

Inhalt

1.	Einleitung.....	7
2.	Material und Methoden.....	16
2.1	Kultivierung von humanen Parodontalligamentfibroblasten.....	16
2.1.1	Allgemeine Zellkulturbedingungen.....	16
2.1.2	Versuchsaufbau Kinetik.....	17
2.1.3	Versuchsaufbau zur Transfektion.....	17
2.1.4	Versuchsaufbau zur Kinase-Inhibierung.....	18
2.1.5	Versuchsaufbau zur Kokultivierung mit Makrophagen.....	18
2.2	Bestimmung der Zellvitalität.....	20
2.2.1	Bestimmung der Zellzahl mit dem Beckman Coulter Counter.....	20
2.2.2	Bestimmung der Zellzahl mit dem Kristallviolett-Assay.....	20
2.2.3	Bestimmung der Zytotoxizität mit dem Laktatdehydrogenase-Test.....	21
2.3	Analyse der RNA.....	21
2.3.1	Isolierung der RNA.....	21
2.3.2	Synthese der cDNA.....	22
2.3.3	Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR).....	22
2.4	Proteinanalytik.....	23
2.4.1	Proteinisolierung.....	23
2.4.2	Bestimmung der Proteinkonzentration mittels Bradford.....	24
2.4.3	Polyacrylamid-Gelelektrophorese.....	24
2.4.4	Western Blot.....	25
2.4.5	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	26
2.4.6	TRAP-Färbung.....	27
2.5	Statistik.....	28
3.	Ergebnisse.....	29

3.1	Versuche zur Ermittlung der optimalen Kraftgröße und Zeit zur Untersuchung der Rolle von pHSP27.....	29
3.1.1	Bestimmung der HSP27-Phosphorylierung nach unterschiedlichen Inkubationszeiten mit variablen Kraftgrößen.....	29
3.1.2	Einfluss einer geringen Kraft auf das Expressionsprofil von PDLF im zeitlichen Verlauf.....	30
3.1.3	Einfluss einer hohen Kraft auf das Expressionsprofil von PDLF im zeitlichen Verlauf.....	32
3.2	Einfluss der konstitutiven bzw. gehemmten HSP27-Phosphorylierung auf das Expressionsprofil von PDLF bei geringer Kraftgröße und langer Applikationsdauer.	33
3.2.1	Einfluss der Transfektion mit unterschiedlichen Plasmiden auf die Vitalität der PDLF bei geringer Kraftgröße und langer Applikationsdauer.....	34
3.2.2	Einfluss der Transfektion auf die Phosphorylierung von HSP27 bei geringer Kraftgröße und langer Applikationsdauer.....	35
3.2.3	Einfluss der Transfektion unterschiedlicher Plasmide auf die Expression von Genen der Kollagensynthese bei geringer Kraftgröße und langer Applikationsdauer.....	37
3.2.4	Einfluss der Transfektion unterschiedlicher Plasmide auf die Expression von inflammatorischen Genen bei geringer Kraftgröße und langer Applikationsdauer.....	38
3.2.5	Einfluss der Transfektion unterschiedlicher Plasmide auf die Expression von knochenmodulierender Gene bei geringer Kraftgröße und langer Applikationsdauer.....	40
3.3	Einfluss der konstitutiven bzw. gehemmten HSP27-Phosphorylierung auf das Expressionsprofil von PDLF bei einer hohen Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.....	42
3.3.1	Einfluss der Transfektion auf die Vitalität der PDLF bei einer hohen Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.....	42
3.3.2	Einfluss der Transfektion auf die Phosphorylierung von HSP27 bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.....	43

3.3.3	Einfluss der HSP27-Phosphorylierung auf die Expression von Genen der Kollagensynthese bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.....	45
3.3.4	Einfluss der HSP27-Phosphorylierung auf die Expression von inflammatorischen Genen bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.	46
3.3.5	Einfluss der HSP27-Phosphorylierung auf die Expression von knochenmodulierender Gene bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer	48
3.3.6	Einfluss der HSP27-Phosphorylierung auf die Osteoklastendifferenzierung bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer	51
3.4	Einfluss unterschiedlicher Kinase-Inhibitoren auf die HSP27-Phosphorylierung und das Expressionsprofil von PDLF bei einer hohen Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.	52
3.4.1	Einfluss der Zugabe unterschiedlicher Kinase-Inhibitoren auf die Vitalität der PDLF.....	53
3.4.2	Einfluss unterschiedlicher Kinase-Inhibitoren auf die Phosphorylierung von HSP27 bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.....	54
3.4.3	Einfluss unterschiedlicher Kinase-Inhibitoren auf die Expression von Genen der Kollagensynthese bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.	55
3.4.4	Einfluss unterschiedlicher Kinase-Inhibitoren auf die Expression von inflammatorischen Genen bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.	56
3.4.5	Einfluss unterschiedlicher Kinase-Inhibitoren auf die Expression von knochenmodulierender Gene bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer	58
3.4.6	Einfluss der Kinase-Inhibitoren auf die Osteoklastendifferenzierung bei hoher Kraftgröße und kurzer Applikationsdauer.....	61
4.	Diskussion	63
5.	Zusammenfassung	72
6.	Literaturübersicht.....	74
7.	Danksagung	84

8. Lebenslauf.....	85
--------------------	----

Erklärung zum Promotionsverfahren