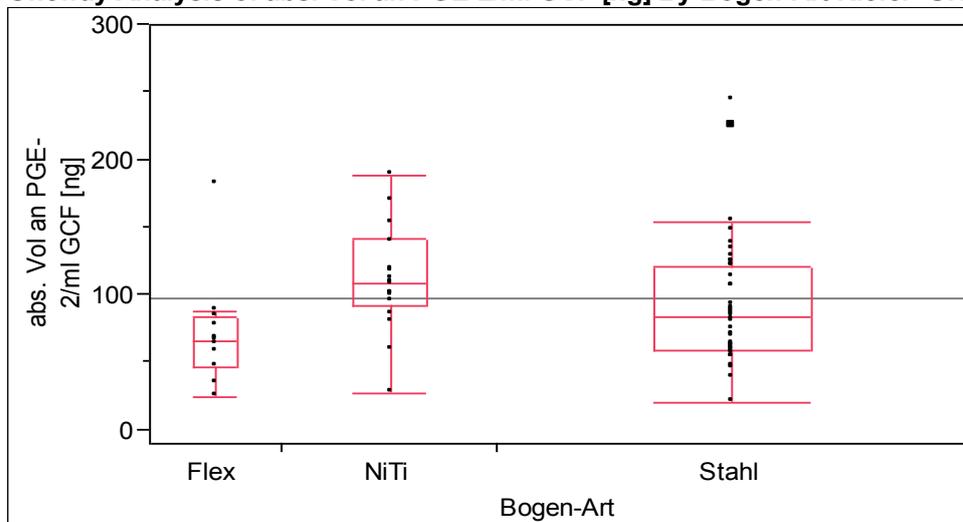


Abbildung 39: Einfluss d. Bogenart auf d. abs. Vol. an PGE2/ml GCF [ng] UK

Missing Rows

53

**Quantiles**

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Flex	25,02399	26,90753	46,637	65,195	84,16266	162,4773	181,2303
NiTi	27,19613	55,17038	91,94528	108,1738	141,9413	210,9921	413,7058
Stahl	20,64566	46,22972	59,5163	83,20612	121,4946	147,2657	243,3626

**Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)**

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Flex	11	251,000	22,8182
NiTi	18	803,000	44,6111
Stahl	39	1292,00	33,1282

**1-way Test, ChiSquare Approximation**

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
8,7333	2	0,0127

Tabelle 40: Einfluss d. Bogenart auf d. abs. Vol. an PGE2/ml GCF [ng] (UK)

3.3.4.5 Absolutes Volumen an IL-1 $\beta$ /ml GCF

Oneway Analysis of abs. Vol an IL-1beta/ml GCF [ng] By Bogen-Art

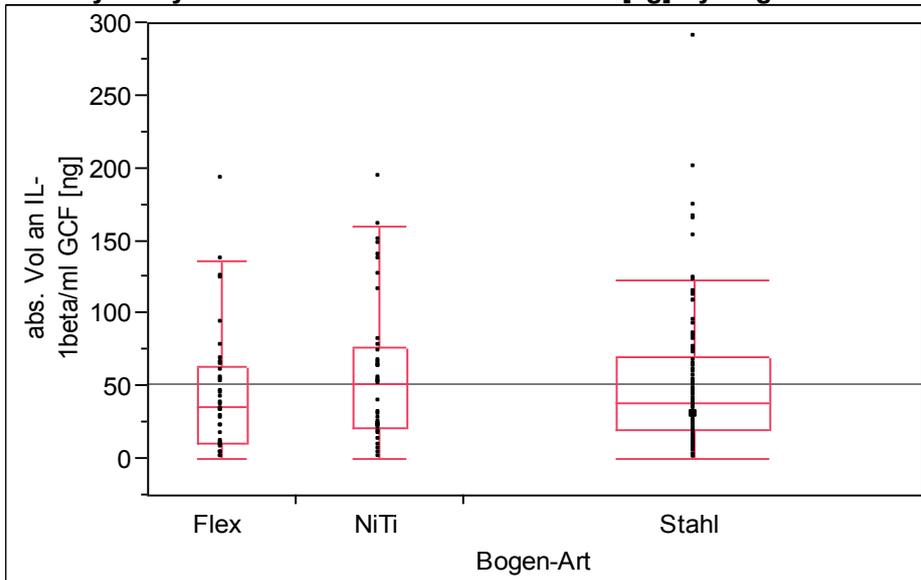


Abbildung 40: Einfluss d. Bogenart auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$ /ml GCF [ng]

Missing Rows

148

Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Flex	0	2,78	11,2	35,9	63,5	123,32	191,6
NiTi	0	8,2	21,1	51,9	77	146,2	193,3
Stahl	0	5,2	20,15	38,05	70,05	113,01	289,8

Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

Level	Count	Score Sum	Score Mean (Mean-Mean0)/Std0
Flex	35	2996,50	85,6143
NiTi	39	3882,50	99,5513
Stahl	108	9774,00	90,5000

1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
1,3869	2	0,4998

Tabelle 41: Einfluss d. Bogenart auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$ /ml GCF [ng]

## 4. Diskussion

### 4.1 Beurteilung der Methode

Im Rahmen der optischen Vermessung der GCF-Proben und der anschließenden Auswertung der Ergebnisse zeigt sich, dass das ELISA eine sehr präzise Methode zur detaillierten Bewertung der GCF ist. Über folgende Messmodi verfügt das Photometer: Einfach- oder Doppellängenmessung, Blanking und Schütteln der Mikrotiterplatte. Die Methode ist biologisch unbedenklich und noninvasiv. Sie stellt aufgrund der Messgenauigkeit von ca. 0–1500 Abs (siehe 2.1.2.3 Messgenauigkeit) und des weiten Messbereiches von 0–2.999 Abs. das ideale Messverfahren für die Analyse der GCF-Proben dar. Andere Messverfahren wie der Western Blot sind hiervon weit entfernt und nicht vergleichbar.

Das Verfahren Western Blot läuft auf der Proteinebene ab. Es werden elektrophoretisch aufgetrennte Proteine aus einem Trenngel auf einen geeigneten Träger, z.B. Nitrozellulose oder Nylon übertragen (die Übertragung ist das eigentliche "Blotting").

Die Bezeichnung des Blot-Verfahrens stammt vom englischen blot für Klecks oder Fleck und von engl. blotting paper für Löschpapier, bei dem auch ein identischer Abdruck des Originals entsteht.

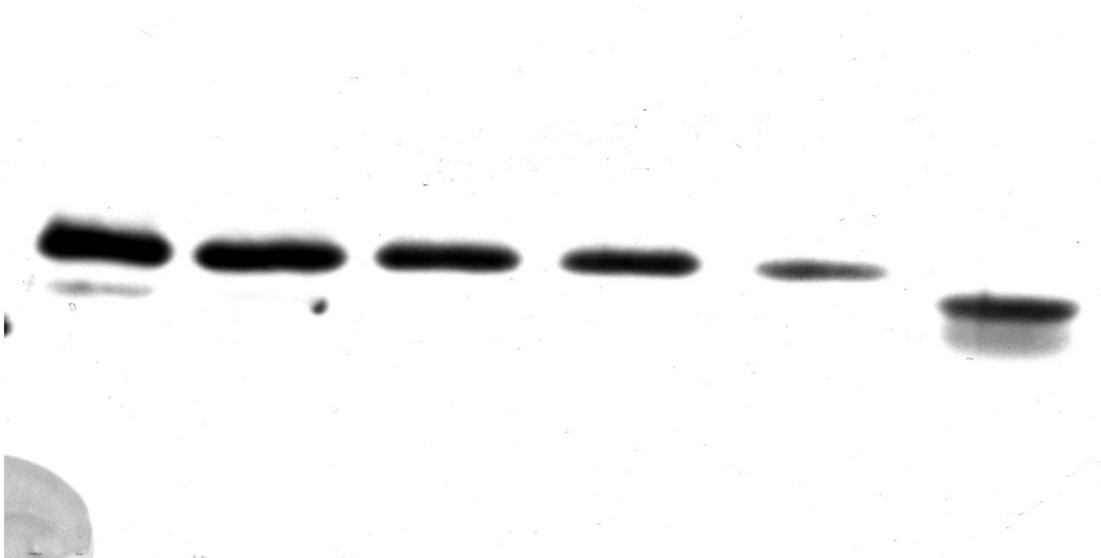


Abbildung 41: Western Blot

Diese Methode wurde für Diazobenzylloxymethyl-Papier eingeführt<sup>[45]</sup>, und wie im einfacheren Southern Blot auf Nitrozellulose umgestellt<sup>[54]</sup>.

Hierbei wird eine Kopie des Gels produziert, wobei die Proteine auf dem Filter immobilisiert werden. Die Bindung der Makromoleküle an Nitrozellulose erfolgt über hydrophobe Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken. Moleküle an Nylonmembranen und aktivierten Papieren werden in der Regel in einer Zweischritt-Reaktion zuerst elektrostatisch und dann kovalent gebunden.

Das ursprünglich im Gel enthaltene Trennmuster der Proteinmoleküle bleibt nach der Übertragung erhalten, sodass eine exakte Replik des ursprünglichen Gels entsteht. Unter geeigneten Bedingungen bleiben beim Transfer sowohl die Immunreaktivität als auch die funktionelle Aktivität der Proteine, etwa deren enzymatische Aktivität, erhalten.

Im Vergleich zum ELISA wird deutlich mehr Volumen benötigt. Dies war bei der vorliegenden Untersuchung nicht möglich, hier standen nur 100 µl zur Verfügung.

Die Auswertung in Banden lässt zudem, im Vergleich zu der 16-stelligen Fluoreszenzanzeige des ELISA, nur weniger Aussagen über Konzentrationen zu.

Die Banden des Western Blot ermöglichen hauptsächlich eine qualitative Aussage, der ELISA ermöglicht auch quantitative Messungen.

### **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

Die von uns gewählten Faktoren, wurden im Bereich der immunologischen Untersuchungen von erwachsenen Implantatpatienten, bereits durch Lachmann et al. etabliert. Die Wiederholbarkeit der Messergebnisse ist gegeben und die äußeren Einflüsse des Verfahren moderat und kontrollierbar<sup>[31-33]</sup>. Es gilt nun die Aussagekraft und die Übertragbarkeit auf kieferorthopädische Patienten zu untersuchen und zu sichern.

Durch einfaktorielle Analysen wurde der Einfluss der Entnahmestelle und des Geschlechts auf die GCF und das absolute Volumen von PAI-2, PGE2 und IL-1β berechnet.

### 4.2.1 Einfluss Kiefer/GCF

Es wurde der Einfluss der Entnahmestelle (Ober- versus Unterkiefer) auf das gesamte gemessene Volumen durch den Wilcoxon Rangsummen Test untersucht.

Mit der einfaktoriellen Analyse konnte ein statistisch signifikanter Einfluss auf das absolute Volumen an PAI berechnet werden. Die Entnahmestelle im Ober- bzw. Unterkiefer hatte weder Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF, noch auf das absolute Volumen an PAI-2 und IL-1 $\beta$ . Bei dem absoluten Volumen an PGE2 konnte jedoch ein statistisch signifikanter Einfluss der Entnahmestelle berechnet werden. Die Messwerte lagen im OK zwischen 0 und 408,11 sowie 0 und 413,71 im UK. Der Median lag bei 108,60 im OK und bei 84,16 im UK.

Wir hatten jedoch angenommen, dass die im Unterkiefer dickere Kortikalis<sup>[19]</sup> der Zahnbewegung einen wesentlich höheren Widerstand bietet und somit erhöhte Werte vorliegen. Die erniedrigten Werte hatten wir im Oberkiefer erwartet, dessen Knochenstruktur sich durch einen erhöhten Anteil an Spongiosa auszeichnet, die einen feinen netzförmigen Bau mit Knorpelanteilen zwischen den Knochenbälkchen aufweist<sup>[42]</sup>.

Bei weiteren Untersuchungen konnte somit außer bei PGE2 auf eine getrennte Betrachtung der Messwerte zwischen OK und UK verzichtet werden.

### 4.2.2 Einfluss Geschlecht/GCF

Es wurde der Einfluss des Geschlechts auf das gemessene Volumen durch den Wilcoxon Rangsummen Tests untersucht. Die gemessenen Werte für den Mittelwert an GCF Volumen lagen zwischen 0,2 (Minimum) und 1,4 (Maximum). Der Median der männlichen Patienten lag bei 0,5 und der der Patientinnen bei 0,5.

Mit der einfaktoriellen Analyse konnte ein statistisch signifikanter Einfluss weder auf das absolute Volumen an PAI-2 oder IL-1 $\beta$  noch auf PGE2 berechnet werden. Das Geschlecht hatte keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die gemessenen Volumina an GCF. Bei weiteren Untersuchungen kann somit auf eine Trennung nach dem Geschlecht verzichtet werden.

### 4.2.3 Einfluss der Entnahmeregion (Zahn)

Es wurde der Einfluss der unterschiedlichen Zahnregionen, also Frontzahn (FZ)-, Eckzahn (CAN)-, Prämolaren (PM)- oder Molarengebiet (M) auf das gemessene Volumen mithilfe des Kruskal-Wallis Rangsummen Tests untersucht. Die gemessenen Werte für den Mittelwert an GCF Volumen lagen zwischen 0,1 (FZ, CAN, PM) bzw. 0,2 (M) und 0,8 (FZ), 1,4 (CAN, M) und 1,1 (PM). Der Median lag bei 0,3 (FZ), 0,4 (CAN, PM) und 0,75 (M).

Mit der einfaktoriellen Analyse konnte ein statistisch signifikanter Einfluss der Entnahmeregion weder auf das absolute Volumen an PAI-2, noch auf PGE2 im OK nachgewiesen werden. Möglich war dies jedoch auf den Mittelwert an GCF (s.o.) und das absolute Volumen an IL-1 $\beta$ , als auch an PGE2 im Unterkiefer (UK), wo das Minimum 58,08 (FZ), 27,47 (CAN), 18,97 (PM) und 0 (M) und das Maximum bei 118,33 (FZ), 413,71 (CAN), 243,36 (PM) und 192,64 (M) betrug. Der Median lag bei 85,92 (FZ), 105,44 (CAN), 67,19 (PM) und 63,37 (M). Für IL-1 $\beta$  ergaben sich ein Minimum von 0 und ein Maximum von 164,6 (FZ), 239,9 (CAN), 139,9 (PM) und 289,8 (M). Der Median lag bei 36,65 (FZ), 37 (CAN), 40,1 (PM), 50,2 (M). Die Entnahmeregion übte somit einen statistischen Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF, das absolute Volumen an PGE2 im UK und auf IL-1 $\beta$  aus.

Der Mittelwert der gemessenen Volumina gab einen Hinweis darauf, dass es zu einer erhöhten Speichelflussrate kam, besonders im Bereich des Ausführungsganges der Glandula parotis.

Die erhöhten Werte an PGE2 im Unterkiefer ließen vermuten, dass es während der Zahnbewegung zu einer erhöhten Aktivität im zellulären Bereich kam, da ein erhöhter Reiz nötig ist<sup>[19]</sup>. Dieser führte zu einer stärkeren Entzündung. Die Entzündung verursachte die erhöhten Werte an IL-1 $\beta$  (erhöhte Konzentration in entzündetem Gewebe)<sup>[17,48]</sup>, insbesondere an den Eckzähnen und mehrwurzelige Molaren, die aufgrund der großen Wurzelfläche schwieriger zu bewegen sind. Bei Patienten mit parodontaler Erkrankung wurde gezeigt, dass dieser Anstieg an IL-1 $\beta$  eine Begleiterscheinung aber keine Funktion im Sinne eines klinischen Parameters hat<sup>[13]</sup>.

### 4.2.4 Einfluss Band oder Bracket

Es wurde der Einfluss der unterschiedlichen Komponenten der festsitzenden Apparatur, also Band oder Bracket, auf das gemessene Volumen mithilfe des Wilcoxon Rangsummen Tests untersucht. Die gemessenen Werte für den Mittelwert an GCF Volumen lagen zwischen 0,2 (Band), 0,1 (Bracket) und 1,4 (Band, Bracket). Der Median lag bei 0,7 (Band) und 0,4 (Bracket.)

Mit der einfaktoriellen Analyse konnte ein statistisch signifikanter Einfluss der Entnahmeregion auf das absolute Volumen an PAI-2 nicht berechnet werden. Möglich war dies jedoch auf den Mittelwert an GCF und das absolute Volumen an PGE2 im Ober (OK)- und Unterkiefer (UK) und an IL-1 $\beta$ . Bei PGE2 (OK) betrug das Minimum 0 (Band, Bracket). Das Maximum lag bei 399,67 (Band) und 408,11 (Bracket). Der Median wurde bei 91,03 (Band) und 111,93 (Bracket) gemessen. Bei PGE2 (UK) betrug das Minimum 0 (Band) und 18,97 (Bracket). Das Maximum lag bei 192,64 (Band) und 413,71 (Bracket). Der Median wurde bei 63,37 (Band) und 88,16 (Bracket) berechnet. Bei IL-1 $\beta$  betrug das Minimum 0 (Band, Bracket) und das Maximum 289,8 (Band) und 239,9 (Bracket). Der Median wurde bei 50,95 (Band) und 37,4 (Bracket) berechnet.

Die Auswahl der Komponenten der Multibandapparatur hatte also Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF und das absolute Volumen an PGE2 im Ober- und Unterkiefer und an IL-1 $\beta$ .

Eine Untersuchung des Parodontalzustandes von beklebten oder bebänderten Molaren hat gezeigt, dass während der Behandlung ein erhöhter Entzündungsgrad bei den mit Bändern versehenen Zähnen zu beobachten war. Selbst nach drei Monaten waren die Entzündungszeichen an diesen stärker ausgeprägt<sup>[6]</sup>. Außerdem wird unsere Aussage von einer Studie unterstützt, bei der geringere Sulkussondierungstiefen an mit Bracket beklebten Zähnen gemessen wurden als an bebänderten Zähnen, was parallel durch den Nachweis an erhöhtem Level an IL-1 $\beta$  unterstützt wurde<sup>[41]</sup>.

### 4.2.5 Einfluss Bogenquerschnitt

Es wurde der Einfluss des Bogenquerschnittes der festsitzenden Apparatur, runder Durchmesser (0,014, 0,015, 0,016, 0,018) oder viereckiger Querschnitt (0,016 x 0,016, 0,016 x 0,022, 0,017 x 0,022, 0,017 x 0,025, 0,019 x 0,025), auf das gemessene Volumen durch den Wilcoxon Rangsummen Test untersucht. Die gemessenen Werte für den Mittelwert an GCF Volumen lagen bei den runden Drähten zwischen 0,1 (Minimum) und 1,4 (Maximum) und bei den Kantbögen zwischen 0,1 und 1,3. Die gemessenen Werte für das absolute Volumen an PAI-2 lagen zwischen 0 und 17,51 für die runden und zwischen 0 und 153,38 bei den vierkantigen Bögen; bei PGE2 im OK zwischen 21,46 und 399,67 und im UK zwischen 20,65 und 413,71 bei den runden Bögen und bei den viereckigen Bögen im OK zwischen 0 und 408,11 und im UK zwischen 37,77 und 243,36. Für IL-1 $\beta$  ergaben sich ein Minimum von 0 (Rund-, Kantbögen) und ein Maximum von 193,3 (Rundbögen) und 289,8 (Kantbögen).

Mit der einfaktoriellen Analyse konnte ein statistisch signifikanter Einfluss des Bogenquerschnittes weder auf den Mittelwert an GCF Volumen, das absolute Volumen an PAI-2, an PGE2 im Ober- und Unterkiefer noch an IL-1 $\beta$  errechnet werden.

Dies ließ die Annahme zu, dass die unterschiedliche Friktion und das unterschiedliche Binding von Rund- bzw. Kantbögen nicht durch Veränderungen im untersuchten Bereich der sulkulären Zusammensetzung widerspiegelt wurden.

Auch die unterschiedliche Friktion von Ligaturen (Stahl oder Gummi) wurde nicht durch eine Veränderung im Sulkus unterstrichen. So wurde kein erhöhter Gingivaindex, Plaqueindex oder eine erhöhte Sulkussondierungstiefe festgestellt<sup>[55]</sup>.

### 4.2.6 Einfluss Bogenart

Es wurde der Einfluss der unterschiedlichen Bogenmaterialien, also ob es sich um einen Twistflex-, einen Nickel-Titan (NiTi)- oder einen Stahldraht handelt, auf das gemessene Volumen mithilfe des Wilcoxon Rangsummen Tests untersucht. Die gemessenen Werte für den Mittelwert an GCF Volumen lagen zwi-

schen 0,1 (Twistflex, NiTi, Stahl) und 1,4 (Twistflex), 1,2 (NiTi) und 1,3 (Stahl). Der Median lag bei 0,4 (Twistflex und NiTi) und 0,55 (Stahl).

Mit der einfaktoriellen Analyse konnte kein statistisch signifikanter Einfluss der Bogenart, weder auf das absolute Volumen an PAI-2, an PGE2 im Oberkiefer, noch an IL-1 $\beta$  errechnet werden. Möglich war dies jedoch für das absolute Volumen an PGE2 im Unterkiefer. Hier lag das Minimum bei 25,02 (Twistflex), 27,20 (NiTi), 20,65 (Stahl) und das Maximum bei 181,23 (Twistflex), 413,71 (NiTi), 243,36 (Stahl).

Die Auswahl der Bogenart hatte also Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF und das absolute Volumen an PGE2 im Unterkiefer.

Eine NiTi-Legierung weist ein niedrigeres E-Modul auf. Sie ist also elastischer als Stahl mit einem E-Modul zwischen 180 und 230,

Das Elastizitätsmodul ist die Steigung der Geraden (siehe Abbildung 42: Spannungs/Dehnungs-Diagramm) im linear elastischen Bereich und ist ein Maß für die Steifigkeit des Werkstoffs.

Er wird berechnet aus  $OA/OB$  ( $s/e$ ) und in  $[N/m^2]$  oder  $[Pa]$  angegeben. (Wobei  $k$ ,  $M$  und  $G$  jeweils  $10^3$ ,  $10^6$  bzw.  $10^9$  bedeuten.)

Bei einem Werkstoff, der dem Hookeschen Gesetz gehorcht, können zwei Bereiche erkannt werden (Abbildung 42):

- OP: linear elastisches Verhalten mit Proportionalität von Spannung und Dehnung,
- PX: nichtlinear elastische (plastische) Deformation mit Bruch des Materials bei der Dehnung  $X$  und Maximalspannung  $Y$ .

## Spannungs/Dehnungs-Diagramm

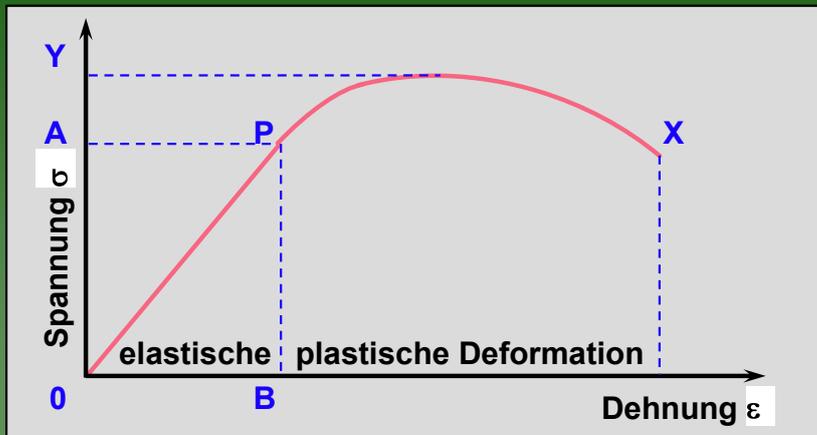


Abbildung 42: Spannungs/Dehnungs-Diagramm

## Vergleich der Elastizität Stahl mit NiTi

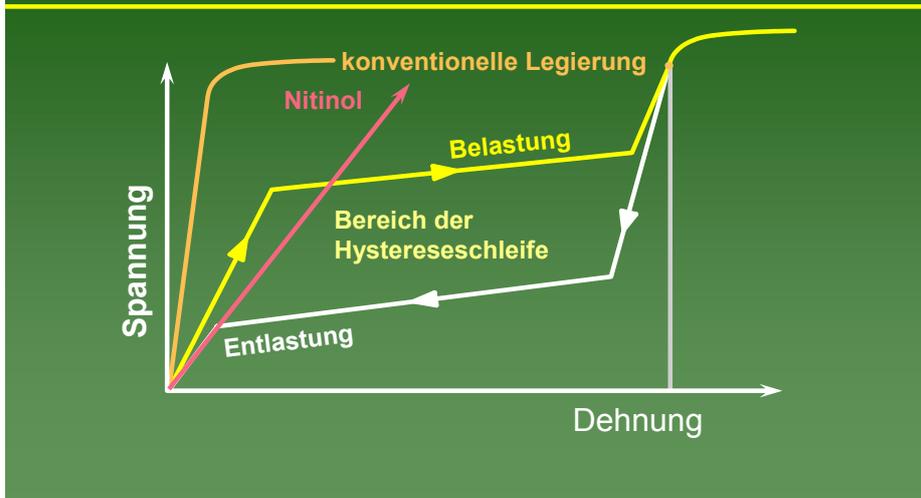


Abbildung 43: Vergleich der Elastizität Stahl mit NiTi

Die höheren Werte für die NiTi-Drähte, die eine maximale Ausprägung des metallurgisch möglichen superelastischen Verhaltens aufweisen, bei dem Mittelwert der gemessenen Volumina lässt sich durch den weit größeren elastischen Arbeitsbereich erklären (siehe Abbildung 43: Vergleich der Elastizität Stahl mit NiTi). Das Kraftsystem der NiTi-Legierung ist also bedingt durch das Belastungsplateau konstant. Bei Entlastung (kieferorthopädischer Anwendung) sind

die Kräfte durch die Hysterese niedriger. Es findet also über einen längeren Zeitraum ein Umbauvorgang im Knochen statt. Dies hat wiederum zur Folge, dass die Gefahr der Hyalinisierung, also der Knochendestruktion deutlich gemindert ist.

### 4.3 Folgerung

Im Ergebnis stellen wir fest, dass bei dem absoluten Volumen an PGE2 ein Einfluss der Entnahmestelle (Ober- versus Unterkiefer) nachgewiesen werden konnte.

Ebenfalls hat sich gezeigt, dass die Entnahmeregion (FZ, CAN, PM, M) einen Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF, das absolute Volumen an PGE2 im UK und an IL-1 $\beta$  hat. Auch die Auswahl der Komponenten der Multibandapparatur (Band oder Bracket) hat Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF und das absolute Volumen an PGE2 im Ober- und Unterkiefer und an IL-1 $\beta$ .

Jedoch kann mit der einfaktoriellen Analyse ein statistisch signifikanter Einfluss des Bogenquerschnittes, also ob rund (0,014, 0,015, 0,016, 0,018) oder vierkant (0,016 x 0,016, 0,016 x 0,022, 0,017 x 0,022, 0,017 x 0,025, 0,019 x 0,025) weder auf den Mittelwert an GCF Volumen, das absolute Volumen an PAI-2, an PGE2 im Ober-, als auch im Unterkiefer noch an IL-1 $\beta$  berechnet werden.

Die Auswahl der Bogenart (Twistflex, NiTi, Stahl) wiederum hat Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF und das absolute Volumen an PGE2 im Unterkiefer.

Die Literaturrecherche mit den Schlagwörtern in Kombination „orthodontic treatment, steel, NiTi, wire, inflammation, cytokine, PGE2, PAI-2; IL1beta, gingival crevicular fluid“ in den gängigen Datenbanken lieferte keine weiteren, als die bereits genannten, für uns verwertbaren Ergebnisse. Es wird darauf hingewiesen, dass es sich bei der Untersuchung um eine Pilotstudie orientierenden Charakters handelt. Weitere Folgeuntersuchungen mit höheren Patientenzahlen sind zur Sicherung und Erweiterung des Ergebnisses notwendig und empfehlenswert.

### 5. Zusammenfassung

Einer erfolgreich abgeschlossenen kieferorthopädischen Behandlung liegt eine Umstrukturierung des Parodontiums, insbesondere des alveolären Knochens zugrunde<sup>[20]</sup>. Wird über einen längeren Zeitraum eine angemessene kieferorthopädische Kraft ausgeübt, setzt im Parodontium ein Entzündungsprozess ein, der über einen Resorptionsvorgang im Knochen im Ergebnis zu einer Bewegung der Zähne führt<sup>[20]</sup>. Die physiologische Zahnbewegung läuft als sterile Entzündung ab<sup>[18]</sup>.

Es gibt eine große Anzahl an Proteinen, die in der gingivalen Sulkusflüssigkeit (GCF) nachgewiesen werden können. Eines der Derivate der Arachnoidsäure-Kaskade (PGE2) wirkt als Vasodilatator, indem es sowohl die vaskuläre Permeabilität und die chemotaktischen Eigenschaften erhöht, als auch die Bildung von Osteoklasten fördert und zu vermehrtem Knochenabbau beiträgt. Eine Kette aus 20 Kohlenstoffatomen mehrfach ungesättigter Fettsäuren, die ein Bestandteil der Phospholipide der Plasmamembran der meisten Zellen sind, wird dabei in Prostaglandine verwandelt<sup>[37,56]</sup>.

IL1 liegt in 2 Formen vor ( $\alpha$  und  $\beta$ <sup>[11]</sup>) wobei IL-1 $\beta$  die Form ist, die hauptsächlich in den Knochenstoffwechsel, Anregung zum Knochenabbau und Verhinderung von Knochenumbau mit eingebunden ist<sup>[17,22,51]</sup>.

Die Aktivität der Plasminogen-Aktivatoren wird von Inhibitoren gelenkt<sup>[2,28]</sup>. Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1) wird hauptsächlich von Endothelzellen und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-2 (PAI-2) von Makrophagen und Fibroblasten gebildet. Xaio et al. waren der Meinung, dass t-PA und PAI-2 möglicherweise eine entscheidende Rolle bei der Zerstörung und Remodellierung von parodontalem Gewebe spielen. Deshalb gelten sie auch als klinische Marker bei einer Parodontopathie und deren Behandlung<sup>[5,59]</sup>.

Die vorliegende klinische Studie, die sich mit den Regulationsmechanismen der Zytokine in der GCF befasst, stellt die Verbindungen zu kieferorthopädischer Behandlung dar. Es wurde sich auf PGE2, IL-1 $\beta$  und PAI-2 als ausgewählte Indikatoren bezogen.

Die Studienpopulation wurde von 25 Probanden gebildet, davon 8 männlich und 17 weiblich. Der Median des Durchschnittsalters lag bei 13 Jahren. Der älteste

Teilnehmer war 32 Jahre und der Jüngste 12 Jahre alt. Alle Teilnehmer der Studie waren Patienten des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde in Tübingen. Um die Konzentrationen der Entzündungsfaktoren bestimmen zu können, wurden zu Beginn und in unterschiedlichen Behandlungsphasen Gingival Crevicular Fluid (GCF) -Proben an festgelegten Zähnen entnommen.

Die photometrische Auswertung mit dem ELISA-Reader lieferte die Konzentrationen der Standards und Proben in den jeweiligen Einheiten. Die Zielgröße der Auswertung war die gemessene Konzentration an Antigen in der vermessenen GCF.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass bei dem absoluten Volumen an PGE2 ein Einfluss der Entnahmestelle (Ober- versus Unterkiefer) nachgewiesen werden konnte.

Ebenfalls zeigte sich, dass die Entnahmeregion Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF, das absolute Volumen an PGE2 im UK und an IL-1 $\beta$  hatte.

Auch die Auswahl der Komponenten der Multibandapparatur (Band oder Bracket) hat Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF und das absolute Volumen an PGE2 im Ober- und Unterkiefer und an IL-1 $\beta$ .

Jedoch konnte mit der einfaktoriellen Analyse ein statistisch signifikanter Einfluss des Bogenquerschnittes (rund oder vierkant verschiedenen Durchmessers) weder auf den Mittelwert an GCF Volumen, das absolute Volumen an PAI-2, an PGE2 noch an IL-1 $\beta$  nachgewiesen werden.

Die Auswahl der Bogenart wiederum hatte Einfluss auf den Mittelwert der gemessenen Volumina an GCF und das absolute Volumen an PGE2 im Unterkiefer.

Die Ergebnisse der Untersuchung zeigten vielfältige Zusammenhänge zwischen kieferorthopädischen Behandlungsabläufen und dadurch bedingten immunologischen Reaktionen im Sulkus. Weitere Folgeuntersuchungen zur detaillierten Analyse auf Basis einer großen Patientenzahl sind notwendig und empfehlenswert.

**6. Literaturverzeichnis**

1. Astedt B. No cross reaction between circulating plasminogen activator and urokinase. *Thrombosis research*. 1989;14:5.
2. Astedt B, Hagerstrand, I. & Lecander, I. Cellular localization in placenta of placental type plasminogen activator inhibitor. *Thrombosis and Haemostasis*. 1986;56:63-65.
3. Bertolini DR, Nedwin GE, Bringman TS, Smith DD, Mundy GR. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Nature*. 1986;319:516-518.
4. Bewick V. CL, Ball J. . One-way analysis of variance. *Crit Care*. 2004;8.
5. Biyikoglu B, Buduneli N, Kardesler L, Aksu K, Oder G, Kutukculer N. Evaluation of t-PA, PAI-2, IL-1beta and PGE(2) in gingival crevicular fluid of rheumatoid arthritis patients with periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2006;33:605-611.
6. Boyd RLBS. Periodontal considerations in the use of bonds or bands on molars in adolescents and adults. *Angle Orthod*. 1992;62:9.
7. Campbell M.J. GMJ. Calculating confidence intervals for some non-parametric analyses. *Br Med J*. 1988;296:4.
8. Dano K, Andreasen PA, Grondahl-Hansen J, Kristensen P, Nielsen LS, Skriver L. Plasminogen activators, tissue degradation, and cancer. *Adv Cancer Res*. 1985;44:139-266.
9. Davidovitch Z, Nicolay OF, Ngan PW, Shanfeld JL. Neurotransmitters, cytokines, and the control of alveolar bone remodeling in orthodontics. *Dent Clin North Am*. 1988;32:411-435.
10. Davidovitch Z, Shanfeld, J. PGE levels in alveolar bone of orthodontically treated cats. *J Dent Res*. 1980;59.
11. Dinarello CA. Interleukin-1. *Dig Dis Sci*. 1988;33:25S-35S.
12. Dinarello CA, Savage N. Interleukin-1 and its receptor. *Crit Rev Immunol*. 1989;9:1-20.
13. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2002;29:48-53.

14. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*. 1971;8:871-874.
15. Garcia-Lopez S, Meikle MC, Villanueva RE, et al. Mechanical deformation inhibits IL-10 and stimulates IL-12 production by mouse calvarial osteoblasts in vitro. *Arch Oral Biol*. 2005;50:449-452.
16. Goldsby RA, Kindt, T.J., Osborne, B.A. & Kuby, J. *Immunology*. 5 ed. New York; 2003.
17. Gowen M, Wood DD, Ihrle EJ, McGuire MK, Russell RG. An interleukin 1 like factor stimulates bone resorption in vitro. *Nature*. 1983;306:378-380.
18. Göz G. Die kieferorthopädische Zahnbewegung: Untersuchungen zur Biologie und Mechanik: Göz, G.; 1987.
19. Göz G. Zahnbewegung. Vol 4: Diederich, P.; 2000:20.
20. Grieve WG, 3rd, Johnson GK, Moore RN, Reinhardt RA, DuBois LM. Prostaglandin E (PGE) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1994;105:369-374.
21. Heath JK, Rees AR. Growth factors in mammalian embryogenesis. *Ciba Found Symp*. 1985;116:3-22.
22. Heath JK, Saklatvala, J., Meikle, M. C., Atkinson, S.J. and Reynolds, J.J. Pig interleukin 1 (catabolin) is a potent stimulator of bone resorption in vitro. *Cacif. Tissue Int*. 1985;37:95-97.
23. Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone*. 1999;25:255-259.
24. Howell TH, Williams RC. Nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of periodontal disease progression. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1993;4:177-196.
25. Kanda-Nakamura C, Izumi Y, Sueda T. Increased expression of interleukin-1 receptors on fibroblasts derived from inflamed gingiva. *J Periodontol*. 1996;67:1267-1273.
26. Kereshanan S, Stephenson, P. and Waddington, R. Identification of dentine sialoprotein in gingival crevicular fluid during physiological root resorption and orthodontic tooth movement. *European Journal of Orthodontics*. 2008;30:8.

27. Kimoto S, Matsuzawa M, Matsubara S, et al. Cytokine secretion of periodontal ligament fibroblasts derived from human deciduous teeth: effect of mechanical stress on the secretion of transforming growth factor-beta 1 and macrophage colony stimulating factor. *J Periodontal Res.* 1999;34:235-243.
28. Kruithof EK, Baker MS, Bunn CL. Biological and clinical aspects of plasminogen activator inhibitor type 2. *Blood.* 1995;86:4007-4024.
29. Kwan Tat S, Padrines M, Theoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004;15:49-60.
30. Lacey DL, Timms E, Tan HL, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 1998;93:165-176.
31. Lachmann S, Kimmerle-Muller E, Axmann D, Gomez-Roman G, Weber H, Haas R. Reliability of findings around healthy implants in association with oral hygiene measures: a clinical, microbiological, and immunological follow-up in edentulous patients. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18:686-698.
32. Lachmann S, Kimmerle-Muller E, Axmann D, Scheideler L, Weber H, Haas R. Associations between peri-implant crevicular fluid volume, concentrations of crevicular inflammatory mediators, and composite IL-1A -889 and IL-1B +3954 genotype. A cross-sectional study on implant recall patients with and without clinical signs of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18:212-223.
33. Lachmann S, Kimmerle-Muller E, Gehring K, et al. A comparison of implant-supported, bar- or ball-retained mandibular overdentures: a retrospective clinical, microbiologic, and immunologic study of 10 edentulous patients attending a recall visit. *Int J Prosthodont.* 2007;20:37-42.
34. Le J, Vilcek J. Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest.* 1987;56:234-248.
35. Lo YJ, Liu CM, Wong MY, Hou LT, Chang WK. Interleukin 1beta-secreting cells in inflamed gingival tissue of adult periodontitis patients. *Cytokine.* 1999;11:626-633.
36. Meager A. Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1999;10:27-39.
37. Mitchell JA, Larkin S, Williams TJ. Cyclooxygenase-2: regulation and relevance in inflammation. *Biochem Pharmacol.* 1995;50:1535-1542.

38. Mundy GR. Cytokines and local factors which affect osteoclast function. *Int J Cell Cloning*. 1992;10:215-222.
39. Ngan PW, Crock B, Varghese J, Lanese R, Shanfeld J, Davidovitch Z. Immunohistochemical assessment of the effect of chemical and mechanical stimuli on cAMP and prostaglandin E levels in human gingival fibroblasts in vitro. *Arch Oral Biol*. 1988;33:163-174.
40. Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol*. 1993;64:432-444.
41. Paschos E, Limbach M, Teichmann M, et al. Orthodontic attachments and chlorhexidine-containing varnish effects on gingival health. *Angle Orthod*. 2008;78:908-916.
42. Rakosi TJ, I. Wachstum des Gesichtsschädels, chondrale Ossifikation Vol 1: Rateitschak, Klaus H.; 1989:10- 13.
43. Ren Y, Maltha JC, Van't Hof MA, Von Den Hoff JW, Kuijpers-Jagtman AM, Zhang D. Cytokine levels in crevicular fluid are less responsive to orthodontic force in adults than in juveniles. *J Clin Periodontol*. 2002;29:757-762.
44. Ren Y, Vissink A. Cytokines in crevicular fluid and orthodontic tooth movement. *Eur J Oral Sci*. 2008;116:89-97.
45. Renart J, Reiser J, Stark GR. Transfer of proteins from gels to diazobenzoyloxymethyl-paper and detection with antisera: a method for studying antibody specificity and antigen structure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1979;76:3116-3120.
46. Rosner B. GRJ, Lee M.L. The Wilcoxon signed rank test for paired comparison of clustered data. *Biometrics*. 2006;62:8.
47. Rubin J, Ackert-Bicknell CL, Zhu L, et al. IGF-I regulates osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in vitro and OPG in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:4273-4279.
48. Saito M, Saito S, Ngan PW, Shanfeld J, Davidovitch Z. Interleukin 1 beta and prostaglandin E are involved in the response of periodontal cells to mechanical stress in vivo and in vitro. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1991;99:226-240.
49. Saksela O. Plasminogen activation and regulation of pericellular proteolysis. *Biochim Biophys Acta*. 1985;823:35-65.

50. Shimizu N, Ogura N, Yamaguchi M, et al. Stimulation by interleukin-1 of interleukin-6 production by human periodontal ligament cells. *Arch Oral Biol.* 1992;37:743-748.
51. Stashenko P, Obernesser MS, Dewhirst FE. Effect of immune cytokines on bone. *Immunol Invest.* 1989;18:239-249.
52. Stylianou E, Saklatvala J. Interleukin-1. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998;30:1075-1079.
53. Takeichi O, Saito I, Tsurumachi T, Moro I, Saito T. Expression of inflammatory cytokine genes in vivo by human alveolar bone-derived polymorphonuclear leukocytes isolated from chronically inflamed sites of bone resorption. *Calcif Tissue Int.* 1996;58:244-248.
54. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979;76:4350-4354.
55. Turkkahraman H, Sayin MO, Bozkurt FY, Yetkin Z, Kaya S, Onal S. Archwire ligation techniques, microbial colonization, and periodontal status in orthodontically treated patients. *Angle Orthod.* 2005;75:231-236.
56. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1998;38:97-120.
57. Whitley E. BJ. Comparison of means. *Crit Care.* 2002;6.
58. Whitley E. BJ. Nonparametric methods. *Crit Care.* 2002;6:5.
59. Xiao Y, Bunn, C. L.& Bartold, P. M. Detection of tissue plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor 2 (PAI-2) in gingival crevicular fluid from healthy, gingivitis and periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology.* 2000;27:149-156.
60. Yakovlev E, Kalichman I, Pisanti S, Shoshan S, Barak V. Levels of cytokines and collagen type I and type III as a function of age in human gingivitis. *J Periodontol.* 1996;67:788-793.
61. Yamaguchi M, Kasai K. Inflammation in periodontal tissues in response to mechanical forces. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2005;53:388-398.
62. Yeh CK, Rodan GA. Tensile forces enhance prostaglandin E synthesis in osteoblastic cells grown on collagen ribbons. *Calcif Tissue Int.* 1984;36 Suppl 1:S67-71.

**7. Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Verteilung der Studienpopulation nach dem Geschlecht [%]. ..... 8  
 Abbildung 2: Verteilung der Studienpopulation nach dem Alter [Jahren]. ..... 9  
 Abbildung 3: Periotronmesswerte im Serum. .... 13  
 Abbildung 4: Verteilung der Proben nach ihren Entnahmestellen. .... 14  
 Abbildung 5: Periopaper..... 15  
 Abbildung 6: Platte mit 96 wells nach Zugabe von Stopplösung..... 16  
 Abbildung 7: Sandwich ELISA ..... 17  
 Abbildung 8: Mittelwert an GCF Vol.[ $\mu$ l] ..... 32  
 Abbildung 9: Abs. Vol. an PAI-2/ml GCF [ $\mu$ g] ..... 34  
 Abbildung 10: Abs. Vol an PGE2 [ng]..... 35  
 Abbildung 11: Abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]..... 36  
 Abbildung 12: Einfl. d. Entnahmestelle auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l] ..... 37  
 Abbildung 13: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g] ..... 38  
 Abbildung 14: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] ..... 39  
 Abbildung 15: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng] ..... 40  
 Abbildung 16: Einfluss des Geschlechts auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l]..... 41  
 Abbildung 17: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g] ..... 42  
 Abbildung 18: Einfluss: Geschlecht auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK) ..... 43  
 Abbildung 19: Einfluss: Geschlecht auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK)..... 44  
 Abbildung 20: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]..... 45  
 Abbildung 21: Einfluss d. Entnahmeregion auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l] 46  
 Abbildung 22: Einfluss der Entnahmeregion auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g]..... 47  
 Abbildung 23: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK) 48  
 Abbildung 24: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK) 49  
 Abbildung 25: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng]..... 50  
 Abbildung 26: Einfluss d. Art d. Attachments auf d. Mittelwert an GCF Vol.[ $\mu$ l] 51  
 Abbildung 27: Einfluss d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g]..... 52  
 Abbildung 28: Einfl. d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK) .53  
 Abbildung 29: Einfl. d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK) .54  
 Abbildung 30: Einfluss d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng] ..... 55  
 Abbildung 31: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l] .... 56  
 Abbildung 32: Einfluss d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g] ..... 57  
 Abbildung 33: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK).58  
 Abbildung 34: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK) .59  
 Abbildung 35: Einfluss d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$  [ng] ..... 60  
 Abbildung 36: Einfluss d. Bogenart auf d. Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l] ..... 61  
 Abbildung 37: Einfluss der Bogenart auf das abs. Vol. an PAI-2/ml GCF [ $\mu$ g] ..62  
 Abbildung 38: Einfl. d. Bogenart auf d. abs. Vol. an PGE2/ml GCF [ng](OK).... 63  
 Abbildung 39: Einfluss d. Bogenart auf d. abs. Vol. an PGE2/ml GCF [ng] UK.64  
 Abbildung 40: Einfluss d. Bogenart auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$ /ml GCF [ng] ..... 65  
 Abbildung 41: Western Blot ..... 66  
 Abbildung 42: Spannungs/Dehnungs-Diagramm..... 73  
 Abbildung 43: Vergleich der Elastizität Stahl mit NiTi ..... 73

## 8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verteilung der Studienpopulation nach dem Geschlecht. ....	8
Tabelle 2: Verteilung der Studienpopulation nach dem Alter [Jahren]. ....	9
Tabelle 3: Verteilung der Proben nach ihren Entnahmestellen. ....	14
Tabelle 4: Pipettiervorgang PGE2. ....	20
Tabelle 5: Pipettiervorgang IL-1 $\beta$ . ....	23
Tabelle 6: Pipettiervorgang PAI-2. ....	26
Tabelle 7: Definition der Variablen. ....	30
Tabelle 8: Definition weiterer Variablen. ....	31
Tabelle 9: Mittelwert an GCF Vol.[ $\mu$ l] ....	33
Tabelle 10: Abs. Vol. an PAI-2/ml GCF [ $\mu$ g] ....	34
Tabelle 11: Abs. Vol an PGE2 [ng] ....	35
Tabelle 12: Abs. Vol. an IL-1 $\beta$ [ng] ....	36
Tabelle 13: Einfl. d. Entnahmestelle auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l] ....	37
Tabelle 14: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g] ....	38
Tabelle 15: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] ....	39
Tabelle 16: Einfl. d. Entnahmestelle auf das abs. Vol. an IL-1 $\beta$ [ng] ....	40
Tabelle 17: Einfluss des Geschlechts auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l] ....	41
Tabelle 18: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g] ....	42
Tabelle 19: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK) ....	43
Tabelle 20: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK) ....	44
Tabelle 21: Einfluss des Geschlechts auf das abs. Vol. an IL-1 $\beta$ [ng] ....	45
Tabelle 22: Einfluss der Entnahmeregion auf den Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l] ..	46
Tabelle 23: Einfluss der Entnahmeregion auf das abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g] ....	47
Tabelle 24: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK) ....	48
Tabelle 25: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK) ....	49
Tabelle 26: Einfluss d. Entnahmeregion auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$ [ng] ....	50
Tabelle 27: Einfluss d. Art des Attachments auf d. Mittelwert an GCF Vol.[ $\mu$ l] ..	51
Tabelle 28: Einfluss d. Art des Attachments auf d. abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g] ....	52
Tabelle 29: Einfl. d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK) ....	53
Tabelle 30: Einfl. d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK) ....	54
Tabelle 31: Einfluss d. Art d. Attachments auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$ [ng] ....	55
Tabelle 32: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l] ....	56
Tabelle 33: Einfluss d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PAI-2 [ $\mu$ g] ....	57
Tabelle 34: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (OK) ....	58
Tabelle 35: Einfl. d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an PGE2 [ng] (UK) ....	59
Tabelle 36: Einfluss d. Bogenquerschnitte auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$ [ng] ....	60
Tabelle 37: Einfluss d. Bogenart auf d. Mittelwert an GCF Vol. [ $\mu$ l] ....	61
Tabelle 38: Einfluss der Bogenart auf das abs. Vol. an PAI-2/ml GCF [ $\mu$ g] ....	62
Tabelle 39: Einfl. d. Bogenart auf d. abs. Vol. an PGE2/ml GCF [ng] (OK) ....	63
Tabelle 40: Einfluss d. Bogenart auf d. abs. Vol. an PGE2/ml GCF [ng] (UK) ..	64
Tabelle 41: Einfluss d. Bogenart auf d. abs. Vol. an IL-1 $\beta$ /ml GCF [ng] ....	65

## 9. Anhang

### 9.1 Probandeninformation

Poliklinik für Kieferorthopädie  
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Osianderstr. 2-8, 72076 Tübingen  
Tel.: +49 7071 29 80961



#### Informationen zu der Untersuchungsteilnahme

Wissenschaftliche Untersuchung:  
„Immunologische Reaktionen im Sulkus  
während kieferorthopädisch festsitzender Behandlung“

Mit dieser Untersuchung soll im Rahmen der üblichen kieferorthopädischen Behandlung anhand von Speichelproben untersucht werden, ob und in welchen Konzentrationen sich drei Botenstoffe des Immunsystems während einer kieferorthopädischen Zahnbe-  
wegung zu verschiedenen Zeitpunkten nachweisen lassen. Die Untersuchung erfolgt in Kooperation mit der prothetischen Abteilung der Tübinger Zahnklinik, die auf dem Ge-  
biet dieser Untersuchungen bei Patienten mit Zahnimplantaten langjährige Erfahrung aufweist.

Es sollen bei 40 Patienten während ihrer kieferorthopädischen Behandlung zu mehre-  
ren Zeitpunkten im Rahmen der Behandlungstermine Speichelflüssigkeitsproben mit  
Löschpapierstreifen an einem Zahn entnommen werden. Die Proben werden im haus-  
eigenen Labor analysiert.

Für die Patienten entsteht zu keinem Zeitpunkt eine zusätzliche gesundheitliche Belas-  
tung.

Es ist vorgesehen, die Werte der Speichelflüssigkeitsmenge und die Messwerte der drei  
Botenstoffe mittels einer beschreibenden Auswertung im zeitlichen Verlauf für jeden  
einzelnen Patienten darzustellen und auszuwerten.

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Die Teilnahme kann jederzeit, ohne Angabe  
von Gründen, beendet werden. Dies hat keinen Einfluss auf die weitere Behandlung.

Bei weiteren Fragen steht der Studienleiter gerne zur Verfügung.

## 9.2 Einverständniserklärung

Poliklinik für Kieferorthopädie  
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Osianderstr. 2-8, 72076 Tübingen  
Tel.: +49 7071 29 80961



### Information zum Datenschutz und Einwilligungserklärung zur Untersuchungsteilnahme

Wissenschaftliche Untersuchung:

„Immunologische Reaktionen im Sulkus  
während kieferorthopädisch festsitzender Behandlung“

Ihre im Rahmen der wissenschaftlichen Untersuchung erhobenen Daten werden vertraulich behandelt und ausschließlich in verschlüsselter Form weitergegeben. Die Daten werden in verschlüsselter Form (es können also keine Rückschlüsse auf Sie oder ihren Namen möglich, Fotografien werden unkenntlich gemacht) in einen gesonderten Dokumentationsbogen eingetragen.

Die Zuordnung der verschlüsselten Daten zu Ihrer Person ist nur anhand einer Teilnehmerliste möglich, die verschlossen und getrennt von den Studienunterlagen aufbewahrt wird und nur dem Studienleiter zugänglich ist. Nach drei Jahren wird diese Teilnehmerliste sachgerecht vernichtet. Bei Abbruch der Studie werden die gesamten Daten sachgerecht vernichtet.

### Einwilligungserklärung

**Ich nehme an der Untersuchung teil. Ich erkläre mich mit der Verwendung der im Rahmen der Untersuchung erhobenen Daten in der oben beschriebenen Weise einverstanden. Ich kann jeder Zeit meine Daten beim Studienleiter einsehen. Ich wurde in einem Gespräch aufgeklärt und alle meine Fragen wurden zu meiner Zufriedenheit beantwortet. Eine Kopie des Informationsblattes wurde mir ausgehändigt.**

**Ich weiß, dass ich jederzeit das Recht habe, ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile für die weitere Behandlung, von der Teilnahme an der Studie zurück zu treten. Sollte ich von der Studie zurücktreten, kann ich entscheiden, ob die bereits vorliegenden Daten vernichtet werden müssen oder weiterverwendet werden dürfen.**

_____ Tübingen, den	_____ Unterschrift	_____ Name des Teilnehmers/der Teilnehmerin in Blockschrift
------------------------	-----------------------	--

_____ Tübingen, den	_____ Unterschrift	_____ Name des/der Erziehungsberechtigten in Blockschrift
------------------------	-----------------------	--

_____ Tübingen, den	_____ Unterschrift	_____ Name des Prüfarztes
------------------------	-----------------------	------------------------------

### **10. Danksagung**

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dr. G. R. Göz für die freundliche Überlassung des sehr interessanten und umfassenden Themas, sowie für seine Unterstützung während der Promotionsphase.

Mein besonders herzlicher Dank gilt Herrn Dr. S. Lachmann und Dr. B. Koos für ihre hervorragende Betreuung während der gesamten Zeit. Insbesondere in der Phase der Planung, sowie während der Auswertung und deren statistischer Betrachtung, standen sie in vielen umfangreichen Gesprächen immer konstruktiv kritisch und sehr hilfreich zur Seite.

Ich bedanke mich bei Herrn Dr. D. Axmann und Frau E. Kimmerle für ihre Hilfe bei der Strukturierung der gewonnenen Daten und deren statistischer Auswertung.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen Patienten, die an den Untersuchungen teilgenommen haben.

Einen besonderen Dank an meine Eltern für ihre Unterstützung während der gesamten Zeit, die diese Dissertation in Anspruch genommen hat. Abschließend danke ich Herrn Dr. M. Möller und Thomas Baetz, die mir hilfreich zur Seite standen.

## **11. Lebenslauf**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf an dieser Stelle nicht veröffentlicht