

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°C) (Liebherr, Bulle/ Schweiz)
- ◆ Gefrierschrank (-80°C)
- ◆ Kühlschrank (4°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 KH_2PO_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 KH_2PO_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 KH_2PO_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 H₂O₂ 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 Antigenodosis 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 |