



Dartsch Scientific GmbH · Oskar-von-Miller-Str. 10 · D-86956 Schongau

Firma
Multikraft Produktions- und HandelsgmbH
Sulzbach 17

A-4632 Pichl/Wels

Dartsch Scientific GmbH
Institut für zellbiologische Testsysteme
Oskar-von-Miller-Straße 10
D-86956 Schongau

Fon +49 (0) 8861 256-5250
Fax +49 (0) 8861 256-7162
E-Mail info@dartsch-scientific.com
Internet www.dartsch-scientific.com

18. April 2010

– Testbericht und Fachinformation –

Tierversuchsfreie zellbiologische Untersuchungen zu förderlichen Wirkeffekten der BIOEMSAN Zahncreme, homöopathieverträglich

1 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Mit tierversuchsfreien zellbiologischen Testmethoden wurde das Testmuster AT-N-01-BIO, Charge 00249, der BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich untersucht. Die Untersuchungsergebnisse zeigen, dass die Zahncreme dosisabhängig den Energiestoffwechsel von Bindegewebsfibroblasten um das 2fache im Bereich der berechneten Zahncremekonzentration im Mund beim Zähneputzen (= 5-10 mg/ml) stimuliert. Damit besitzt BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich ein ausgeprägtes Potenzial zur Zellregeneration und –vitalisierung.

Während die antioxidative Wirkung gegenüber exogenen freien Sauerstoffradikalen im zellfreien Test kaum ausgeprägt ist, werden die endogen gebildeten Radikale im Bereich der berechneten Zahncremekonzentration im Mund beim Zähneputzen (= 5-10 mg/ml) um knapp 40% gehemmt.

Zusammengefasst steht bei der getesteten BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich die zellregenerative und –vitalisierende Wirkung (z.B. auch bei Wundheilungsprozessen) im Vordergrund, welche durch das Potenzial zur Inaktivierung von endogen gebildeten Sauerstoffradikalen ergänzt wird.

Schongau, den 18. April 2010

Prof. Dr. Peter C. Dartsch

BIOEMSAN Zahncreme hom. Testbericht

2 *Eigenschaften der BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich*

Von Dr. med. dent. Gerhard Schneider praxiserprobt und empfohlen.

„Die homöopathieverträgliche bioemsan Zahncreme bietet Ihnen eine gesunde Alternative zu herkömmlichen Zahncremen. Spearminze und natürliches Blattgrün sind die zwei besonderen Zutaten, die der bioemsan Zahncreme ihre Homöopathieverträglichkeit verleihen. Die Putzkörper der bioemsan Zahncreme sind absolut zahnschmelzschonend bei gleichzeitig guter Reinigungswirkung. Basis hierfür bildet feinst vermahlendes Calciumcarbonat, das in der Natur als Kreide oder Marmor vorkommt. Kreide, in gefällter Form, hat eine zahnschmelzschonende, geringe Abrasivität – zudem besitzt sie den Vorteil eines basischen pH-Wertes, was wiederum eine gesunde Mundflora zur Folge hat. Als weiterer natürlicher Putzkörper dient mineralstoffreiche gelbe Tonerde – ebenfalls basisch. Natürlich frischen Geschmack gibt die Spearminze.“

Inhaltsstoffe: Kreide, Sorbit, belebtes Wasser und Manju, pflanzliches Glycerin*, biologischer Weingeist*, Keramikpulver, Rizinusöl*, Xanthan, gelbe Tonerde, Aloe Vera Gel*, Zuckertensid, Manju Meersalz, Stevia-Extrakt*, natürliches Blattgrün; Kräuterextrakte*: Myrrhe*, Neemrinde*, Ratanhiawurzel*, Propolis-Extrakt*, Salbei*; Mischung ätherischer Öle*: Eugenol**, Limonene**.

* = aus kontrolliert biologischem Anbau – ** = als Bestandteil natürlicher ätherischer Öle

3 *Testmuster und Testkonzentrationen*

Um in den hier durchgeführten tierversuchsfreien zellbiologischen Untersuchungen mit verschiedenen Testsystemen die Testkonzentration der BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich (Testmuster AT-N-01-BIO, Charge 00249) abschätzen zu können, wurde von der folgenden Überlegung ausgegangen: Für das Zahneputzen werden ca. 0,25 g Zahnpasta verwendet, die sich auf 25-50 ml Speichel und Spülflüssigkeit im Mund verteilen. Damit ergibt sich eine Konzentration von 5-10 mg/ml. Die Untersuchungen wurden im Konzentrationsbereich zwischen 0 und 20 mg/ml durchgeführt. Dabei bezeichnet die Konzentration „0“ die unbehandelte Kontrolle.

4 *Fragestellungen der durchgeführten Untersuchungen*

- 4.1 Kann durch BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich der Energiestoffwechsel von Bindegewebszellen stimuliert und so eine Zellregeneration bzw. – vitalisierung gefördert werden?
- 4.2 Kann die Zahncreme exogene reaktive Sauerstoffradikale inaktivieren und somit einer Schädigung der epithelialen Mundhöhlenauskleidung oder des Zahnfleisches durch oxidativen Stress von außen (z.B. Nahrung) vorbeugen?

BIOEMSAN Zahncreme hom. Testbericht

4.3 Kann die Zahncreme endogene, d.h. durch ein Ungleichgewicht im Zellstoffwechsel gebildete überschüssige Sauerstoffradikale inaktivieren? Ein solcher lokaler Radikalüberschuss kann beispielsweise bei Entzündungsprozessen durch die aus dem Blut eingewanderten neutrophilen Granulozyten gebildet werden.

5 **Versuchsbeschreibung und Ergebnisse**

5.1 **Wirkung der BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich auf den Energiestoffwechsel von Bindegewebsfibroblasten**

Zellregenerative Vorgänge oder Wundheilungsprozesse sind u.a. durch eine zeitweilige Erhöhung des Energiestoffwechsels der beteiligten Zellen charakterisiert. Ist ein Wirkstoff / Wirkstoffgemisch in der Lage, den zellulären Energiestoffwechsel zu stimulieren, so kann daraus gefolgert werden, dass dieser Wirkstoff auch die Zellregeneration und Zellvitalität fördern kann.

Für diese Untersuchung wurden Bindegewebsfibroblasten (Zelllinie L-929, DSMZ) in einer Dichte von 20.000 Zellen/Vertiefung in 96-Loch-Platten ausgesät. Nach 48 Stunden, welche die Zellen zur Adhäsion und zur Normalisierung ihres Stoffwechsels brauchen, wurden sie durch die Zugabe von Phosphatpuffer mit 5 mM Glucose stimuliert. Der Energiestoffwechsel mit seinen verschiedenen Redoxprozessen führt dabei zu einer Farbstoffspaltung und damit auch einer Änderung der optischen Dichte des ebenfalls zum Ansatz zugegebenen wasserlöslichen Tetrazoliumfarbstoffes WST-1 (Roche Diagnostics, Mannheim). Dessen optische Dichte wurde als Differenzmessung $\Delta OD = 450 - 690 \text{ nm}$ kontinuierlich für 180 min aufgezeichnet und nach linearer Regression der erhaltenen Kurvenzüge in Form der Steigung (30-90 min) in mOD/min ausgewertet.

Ergebnis (Abb. 1): Dosisabhängige Stimulierung des Energiestoffwechsels der Bindegewebsfibroblasten durch die BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich. Der maximale förderliche Effekt liegt im Bereich der berechneten Zahncremekonzentration von 5-10 mg/ml im Mund beim Zähneputzen bei einer mehr als 2fach höheren Stimulation im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Höhere Konzentrationen der Zahncreme führen nicht zu einer weiteren Wirkungssteigerung. Durch diese stimulierende Wirkung kann es nach Wirkstoffaufnahme in der Mundhöhle zu einer verbesserten Zellregeneration und -vitalität in vivo kommen.

5.2 **Antioxidative Wirkung der BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich**

Ohne Sauerstoff können wir nicht leben, aber Sauerstoff in Form von hochreaktiven freien Sauerstoffradikalen (ROS = reactive oxygen species) kann pathophysiologische Veränderungen bewirken und auch den vorzeitigen Alterungsprozess fördern.

BIOEMSAN Zahncreme hom. Testbericht

Freie Radikale werden als natürliche Stoffwechselprodukte permanent in unserem Körper produziert und erfüllen grundsätzlich lebenswichtige Aufgaben. Zudem stehen sie in einem ständigen Gleichgewicht mit den regulierenden natürlichen Entgiftungsmechanismen wie die Enzyme Glutathion, Katalase und Superoxid-Dismutase. Umweltbelastungen, Ernährungsmängel, körperlicher oder seelischer Stress, aber auch Medikamente, Verletzungen und Entzündungen können zu einer unkontrollierten Überproduktion freier Radikale führen. Die Selbstregulation durch den Körper ist gestört.

Übersteigt die Bildung freier Radikale deren körpereigene Entgiftung, so spricht man von „oxidativem Stress“. Die schnell und aggressiv wirkenden freien Radikale stören und zerstören wichtige Funktionen und Strukturen im Körper; sie können oxidative Veränderungen verursachen und damit Schädigungen aller wichtigen Biomoleküle wie Nukleinsäuren (DNA und RNA), Proteine, Lipide und Kohlenhydrate.

5.2.1 Antioxidative Wirkung im zellfreien Testsystem bei Einwirkung freier Radikale von außen (exogene Sauerstoffradikale)

In diesem zellfreien Testsystem wurde ohne die Verwendung von Zellen im Testansatz überprüft, ob verschiedene Konzentrationen der Testsubstanz in der Lage sind, freie Sauerstoffradikale zu inaktivieren. Für die Untersuchung wurden die verschiedenen Konzentrationen der Zahncreme in Aqua dest. vorgelegt und dazu eine Lösung von Kaliumsuperoxid in Aqua dest. (1 mg/ml; Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen) pipettiert.

Die nicht durch den Wirkstoff inaktivierten und damit noch aggressiven und reaktionsfreudigen Radikale führen dabei zu einer Spaltung und damit auch einer Änderung der optischen Dichte des ebenfalls zum Ansatz zugegebenen wasserlöslichen Tetrazoliumfarbstoffes WST-1 (Roche Diagnostics, Mannheim). Dessen optische Dichte wurde als Differenzmessung $\Delta OD = 450 - 690 \text{ nm}$ kontinuierlich aufgezeichnet und nach linearer Regression der erhaltenen Kurvenzüge in Form der Steigung (Zeitintervall 0-10 min) in mOD/min ausgewertet. Die erhaltenen Ergebnisse wurden dann als Relativwerte im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle dargestellt und gegen die Konzentration aufgetragen.

Ergebnis (Abb. 2): Hier zeigte die BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich keine antioxidative Wirkung. Bei keiner Testkonzentration wurden die zugesetzten Sauerstoffradikale inaktiviert.

BIOEMSAN Zahncreme hom. Testbericht

5.2.2 Antioxidative Wirkung im zellbasierten Testsystem bei einem Überangebot körpereigener (endogener) Sauerstoffradikale

Zunächst wurden humane Promyelozyten (Zelllinie HL60, ECACC 98070106) als permanente Zelllinie in Routinekultur durch sechstägige Behandlung mit Dimethylsulfoxid zu sog. funktionalen Neutrophilen differenziert. Dies sind Zellen, welche die Eigenschaften von phagozytierenden und entzündungsvermittelnden Zellen (neutrophile Granulozyten) im Blut besitzen.

Diese differenzierten Zellen wurden durch Zugabe eines Phorbolesters (Phorbol-12-myristat-13-acetat; Sigma-Chemie, Taufkirchen) dazu angeregt, Superoxidanion-Radikale zu bilden. Die Radikale führen zu einer Spaltung des ebenfalls dem Versuchsansatz zugesetzten Tetrazoliumfarbstoffes WST-1. Dabei ist die Menge der gebildeten Sauerstoffradikale direkt proportional zur Farbstoffspaltung, d.h. je mehr reaktive Radikale vorhanden sind, desto stärker ist die Farbstoffspaltung und damit auch die Änderung der optischen Dichte. Werden die von den Zellen gebildeten Radikale durch den Wirkstoff inaktiviert, so verändert sich die optische Dichte weniger stark. Es wurde die optische Dichte als Differenzmessung $\Delta OD = 450 - 690 \text{ nm}$ kontinuierlich aufgezeichnet und nach linearer Regression der erhaltenen Kurvenzüge in Form der Steigung (Zeitintervall 10-30 min) in mOD/min ausgewertet. Die erhaltenen Ergebnisse wurden dann als Relativwerte im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle dargestellt und gegen die Konzentration aufgetragen.

Ergebnis (Abb. 3): Es wurde eine dosisabhängige Inaktivierung der endogen gebildeten Sauerstoffradikale festgestellt. Die maximale Inaktivierung von annähernd 60% lag bei der höchsten getesteten Konzentration von 20 mg/ml. Für eine Testkonzentration von 5-10 mg/ml, welche der Zahncremekonzentration im Mund beim Zähneputzen entspricht, lag die Inaktivierung der endogenen Sauerstoffradikale bei 35%. Durch diese Inaktivierung kann die Bildung von lokal im entzündeten Gewebe auftretenden reaktiven Sauerstoffradikalen deutlich reduziert werden.

BIOEMSAN Zahncreme hom. Testbericht

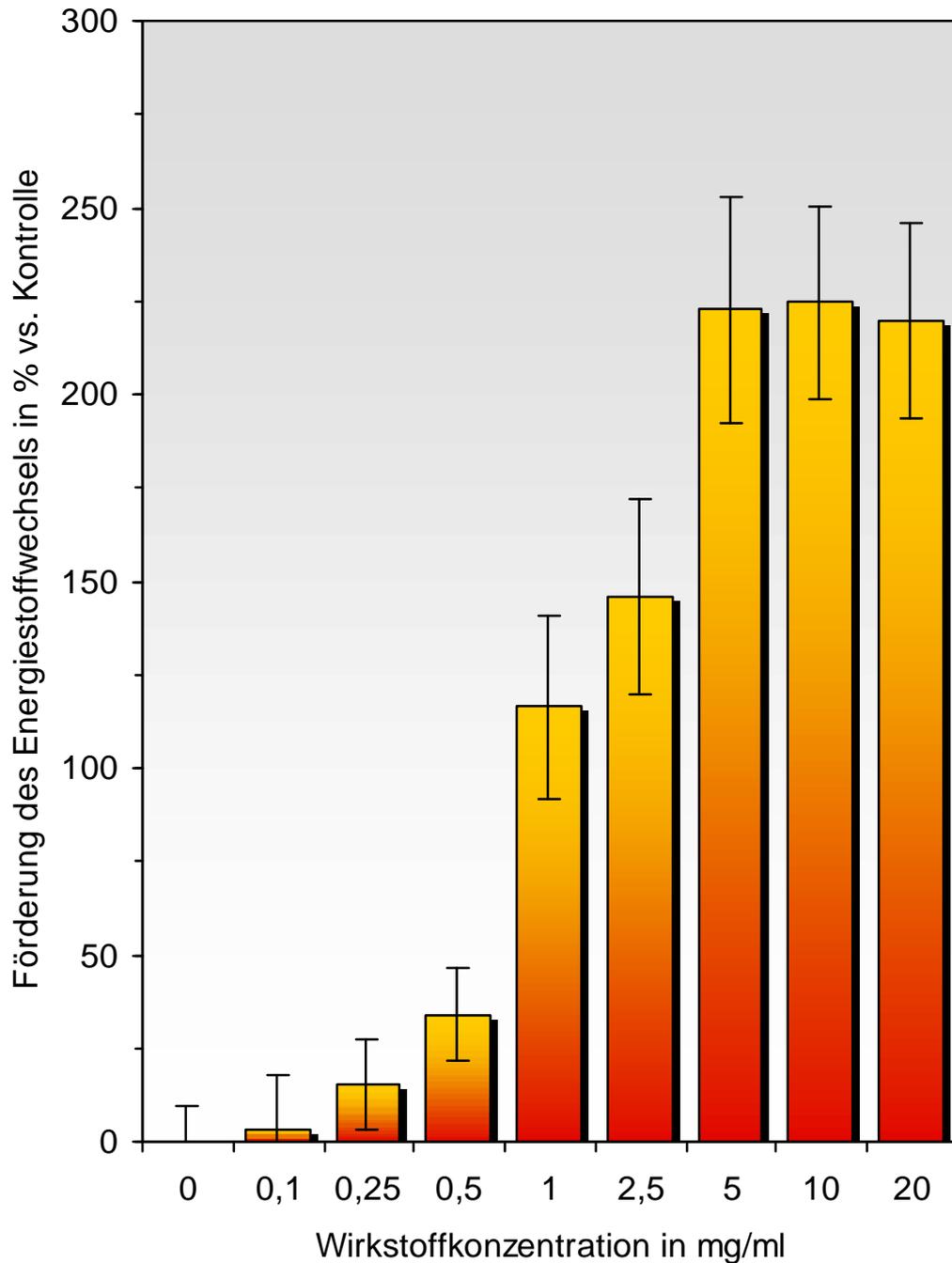


Abb. 1: Dosisabhängige Stimulierung des Energiestoffwechsels von Bindegewebsfibroblasten durch BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich. Der maximale förderliche Effekt liegt im Bereich der berechneten Zahncremekonzentration von 5-10 mg/ml im Mund beim Zähneputzen bei einer mehr als 2fach höheren Stimulation im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Durch diese stimulierende Wirkung kann es nach Wirkstoffaufnahme in der Mundhöhle ebenfalls zu einer verbesserten Zellregeneration und -vitalität in vivo kommen. Angegeben ist der Mittelwert \pm Standardabweichung aus jeweils drei Messungen ($n = 3$).

BIOEMSAN Zahncreme hom. Testbericht

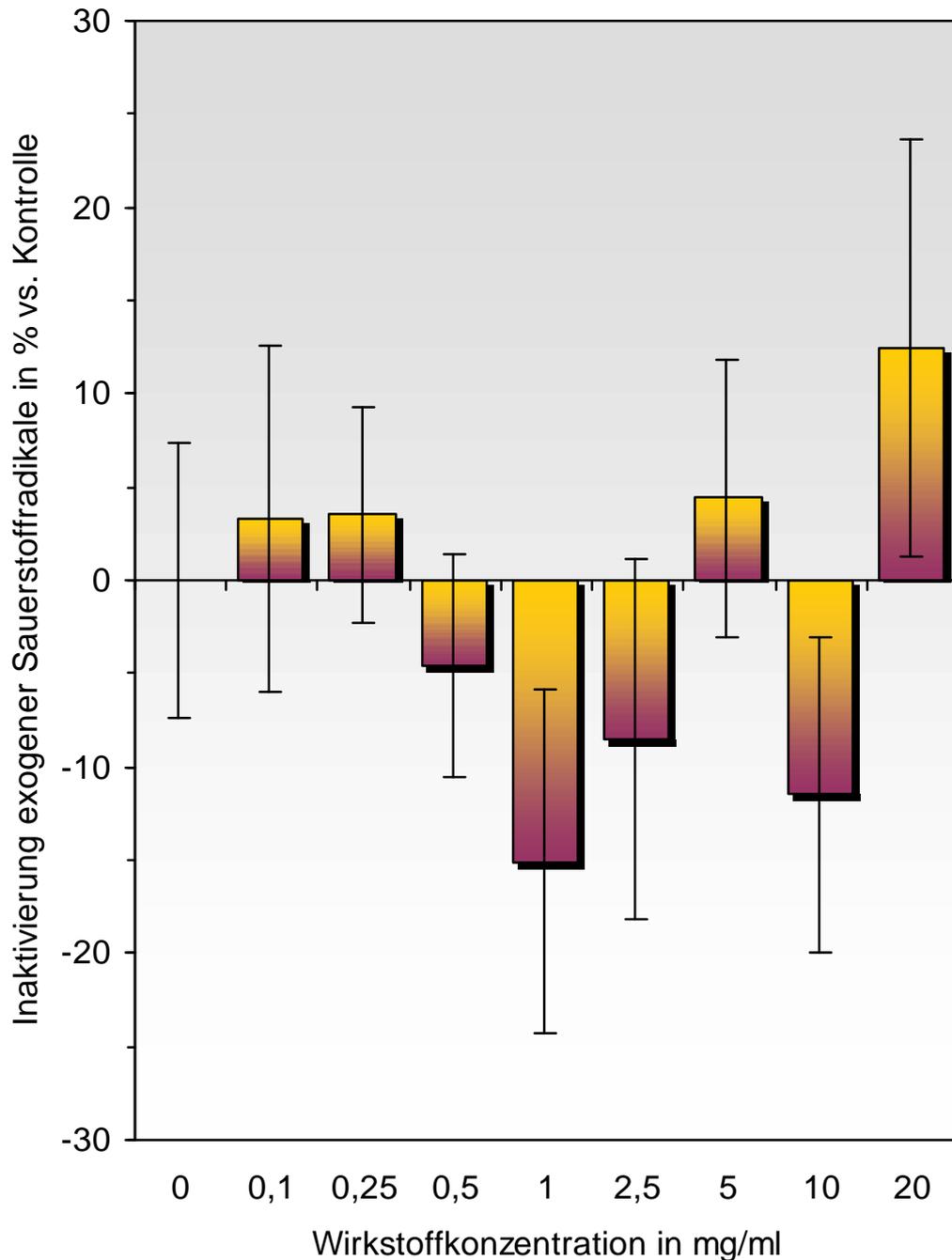


Abb. 2: Keine antioxidative Wirkung von BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich, d.h. keine Inaktivierung freier exogener Sauerstoffradikale im zellfreien Test. Angegeben ist der Mittelwert \pm Standardabweichung aus jeweils drei Messungen ($n = 3$).

BIOEMSAN Zahncreme hom. Testbericht

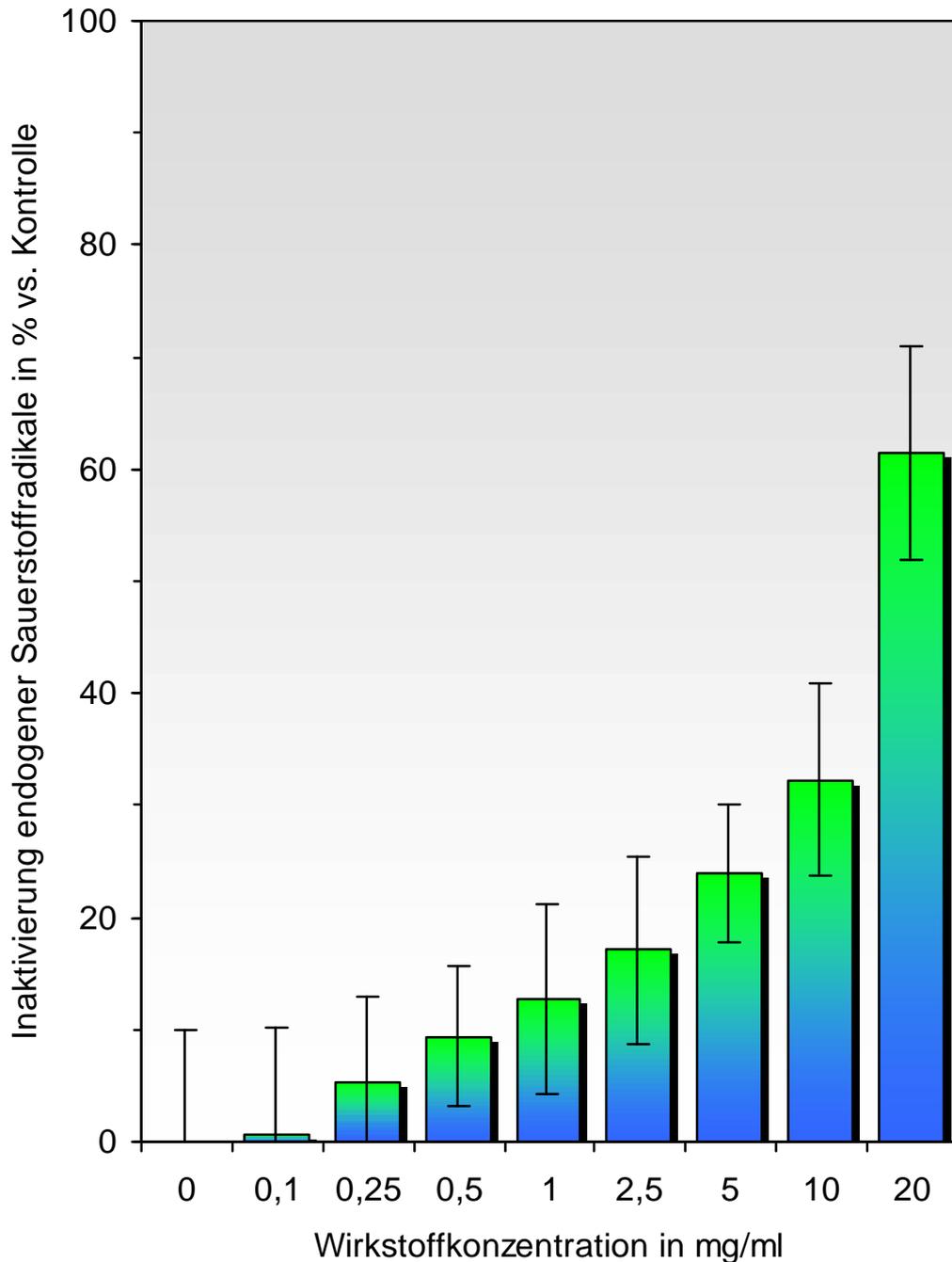


Abb. 3: Dosisabhängige Inaktivierung von endogenen Sauerstoffradikalen, die von entzündungsvermittelnden Zellen in einem oxidativen Burst gebildet werden, durch die BIOEMSAN Zahncreme homöopathieverträglich. Durch diese Inaktivierung kann die Bildung von lokal im entzündeten Gewebe auftretenden reaktiven Sauerstoffradikalen deutlich reduziert werden. Die in der Mundhöhle relevante Konzentration der Zahncreme beim Zähneputzen wurde mit 5-10 mg/ml berechnet. Angegeben ist der Mittelwert \pm Standardabweichung aus jeweils drei Messungen ($n = 3$).