

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung und Zielsetzung 1

2 Stand der Erkenntnisse..... 3

2.1 Struktur und Funktion der Gingiva 3

2.2 Vergleich Gingiva und periimplantäres Weichgewebe 6

2.3 Epitheliale Zell-Zell-Kontakte 8

2.3.1 Tight Junctions (Zonula Occludens) 9

2.3.2 Gap Junctions..... 9

2.3.3 Adherens Junctions (Zonula Adherens) 10

2.3.4 Desmosomen 11

2.3.5 Hemidesmosomen..... 11

2.3.6 Fokale Kontakte..... 11

2.4 Zerstörung der epithelialen Zell-Zell-Kontakte durch Bakterien..... 12

2.5 Die extrazelluläre Matrix und ihre Relevanz für die Zell-Matrix-Adhäsion 13

2.6 Zell-Substrat-Adhäsionsvorgang 15

2.7 Die Mundflora des Menschen 16

2.8 Titan und Zirkonoxid als dentale Implantatmaterialien 23

2.8.1 Titan und seine Legierungen 23

2.8.2 Yttriumoxid-teilstabilisiertes Zirkonoxid 25

2.8.3 Aufbau enossaler dentaler Implantate..... 25

2.9 Physikalische, chemische und biologische Implantatoberflächenmodifikation
..... 26

2.9.1 Physikalische und chemische Modifikationen 26

2.9.2 Biologische Modifikationen 30

3 Material und Methoden 32

3.1 Herstellung von Titan- und Zirkonoxidprobenkörper..... 32

3.2 Vorbehandlung und Silanisierung der Prüfkörper 33

3.3 Biofunktionalisierung der Prüfkörper..... 33

3.4 Material- und Oberflächencharakterisierung..... 35

3.4.1 Röntgen-Photoelektronenmikroskopie 35

3.4.2 Rasterkraftmikroskopie..... 35

3.4.3	Rasterelektronenmikroskopie und energiedispersive Röntgenspektroskopie.....	36
3.4.4	Infrarotspektroskopie mit abgeschwächter Totalreflexion	36
3.4.5	Statische Kontaktwinkelmessung	36
3.4.6	Anfärbung von immobilisierten Proteinen auf der Oberfläche.....	37
3.4.7	Austestung von Temperatur, Säure und mechanischer Beanspruchung auf die Oberflächenbeschichtungen	37
3.5	Zellbiologische Methoden	40
3.5.1	Isolation von Zellen aus der Gingiva	40
3.5.2	Subkultivierung von adhärenenten Zellen	42
3.5.3	Bestimmung der Zellkonzentration	43
3.5.4	Auftauen und Einfrieren der Zellen.....	44
3.5.5	Charakterisierung der Zelltypen mittels Durchflusszytometrie	44
3.5.6	Migrations-Versuch.....	45
3.5.7	Immunfärbung	46
3.5.8	Hemidesmosom-Analyse.....	47
3.5.9	Integrin Expressions-Analyse mittels Durchflusszytometrie	48
3.5.10	Proliferations-Versuch	49
3.5.11	Zentrifugations-Versuch	49
3.6	Biochemische Methoden	50
3.6.1	Probenvorbereitung für Western Blot	50
3.6.2	Proteinbestimmung mittels BCA-Assay.....	50
3.6.3	SDS-PAGE	51
3.6.4	Western Blot	52
3.6.5	Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest	53
3.7	Mikrobiologische-Versuche.....	54
3.7.1	Kultivierung von Streptococcus mutans	54
3.7.2	Bestimmung der optischen Dichte.....	55
3.7.3	Gramfärbung von Streptococcus mutans	56
3.7.4	Speichelbeschichtung der Probenkörper.....	56
3.7.5	Bakterienakkumulation auf den verschiedenen Prüfkörpern	57
3.7.6	Lebend-Tot-Färbung.....	57
3.7.7	Spread-Plate-Test	58

3.7.8	Analyse der bakteriellen Verteilung mittels REM.....	59
3.7.9	Austestung des Bakterien-DNA-Gehalts mittels qPCR	59
3.7.10	Infektion der Keratinozyten mit Streptococcus mutans	61
3.8	Inkubation von Fibroblasten mit Speichelproben.....	62
3.9	Statistische Auswertung der Experimente	62
4	Ergebnisse	63
4.1	Charakterisierung der funktionalisierten und nicht-funktionalisierten Prüfkörper	63
4.1.1	Mechanische Beanspruchbarkeit	75
4.1.2	Säure- und Hitzebeständigkeit	78
4.2	Biologisches Verhalten von Gingiva-Zellen	80
4.2.1	Charakterisierung von isolierten Fibroblasten und Keratinozyten	80
4.2.2	Zelladhäsion, Integrin-Expression und Migration	82
4.2.3	Proliferations- und Zentrifugationstest.....	96
4.3	Infektion humaner oraler Keratinozyten mit Streptococcus mutans	101
4.4	Anlagerungsversuche mit Escherichia coli und Bacillus subtilis.....	103
4.5	Biofilm-Formation aus Speichel.....	106
4.6	Anlagerungsversuche mit Streptococcus mutans.....	108
5	Diskussion.....	112
6	Zusammenfassung.....	139
7	Literaturverzeichnis	142
8	Anhang.....	171