

Abteilung Zahnerhaltung und Parodontologie

Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. Hüsamettin Günay

Forschungsprofil

Die Abteilung Zahnerhaltung und Parodontologie ist Teil des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde. Klinische und wissenschaftliche Schwerpunkte sind die Kinderzahnheilkunde und Prophylaxe, die konservierende Zahnheilkunde (Zahnhartsubstanzlehre einschließlich Kariologie und konservierend-restaurative Zahnheilkunde) der Endodontie, die Parodontologie und (Peri-)Implantologie sowie zellbiologische Untersuchungen zur Biokompatibilität von zahnärztlichen Füllungsmaterialien.

Forschungsprojekte

Oxidative Schäden durch zahnärztliche Kunststoffbestandteile an oralen Zellen

Alle zahnärztlichen Kunststoffe geben auch nach der Polymerisierung organische Inhaltsstoffe ab, welche zunächst in der Mundhöhle freigesetzt werden. Sie wirken lokal auf die dort vorhandenen Zellen ein, gelangen aber auch durch Verschlucken in den gastrointestinalen Trakt. Während der Darmpassage erfolgt ein Kontakt mit der Darmmukosa und es kann zur Resorption und Verteilung im gesamten Organismus kommen. Somit ist deren Auswirkung nicht nur auf den oralen Bereich beschränkt. Jedoch

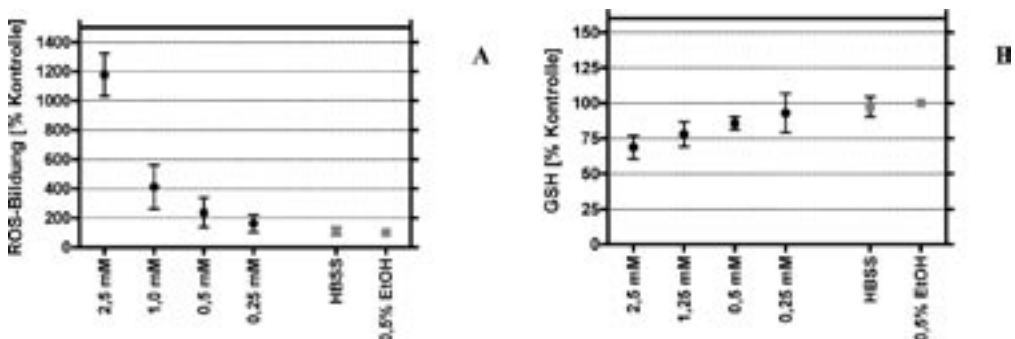


Abb. 1: Inkubation von humanen Gingivafibroblasten mit verschiedenen Konzentrationen von Campherchinon. (A) Über einen Zeitraum von 90 Minuten erfolgte konzentrationsabhängig eine erhöhte intrazelluläre Bildung von ROS im Vergleich zu unbehandelten Kontrollzellen (HBSS-Medium, HBSS + 0,5% Ethanol (EtOH) als Lösemittelkontrolle). (B) Nach 3 Stunden konnte eine deutliche Abnahme des reduzierten GSH nachgewiesen werden. Mittelwerte \pm Standardabweichung (n=6).

liegen bisher nur wenige Informationen darüber vor, ob Bestandteile zahnärztlicher Werkstoffe auch systemische Langzeiteffekte bewirken können, z.B. über die Beeinflussung von zentralen intrazellulären Stoffwechselwegen. Die Fragestellung unseres ersten Teils des Forschungsprojekts ist (1): Welchen

Einfluß hat die durch den Photoinitiator Campherchinon (CQ) induzierte intrazelluläre Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies („reactive oxygen species“, ROS) auf zentrale Stoffwechselwege von oralen primären humanen Fibroblasten? CQ ist einer der am meisten verwendeten Photoinitiatoren in zahnärztlichen Adhäsiven und Kompositen, der auch nach der Polymerisation in Eluaten dieser Materialien nachgewiesen wird. Zunächst wurde die Wirkung von CQ (0,05 mM bis 2,5 mM) auf den intrazellulären Glutathiongehalt und auf die Bildung von ROS in humanen Gingivafibroblasten (HGF) mit fluoreszenzspektroskopischen Methoden bestimmt.

Die Ergebnisse zeigen, dass niedrige Konzentrationen von CQ in humanen Gingivafibroblasten zu einer erhöhten Bildung von ROS beitragen, in der Folge einen massiven Konzentrationsabfall an Glutathion (GSH) bewirken und damit den Oxidationsschutz der Zelle erniedrigen (Abb.1 A und B).

Triethylmethacrylat (TEGDMA), ein weiterer häufig verwendeter Inhaltsstoff von Kompositen und andere Methacrylate wurden in früheren Untersuchungen ebenfalls auf ihre Beeinflussung des Oxidationsstatus der Zelle untersucht. Die Behandlung von primären Fibroblasten mit diesen Stoffen führte konzentrationsabhängig zu einer Erniedrigung des GSH-Gehalts. In der Folge konnten wir gleichermaßen eine erhöhte Bildung von ROS nachweisen, die mit einer Abnahme der Vitalität korrelierte.

Für eine Reihe von verschiedenen Zelltypen wurde bereits nachgewiesen, dass die Erhöhung von ROS zum programmierten Zelltod (Apoptose) führen kann. Daher ergab sich die Fragestellung (2) unseres Projektes: Induzieren CQ und TEGDMA über eine Erhöhung der intrazellulären ROS-Bildung Apoptose in primären Gingivafibroblasten?

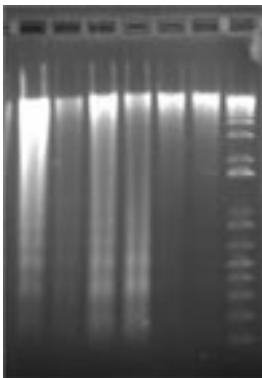


Abb. 2: Gelelektrophorese der nach CQ-Behandlung fragmentierten DNA von HGF. Die Zellen wurden 16 h mit verschiedenen Konzentrationen von CQ inkubiert. Von links nach rechts: 2,5 mM CQ; 1,25 mM CQ; 25 µM Nitrostyrol (NS); 10 µM NS; Mediumkontrolle + 0,5 % EtOH (Lösemittelkontrolle); Mediumkontrolle; DNA-Leiter (100 bp – 10 kb).

Die Apoptose, ein für die Entwicklung und Aufrechterhaltung eines vielzelligen Organismus lebenswichtiger Mechanismus, ist ein streng regulierter zellulärer Prozeß, dessen Beeinflussung zu massiven Funktionsstörungen innerhalb der betroffenen Zellen und demzufolge im Gewebe führen kann.

In ersten Messungen zur Induktion der Apoptose konnte mit einem Chemilumineszenzassay bereits nach 5 Stunden eine Aktivierung der Effektorcaspasen 3 und 7 durch CQ nachgewiesen werden. Diese Caspasen nehmen innerhalb der Apoptose eine zentrale Rolle ein. In weiteren Untersuchungen wurde nach Inkubation der Zellen mit CQ eine gelelektrophoretische Auftrennung der isolierten DNA

durchgeführt. Mit dieser Methode konnte nach 16–stündiger Behandlung eine Apoptose-typische DNA-Fragmentierung (DNA laddering) nachgewiesen werden (Abbildung 2).

Parallel durchgeführte fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen mit den Fluorochromen Akridinorange und Ethidiumbromid belegen dieses Ergebnis (Abbildung 3). Akridinorange (AO) ist Zellmembran durchlässig und färbt DNA grün, während Ethidiumbromid (EB) bei Verlust der Membrantintegrität in Zellen eindringt und die DNA rot färbt (DNA erscheint hier gelb-orange bei gleichzeitiger AO Fluoreszenz).

Nach Behandlung mit CQ zeigten die Fibroblasten ein typisches membrane blebbing (3a). Die Fluoreszenzaufnahme (3b) zeigt, dass sich innerhalb der Vesikel mit intakter Membran fragmentierte DNA befindet. Spät-apoptotische Zellen oder solche, die direkt Nekrose erleiden, erscheinen gelb-orange. Die unbehandelten Kontrollzellen zeigten dagegen keine veränderte Morphologie (3c, d).

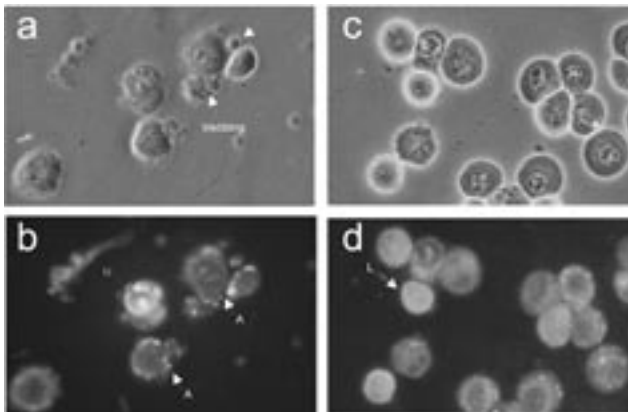


Abb. 3: Membrane blebbing bei HGF durch Campherchinon. Nicht-adhären-te HGF nach 16-stündiger Behandlung mit 2,5 mM CQ (a, b) und unbehandelte HGF (c, d). A = apoptotische Zelle mit membranumschlossenen Vesikeln, L = lebende (vitale) Zellen, N = nekrotische Zelle. Phasenkontrast (a, c), Ethidiumbromid/Akridinorange-Fluoreszenz (Ex/Em = 480/505) (b, d), Vergrößerung 400x.

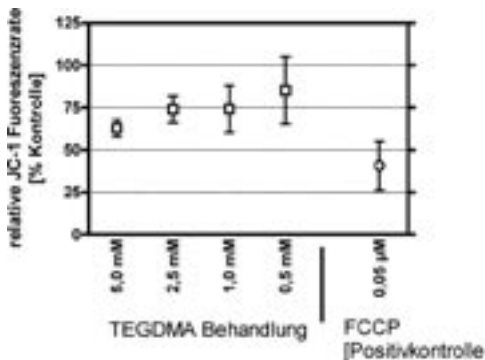


Abb. 4: Der Effekt von TEGDMA und FCCP (Positivkontrolle) auf das MMP in HGF. Die Zellen wurden mit 0,5 mM, 1 mM, 2,5 mM und 5 mM TEGDMA für 6 Stunden behandelt. Mittelwerte ± Standardabweichung (n=3).

Ein weiteres charakteristisches Merkmal der Apoptose ist das Absinken des mitochondrialen Membranpotentials (MMP) über die innere mitochondriale Membran. Die Messung des MMP erfolgte mit einem Fluoreszenzfarbstoff (JC-1). Dieser Farbstoff wird von den Mitochondrien aufgenommen und ändert dabei seine Fluoreszenzeigenschaften, da es in der mitochondrialen Matrix aggregiert. Liegt das MMP bei -170 mV bis -220 mV (unbehandelte Kontrollzellen), so bilden sich JC-1-Aggregate

mit Rotfluoreszenz. In apoptotischen Zellen kollabiert das MMP und es bilden sich JC-1-Monomere mit Grünfluoreszenz.

Unsere Untersuchungen zeigten, dass kurze Inkubationen (90 Minuten, 6 Stunden) von HGF mit TEGDMA (0.5 mM bis 5 mM) eine frühe und schnelle Abnahme des intrazellulären GSH-Gehalts induzierten und bereits nach 90 Minuten eine deutlich erhöhte Bildung von intrazellulären ROS zur Folge hatten. Nach 6 Stunden konnten wir gleichzeitig eine deutliche Abnahme der JC-1-Fluoreszenzrate und damit eine für Apoptose typische Depolarisierung des MMP nachweisen (Abbildung 4).

Zusammengefasst zeigen unsere bisherigen Ergebnisse, dass Substanzen aus zahnärztlichen Kunststoffen den Metabolismus (Glutathionhaushalt, reaktive Sauerstoffspezies) und die Vitalität oraler Zellen bereits in sehr geringen Konzentrationen, wie sie in der Mundhöhle auftreten können, beeinträchtigen und in vitro Apoptose induzieren. Die Auswirkungen auf systemische (intestinale) Zellen sind bisher noch wenig untersucht und werden zentraler Bestandteil unserer zukünftigen Forschungsprojekte sein. Einen weiteren Schwerpunkt unserer Untersuchungen bilden die Ursachen, die zur Auslösung von Apoptose führen, und der Einfluß von CQ und Methacrylaten auf die DNA von Zellen in Hinblick auf deren potentielle Gentoxizität. Die Identifizierung und Aufklärung potentiell pro-apoptotischer und mutagener Wirkmechanismen dieser Materialien liefern wichtige Daten für die Entwicklung biokompatibler Alternativen zu existierenden Materialien.

■ Projektleiter: Volk J, Leyhausen G, Geurtsen W.

Weitere Forschungsprojekte

Oxidative Schäden durch Methacrylate an der DNA von oralen und systemischen Zellen

■ Projektleiter: Leyhausen G, Volk J, Geurtsen W, Günay H.; Förderung: DGZMK

Einfluss von Bestandteilen zahnärztlicher Kunststoffe auf die Sekretion und Genexpression inflammatorischer Zytokine und die Aktivitätszustände wichtiger Signalt ransduktionsketten in menschlichen oralen Zellen

■ Projektleiter: Volk J, Leyhausen G, Günay H.; Förderung: Neue Gruppe

Chemisch-biologische Wechselwirkungen von Kombinationen von Peroxiden und metallischen bzw. organischen Inhaltsstoffen zahnärztlicher Materialien auf das antioxidative System menschlicher oraler Zellen

■ Projektleiter: Dogan S, Volk J, Leyhausen G, Geurtsen W.; Förderung: DGZMK

Molecular interactions of dental resins

■ Projektleiter: Geurtsen W, Volk J, Leyhausen G, Ziemann C.

Generation of abasic sites by resin initiators

■ Projektleiter: Dogan S, Geurtsen W.; Funding Royalty Research Fund, University of Washington

Synergistic effects of TEGDMA and BisGMA on intracellular glutathione content and ROS formation in human oral fibroblasts

■ Projektleiter: Volk J, Kittkowske B, Leyhausen G, Geurtsen W.

Wachstumsverhalten, pH Wert-Verschiebung und Lactatbildung verschiedener Laktobazillenspezies in Abhängigkeit vom Substrat

■ Projektleiter: Reichelt M, Khoramnia M, Schilke R, Leyhausen G, Volk J.

Einfluss einer zusätzlichen Phosphorsäurekonditionierung auf die Scherhaftkraft selbstkonditionierender Adhäsivsysteme

■ Projektleiter: Lührs AK, Günay H.

Stand der zahnärztlichen (Gesundheits-)Frühförderung während der Schwangerschaft

■ Projektleiter: Rahman A, Günay H.

Zahnärztliche Gesundheitsfrühförderung und Langzeitprävention - Kariesprävalenz bei Mutter und Kind. IV. Phase

■ Projektleiter: Meyer K, Günay H.

Beeinflussen Calciumhydroxidhaltige Kavitätenliner die Dentinadhäsion?

■ Projektleiter: Guhr S, Lührs AK, Günay H.

Mundgesundheit während der Schwangerschaft bei Migranten

■ Projektleiter: Alagöz A, Stepura A, Rahman A, Günay H.

Vergleichende In-vitro-Untersuchung zur Fissurenversiegelung: Ultraschall versus klassisch

■ Projektleiter: Banhagel M, Rahman A, Günay H.

Die Rolle der Ernährung bei entzündlichen Parodontalerkrankungen bei Vegetariern

■ Projektleiter: Osterburg G, Deac A, Bohnenkamp A, Günay H.

Apikale Dichtigkeit von 3 verschiedenen Wurzelkanalfüllzementen in Verbindung mit 4 unterschiedlichen Wurzelkanalfülltechniken

■ Projektleiter: Stephan K, Schwarze T, Dogan S, Günay H.

Verletzung der biologischen Breite im approximalen Bereich und parodontalen Gesundheit (Entstehung vestibulärer/lingualer Rezession)

■ Projektleiter: Ahlers S, Günay H.

Scherhaftkraft selbstadhäsiver Zemente an humanem Schmelz und Dentin in vitro

■ Projektleiter: Lührs AK, Guhr S, Günay H.

Einfluss einer zusätzlichen Oberflächenbehandlung auf die Scherhaftkraft selbstadhäsiver Zemente an humanem Schmelz und Dentin in vitro

■ Projektleiter: Lührs AK, Guhr S, Günay, H.

Klinische Untersuchung zur Langzeitstabilität zahnfleischfarbener Kompomere

■ Projektleiter: Lührs AK, Guhr S, Günay H.

Untersuchung zur Randedichtigkeit von Zahnhalsfüllungen unter Berücksichtigung modifizierter Präparationsmethoden

■ Projektleiter: Iversen R, Schreiber S, Lührs AK, Günay H.

Studie zur Verbesserung der Mundgesundheit bei Sklerodermie-Patienten

■ Projektleiter: Lührs AK; Kooperation: Abteilung Klinische Immunologie

In-vitro Untersuchung zur Effizienz der smear layer-Entfernung bei der standardisierten Wurzelkanalaufbereitung mit drei EDTA-Chelatorpräparaten

■ Projektleiter: Putzer P, Günay H.

Parodontale Untersuchung bei HIV-infizierten Patienten unter stabiler hochaktiver antiretroviraler Kombinationstherapie und bei Therapie-naiven Patienten mit Immundefekt

■ Projektleiter: Fricke U, Rahman A, Günay H.

Kenntnisstand von Eltern (Müttern) 3-jähriger Kinder über die zahnärztliche Gesundheitsfrühförderung

■ Projektleiter: Spanier T, Rahman A, Günay H.

Originalpublikationen

Günay H, Lührs, AK. Konservative Therapie parodontaler Rezessionen mit Zahnhartsubstanzdefekten mittels zahnfleischfarbener Kompomere – klinisches Vorgehen. Dtsch Zahnärztl Z 2006; 61:586-93.

Volk J, Engelmann J, Leyhausen G, Geurtsen W. Effects of three resin monomers on the cellular glutathione concentration of cultured human gingival fibroblasts. Dent Mater 2006; 22:499-05.

Volk J, Leyhausen G, Geurtsen W. Additive effects of TEGDMA and hydrogenperoxide on the cellular glutathione content of human gingival fibroblasts. *Dent Mater* 2006; doi:10.1016/j.dental.2006.08.001.

Schwarze T, Stephan K, Dogan S, Günay H. Bakterienpenetrationsuntersuchung zur Dichtigkeit von Roeko Seal bei verschiedenen Fülltechniken. *Endodontie* 2006; 15: 337-42.

Jung J, Bohn G, Allroth A, Boztug K, Brandes G, Sandrock I, Schäffer AA, **Schilke R**, Welte K, Grimbacher B, Klein C. Identification of an exon-skipping AP3B1 mutation and NKT cell deficiency in Hermansky-Pudlak syndrome, type 2. *Blood* 2006;108:362-69.

Übersichten

Günay H, Bohnenkamp A. Periimplantäre Infektionen. *Quintessenz* 2006; 57:1355-68.

Buchbeiträge, Monographien

Geurtsen W, Schmalz G: Biokompatibilität von zahnärztlichen Kunststoffen und Metall-Legierungen, Kapitel 14, Quintessenz-Verlag, Berlin 2006.

Abstracts

2006 wurden insgesamt 23 Abstracts publiziert.

Promotionen

Kleine, Ruven (Dr. med. dent.): Kariesexkavation mit Polymer-Instrumenten im Vergleich zu Hartmetall-Rosenbohrern.

Fischer, Susanne (Dr. med. dent.): Die Wirkung von Inhaltsstoffen zahnärztlicher Füllmaterialien auf den Glutathiongehalt oraler

Fibroblasten: Etablierung eines enzymatischen Nachweises von reduziertem und oxidiertem Glutathion.

Wissenschaftspreise

Lührs AK: „Einfluss einer zusätzlichen Phosphorsäurekonditionierung auf die Scherhaftkraft selbstkonditionierender Adhäsivsysteme an humanem Schmelz – eine In-vitro-Studie“ 2. Preis VOCO Dental Challenge.

Stephan K, Schwarze T, Dogan S, Günay H.: „Bakterienpenetrationsuntersuchung zur Dichtigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien und Fülltechniken“ DGZ-Preis 2006.

Weitere Tätigkeiten in der Forschung

Günay H, Schneller T, Salman R: Muttersprachliche Oralprophylaxe für Migrantinnen -MOM-Projekt- (bundesweiter Arbeitskreis; städtischer Arbeitskreis Hannover; Mediatorinnenfortbildung; Mehrsprachige Kampagnen; Tagungen) (EMZ in Kooperation mit der Bundesarbeitsgemeinschaft Jugendzahnpflege. Projektträger: EMZ, Zahnerhaltung und Parodontologie der MHH, Medizinische Psychologie-MHH).