

## **7. Anhang**

### **7.1 *Materialien zur klinischen Untersuchung***

- ◆ Befundungssoftware PROLAX® (prophy-Ware-GmbH, Leer)
- ◆ Zahnärztliche Behandlungseinheit Siro1s (Siemens AG, Stuttgart)
- ◆ Planer oberflächenversiegelter Mundspiegel (Größe 5), (Aesculap, Tuttlingen)
- ◆ Zahnärztliche Pinzette (Aesculap, Tuttlingen)
- ◆ Parodontalsonde PCP10 (Hu-Friedy Europe, B.Quétin GmbH, Leimen)
- ◆ Gerade zahnärztliche Sonde (Aesculap, Tuttlingen)
- ◆ Speichelabsaugapparatur
- ◆ Desinfektionslösung (Sterilium, Bode-Chemie, Hamburg)
- ◆ Speisewürze aus Zitronensaft 2%ig (Sizilia)
- ◆ Reagenzröhrchen (Sarstedt, Nümbrecht)
- ◆ Zentrifugenröhrchen (Sarstedt, Nümbrecht)
- ◆ Trockeneis
- ◆ Eppendorf-Zentrifuge 5415 c (Eppendorf, Berlin)
- ◆ Analysewaage (Sartorius GmbH, Göttingen)
- ◆ Eppendorf-Pipette (Eppendorf, Berlin)

### **7.2 *Computer und zugehörige Software***

- ◆ SPSS für Windows 10.0 (SPSS Schweiz AG, Zürich)
- ◆ Microsoft Word für Windows 1998 (Microsoft Corporation, USA)
- ◆ Microsoft Power Point (Microsoft Corporation, USA)

### **7.3 *Labormaterialien***

- ◆ 96-Well Mikrotiterplatte (Nunc GmbH Deutschland, Wiesbaden)
- ◆ Eppendorf-Pipette (Eppendorf, Berlin)
- ◆ Eppendorf-Zentrifuge 5410 (Eppendorf, Berlin)
- ◆ Multikanalpipette (Socorex, Swiss)

- ◆ Pipettenspitzen (Sarstedt, Nümbrecht)
- ◆ Minishaker IKA MS 2 (IKA Labortechnik, Staufen i. Br.)
- ◆ Gefrierschrank ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) (Liebherr, Bulle/ Schweiz)
- ◆ Gefrierschrank ( $-80^{\circ}\text{C}$ )
- ◆ Kühlschrank ( $4^{\circ}\text{C}$ ) (Liebherr, Bulle/ Schweiz)
- ◆ Greiner-Röhrchen mit Kappen und Kästen („Rack System“) (Greiner, Nürtingen)
- ◆ Satorius Analysewaage (Satorius GmbH, Göttingen)
- ◆ Schüttler IKA MTS 4 (IKA Labortechnik i. Br.)
- ◆ ELISA Processor 2 (Behring)
- ◆ Spektralphotometer Dynatech MR 7000 (Dynatech, Denkendorf)

### 7.3.1 Puffer

- ◆ Peptidassaypuffer

+ 150 mM NaCl

+ 1 mM EDTA (Sigma Biochemica, Deisenhofen)

+ 0,2 % TWEEN (Sigma Biochemica, Deisenhofen)

+ 0,1 % BSA (Pentex Miles Inc., Kankakee, USA)

- ◆ Probenverdünnungspuffer

1,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 8,22 g  $\text{Na}_2\text{PO}_4/\text{l}$  (= PBS)

+ 150 mM NaCl (=0,766g/l)

+ 1 mM EDTA (= 372,2mg/l)

- ◆ Waschpuffer

1,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 8,22 g  $\text{Na}_2\text{PO}_4/\text{l}$  (= PBS)

+ 0,05 % TWEEN (Sigma Biochemica, Deisenhofen)

- ◆ Phosphatpuffer (PBS) für Beschichtung

1,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 8,22 g  $\text{Na}_2\text{PO}_4/\text{L}$  (= PBS), pH = 7,6

### 7.3.2 Seren und Antikörper

- ◆ N-Protein-Standardserum für IgA-Bestimmung als Standard und Kontrolle im IgA-Assay, IgA-Gehalt 2,49 µg/ml (Behring Werke AG, Frankfurt a.M.)
- ◆ biotinyliertes anti-human IgA als primärer Antikörper, Ursprung: Ziege (Atlantic Antibodies, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim)
- ◆ anti-human-IgA als Beschichtungsantikörper, Ursprung: Ziege (Atlantic Antibodies, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim)

Alle verwendeten Standards und Beschichtungen sind in Tabelle 2.3 im Teil „Probanden und Methoden“ nochmals aufgeführt.

### 7.3.3 Bakterien-Homogenate

- ◆ *Treponema denticola* (Td; Isolat),
- ◆ *Porphyromonas gingivalis* (Pg; ATCC 33277),
- ◆ *Actinobacillus actinomycetencomitans* (Aa; FDC Y4),
- ◆ *Candida albicans* (Ca; Isolat); Lagerung in 1 ml Aliquots bei – 20° C mit Glykoll versetzt, aus dem Labor der Abteilung für Parodontologie des Zentrums für Zahnmedizin der Charité, Humboldt-Universität zu Berlin

### 7.3.4 Färbung

- ◆ Tetramethylbenzidin (TMB)-Färbepuffer

1 % TMB-Substrat in GALLATI-Puffer

- ◆ TMB-Substrat:

240 mg TMB + 5 ml DMSO (Dimethyl-Sulfon-Oxid) + 5 ml Ethanol (Fluka-Chemie, Buchs, Schweiz)

- ◆ GALLATI-Puffer:

8,4 g Zitronensäure-Monohydrat auf 160 ml Aqua dest. Mit 4N KOH auf pH-Wert 3,95 einstellen und auf 200 ml mit Aqua dest. auffüllen. Zur Fertigstellung 68 µl 30%iges H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dazugeben.

- ◆ Streptavidin, gekoppelt mit Peroxidase als sekundäres Konjugat (Calbiochem Corporation, La Jolla, USA)

#### 7.4 *Abkürzungen*

◆ Aa	Actinobacillus actinomycetemcomitans
◆ API	Approximaler Plaqueindex
◆ Ca	Candida albicans
◆ EDTA	Ethylen-Diamin-Tetraessigsäure
◆ ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
◆ EPS	Extrazelluläre Polysaccharide
◆ ges.	gesamt
◆ GTF	Glycosyltransferase
◆ HLA-Antigene	Human leucocyte antigen
◆ IgA-E	Immunglobulin der Klassen A-E
◆ J-Kette	Junction chain
◆ kDa	Kilodalton
◆ Konz.	Konzentration
◆ Korr.	Korrelation
◆ li.	links
◆ LPS	Lipopolysaccharide
◆ MALT	Mucosa associated lymphoid tissue
◆ min.	Minuten
◆ ml/min	Milliliter pro Minute
◆ MW	Arithmetischer Mittelwert
◆ ng	nanogramm
◆ OP-Leuchte	Operationsleuchte
◆ Par.	Parotis
◆ Perz.	Perzentil
◆ PBI	Papillen-Blutungs-Index
◆ PBS	Phosphatpuffer

---

◆ Pg	Porphyromonas gingivalis
◆ PSS	Proteinstandardserum
◆ QH	Plaqueindex nach QUIGLEY und HEIN
◆ re.	rechts
◆ s-IgA	Sekretorisches Immunglobulin A
◆ s-IgM	Sekretorisches Immunglobulin M
◆ SC-Fragment	Sekretorische Komponente
◆ SD	Standardabweichung
◆ Sekr.	Sekretionsrate
◆ stim.	stimuliert
◆ Stim.-Zust.	Stimulationszustand
◆ Subm./-ling.	Submandibularis/Sublingualis
◆ TMB-Gallati	Tetra Methyl Benzidin Gallati
◆ U/min	Umdrehungen pro Minute
◆ unstim.	unstimuliert

## 7.5 Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

Abbildung 1.1:	Modell eines dimeren IgA-Moleküls (GOLDSBY, 2000).....	13
Abbildung 1.2:	Transzytose eines IgA-Moleküls und Kopplung an die SC-Komponente (GOLDSBY, 2000).....	14
Abbildung 1.3:	Das mukosaassoziierte Immunsystem (KLEIN, 1991).....	15
Abbildung 2.1:	Darstellung des Versuchsablaufes über den Zeitraum von 14 Tagen .....	23
Abbildung 2.2:	Räumliche Aufteilung einer Mikrotiterplatte.....	27
Abbildung 2.3:	Arbeitsschritte während eines IgA-Assays .....	29
Abbildung 3.1:	Papillen-Blutungs-Index (PBI) während des Versuchsverlaufs (* p<0,05, ** p<0,01).....	33
Abbildung 3.2:	Plaueindex nach QUIGLEY & HEIN (1962) während des Versuchverlaufs (* p<0,05, ** p<0,01) .....	34
Abbildung 4.1:	Einfluss der Antigendosis auf die Induktion von Toleranz (KLEIN, 1991).....	67
Tabelle 1.1:	Konzentration der Immunglobuline in µg/ml nach CARLEN & OLSSON (1995) .....	12
Tabelle 2.1:	Definition der Schweregrade des Plauebefalls nach QUIGLEY & HEIN (1962).....	24
Tabelle 2.2:	Definition der Papillenblutungsstärke nach MÜHLEMANN & SON (1971) .....	24
Tabelle 2.3:	Verwendete Lösungen und Verdünnungen in den IgA-Assays.....	30
Tabelle 3.1:	Modifizierter Papillen-Blutungs-Index der Probanden an den jeweiligen Versuchstagen (MÜHLEMANN & SON, 1971).....	32
Tabelle 3.2:	Modifizierter Plaue-Index der Probanden an den jeweiligen Versuchstagen (nach QUIGLEY & HEIN, 1962) .....	33
Tabelle 3.3:	Speichelmengen für den unstimulierten Zustand in g/min.....	35
Tabelle 3.4:	Speichelmengen für den stimulierten Zustand in g/min.....	36
Tabelle 3.5:	Konzentrationswerte im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper IgA-Gesamt (µg/ml), getrennt nach Drüsen, Seite und Stimulationszustand .....	37
Tabelle 3.6:	Konzentrationswerte im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper IgA 1 (µg/ml), getrennt nach Drüsen, Seite und Stimulationszustand .....	38
Tabelle 3.7:	Konzentrationswerte im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper IgA 2 (µg/ml), getrennt nach Drüsen, Seite und Stimulationszustand .....	39
Tabelle 3.8:	Konzentrationswerte im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper gegen <i>Candida albicans</i> (µg/ml), getrennt nach, Seite und Stimulationszustand .....	40
Tabelle 3.9:	Konzentrationswerte im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper gegen <i>Treponema denticola</i> (µg/ml), getrennt nach Drüsen, Seite und Stimulationszustand .....	41
Tabelle 3.10:	Konzentrationswerte im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper gegen <i>Porphyromonas gingivalis</i> (µg/ml), getrennt nach Drüsen, Seite und Stimulationszustand .....	42
Tabelle 3.11:	Konzentrationswerte im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper gegen <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> (µg/ml), getrennt nach Drüsen, Seite und Stimulationszustand .....	43
Tabelle 3.12:	Sekretionsraten im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper IgA gesamt (µg/min), getrennt nach Drüsen, Seiten und Stimulationszustand .....	44
Tabelle 3.13:	Sekretionsraten im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper IgA 1 (µg/min) getrennt, nach Drüsen, Seiten und Stimulationszustand .....	45

---

Tabelle 3.14:	Sekretionsraten im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper IgA 2 ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ), getrennt nach Drüsen, Seiten und Stimulationszustand .....	46
Tabelle 3.15:	Sekretionsraten im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper gegen <i>Candida albicans</i> in RE/min (relative Einheit pro Minute) getrennt nach Drüsen, Seiten und Stimulationszustand.....	47
Tabelle 3.16:	Sekretionsraten im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper gegen <i>Treponema denticola</i> in RE/min (relative Einheit pro Minute), getrennt nach Drüsen, Seiten und Stimulationszustand.....	48
Tabelle 3.17:	Sekretionsraten im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper gegen <i>Porphyromonas gingivalis</i> in RE/min (relative Einheit pro Minute), getrennt nach Drüsen, Seiten und Stimulationszustand .....	49
Tabelle 3.18:	Sekretionsraten im Versuchsverlauf für sekretorische Antikörper gegen <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> in RE/min (relative Einheit pro Minute), getrennt nach Drüsen, Seiten und Stimulationszustand.....	50
Tabelle 4.1	Übersicht – Speichelflussraten.....	63

## 7.6 *Danksagung*

Ich möchte mich bei folgenden Personen bedanken, die an der Entstehung und Durchführung diese Arbeit direkt beteiligt waren:

- ◆ PD. Dr. A. Kage für die Überlassung des Themas;
- ◆ Dr. R. Seemann für die Hilfe bei der Umsetzung der Idee, Durchführung und (letztendlich) Fertigstellung der Arbeit;
- ◆ allen Probanden, ohne deren Engagement diese Arbeit nie entstanden wäre;
- ◆ Petra Busse für die kompetente Unterstützung bei der Durchführung der Laborarbeiten;
- ◆ Jessica (vor allem) für die Motivationskraft;
- ◆ Dezsö für die Unterstützung in allen Bereichen.

**7.7 Lebenslauf**

8. Aug. 1971	geboren in Wiesbaden
Jul. 1991	Zeugnis der allgemeinen Hochschulreife am Dilthey-Gymnasium in Wiesbaden
Oktober 1991 – Oktober 1992	Studium der Biologie an der Goethe- Universität in Mainz
Oktober 1992 – Juli 1998	Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin
SS 1993 Vorphysikum	
WS 1994 Physikum	
SS 1998 Staasexamen	
November 1995 – März 1996	Auslandsfamulatur in Mexiko
Seit Oktober 1998	Zahnärztin in der Praxis Dr. Sztankay in Berlin