

Aus der Klinik für Zahnärztliche Prothetik, Propädeutik und Werkstoffkunde  
(Direktor: Prof. Dr. M. Kern)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

---

**Zelladhäsion von Gingivafibroblasten an drei  
verschiedenen Abutmentmaterialien, Dentin und  
einem adhäsiven Kompositkunststoff**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
**Anna-Marie Schütte**

aus Preetz

Kiel 2018

1.Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Christian Johannes Mehl

2.Berichterstatter: Prof. Dr. Yahya Acil

Tag der mündlichen

Prüfung: 29.11.2018

Zum Druck genehmigt, Kiel,

den: 29.11.2018

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1.Hintergrund .....	1
1.2.Implantat- und Abutmentmaterialien.....	2
1.3.Einfluss der Oberflächeneigenschaften des Abutments auf die Anheftung des periimplantären Gewebes.....	6
1.4.Zielsetzung der Arbeit .....	10
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>11</b>
2.1.Materialien der Probekörper .....	11
2.2.Aufbereitung der Probekörper .....	12
2.2.1. Herstellung der Dentinprobekörper.....	12
2.2.2. Herstellung der Kompositkunststoff-Probekörper .....	12
2.2.3. Vorbereitung der Oberflächenrauigkeiten .....	13
2.3.Reinigung der Probekörper .....	16
2.3.1. Evaluation der Oberflächenrauigkeiten .....	17
2.4.Kontaktwinkelmessung.....	18
2.5.Zellkultur.....	18
2.6.Zellabzugsversuche .....	19
2.6.1. Atomkraftmikroskop, Grundlagen zur Einzelzellkraft-Spektroskopie .....	19
2.6.2. AFM-Cantilever-Funktionalisierung .....	21
2.6.3. Versuchsdurchführung .....	23
2.7.Analyse der Kraft-Dehnungskurven.....	25
2.8.Statistik.....	25
<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>26</b>
3.1.Rauigkeitsmessungen .....	26
3.2.Kontaktwinkelmessungen.....	31
3.3.Zellabzugsversuche .....	34
<b>4. Diskussion</b> .....	<b>40</b>
4.1.Fehlerdiskussion der Methodik.....	40
4.1.1. Aufbereitung der Oberflächenrauigkeiten .....	40
4.1.2. Kontaktwinkelmessungen.....	41
4.1.3. Zellabzugsversuche.....	42
4.2.Diskussion der Ergebnisse .....	43
4.3.Schlussfolgerungen.....	46

<b>5. Zusammenfassung.....</b>	<b>47</b>
<b>6. Summary.....</b>	<b>49</b>
<b>7. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>51</b>
<b>8. Danksagung.....</b>	<b>62</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AFM	Atomic-Force-Microscope / Atomkraftmikroskop
°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
FAK	Fokale Adhäsionskinase
g	Erdbeschleunigung
HD	humanes Dentin
LS	Lithiumdisilikatkeramik
m	maschiniert
mg	Milligramm
ml	Milliliter
ML	Kompositkunststoff Multilink Hybrid Abutment
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
MPa	Megapascal
N	Newton
nm	Nanometer
p	poliert
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
r	rau
Ra	arithmetischer Mittelrauwert
Rz	gemittelte Rautiefe
s	Sekunde
Ti	Titanlegierung
U/min	Umdrehung pro Minute
Zr	Zirkoniumdioxidkeramik



# 1. Einleitung

## 1.1. Hintergrund

Dentale Implantate sind körperfremde, so genannte alloplastische Materialien, welche im Kieferknochen eingebracht werden [88]. Seit der Publikation von 10-Jahresdaten durch Brånemark 1977, stellen dentale Implantate eine zuverlässige Versorgungsform zum Ersatz fehlender Zähne dar [15]. Zahnersatz wird an ihnen festsitzend oder herausnehmbar befestigt. Diese Art der prothetischen Versorgung eines Lückengebisses oder zahnlosen Kiefers bietet einige Vorteile gegenüber anderen Versorgungsmöglichkeiten, wie herausnehmbaren Prothesen oder konventionellen über Kronen verankerten Brücken. So wird die Funktion und der Tragekomfort des Zahnersatzes verbessert und hierdurch die Lebensqualität der Patienten gesteigert [88]. Zudem wird vorhandene Zahnschubstanz möglicher Pfeilerzähne, welche der Verankerung des Zahnersatzes dienen könnten, geschont. Als Folgeschäden an beschliffenen Pfeilerzähnen zählen apikale Aufhellungen durch eine Entzündung an der Wurzelspitze (3–5 % 10 Jahre nach Überkronung) oder Sensibilitätsverlust (10-15 % 10 Jahre nach Überkronung) [54]. In 70-80 % der Fälle kommt es bei der Präparation eines Pfeilerzahnes für einen Kronenanker ebenfalls zu einer unbeabsichtigten Verletzung der Nachbarzähne [65]. Die Überlebensraten implantatgetragener Prothetik liegt bei implantatgetragenen Brücken nach 5 Jahren bei 95 %, nach 10 Jahren bei 87 % und für Einzelzahn-Implantate nach 5 Jahren bei 96 %, nach 10 Jahren bei 90 % was vergleichbar ist mit den Überlebensraten von konventionellen Brücken auf natürlichen Pfeilerzähnen [71].

Festsitzende Versorgungen mit dentalen Implantaten bestehen, wie in Abbildung 1 dargestellt, meist aus einem Implantatkörper, einem Implantataufbau (Abutment) und dem befestigten Zahnersatz (Suprakonstruktion).

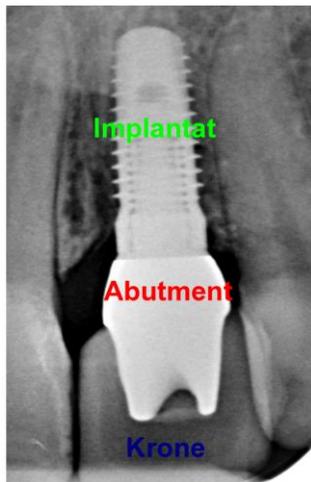


Abbildung 1: Röntgenbild einer festsitzenden Kronenversorgung Regio 21, mit Implantat, Abutment und Krone als Suprakonstruktion

Hierbei durchtritt das Abutment oder das Implantat selbst die Schleimhaut, so dass die Suprakonstruktion oral getragen werden kann. Durch diese Penetration der Schleimhaut handelt es sich um sogenannte offene Implantate, wodurch eine permanente Verbindung zur keimbesiedelten Mundhöhle besteht.

## 1.2. Implantat- und Abutmentmaterialien

Die verwendeten Implantatmaterialien müssen mechanisch stabil sein, eine dauerhafte knöchernen Einheilung (Osseointegration) sowie einen guten Weichgewebeabschluss ermöglichen und eine gute Biokompatibilität aufweisen [68, 88]. Als Voraussetzung für eine optimale Gewebeverträglichkeit gilt ein inertes Verhalten des Materials, so dass eine Freisetzung von Korrosionsprodukten und der Abbau durch den menschlichen Körper nicht erfolgen [68, 88]. Die Biokompatibilität eines Materials wird unter anderem durch die chemische Zusammensetzung des Materials, der Rauigkeit und Topografie der Materialoberfläche sowie der Oberflächenbenetzbarkeit beeinflusst [80].

Titan (als Reintitan oder Titanlegierung) gilt als Goldstandard bei Implantat-/Abutmentmaterialien [69], mit einer guten Langzeitbewährung [3, 50] sowie einer hohen mechanischen Stabilität und guten Biokompatibilität [58, 88]. Nach der amerikanischen Standardisierungsorganisation „ASTM“ (American Society for Testing and Materials) stehen für die Verwendung dentaler Implantate und Abutments sechs verschiedene Titanarten zur Verfügung. Diese setzen sich aus vier Graden des Reintitans und zwei Titanlegierungen zusammen. Diese Titanlegierungen (Ti-6Al-4V

und Ti-6Al-4V-ELI) können in drei verschiedenen Phasen vorliegen (Alpha, Beta und Alpha-Beta), welche durch das Legieren mit anderen Metallen, wie Aluminium und Vanadium, entstehen. Je nach Zusammensetzung und thermischer Behandlung der Legierungen können Alpha- und Beta-Phasen koexistieren, wodurch die Ti-6Al-4V Legierungen favorisierte mechanische und physikalische Eigenschaften, wie geringe Dichte und hohe Resistenz gegenüber Ermüdung und Korrosion kombinieren [69]. Durch die hohe Sauerstoffaffinität bildet sich auf der Titanoberfläche eine passivierende Oxidschicht aus, welche das Material inert macht [80, 91].

In der Literatur werden allergische Reaktionen auf Titan nur in seltenen Fällen mit einer Prävalenz von 0,6 % aufgeführt [83, 95]. Es wurde hingegen auch dargelegt, dass nach dem Kontakt der Mukosa mit Titan, Metallionen aus dem Material freigelassen werden und durch die Komplexbildung mit nativen Proteinen als Allergene Hypersensitivitätsreaktionen auslösen können [49, 83]. Zudem wiesen Biopsieuntersuchungen des periimplantären Gewebes bei Patienten mit einer Periimplantitis eine erhöhte Menge an Titanelementen auf [32, 96].

In den 1990iger Jahren wurden keramische Abutments entwickelt, um ein dunkles Durchschimmern des Metalls durch das periimplantäre Weichgewebe zu verhindern und somit verbesserte ästhetische Resultate zu erlangen [63]. Eine gute Ästhetik kann so auch langfristig bei auftretenden Rezessionen der Gingiva aufrechtgehalten werden [53]. Zunächst wurden Abutments aus dichtgesinterter Aluminiumoxid-keramik verwendet. Nachfolgend wurden Abutments aus Zirkoniumdioxidkeramik eingeführt, welche im Vergleich zu den Abutments aus Aluminiumoxidkeramik eine geringere Frakturanfälligkeit und röntgendichte Eigenschaften aufweisen [51].

Konventionelle Zirkoniumdioxidkeramik der 1. Generation kann bei Umgebungsdruck abhängig von der thermischen Behandlung in drei verschiedenen Formen vorliegen (monokline Form bei Raumtemperatur bis 1170 °C, tetragonale Form zwischen 1170 und 2370 °C, kubische Form von 2370 °C bis zum Schmelzpunkt). Durch das Einbringen von stabilisierenden Oxiden (z.B. Yttriumoxid) in die Keramik, kann auch bei Raumtemperatur die metastabile tetragonale Form aufrechtgehalten werden, wodurch eine Volumenzunahme und damit entstehende Rissbilder in der Keramik vermieden werden können [69]. Die auf dem Markt gängigste Form der Zirkoniumdioxidkeramik ist die mit Yttriumoxid stabilisierte tetragonale Zirkoniumdioxidkeramik (3Y-TZP) [86], welche gute mechanischen Eigenschaften, wie eine Biegefestigkeit von 900-1200 MPa und eine Bruchzähigkeit von 9-10 MPa\*m<sup>1/2</sup>,

aufweist [103]. Durch eine Reduktion der Größe der Zirkoniumdioxid-Körner und einer Umplatzierung des Oxid-Gefüges konnte mit der Zirkoniumdioxidkeramik der 2. Generation eine verbesserte Transluzenz im Vergleich zur 1. Generation geschaffen werden. Da sowohl Zirkoniumdioxidkeramik der 1. und 2. Generation in ihrer Transluzenz Glaskeramiken unterlegen sind, wurde eine 3. Generation eingeführt, in welcher sich nicht nur die tetragonale Phase, sondern auch die kubische Phase metastabil zeigt. Mit erhöhter Transluzenz der drei Generationen nimmt allerdings die Festigkeit ab [86].

Hybrid-Abutments setzen sich aus einem individuellen Abutment aus Lithiumdisilikatkeramik und einer verklebten Titanbasis zusammen. Die Verklebung wird extraoral mittels eines adhäsiven Kompositkunststoffes, z.B. Multilink Hybrid Abutment (Ivoclar-Vivadent), durchgeführt und hat einen stabilisierenden Effekt, wodurch eine erhöhte Belastbarkeit resultiert [53]. Lithiumdisilikatkeramik (IPS e.max Press oder CAD) kann gepresst oder mittels CAD/CAM-Verfahren gefräst werden [17]. Mit der einstellbar hohen Transluzenz, welche im Vergleich zu allen drei Generationen der Zirkoniumdioxidkeramik signifikant höher ausfällt [87], weist Lithiumdisilikatkeramik gegenüber Zirkoniumdioxidkeramik ästhetische Vorteile auf [90]. Mit einer Biegefestigkeit von 360-400 MPa und Bruchzähigkeit von  $2,25 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$ , ist die Lithiumdisilikatkeramik in ihren mechanischen Eigenschaften allerdings der Zirkoniumdioxidkeramik unterlegen [17]. So weist die Lithiumdisilikatkeramik im Vergleich zur Zirkoniumdioxidkeramik der 3. Generation eine signifikant geringere Bruchfestigkeit auf [87].

Im Vergleich der verschiedenen Implantat-/Abutmentmaterialien ist Keramik in elastischen und plastischen Eigenschaften und damit in der mechanischen Stabilität Titan aufgrund der kovalenten Metall-Sauerstoff-Bindungen unterlegen. Die hohen Fünf-Jahres-Überlebensraten der sowohl keramischen als auch metallischen Abutments (zwischen 88 und 99 %) zeigen hingegen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Materialien bezüglich technischer und biologischer Komplikationsraten [45, 104]. In einer klinischen Studie mit 46 Patienten, welche nach Einsetzen von Titan- und Zirkoniumdioxidkeramik-Abutments die Präsenz von pro-inflammatorischen Zytokinen untersuchte, konnten nach sechs Monaten keine signifikanten Unterschiede im Entzündungsmediatorenprofil zwischen Titan- und Zirkoniumdioxidkeramik-Abutments festgestellt werden [7]. Bei einer weiteren Studie konnte in Bezug auf die Biofilmanordnung kein signifikanter Unterschiede zwischen Zirkoniumdioxidkeramik-

und Titanoberflächen festgestellt werden [37]. Allerdings zeigte sich auf Implantaten aus Zirkoniumdioxidkeramik weniger Plaqueakkumulation als auf solchen aus Titan [44]. Einige Studien zeigten, dass ein keramisches Abutment ein dunkles Durchschimmern des Metalls durch die Gingiva verhindern und somit zu einer verbesserten Ästhetik des periimplantären Weichgewebes führen konnte [23, 38, 39, 60]. Eine klinische Studie mit 25 Patienten zeigte hingegen keine signifikanten Unterschiede im ästhetischen Ergebnis der Gingiva im Vergleich von Titan- und Zirkoniumdioxidkeramik-Abutments [21].

Zusammenfassend sollen Implantatabutments folgende Eigenschaften aufweisen:

1. Gewährleistung der Stabilität des Weich- und Hartgewebes [59, 77, 94]
2. Keine oder geringe Abnutzung der Implantat-Abutment-Verbindung [18, 36, 62, 97]
3. Geringe Plaqueakkumulationsrate [1, 74, 76]
4. Biokompatibilität (keine allergische Reaktion, keine Stimulation des Immunsystems) [92, 93, 96]
5. Gute ästhetische Qualität (kein Durchschimmern von Metall durch die Gingiva) [38]
6. Ermöglichung der Anheftung des periimplantären Weichgewebes an das Abutment (Zelladhäsion der Gingivafibroblasten) [11, 76, 77]

### **1.3. Einfluss der Oberflächeneigenschaften des Abutments auf die Anheftung des periimplantären Gewebes**

Um eine bakterielle Penetration der oralen Mikroorganismen in den periimplantären Knochen zu verhindern, muss die Durchtrittsstelle des Abutments durch die Schleimhaut abgedichtet werden. Durch das chirurgische Trauma beim Setzen eines Implantats ist ein marginaler Knochenverlust von circa 0,6 mm unvermeidbar [4, 84]. Um ästhetische Einbußen zu verhindern, sollte ein darüber hinausgehender Knochenabbau möglichst vermieden werden [85]. Existiert keine suffiziente Abdichtung durch das Abutment umgebene Weichgewebe, besteht die Gefahr einer Infektion des periimplantären Gewebes, wodurch eine Periimplantitis mit potentiell resultierendem Knochenverlust und gegebenenfalls sogar ein Implantatverlust entstehen kann [11, 26, 76, 77].

Die periimplantäre Abdichtung wird durch die Anheftung der Fibroblasten des periimplantären Weichgewebes an das Abutment erfüllt. Diese sogenannte Zelladhäsion wird in diversen Studien als die Wechselwirkungen zwischen lebenden Zellen und Biomaterialien definiert [13, 14, 16, 17]. Diese Wechselwirkungen werden durch eine Interaktion von Van der Waals- und elektrostatischen Kräften hervorgerufen [6, 8]. Bei dem komplexen Mechanismus der Zelladhäsion kommt es zur Integration und Bindung von Membranproteinen in die Extrazellulärmatrix, einer Reformation des intrazellulären Zytoskeletts und Signaltransduktion [80].

Die Zone des periimplantären Weichgewebes wird als biologische Breite definiert und setzt sich in Richtung der Implantatlängsachse aus einem circa 1-2 mm langem Epithelsaum und dem circa 1-2 mm langen bindegewebigen Narbengewebe zusammen [10]. Die Anheftung wird dabei durch eine Basalmembran und zellulären Haftkomplexen, den Hemidesmosomen, erzeugt [52]. Das gebildete periimplantäre Weichgewebe ähnelt hierbei sowohl in seiner Zusammensetzung, als auch der Faserorientierung und Vaskularisierung Narbengewebe, wobei die Fibroblasten einen Ring um das Implantat bzw. das Abutment bilden [81].

Zellreaktionen und damit auch Zelladhäsion können durch Oberflächeneigenschaften modifiziert werden [16, 17]. Obwohl viele andere Parameter ebenfalls einen Einfluss auf die Zelladhäsion und -proliferation haben, zählen die Oberflächenrauigkeit und Benetzbarkeit zu den zwei wichtigsten Faktoren [17, 57]. Sowohl die Oberflächenrauigkeit als auch die Benetzbarkeit der Abutments variiert abhängig von

der Verarbeitung und der Auswahl des Materials. Dem Anspruch einer hohen Zelladhäsion steht allerdings der Wunsch nach einer geringen Biofilmbildung entgegen, da die Oberflächenmodifizierungen der Materialien entweder beide Eigenschaften fördern oder vermindern [17].

In Bezug auf die ideale Auswahl des Materials mit der höchsten Zelladhäsion liegen widersprüchliche Ergebnisse vor. So wurde zum einen gezeigt, dass auf metallischen Oberflächen (Reintitan, Titanlegierung und Goldlegierung) die Basalmembran und Hemidesmosomen stärker ausgebildet werden, als auf keramischen Oberflächen (Aluminiumoxidkeramik, Silikatkeramik) [29, 73]. Zum anderen gibt es Studien, welche keinen Unterschied in der Adhäsion und Proliferation von Gingivafibroblasten im Vergleich von Titan- zu Zirkoniumdioxidkeramik-Oberflächen zeigen konnten [70].

Die Oberflächenrauigkeit beeinflusst die In-vitro-Zellreaktionen in Bezug auf die Morphologie, Proliferation und Funktionalität der Zellen [90]. Einige Studien bestätigten, dass raue Titanoberflächen eine erhöhte Zellmigrations-/wachstumsrate und eine gesteigerte Expression von Extrazellulärmatrix fördern konnten [2, 67, 102]. Andere Studien zeigten, dass - verglichen mit aufgerauten Titanoberflächen - auf polierten Titanoberflächen eine erhöhte Expression von Fibronectin (zelluläres Adhäsionsmolekül) und gesteigerte Zellproliferation stattfinden konnte [29, 46, 47, 55]. Die In-vitro-Studie von *Rutkunas et al.* [2015] untersuchte die Zelladhäsion von humanen Gingivafibroblasten auf polierten und korundgestrahlten Titan- und Zirkoniumdioxidkeramik-Oberflächen. Es wurde zum einen die Anzahl der adhärenen Zellen, wie auch die Expression der fokalen Adhäsionskinase (FAK) als Untersuchungsmethoden der Adhäsion betrachtet. In absteigender Reihenfolge zeigte sich die stärkste Adhäsion auf korundgestrahltem Titan, poliertem Titan, korundgestrahlter Zirkoniumdioxidkeramik und polierter Zirkoniumdioxidkeramik [80]. In der Studie von *Teté et al.* [2014] wurde sowohl Zellmorphologie, Proliferation und Adhäsion von humanen Gingivafibroblasten auf Zirkoniumdioxidkeramik, Lithiumdisilikatkeramik und Feldspatkeramik mit polierten und nicht bearbeiteten Oberflächen nach drei, 24 und 72 Stunden untersucht. Es stellte sich heraus, dass die Zellen auf den nicht bearbeiteten rauen Oberflächen längere Zeit zum Adaptieren brauchten als auf den polierten Oberflächen. Darüber hinaus zeigte sich eine erhöhte Sekretion von Kollagentyp I, ein wichtiges Protein der Extrazellulärmatrix bei der Zelladhäsion [56], auf den polierten Zirkoniumdioxidkeramik-Probekörpern im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen [90]. Im Gegensatz dazu zeigte sich in

einer anderen In-vitro-Studie eine bessere Adhäsion der Gingivafibroblasten auf rauhen als auf polierten Zirkoniumdioxidkeramik-Oberflächen [70]. Ergebnisse, die keinen signifikanten Unterschied in der Adhäsion auf polierten, maschinieren und mittels Säure-Ätz-Technik vorbereiteten Titan- und Zirkoniumdioxidkeramik-Probekörpern nachweisen konnten, liegen ebenfalls vor [105]. *Brunot-Gohin et al.* [2013] untersuchten die Adhäsion von Epithelzellen auf Lithiumdisilikatkeramik. Es stellte sich eine höhere Anzahl an adhärenen Epithelzellen auf rauhen im Gegensatz zu polierten und glasierten Lithiumdisilikatkeramik-Oberflächen dar [17].

Als Maß für die Oberflächenbenetzbarkeit eines Materials durch eine Flüssigkeit dient der Kontaktwinkel [17, 27, 66, 75]. Die gängigste Methode, um die Oberflächenbenetzbarkeit mittels der Kontaktwinkelmessung zu untersuchen, ist die „Sessile Drop“-Technik, wobei der Flüssigkeitstropfen statisch auf der zu untersuchenden Oberfläche liegt. Dabei wird der Winkel zwischen der Tangente des Tropfens und der Horizontalen der Oberfläche betrachtet. Dieser Winkel kann zwischen  $0^\circ$  und  $180^\circ$  liegen, wobei ein Material mit einem Kontaktwinkel  $< 90^\circ$  als hydrophil und  $> 90^\circ$  als hydrophob bezeichnet wird. Die Form des Tropfens und damit auch die Größe des Kontaktwinkels wird durch die Gravitationskraft (welche den Tropfen abflacht) und der Oberflächentensionskraft (welche die totale Oberflächenenergie auf den Tropfen minimiert und damit dem Tropfen eine Kugelform gibt) beeinflusst [78].

Der Kontaktwinkel kann ein Indiz für die Proteinadsorption von Biomaterialien sein [17, 27, 66, 75]. Sobald eine hydrophobe Oberfläche die Benetzbarkeit mit Wasser unterdrückt, wird damit auch die Interaktion der Proteine mit der Oberfläche erschwert. Somit wird die Menge der adsorbierenden Proteine durch die Erhöhung der Oberflächenbenetzbarkeit beeinflusst. Andererseits kann einer Erhöhung der Oberflächenbenetzbarkeit auch die hydrophoben Wechselwirkungen zwischen den Proteinen und der Oberfläche verringern, was eine geringere Adsorptionsaffinität zur Folge hat [26]. Es ist bekannt, dass hydrophile Oberflächen die Zelladhäsion, Zelldifferenzierung und Zellproliferation verstärken [28, 34, 43]. Hydrophile Oberflächen interagieren direkt mit biologischen Medien und ermöglichen damit die Proteinadsorption und Interaktion mit Zellrezeptoren. Hydrophobe Oberflächen hingegen sind anfällig für Kohlenwasserstoffkontamination, welche zu Lufteinschlüssen führen können und somit die Proteinadsorption und Rezeptorinteraktion stören [34].

Obwohl die Heilung von Weich- und Hartgewebe um das dentale Implantat ausschlaggebend für den klinischen Erfolg ist, ist der Einfluss der verschiedenen Abutmentoberflächen auf die Zelladhäsion des Weichgewebes nur geringfügig und mit uneinheitlichen Ergebnissen wissenschaftlich dokumentiert [67]. Die meisten Studien untersuchten allein Titan als Abutmentmaterial oder verglichen Titan- und Zirkoniumdioxidkeramik-Abutments miteinander. Vergleichende Studien von Titan, Zirkoniumdioxidkeramik und Lithiumdisilikatkeramik als wichtige Abutmentmaterialien sowie wie Vergleiche zu adhäsivem Kompositkunststoff und Dentin, als natürliches Referenzmaterial, fehlen bisher in der wissenschaftlichen Literatur.

Als Untersuchungsmethode der Zelladhäsion wurden bisher nur die Anzahl der adhärenen Zellen nach bestimmten Inkubationszeiten oder die Expression von Adhäsionsproteinen oder -kinasen, wie beispielsweise Fibronectin, Kollagen Typ I oder FAK, analysiert [17, 70, 80, 90, 105]. Hierbei wurden nur wenige anatomische Beschreibungen ausgeführt [2, 19, 20]. Selten wurden biochemische und physiologische Parameter des Zellumbaus und der Zelladhäsionseigenschaften untersucht [67].

Mit Hilfe der Einzelzellkraft-Spektroskopie (engl. single-cell force spectroscopy) ist es möglich, die Kraft der Zelladhäsion einzelner Zellen an einer Oberfläche bis hin zum einzelmolekularen Level zu bestimmen. Hierbei wird mit einem atomaren Kraftmikroskop (AFM, engl. atomic force microscope), in Kombination mit einem optischen Mikroskop, die zelluläre Interaktion mit ihrer Umgebung analysiert. Dies ermöglicht es, Transmembranproteine in ihrer natürlichen Umgebung zu studieren [9]. *Herranz-Diez et al.* [2015] untersuchten mit diesem Verfahren die Zelladhäsion von mesenchymalen Rattenzellen auf Titan als orthopädisches Implantatmaterial [42]. Für die Untersuchung von dentalen Implantat-Abutmentmaterialien wurde diese Untersuchungsmethode bisher noch nicht verwendet.

## 1.4. Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es durch Zellabzugsversuche, mittels Einzelzellkraft-Spektroskopie, die Adhäsion einzelner humaner Gingivafibroblasten zu untersuchen. Hierbei wurden fünf verschiedene Materialien (humanes Dentin, Zirkoniumdioxidkeramik, Titanlegierung, Kompositkunststoff und Lithiumdisilikatkeramik) mit jeweils drei verschiedenen Rauigkeitsstufen (maschiniert, poliert und rau) betrachtet. Neue Erkenntnisse über die Zelladhäsionseigenschaften dieser Materialien sollten dadurch erlangt und Zusammenhänge zwischen der Oberflächenrauigkeit, der Oberflächenbenetzbarkeit und der Zelladhäsion herausgearbeitet werden.

Dabei galt die folgende Nullhypothese:

„Die verschiedenen Abutmentmaterialien, die Benetzbarkeit der Oberflächen mit Wasser und die Oberflächenrauigkeiten haben keinen Einfluss auf die Abzugskraft von Gingivafibroblasten.“

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Materialien der Probekörper

In der vorliegenden Studie wurden mit humanem Dentin (HD), Zirkoniumdioxidkeramik (Zr), einer Titanlegierung (Ti), einem Kompositkunststoff Multilink Hybrid Abutment (ML) und Lithiumdisilikatkeramik (LS) fünf verschiedene Materialien untersucht, wobei die genaue Zusammensetzung dieser Materialien im Folgenden erläutert wird. Die Zirkoniumdioxidkeramik (Zirlux FC2 U5; Camlog Dedicam) setze sich zusammen aus  $Zr_2O$  (>91 %)<sup>1</sup>,  $Y_2O_3$  (5,3 %),  $Al_2O_3$  (<0,15 %) und  $HfO_2$  (<3 %). Die verwendete Titanlegierung (Ti-6Al-4V ELI ASTM F 136; aus Rohlingen für das Fräsen von individuellen Conelog Abutments, Camlog Dedicam, Wimsheim, Deutschland) bestand aus Ti (88,3-90,4 %), Al (5,5-6,6 %), V (3,5-4,5 %) und geringen Anteilen von C, Fe, O, N und H (alle < 0,13 %). Der Kompositkunststoff (Multilink Hybrid Abutment; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) bestand aus einer Basispaste, welche sich aus  $Yb_3F_3$  (10-25 %), Ethoxylat-Bisphenol-A-Dimethacrylat (10-25 %), Bis-GMA (10-25 %), 2-Hydroxyethyl-Methacrylat (3-10 %) und 2-Dimethylaminoethylmethacrylat (0,3-1 %) zusammensetzte und einer Katalysatorpaste bestehend aus  $Yb_3F_3$  (10-25 %), Ethoxylat-Bisphenol-A-Dimethacrylat (10-25 %), Urethandimethacrylat (3-10 %), 2-Hydroxyethyl-Methacrylat (3-10 %) und Dibenzoylperoxid (1-2,5 %).

Die Lithiumdisilikatkeramik (IPS e.max CAD MO3; Camlog Dedicam) bestand aus  $SiO_2$  (57-80 %),  $Li_2O$  (11-19 %),  $KO_2$  (0-13 %),  $P_2O_5$  (0-11 %),  $ZrO_2$  (0-8 %),  $ZnO$  (0-8 %) und anderen Oxiden und Pigmenten (circa 7 %).

Die Maße der Probekörper betragen 10 x 10 x 1 mm (Tiefe x Breite x Höhe), mit Ausnahme der HD-Probekörper, welche kleine natürliche Ungenauigkeiten in Breite und Tiefe aufwiesen. Die Zr-, Ti- und LS-Probekörper wurden von der Firma Camlog Dedicam (Wimsheim, Deutschland) im CAD/CAM-Verfahren hergestellt. Die Probekörper aus HD und ML wurden hingegen in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik, Propädeutik und Werkstoffkunde des UKSH, Campus Kiel, angefertigt (siehe Kapitel 2.2.1 und 2.2.2).

---

<sup>1</sup> Im Folgenden sind alle Prozentangaben in Gewichtsprozent aufgeführt

## 2.2. Aufbereitung der Probekörper

### 2.2.1. Herstellung der Dentinprobekörper

Vierundzwanzig intakte humane extrahierte Weisheitszähne wurden nach der Aufklärung und Zustimmung der Patienten über den wissenschaftlichen Gebrauch der Zähne gesammelt. Die Zähne wurden in einer 0,1 %igen thymolgesättigten isotonischen Kochsalzlösung bei 4 °C gelagert und innerhalb eines Monats verwendet. Um die Zähne als Probekörper verwenden zu können, wurde eine horizontale Scheibe von 2 mm aus der Mitte der Zahnkrone mit einer Diamantsäge (Isomet 1000, Precision saw (Einstellung: Speed 975); Bühler, Lake Bluff, IL, USA; siehe Abbildung 2 (a)) unter Wasserkühlung gewonnen (siehe Abbildung 2 (b)). Die nach okklusal gerichteten Oberflächen wurden unter einem Stereomikroskop (Wild Makroskop M420, Heerbrugg, Schweiz) bei 10-facher Vergrößerung auf das Fehlen von Schmelzanteilen geprüft. Um die Probekörper vor dem Austrocknen zu schützen, wurden diese vor und nach den Untersuchungen in de-ionisiertem Wasser gelagert und während der Zellabzugsversuche in einer mit flüssigem Medium (CO<sub>2</sub> unabhängiges Medium; CLS Cell Lines Service, Eppelheim, Deutschland) gefüllten Petrischale feuchtgehalten.



Okklusalfäche

2 mm starke  
horizontale Scheibe als  
Probekörper

Wurzel

Abbildung 2 (a, links): Diamantsäge Isomet 1000, die zum Zersägen der Zähne verwendet wurde; 2 (b, rechts) Das Beispiel eines zersägten Zahnes mit der gewonnenen 2 mm dicken Probekörperscheibe (Mitte)

### 2.2.2. Herstellung der Kompositkunststoff-Probekörper

Bei dem verwendeten Kompositkunststoff Multilink Hybrid Abutment (ML) handelte es sich um einen chemisch härtenden dentalen Kleber. Zur Herstellung der Probekörper wurde zunächst ein Ti-Probekörper mit Hilfe einer Silikonabformung (Gammasil perfect TEC A85, Müller-Omicron, Köln, Deutschland) in die negative Form überführt. ML wurde nach Herstellerangaben angemischt und in die Silikonform eingebracht. Durch

das Auftragen von Glyceringel (Liquid Strip, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) auf den Kompositkunststoff wurde die Bildung einer sauerstoffinduzierten Inhibitionsschicht verhindert und die Abbindung des Klebers innerhalb von sieben Minuten ermöglicht. Im Anschluss erfolgte die vollständige Autopolymerisierung des Befestigungskompositkunststoffs im Wärmeschrank bei 37 °C für 24 Stunden in destilliertem Wasser.

### **2.2.3. Vorbereitung der Oberflächenrauigkeiten**

Bei der Herstellung der Oberflächenbeschaffenheit der Probekörper wurden drei verschiedene Rauigkeiten angestrebt: maschinert (m), poliert (p) und rau (r). Um die Probekörper miteinander vergleichen zu können, galt als Zielsetzung bei der Herstellung der Oberflächenrauigkeiten das Erreichen gleicher Werte für die gemittelte Rautiefe (Rz) und den arithmetischen Mittelrauwert (Ra) für alle Materialien bei gleichen Rauigkeitsstufen (siehe Kapitel 2.3.1 Evaluation der Oberflächenrauigkeit). Die Aufbereitung zu den entsprechenden Rauigkeiten erfolgte, bis auf die maschinerten und polierten Oberflächen des Zr und ML, bei allen Probekörpern mittels einer Schleifmaschine (AutoMet 250, Buehler, Lake Bluff, IL, USA; siehe Abbildung 3). Hierbei wurden Schleifpapiere der Körnung P 600, P 1200, P 2500 und P 4000 (Siliziumkarbidschleifpapier, AutoMet, Buehler) verwendet.



Abbildung 3: Schleifmaschine AutoMet 250 zur Aufbereitung der Oberflächenrauigkeiten aller Probekörper, mit Ausnahme der maschinerten und polierten Oberflächen des Zr und ML

### 2.2.3.1. Vorbereitung der maschinieren Oberflächen

Als Anhaltspunkt für die maschinieren Oberflächen dienten die Oberflächenrauigkeiten der Titanlegierung und Keramikprobekörper bei Lieferung, welche anhand der Untersuchung der Oberflächenrauigkeit mittels eines 3D-Laserscanmikroskops (siehe Kapitel 2.3.1 Evaluation der Oberflächenrauigkeit) evaluiert wurden. Nach der Bearbeitung entsprechend der rauen Oberflächen, mit Ausnahme des Abstrahlens mit  $Al_2O_3$ , wurden die maschinieren Oberflächen mit den Schleifpapieren feinerer Körnung erzeugt. Folgende Einstellungen wurden dabei verwendet (Tabelle 1):

Tabelle 1: Vorbereitung der maschinieren Oberflächen

Material	Schleifmedium	Schleifdruck in Newton	Zeit in Sekunden
Dentin	P 1200 Siliziumkarbidschleifpapier mit Wasserkühlung	20 N	30 s
Zirkoniumdioxidkeramik	mechanisch mittels Handstücks und erster Stufe des zweistufigen Poliersystems (blauer Vorpolierer, Komet Dental Gebr. Brasseler, Lemgo, Deutschland) ohne Wasserspraykühlung	600 U/min	30 s
Titanlegierung	P 1200 Siliziumkarbidschleifpapier mit Wasserkühlung	20 N	120 s
Kompositkunststoff Multilink	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. P 1200 Siliziumkarbid-schleifpapier mit Wasserkühlung</li> <li>2. P 2500 Siliziumkarbid-schleifpapier mit Wasserkühlung</li> <li>3. gelbe Silikonscheibe (HS-Silikonpolierer, Körnung fein, gelb, Henry Schein Dental, Melville, NY) ohne Wasserspraykühlung</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Handdruck</li> <li>2. Handdruck</li> <li>3. 700 U/min</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 20 s</li> <li>2. 30 s</li> <li>3. 30 s</li> </ol>
Lithiumdisilikatkeramik	P 1200 Siliziumkarbidschleifpapier mit Wasserkühlung	20 N	60 s

### 2.2.3.2. Vorbereitung der polierten Oberflächen

Die polierten Oberflächen wurden nach der Bearbeitung entsprechend der maschinieren Oberflächen, wie in Tabelle 2 dargestellt, unter folgenden Einstellungen weiter aufbereitet:

Tabelle 2: Vorbereitung der polierten Oberflächen

Material	Schleifmedium	Schleifdruck in N / Umdrehung pro Minute	Zeit in Sekunden
Dentin	1. P 2400 Siliziumkarbid-schleifpapier mit Wasserkühlung 2. P 4000 Siliziumkarbid-schleifpapier mit Wasserkühlung	1. 20 N 2. 20 N	1. 40 s 2. 90 s
Zirkoniumdioxidkeramik	mechanisch mittels Handstücks und zweiter Stufe des zweistufigen Poliersystems (hellgrauer Hochglanzpolierer, Komet Dental Gebr. Brasseler, Lemgo, Deutschland) ohne Wasserspraykühlung	600 U/min	30 s
Titanlegierung	P 2400 Siliziumkarbidschleifpapier mit Wasserkühlung	20 N	240 s
Kompositkunststoff Multilink	Wollschabbel hart und weich (Henry Schein Dental, Melville, NY) ohne Wasserspraykühlung	1000 U/min	30 s
Lithiumdisilikatkeramik	P 2500 Siliziumkarbidschleifpapier mit Wasserkühlung	20 N	120 s

### 2.2.3.3. Vorbereitung der rauen Oberflächen

Die rauen Oberflächen wurden mittels einer P 600 Schleifscheibe erzeugt. Wie in Tabelle 3 dargestellt, wurden dabei folgende Einstellungen für die verschiedenen Materialien gewählt:

Tabelle 3: Vorbereitung der rauen Oberflächen

Material	Schleifmedium	Schleifdruck in Newton	Zeit in Sekunden
Dentin	P 600 Siliziumkarbidschleifpapier mit Wasserkühlung	20 N	15 s
Zirkoniumdioxidkeramik	P 600 Diamantscheibe (Apex DGD Diamantscheibe, gelb, 35 $\mu$ m, $\Phi$ 254 mm (10“), Buehler, Lake Bluff, IL, USA) mit Wasserkühlung	20 N	120 s
Titanlegierung	P 600 Siliziumkarbidschleifpapier mit Wasserkühlung	20 N	60 s
Kompositkunststoff Multilink	P 600 Siliziumkarbidschleifpapier mit Wasserkühlung	Handdruck	10 s
Lithiumdisilikatkeramik	P 600 Siliziumkarbidschleifpapier mit Wasserkühlung	20 N	30 s

Anschließend wurden die Oberflächen mit Aluminiumoxid ( $Al_2O_3$ ) bei einem Strahldruck von 0,25 MPa, einer Korngröße von 50  $\mu$ m, für eine Zeit von 15 Sekunden und einem Fließvolumen von Stufe 6 (gerätespezifische Einstellung) gleichmäßig abgestrahlt (sogenanntes Korundstrahlen mittels Punktstrahlgerät P-G 400, Harnisch und Rieth, Winterbach, Deutschland).

## 2.3. Reinigung der Probekörper

Nach der Herstellung der entsprechenden Rauigkeiten wurden die Proben mit Wasser abgesprüht und im Ultraschallbad für zehn Minuten in de-ionisiertem Wasser gereinigt, um Polierrückstände zu entfernen (Ultraschallbad, Bandelin, Berlin, Deutschland). Nach der Reinigung wurden die Oberflächen mit ölfreier Druckluft getrocknet.

### 2.3.1. Evaluation der Oberflächenrauigkeiten

Die Evaluation der Oberflächenrauigkeiten erfolgte in 20facher Vergrößerung mit einem 3D-Laserscanmikroskop (Laser Microscope 3D & Profile Measurement, Keyence VK – X100 Series, Keyence Deutschland, Neu-Isenburg, Deutschland; siehe Abbildung 4).

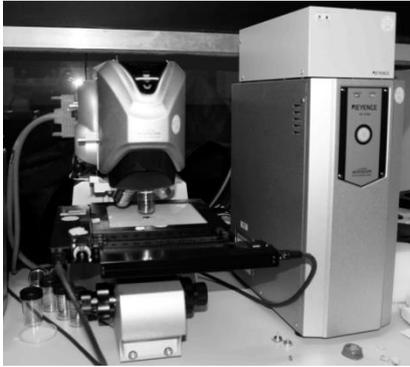


Abbildung 4: 3D-Laserscanmikroskop zur Evaluation der Oberflächenrauigkeit in 20facher Vergrößerung

Nach der Aufnahme eines  $500 \times 1.000 \mu\text{m}$  großen Ausschnittes der Oberflächen wurden diese mit der Analysesoftware VK-H1XAD (Keyence Deutschland) analysiert und die Werte der arithmetischen Mittelrauwerte ( $R_a$ ) und der gemittelten Rautiefen ( $R_z$ ) bestimmt. Der arithmetische Mittelrauwert, ist der am häufigsten verwendete Parameter zur Beschreibung von Oberflächenrauigkeiten. Da  $R_a$  jedoch nicht zwischen Flächen, die aus einer glatten Oberfläche mit einzelnen Peaks bestehen und Flächen, die sich aus Mulden gleicher Amplitude zusammensetzen, unterscheiden kann, wurde zusätzlich die gemittelte Rautiefe bestimmt [98]. Die Zielsetzung war dabei das Erreichen gleicher Werte für  $R_z$  und  $R_a$  für alle Materialien bei gleichen Rauigkeitsstufen.

Um Abweichungen der Oberflächenrauigkeiten zwischen den verschiedenen Materialien zu reduzieren, wurden aus den acht Probekörpern gleichen Materials und gleicher Rauigkeitsgruppierung jeweils drei Probekörper ausgewählt, welche ähnliche  $R_a$ - und  $R_z$ -Werte aufwiesen. Diese 45 Probekörper wurden dann im Weiteren verwendet (5 Materialien, 3 Rauigkeitsgruppierungen, jeweils 3 Probekörper). Nach der Oberflächenqualitätskontrolle wurden die Probekörper erneut mit Wasser abgesprüht, im Ultraschallbad für zehn Minuten mit de-ionisiertem Wasser gereinigt und Luft getrocknet. Bis zur weiteren Versuchsdurchführung wurden die Probekörper

in Aluminiumfolie gewickelt und so staub- und luftdicht abgedeckt, um Kontaminationen zu vermeiden.

## 2.4. Kontaktwinkelmessung

Die Kontaktwinkelmessung erfolgte mit 21-24 °C warmen Leitungswasser mit Hilfe des „Contact Angle System OCA“ und der Analysesoftware „SCA20 für Windows“ (DataPhysics Instruments, Filderstadt, Deutschland). Es wurden jeweils sechs Wassertropfen auf jedem Probekörper gemessen, wobei dabei jeweils der linke und rechte innere Winkel des Wassertropfens zur Horizontalen betrachtet wurde (Abbildung 5). Somit ergaben sich pro Probekörper 12 gemessene Winkel [17, 35]. Diese sogenannte „sessile drop“ Methode ist die allgemein gängigste Technik der Kontaktwinkelmessung [78].



Abbildung 5: Skizze eines beispielhaften Wassertropfens, gemessene Winkel markiert mit weißen Pfeilen

## 2.5. Zellkultur

Die humanen Gingivafibroblasten (CLS Cell Lines Service, Eppelheim, Deutschland) wurden gefroren (Freezing Medium: 40 % DNEM, 50 % FCS, 10 % DMSO) geliefert. Sie wurden nach Herstellerangaben aufgetaut und als Zellkultur angelegt. Das Arbeiten mit den Zellkulturen erfolgte unter einer Sterilwerkbank. Vor der Verwendung wurden das Medium (DNEM HAM`S F12, CIS: 820 400, CLS Cell Lines Service, Eppelheim, Deutschland) und die phosphatgepufferte Salzlösung (PBS, Sigma-Aldrich Chemie, St. Louis, MO, USA) auf 37 °C erwärmt. Um neue Zellkulturen anzulegen oder die Zellen für das Experiment vorzubereiten, wurde zunächst das Medium mit einer Pipette entfernt. Im Anschluss daran wurde mit PBS gespült und diese wieder verworfen. Nach der Zugabe von 1 ml Acutase (Sigma-Aldrich Chemie) lagerten die Zellen zwei Minuten im Inkubator (Binder, Tuttlingen, Deutschland; Einstellung: Temperatur 37 °C und CO<sub>2</sub>-Gehalt 4% (diese Parameter wurden für das gesamte Experiment verwendet); siehe Abbildung 6 (a)). Die Acutase bewirkte das Ablösen der

adhärenten Fibroblasten vom Boden der Flasche. Sobald das Ablösen der Zellen unter dem Mikroskop (Olympus, Hamburg, Deutschland) bei zehnfacher Vergrößerung verifiziert wurde, wurden 5 ml Medium dazugegeben und die Suspension für fünf Minuten bei 8 x g (Erdbeschleunigung) zentrifugiert (Biofug primo, Heraeus, Hanau, Deutschland; siehe Abbildung 6 (b)). Im Folgenden wurde das überschüssige Medium verworfen und je nach gewünschter Konzentration frisches Medium dazugegeben (verwendete Konzentration bei Versuchsdurchführung 1:5). Durch mehrmaliges Aufnehmen und Abgeben der Suspension mit der Pipette wurden die Zellen gelöst und für das Experiment oder die Lagerung im Inkubator vorbereitet.



Abbildung 6: (a, links) Inkubator/Brutschrank zur Kultivierung der Zellen; (b, rechts) Zentrifuge zum Trennen der Zellen von der Suspension

## 2.6. Zellabzugsversuche

### 2.6.1. Atomkraftmikroskop, Grundlagen zur Einzelzellkraft-Spektroskopie

Bei der verwendeten Einzelzellkraft-Spektroskopie (engl. single-cell force spectroscopy) wurde mit einem atomaren Kraftmikroskop (AFM, engl. atomic force microscope, siehe Abbildung 8 (b)) sowie einem optischen Mikroskop (Nanowizard III, CellHesion; JPK Instruments, Berlin, Deutschland und IX71, Olympus, Hamburg, Deutschland) die Kraft bestimmt, welche notwendig ist, um einzelne Zellen von den Materialien zu lösen.

Die Einzelzellkraft-Spektroskopie wurde entwickelt, um die Kraft der Zelladhäsion an einer Oberfläche oder an anderen Zellen bis hin zum einzelmolekularen Level zu bestimmen. Die Kombination des optischen Mikroskops mit dem AFM erleichtert die Positionierung der zu untersuchenden Zellen [8].

In der Versuchsreihe wurden die spitzenlosen  $\text{Si}_3\text{N}_4$  Cantilever MLCT-010 (Bruker, Camarillo, Kalifornien, USA) verwendet. Jeweils sechs Cantilever sind am sogenannten Chip befestigt (siehe Abbildung 7). Der Chip wurde im AFM eingespannt, so dass die in den Versuchen verwendeten Cantilever (C, D, E oder F) frei beweglich waren.

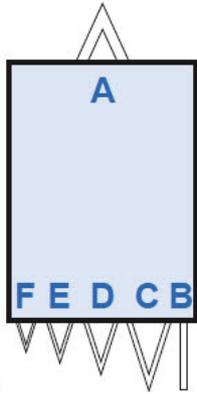


Abbildung 7: Chip mit sechs Cantilevern, bei folgender Versuchsdurchführung wurden die Cantilever C, D, E oder F verwendet (Abbildung stammt aus dem Cantilever Layout der Firma Bruker, mit freundlicher Genehmigung der Firma Bruker, Camarillo, Kalifornien, USA)

Diese Cantilever sind horizontal fixiert und daher ausschließlich in vertikaler Richtung beweglich. Die Auslenkung des Cantilever als Funktion der Piezobewegung in Z-Richtung wird aufgezeichnet und in die Kraft-Dehnungs-Kurve übersetzt (siehe Abbildung 8 (a)). Die Cantilever weisen bei geringer Auslenkung ein Hookesches Federverhalten auf, wodurch die Cantilever-Auslenkung linear proportional zu der auslenkenden Kraft ist. Anhand der in der JPK AFM Software integrierten Wärme-Geräusch-Methode werden die Cantilever unter Versuchsbedingungen in einer Fluidkammer bei 37 °C kalibriert, um die spezielle Federkonstante der Cantilever zu bestimmen. Mittels dieser bestimmten Federkonstanten kann somit die Cantilever-Auslenkung in die jeweilige Kraft umgerechnet werden [30, 41].

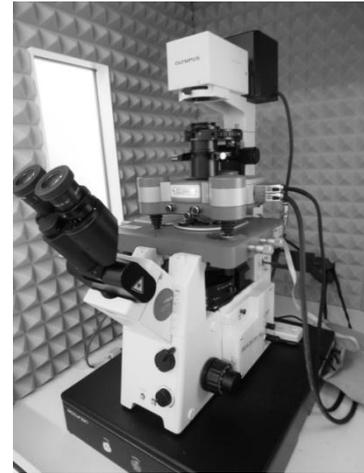
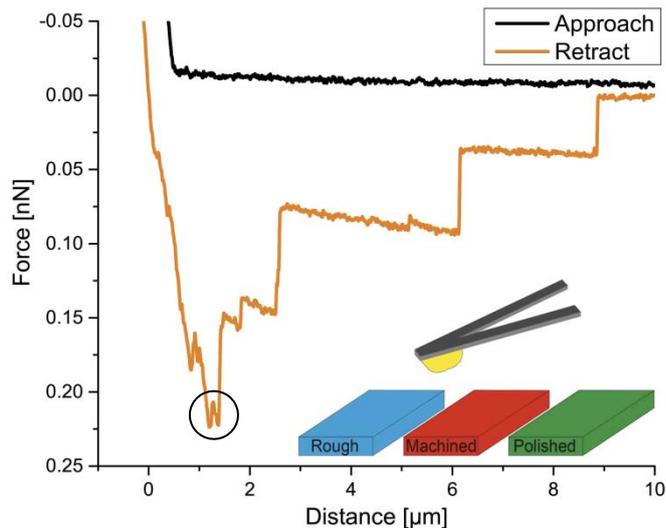


Abbildung 8 (a, links) Beispielhafte AFM Kraft-Dehnungskurve, Annäherung (engl. approach; schwarze Linie) und Rückzug (engl. retract; orangene Linie) als grafische Darstellung des Abzugs einer humanen Gingivafibroblastzelle von einem polierten Probekörper aus Zr nach einer Kontaktzeit von einer Sekunde, max. Abzugskraft mit schwarzem Kreis markiert; (b, rechts) AFM zur Bestimmung der Kraft, welche notwendig ist, um einzelne Zellen von den Materialien zu lösen

Die Rückzugskurve (retract) beschreibt den Abtrennungsprozess. Die höchste aufgenommene Bindungskraft, in Bezug zur Abzugskraft, repräsentiert die maximale Zell-Substrat-Adhäsionskraft und ist in der Kraft-Dehnungskurve in Abbildung 8 (a) mit dem schwarzen Kreis markiert. Die Versuchsdurchführung in der Fluidkammer in Verbindung mit dem PetriDish-Heater ermöglicht eine konstante Temperatur von 37 °C, unter welcher die meisten Säugetierzellen einen optimalen Metabolismus zeigen und die temperaturabhängige Viskosität der Zellmembran konstant gehalten werden kann [40].

## 2.6.2. AFM-Cantilever-Funktionalisierung

Die AFM-Cantilever-Funktionalisierung erfolgte nach der von *Wojcikiewicz et al.* [2004] beschriebenen Methode [82, 100]. Die Funktionalisierung ist in Abbildung 10 schematisch dargestellt. Zunächst erfolgte für den Chip ein fünfminütiges Tauchbad in Aceton. Auf einem Parafilmstreifen in einer Petrischale wurde der Chip über Nacht in Biotin-BSA (0,5 mg/ml in 0.1 M Natriumbikarbonat, pH-Wert 8,6; Sigma) bei 37 °C im Inkubator belassen. Im Anschluss daran erfolgte eine ausführliche Waschung in PBS, um ungelöste Proteine zu entfernen. Der Chip war bis zu einer Woche in PBS bei 4 °C lagerbar. Nun wurde der Chip in einem Tropfen Streptavidin (0,5 mg/ml in 1xPBS; S4762, Sigma, Deutschland) für zehn Minuten bei Raumtemperatur belassen und im

Anschluss wieder in PBS gewaschen. Die folgende Inkubation mit einem Tropfen Biotin-Concanavalin A (0,2 mg/ml in 1xPBS; Sigma) bei Raumtemperatur, wie in Abbildung 9 (a) dargestellt, erfolgte für mindestens 20 Minuten. Das Biotin-Concanavalin A ermöglichte die Verbindung zwischen der Glykokalyx der Gingivafibroblasten und den Cantilevern [61, 82]. Nach anschließendem Waschen in PBS, wie in Abbildung 9 (b) dargestellt, war der Chip für ein Experiment vorbereitet.

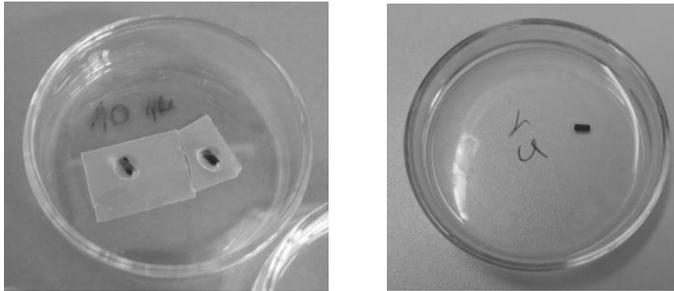


Abbildung 9: (a, links) Chip zur Inkubation in einem Tropfen in ConA; (b, rechts) Chip zum Waschen in einem Tropfen PBS

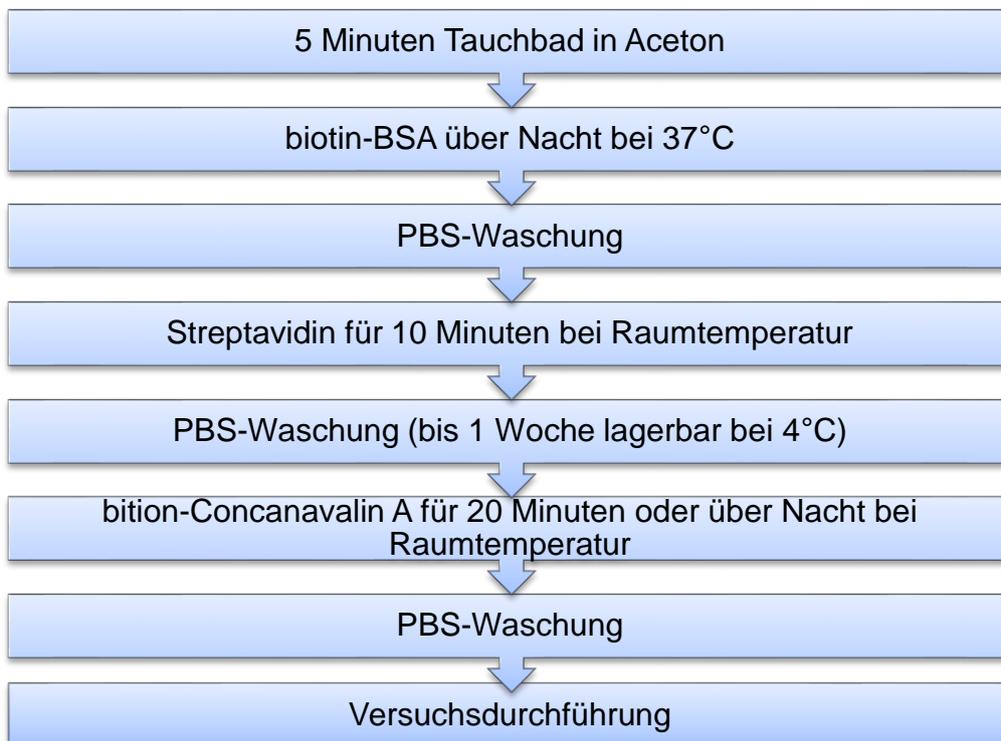


Abbildung 10: AFM-Cantilever-Funktionalisierung

### 2.6.3. Versuchsdurchführung

Drei Probekörper wurden, wie in Abbildung 11 gezeigt, nebeneinander auf einer Petrischale mit „Reprorubber“ (Flexbar, Long Island, NY, USA) befestigt. In den folgenden Versuchen wurden die drei Probekörper nacheinander mit derselben Zelle getestet.

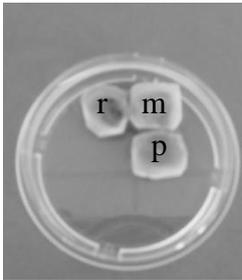


Abbildung 11: Petrischale mit drei durch „Reprorubber“ befestigten Dentinprobekörpern, oben links rau, oben rechts maschinert, unten rechts poliert

Die Petrischale wurde mit CO<sub>2</sub> unabhängigem Medium (CLS Cell Lines Service, Eppelheim, Deutschland) oberflächenabdeckend gefüllt. Anschließend wurde die Petrischale in die dafür vorgesehene Vorrichtung des AFM gestellt (siehe Abbildung 12 (a)) und der PetriDish-Heater (siehe Abbildung 12 (b)) eingeschaltet.

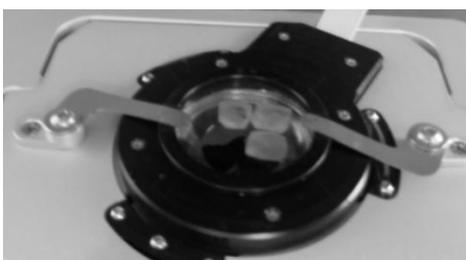


Abbildung 12: (a, links) Petrischale mit 3 Dentinprobekörpern im AFM; (b, rechts) PetriDish Heater zum Erwärmen des CO<sub>2</sub> unabhängigen Mediums in der Petrischale auf 37 °C

Nach dem Erreichen der konstanten Temperatur von 37 °C wurde nun eine geringe Menge der vorbereiteten Zellsuspension mit einer Pipette in die Fluidkammer eingebracht. Direkt im Anschluss wurde der Cantilever bis zu einer Anpresskraft von etwa 5 nN auf eine Zelle gepresst und für acht Sekunden auf dieser Höhe belassen. Im Anschluss wurde der Cantilever nun mit der adhärenter Zelle vorsichtig angehoben

und für 15 Minuten nicht bewegt, um eine feste Verbindung zwischen dem Cantilever und der Zelle zu gewährleisten [9, 31, 82], wie in Abbildung 13 gezeigt.

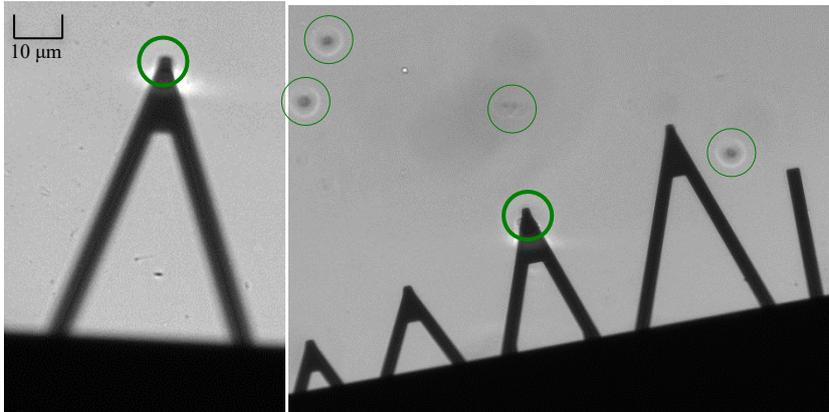


Abbildung 13: Phasenkontrastmikroskopbilder von Cantilever und Zelle im AFM; links ein Cantilever mit adhärenz lebender Zelle (dicker grüner Kreis), rechts alle 5 Cantilever eines Chips mit einer adhärenz lebenden Zelle am mittleren Cantilever (dicker grüner Kreis) und freien Zellen in der Umgebung (dünne grüne Kreise)

Anschließend erfolgte die Aufzeichnung der Kraft-Dehnungskurven bei einer Geschwindigkeit von  $5 \mu\text{m/s}$ . Die Kontaktzeit zwischen der Zelle und der Oberfläche wurde mit einer konstanten Kraft von  $500 \text{ pN}$  auf eine Sekunde eingestellt. Außerdem wurde ein Raster von  $20 \times 20 \mu\text{m}$  sowie 25 Punkten mit jeweils einer Kurve pro Rasterpunkt gewählt. Diese hohe Anzahl der Positionen wurde gewählt, um potentielle inhomogene Bereiche auf der Oberfläche zu kompensieren. Nach Beendigung des Rasters wurde der Cantilever mit der Zelle zur Messung des nächsten Rasters zum zweiten Probekörper und im Anschluss daran entsprechend zum dritten Probekörper bewegt, um Verfälschungen der Ergebnisse und die „Ermüdung“ der Zelle auf einem Probekörper zu vermeiden. Zeigten die Versuche hier noch typische Kurvenverläufe, wurde eine zweite Runde auf allen drei Probekörpern durchgeführt. So wurden insgesamt zwischen 20 und 50 Messungen pro Zelle und Probekörper durchgeführt [82]. Zeigte die Zelle allerdings „Ermüdungserscheinungen“, wie zum Beispiel eine untypische Kraft-Dehnungs-Kurve, wurde die Zelle durch eine neue ersetzt und der Versuch wiederholt [82].

## 2.7. Analyse der Kraft-Dehnungskurven

Die Kraft-Dehnungskurven wurden anhand des Programms „JPKSPM Data Processing für Windows“ (JPK Instruments, Berlin, Deutschland) analysiert. Hierbei galt als Hauptkriterium die gesamte Abzugskraft der einzelnen Zellen.

## 2.8. Statistik

Die statistische Analyse erfolgte mittels des Statistik-Programms „SPSS für Windows“ (Version 23.0; SPSS, Chicago, USA). Die Daten der Rauigkeits-, Kontaktwinkel- und Zelladhäsionsmessung waren normal verteilt (Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors-Test) und konnten mit parametrischen Tests untersucht werden (ANOVA, MANOV, Bonferroni post-hoc test). Um eine gleiche Messbasis aller getesteten Probekörper für jede Rauigkeit zu gewährleisten und statistisch unterschiedliche Rauigkeit sicherzustellen, wurden alle Oberflächen miteinander verglichen (ANOVA, Bonferroni post-hoc test). Alle Tests wurden mit einem Konfidenzlevel von 95 % durchgeführt. Bei der Beschreibung der statistischen Zusammenhänge wurden die folgenden Definition verwendet:

- Signifikanzniveau mit  $P \leq 0,05$  = schwach signifikant
- Signifikanzniveau mit  $P \leq 0,01$  = signifikant
- Signifikanzniveau mit  $P \leq 0,001$  = hoch signifikant

## **3. Ergebnisse**

### **3.1. Rauigkeitsmessungen**

Eine Zusammenfassung der Mittelwerte und Standardabweichungen für Ra und Rz zeigen Tabelle 4 bis 7. Bei den für die Zellversuche ausgewählten 45 Probekörpern lagen die Werte für Ra bei den maschinieren zwischen 0,117 (HD) und 0,189 (ML), bei den polierten Oberflächen zwischen 0,019 (LS) und 0,1 (Ti) sowie bei den rauen Oberflächen zwischen 0,46 (Zr) und 1,47 (HD). Die Werte für Rz lagen bei den maschinieren zwischen 1,056 (Zr) und 1,544 (HD), bei den polierten Oberflächen zwischen 0,154 (LS) und 0,675 (ML) sowie bei den rauen Oberflächen zwischen 4,45 (Zr) und 12,07 (HD). Sowohl bei den ausgewählten 45 Probekörpern als auch bei den Werten aller 120 Probekörper, zeigten sich für Ra und Rz bei den rauen Oberflächen und den Probekörpern aus HD und ML die größten Standardabweichungen.

Tabelle 4: Rauigkeit Ra (arithmetischer Mittelrauwert), Mittelwert und Standardabweichung der 45 Probekörper aus den Versuchen in  $\mu\text{m}$  (3 Proben je Rauigkeit und Material)

	maschiniert	poliert	rau
Dentin	$0,12 \pm 0,006$	$0,04 \pm 0,009$	$1,47 \pm 0,199$
Zirkoniumdioxidkeramik	$0,12 \pm 0,005$	$0,05 \pm 0,007$	$0,46 \pm 0,030$
Titanlegierung	$0,15 \pm 0,016$	$0,10 \pm 0,014$	$1,10 \pm 0,014$
Kompositkunststoff Multilink	$0,19 \pm 0,020$	$0,10 \pm 0,005$	$1,47 \pm 0,182$
Lithiumdisilikatkeramik	$0,13 \pm 0,010$	$0,02 \pm 0,003$	$1,03 \pm 0,004$

Tabelle 5: Rauigkeit Rz (gemittelte Rautiefe), Mittelwert und Standardabweichung der 45 Probekörper aus den Versuchen in  $\mu\text{m}$  (3 Proben je Rauigkeit und Material)

	maschiniert	poliert	rau
Dentin	$1,54 \pm 0,583$	$0,30 \pm 0,063$	$12,07 \pm 2,177$
Zirkoniumdioxidkeramik	$1,06 \pm 0,016$	$0,35 \pm 0,017$	$4,45 \pm 0,032$
Titanlegierung	$1,17 \pm 0,076$	$0,60 \pm 0,037$	$8,90 \pm 0,495$
Kompositkunststoff Multilink	$1,46 \pm 0,087$	$0,68 \pm 0,101$	$8,81 \pm 0,821$
Lithiumdisilikatkeramik	$1,29 \pm 0,007$	$0,15 \pm 0,035$	$7,28 \pm 0,027$

Tabelle 6: Rauigkeit Ra (arithmetischer Mittelrauwert); Mittelwert und Standardabweichung in  $\mu\text{m}$  für alle 120 Probekörper (8 Proben je Rauigkeit und Material)

	maschiniert	poliert	rau
Dentin	$0,13 \pm 0,026$	$0,04 \pm 0,014$	$1,51 \pm 0,123$
Zirkoniumdioxidkeramik	$0,13 \pm 0,018$	$0,04 \pm 0,011$	$0,47 \pm 0,043$
Titanlegierung	$0,14 \pm 0,018$	$0,10 \pm 0,019$	$1,12 \pm 0,028$
Kompositkunststoff Multilink	$0,18 \pm 0,038$	$0,09 \pm 0,011$	$1,45 \pm 0,153$
Lithiumdisilikatkeramik	$0,13 \pm 0,017$	$0,03 \pm 0,012$	$1,0 \pm 0,082$

Tabelle 7: Rauigkeit Rz (gemittelte Rautiefe); Mittelwert und Standardabweichung in  $\mu\text{m}$  für alle 120 Probekörper (8 Proben je Rauigkeit und Material)

	maschiniert	poliert	rau
Dentin	$1,33 \pm 0,472$	$0,37 \pm 0,126$	$11,03 \pm 1,481$
Zirkoniumdioxidkeramik	$1,14 \pm 0,289$	$0,33 \pm 0,128$	$4,56 \pm 0,264$
Titanlegierung	$1,13 \pm 0,123$	$0,60 \pm 0,03$	$9,11 \pm 0,369$
Kompositkunststoff Multilink	$1,43 \pm 0,211$	$0,72 \pm 0,128$	$8,75 \pm 0,818$
Lithiumdisilikatkeramik	$1,16 \pm 0,138$	$0,21 \pm 0,08$	$7,02 \pm 0,315$

In Abbildung 14 sind beispielhafte Aufnahmen des 3D-Laserscanmikroskopes zur Rauigkeitsmessung aller fünf Materialien und drei Rauigkeitsstufen zu sehen.

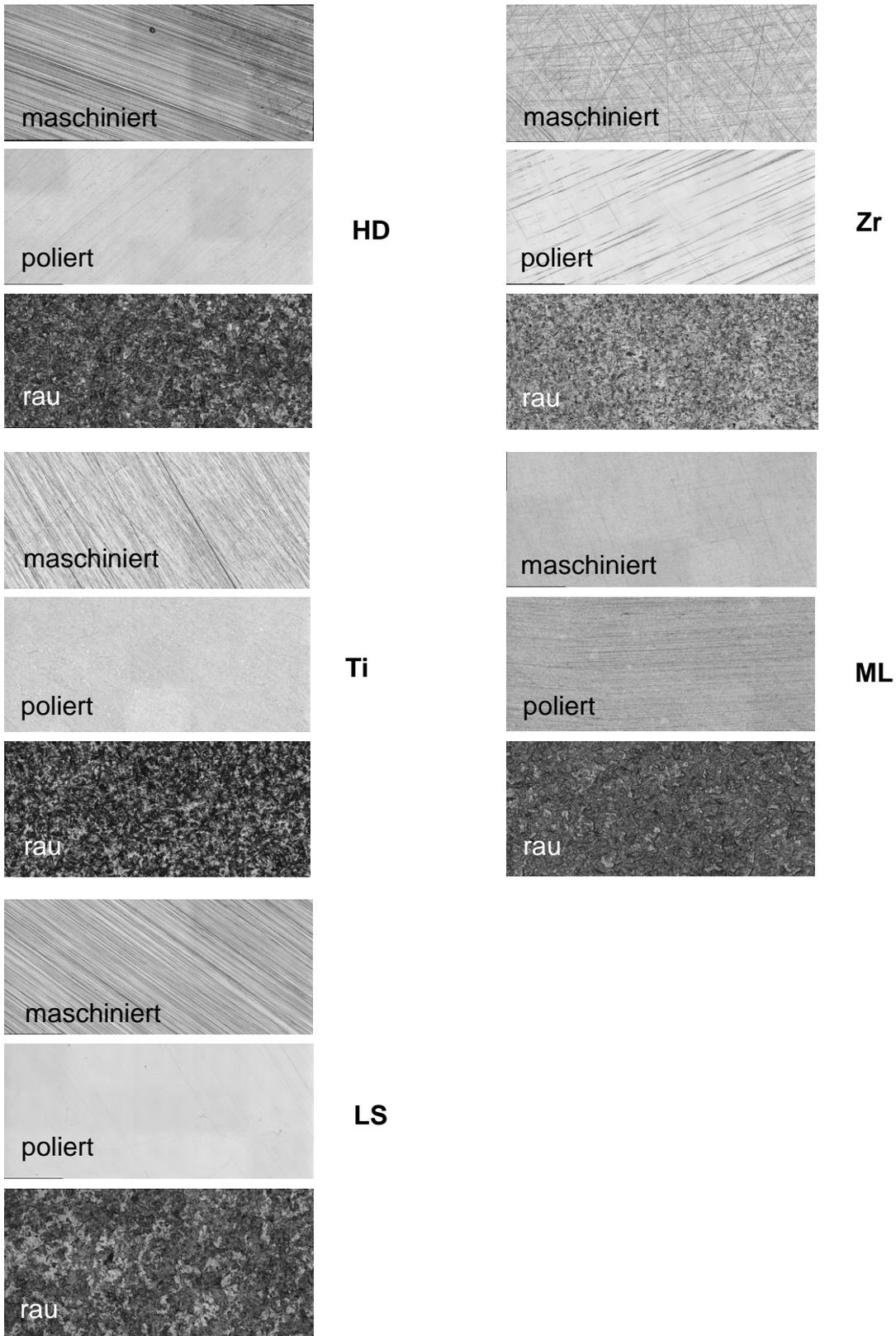


Abbildung 14: Beispielhafte 500\*1.000 µm große Aufnahmen des 3D-Laserscanmikroskopes zur Rauigkeitsmessung von humanem Dentin (HD), Zirkoniumdioxidkeramik (Zr), Titanlegierung (Ti), Kompositkunststoff Multilink (ML) und Lithiumdisilikatkeramik (LS); jeweils oben: maschinert, mittig: poliert, unten: rau

Die statistische Analyse der Werte der Rauigkeitsmessung zeigte, dass bei rauhen und polierten Oberflächen für Rz und Ra auf den meisten Materialien statistisch schwach signifikante Unterschiede gefunden werden konnten ( $P \leq 0,05$ ). Insbesondere konnten bei den rauhen Zr-Oberflächen geringere Werte für Ra und Rz (Ra:  $0,48 \mu\text{m}$  und Rz:  $4,56 \mu\text{m}$ ) im Vergleich zu den anderen Materialien (Ra:  $1-1,51 \mu\text{m}$  und Rz:  $0,17-11,03 \mu\text{m}$ ) ermittelt werden. Bei Ti und ML zeigten sich bei den polierten Oberflächen dagegen höhere Werte für Ra und Rz (Ti Ra:  $0,1 \mu\text{m}$  und Rz:  $0,6 \mu\text{m}$ , ML Ra:  $0,09 \mu\text{m}$  und Rz:  $0,72 \mu\text{m}$ ) als bei den anderen Materialien (Ra:  $0,03-0,04 \mu\text{m}$  und Rz:  $0,21-0,37 \mu\text{m}$ ). Die maschinieren Oberflächen wiesen hingegen für Ra und Rz für keine der Materialien einen statistisch signifikanten Unterschied auf ( $P > 0,05$ ). Einen Überblick der Daten sind in folgender Abbildung 15 zusammengefasst.

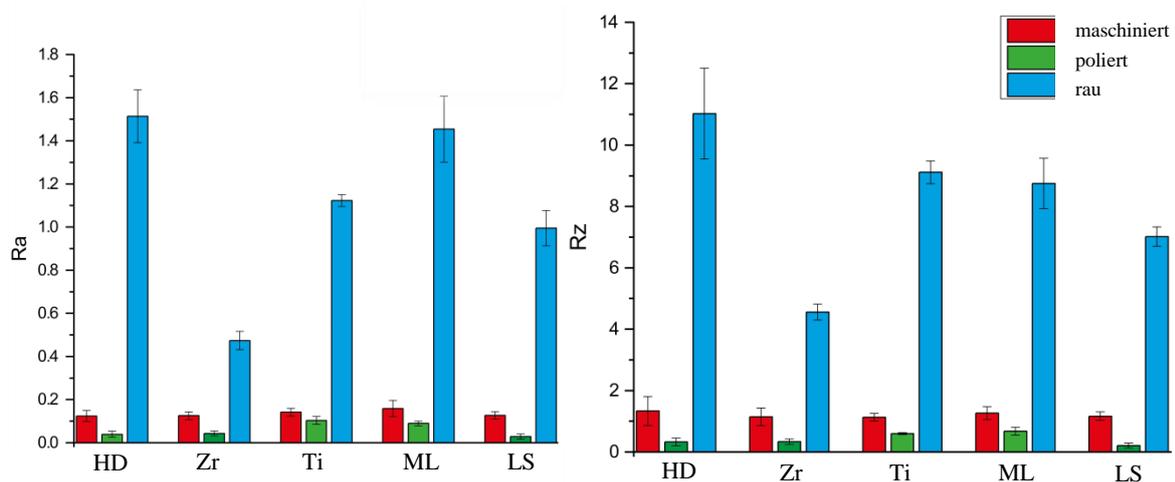
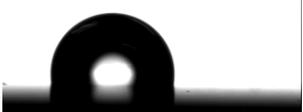
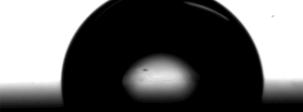


Abbildung 15: links: Rauigkeit Ra (arithmetischer Mittelrauwert), rechts: Rauigkeit Rz (gemittelte Rautiefe); Mittelwerte und Standardabweichungen in  $\mu\text{m}$  der drei Oberflächenrauigkeiten (maschiniert, poliert und rau) aller fünf Materialien (humanes Dentin (HD), Zirkoniumdioxidkeramik (Zr), Titanlegierung (Ti), Kompositkunststoff Multilink (ML) und Lithiumdisilikatkeramik (LS))

### **3.2. Kontaktwinkelmessungen**

Bei allen Materialien konnte ein schwach signifikanter Einfluss der Oberflächenrauigkeit auf den Kontaktwinkel festgestellt werden ( $P \leq 0,05$ ). Insgesamt zeigte HD die geringsten Kontaktwinkel ( $41,7^\circ$ - $47,9^\circ$ ) und ist damit am wenigsten hydrophob, gefolgt von LS ( $59^\circ$ - $64,5^\circ$ ), Ti ( $82,9^\circ$ - $88,1^\circ$ ), Zr ( $89,4^\circ$ - $97,4^\circ$ ) und ML ( $97,5^\circ$ - $115,2^\circ$ ). Hierbei waren die Daten der Kontaktwinkel mit  $P \leq 0,05$  schwach signifikant unterschiedlich voneinander. Eine Zusammenfassung der Mittelwerte der Kontaktwinkel mit Standardabweichungen und beispielhaften Abbildungen der entsprechenden Wassertropfen zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8: Kontaktwinkel; Mittelwert und Standardabweichung in Grad mit beispielhafter Abbildung eines Wassertropfens des entsprechenden Materials und Rauigkeitsstufe

	maschiniert	poliert	rau
HD	47,9 ± 7,3 	44,5 ± 9,2 	41,7 ± 8,2 
Zr	89,4 ± 8,5 	97,4 ± 5,5 	96,4 ± 9,8 
Ti	82,9 ± 6,9 	86 ± 9,1 	88,1 ± 12,5 
ML	97,5 ± 6,7 	98,5 ± 6,1 	115,2 ± 14 
LS	62,5 ± 12,1 	64,5 ± 14,8 	59 ± 16,4 

Beim HD zeigten die rauhen Oberflächen schwach signifikant geringere Kontaktwinkel als auf den polierten und maschinieren HD-Oberflächen ( $P \leq 0,05$ ). Die Kontaktwinkel auf den maschinieren Zr-Oberflächen waren schwach signifikant geringer als auf den rauhen und polierten Zr-Probekörpern ( $P \leq 0,05$ ). Für Ti wiesen nur die maschinieren Oberflächen im Vergleich zu den rauhen Oberflächen einen schwach signifikant geringeren Kontaktwinkel auf ( $P \leq 0,05$ ). Bei den Probekörpern aus ML zeigten die rauhen Oberflächen einen schwach signifikant größeren Kontaktwinkel als die polierten und maschinieren Oberflächen ( $P \leq 0,05$ ). Bei LS wiesen die rauhen Oberflächen einen schwach signifikant geringeren Kontaktwinkel als die polierten Oberflächen auf ( $P \leq 0,05$ ). Eine Übersicht der Daten und der statistischen Analyse ist in der Abbildung 16 gegeben.

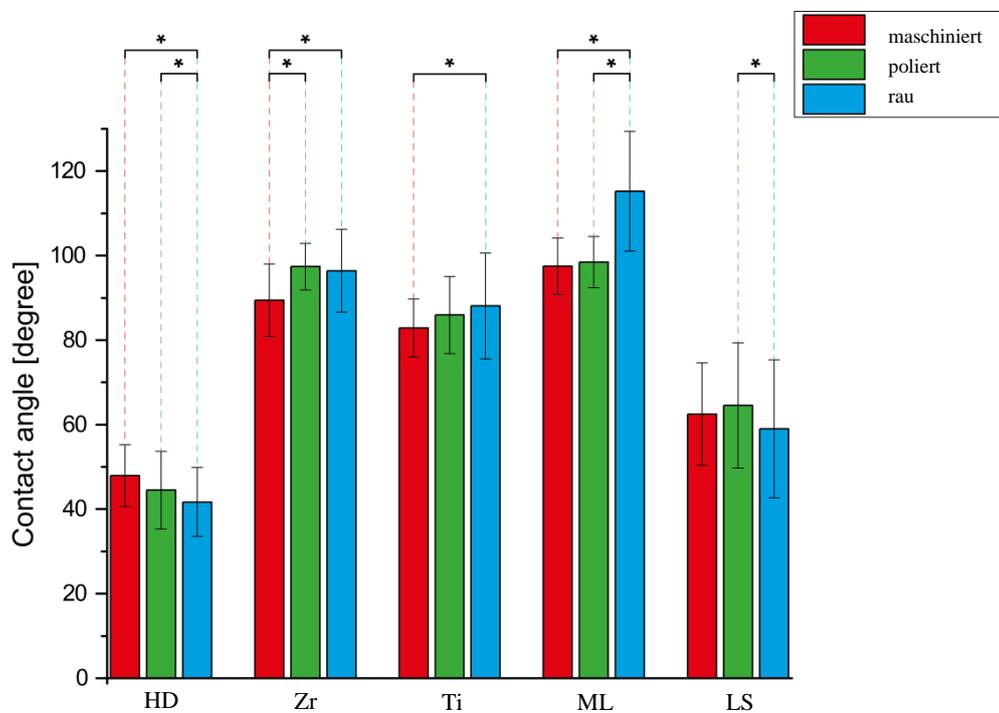


Abbildung 16: Kontaktwinkel, Mittelwerte und Standardabweichung der Kontaktwinkelmessung mit statistisch signifikanten Unterschieden auf allen fünf Materialien (Dentin, Zirkoniumdioxidkeramik (Zr), Titanlegierung (Ti), Kompositkunststoff Multilink (ML) und Lithiumdisilikatkeramik (LS)); kein Sternchen = kein signifikanter Unterschied, \* = schwach signifikanter Unterschied bei einem Signifikanzniveau von  $P \leq 0,05$

### 3.3. Zellabzugsversuche

Betrachtet man die maschinieren Oberflächen, zeigten sich auf den Zr-Probekörpern die höchsten Zellabzugskräfte (0,25 nN), gefolgt von Ti (0,22 nN), ML (0,22 nN), Dentin (0,21 nN) und LS (0,2 nN), wobei allerdings zwischen keinen der Materialien signifikante Unterschiede ( $P > 0,05$ ) ermittelt werden konnten. Auf den polierten Oberflächen konnten in absteigender Reihenfolge auf Dentin mit 0,25 nN die größten Abzugskräfte gemessen werden, gefolgt von Ti (0,2 nN), ML (0,2 nN), Zr (0,18 nN) und LS (0,16 nN). Es zeigten sich hierbei hoch signifikante Unterschiede mit jeweils  $P \leq 0,001$  zwischen Dentin und allen anderen Materialien sowie zwischen Ti und LS, sowie mit  $P \leq 0,01$  zwischen ML und LS. Auf den rauen Oberflächen wiesen in absteigender Reihenfolge Dentin (0,19 nN), ML (0,18 nN), Ti (0,18 nN), LS (0,18 nN) und Zr (0,15 nN) die größten maximalen Abzugskräfte auf. In dieser Versuchsgruppe unterschieden sich lediglich die Zellabzugskräfte auf Dentin im Vergleich zu denen auf Zr signifikant voneinander ( $P = 0,006$ ).

In Abbildung 17 sind exemplarisch die Kraft-Dehnungskurven jeden Materials mit polierten Oberflächen aufgeführt:

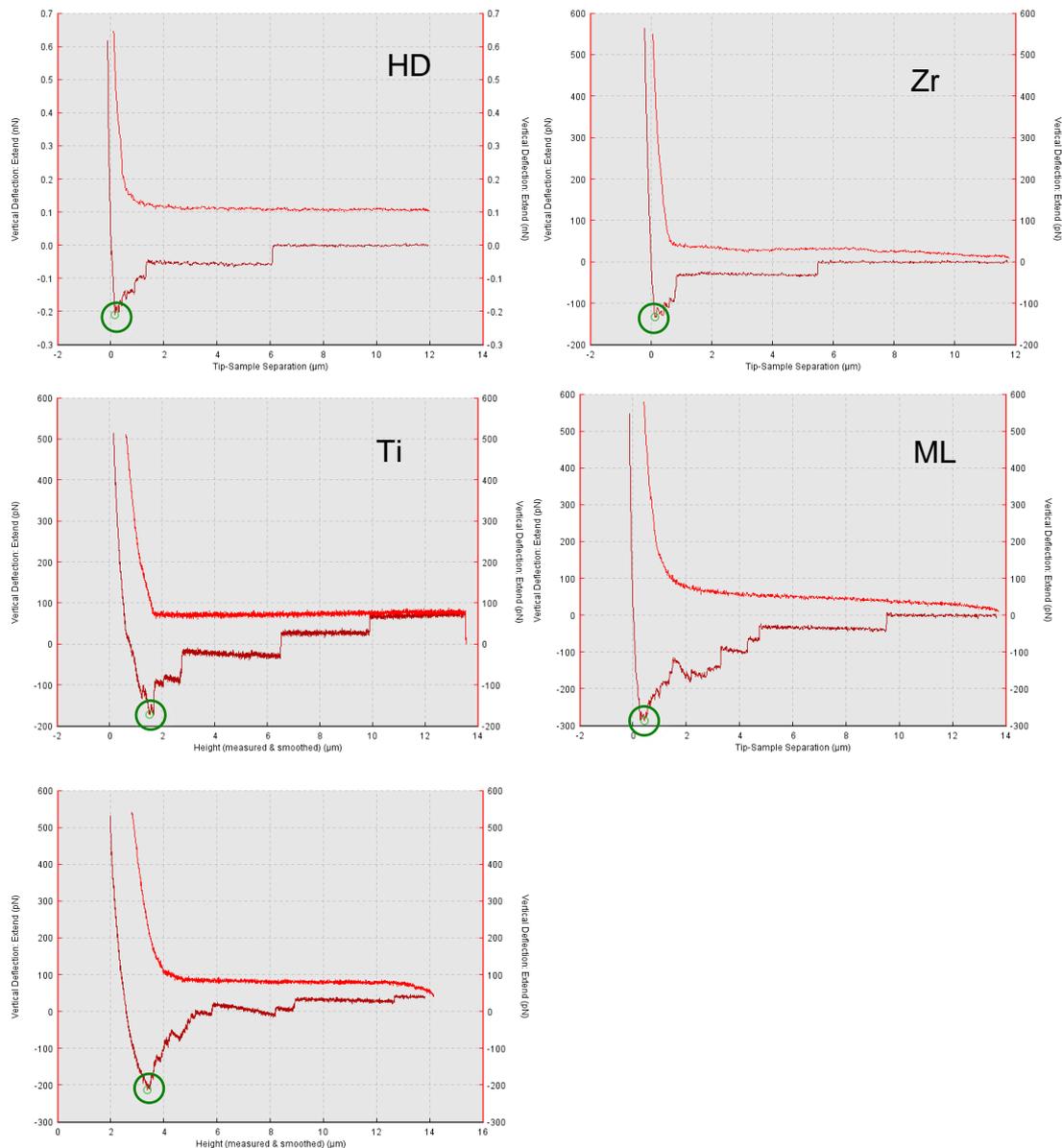


Abbildung 17: Beispielkurven  $m_{\text{max}}$ . Abzugskraft (in nN; markiert mit grünem Kreis) auf den polierten Oberflächen aller fünf Materialien (Dentin, Zirkoniumdioxidkeramik (Zr), Titanlegierung (Ti), Kompositkunststoff Multilink (ML), und Lithiumdisilikatkeramik (LS)); gelesen von links nach rechts)

Bei den maximalen Abzugskräften auf Dentin gab es signifikante Unterschiede ( $P \leq 0,01$ ) zwischen den maschinerten und polierten sowie hoch signifikante Unterschiede ( $P \leq 0,001$ ) zwischen den polierten und rauen Oberflächen, womit auf den polierten Oberflächen die höchsten Zellabzugskräfte, gefolgt von den maschinerten und den rauen Oberflächen, gemessen werden konnten. Auf Zr zeigten sich die größten Zellabzugskräfte auf den maschinerten, gefolgt von den polierten und rauen

Oberflächen, wobei hoch signifikante Unterschiede jeweils zwischen den maschinieren und polierten sowie zwischen den maschinieren und rauen Oberflächen vorlagen ( $P \leq 0,001$ ). Auf Ti konnten ebenfalls auf den maschinieren, gefolgt von den polierten und rauen Oberflächen die größten Zellabzugskräfte aufgezeichnet werden, wobei der Unterschied zwischen den maschinieren und polierten Oberflächen hoch signifikant war ( $P \leq 0,001$ ). Auch auf ML zeigten sich in absteigender Reihenfolge die größten Zellabzugskräfte auf den maschinieren, gefolgt von den polierten und rauen Oberflächen, wobei sich lediglich die Kräfte auf den maschinieren im Vergleich zu denen auf den rauen Oberflächen signifikant voneinander ( $P \leq 0,01$ ) unterschieden. Beim LS konnten auf den maschinieren, gefolgt von den rauen und den polierten Oberflächen, die größten Zellabzugskräfte ermittelt werden. In dieser Versuchsgruppe wiesen nur die Kräfte auf den maschinieren im Vergleich zu denen auf den polierten Oberflächen einen signifikanten Unterschied auf ( $P \leq 0,01$ ).

Einen Überblick der Mittelwerte mit Standardabweichungen der maximalen Abzugskräfte bietet Tabelle 9.

Tabelle 9: Maximale Abzugskraft und Standardabweichung in nN

	maschiniert	poliert	rau	Mittelwert insgesamt
HD	0,21±1,3E-10	0,25±1,3E-10	0,19±1E-10	0,22±1,2E-10
Zr	0,25±2,5E-10	0,18±1,2E-10	0,15±1,5E-10	0,20±1,9E-10
Ti	0,22±1,3E-10	0,20±8,6E-11	0,18±8E-11	0,20±1E-10
ML	0,22±1,1E-10	0,20±9,2E-11	0,18±6,6E-11	0,20±9E-11
LS	0,20±1,7E-10	0,16±9,4E-11	0,18±1,2E-10	0,18 ± 1,3E-10

Die statistische Analyse der Daten ist im Folgenden durch die Abbildung 18 und die Tabellen 10 und 11 dargestellt.

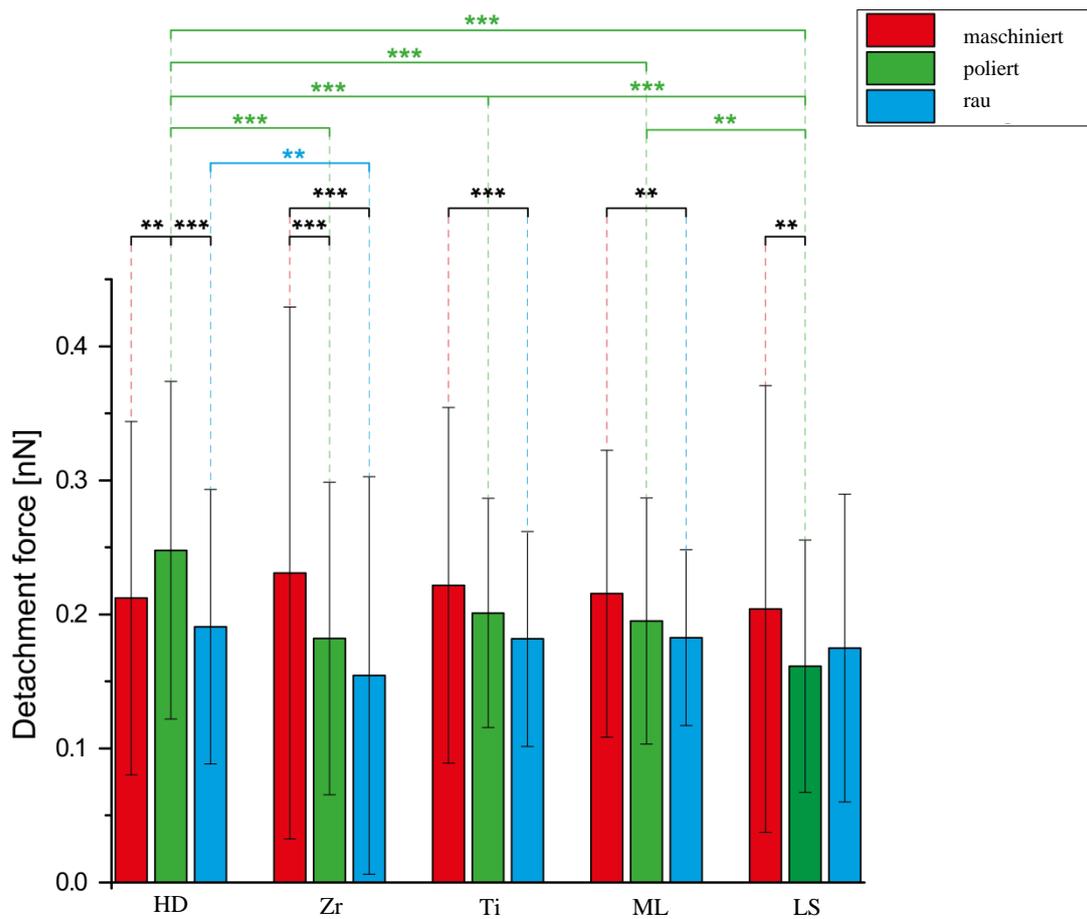


Abbildung 18: Zellabzugsversuche, Mittelwerte und Standardabweichungen der Kontaktwinkelmessung mit statistisch signifikanten Unterschieden auf allen fünf Materialien (humanes Dentin (HD), Zirkoniumdioxidkeramik (Zr), Titanlegierung (Ti), Kompositkunststoff Multilink (ML) und Lithiumdisilikatkeramik (LS)); kein Sternchen =  $P > 0,05$ , \*  $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$

Tabelle 10: Statistische Analyse über den Einfluss der Materialwahl auf die Abzugskraft für jede Oberflächenrauigkeit

<b>One-Way ANOVA (raue Oberflächen)</b>			
<b>Vergleiche</b>		<b>N</b>	<b>P</b>
<b>Einfluss des Materials</b>		1046	<b>0,01</b>
Bonferroni post-hoc Tests			
LS	HD	192 - 270	1
	Ti	192 - 244	1
	Zr	192 - 159	0,65
	ML	192 - 181	1
Zr	HD	159 - 270	<b>0,006</b>
	Ti	159 - 244	0,1
	ML	159 - 181	0,1
ML	HD	181 - 270	1
	Ti	181 - 244	1
Ti	HD	244 - 270	1
<b>One-Way ANOVA (maschinierete Oberflächen)</b>			
<b>Vergleiche</b>		<b>N</b>	<b>P</b>
<b>Einfluss des Materials</b>		1129	0,06
Bonferroni post-hoc Tests – nicht anwendbar			
<b>One-Way ANOVA (polierte Oberflächen)</b>			
<b>Vergleiche</b>		<b>N</b>	<b>P</b>
<b>Einfluss des Materials</b>		1133	<b>0,0001</b>
Bonferroni post-hoc Tests			
LS	HD	197 - 253	<b>0,0001</b>
	Ti	197 - 272	<b>0,0001</b>
	Zr	197 - 212	0,45
	ML	197 - 199	<b>0,01</b>
Zr	HD	212 - 253	<b>0,0001</b>
	Ti	212 - 272	0,4
	ML	212 - 199	1
ML	HD	199 - 253	<b>0,0001</b>
	Ti	199 - 272	1,000
Ti	HD	272 - 253	0,0001

Tabelle 11: Statistische Analyse über den Einfluss der Oberflächenrauigkeit auf die Abzugskraft für jedes Material

<b>One-Way ANOVA (LS)</b>			
<b>Vergleiche</b>		<b>N</b>	<b>P</b>
<b>Einfluss der Oberflächenrauigkeit</b>		547	<b>0,006</b>
Bonferroni post-hoc Tests			
rau	maschiniert	192 - 158	0,1
	poliert	192 - 197	0,9
maschiniert	poliert	158 - 197	<b>0,005</b>
<b>One-Way ANOVA (Zr)</b>			
<b>Vergleiche</b>		<b>N</b>	<b>P</b>
<b>Einfluss der Oberflächenrauigkeit</b>		605	<b>0,0001</b>
Bonferroni post-hoc Tests			
rau	maschiniert	159 - 234	<b>0,0001</b>
	poliert	159 - 212	0,5
maschiniert	poliert	234 - 212	<b>0,001</b>
<b>One-Way ANOVA (ML)</b>			
<b>Vergleiche</b>		<b>N</b>	<b>P</b>
<b>Einfluss auf die Oberflächenrauigkeit</b>		551	<b>0,003</b>
Bonferroni post-hoc Tests			
rau	maschiniert	181 - 171	<b>0,002</b>
	poliert	181 - 199	0,5
maschiniert	poliert	171 - 199	0,09
<b>One-Way ANOVA (Titanlegierung)</b>			
<b>Vergleiche</b>		<b>N</b>	<b>P</b>
<b>Einfluss der Oberflächenrauigkeit</b>		808	<b>0,0001</b>
Bonferroni post-hoc Tests			
rau	maschiniert	244 - 292	<b>0,0001</b>
	poliert	244 - 272	0,08
maschiniert	poliert	292 - 272	0,07
<b>One-Way ANOVA (HD)</b>			
<b>Vergleiche</b>		<b>N</b>	<b>P</b>
<b>Einfluss der Oberflächenrauigkeit</b>		743	<b>0,0001</b>
Bonferroni post-hoc Tests			
rau	maschiniert	270 - 274	0,1
	poliert	270 - 253	<b>0,0001</b>
maschiniert	poliert	274 - 253	<b>0,002</b>

## **4. Diskussion**

Durch die Anheftung des periimplantären Weichgewebes an das Abutment soll der Durchtritt von Bakterien in den marginalen Implantatknochen und damit eine Infektion des periimplantären Gewebes mit gegebenenfalls Knochen- oder sogar Implantatverlust verhindert werden [11, 76, 77]. Da Zellreaktionen durch die Oberflächenrauigkeit und -benetzbarkeit [17, 57] verändert werden können [16, 17], wurden in der vorliegenden Studie genau diese Punkte untersucht. Ziel war es, durch Zellabzugsversuche die Adhäsion einzelner Zellen auf den verschiedenen Oberflächen zu quantifizieren und somit neue Erkenntnisse über Zelladhäsionseigenschaften zu erlangen.

### **4.1. Fehlerdiskussion der Methodik**

#### **4.1.1. Aufbereitung der Oberflächenrauigkeiten**

Unterschiede in der Vickers-Härte und Dichte zwischen den gewählten Materialien führen zu Schwierigkeiten bei der gleichmäßigen Aufbereitung der Oberflächenrauigkeiten. Trotz sorgfältiger Aufbereitung, zeigen sowohl die rauhen als auch die polierten Probekörper untereinander signifikante Unterschiede in ihrer Oberflächenrauigkeit. Die Vickers-Härte und Dichte der Materialien haben also einen größeren Einfluss auf das Abstrahlen mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  und den Prozess der Hochglanzpolitur, als auf die Methodik der Aufbereitung zur maschinieren Oberfläche. Außerdem könnten auch die Rückstände des  $\text{Al}_2\text{O}_3$  auf den rauhen Oberflächen die Messungen beeinflusst haben. Zudem bringen die manuell durchgeführten Abläufe, wie die Herstellung der ML- und Dentinprobekörper und das Aufbereiten der polierten und maschinieren Oberflächen von ML und Zr sowie die natürlichen Schwankungen in Form und Struktur der Dentinprobekörper weitere Ungenauigkeiten mit sich. Da sowohl die Benetzbarkeit der Oberflächen mit Wasser als auch die maximalen Abzugskräfte von der Oberflächenrauigkeit beeinflusst werden, müssen Vergleiche zwischen den Materialien in Bezug auf die Kontaktwinkelmessung und Zellabzugskraft unter Vorbehalt betrachtet werden.

Bei der Rauigkeitsmessung selbst wird mit einer Fläche von  $500 \mu\text{m} \times 1.000 \mu\text{m}$  nur ein kleiner Ausschnitt der  $10 \text{ mm}^2$  großen Fläche der Probekörper betrachtet. In der

durchgeführten Studie wurden diese Ungenauigkeiten durch die hohe Anzahl von 120 Probekörpern und 120 Messungen minimiert. Um Messfehler zukünftig zu verringern, können maschinell hergestellte ML-Probekörper und maschinell zugeschnittene Dentin-Probekörper verwendet werden.

#### **4.1.2. Kontaktwinkelmessungen**

Bei der Kontaktwinkelmessung sind Messfehler durch das Verdunsten des Wassertropfens in der Zeit zwischen dem Auftragen des Tropfens per Hand bis zum Aufnehmen des Bildes nicht auszuschließen. Diese Unsicherheit spiegelt sich in der relativ hohen Standardabweichung von  $5,49^\circ$ - $16,36^\circ$  wieder. Da die Größe des Tropfens den Kontaktwinkel beeinflusst, werden weitere Ungenauigkeiten durch die nicht exakt definierte Tropfengröße erzeugt. Auf einen größeren Tropfen wirkt eine erhöhte Gravitationskraft, wodurch es zu einem größeren Winkel kommt [78]. Üblicherweise werden Tropfen mit einer Größe von 1-5  $\mu\text{l}$  verwendet [78]. Eine definierte Tropfengröße bei den einzelnen Versuchsdurchführungen würde somit zu genaueren Ergebnissen führen.

Ungleichmäßigkeiten in den Oberflächeneigenschaften, wie Oberflächen-deformationen, Quellungen, molekulare Absorption der Flüssigkeitsphase oder chemischer Heterogenität, beeinflussen die Oberflächenbenetzbarkeit eines Materials und führen somit bei der Kontaktwinkelmessung zu Messfehlern [78].

Bei der Oberflächenmodifizierung der rauen Probekörper wird durch das Korundstrahlen eine chemische Aktivierung der Oberflächen erzeugt. Diese kinetische Hysterese kann nach Literaturangaben eine erhöhte Hydrophilie hervorrufen [79]. In dieser Studie zeigten sich signifikant geringere Kontaktwinkeln auf den rauen im Vergleich zu den polierten und maschinieren Oberflächen auf Dentin und LS, womit die Literaturangaben auf diesen zwei Materialien bestätigt werden können. Auf Ti, Zr und ML konnte allerdings keine erhöhte Hydrophilie durch das Korundstrahlen erzeugt werden.

Die hohe Anzahl von 120 Probekörpern und insgesamt 1.140 einzelnen Messungen (12 Messungen pro Probekörper) in dieser Studie, ermöglichen einen gewissen Ausgleich dieser Schwankungen. Durch die Verwendung von vollautomatisierten Messinstrumenten könnten diese Schwankungen in großem Maße minimiert werden. Eine mögliche Technik hierfür ist die Kontaktwinkelmessung mithilfe eines Umweltschnelelektronenmikroskops („environmental scanning electron microscopy“

ESEM), welches die Messung von Mikrometertropfen in einer videoüberwachten Vakuumkammer ermöglicht [25, 33, 64]. Des Weiteren können mit einem AFM Mikro- oder Nanometertropfen exakt betrachtet und so Kontaktwinkel in sehr hoher Genauigkeit gemessen werden [22, 64].

#### **4.1.3. Zellabzugsversuche**

Studien, die sich mit der Analyse von Zellproliferation oder -migration auf Biomaterialien beschäftigen, bieten eine gute Vorhersagbarkeit der biologischen Kompatibilität dieser Materialien [13, 14, 16, 17]. Sie beziehen sich dabei auf Durchschnittswerte. Die Wirkung der direkten Adhäsion steckt jedoch in sekundären Effekten, wie der Proteinhaftung auf dem Material. Um die Limitationen vorangegangener Studien zu vermeiden, wurde daher in dieser Studie mittels direkter Messung die Kraft bestimmt, welche benötigt wird, um einzelne Zellen von den Implantatmaterialien zu lösen. Damit können die sekundären Effekte der Zelladhäsion aufgezeichnet werden. Wie bei allen Studien mit lebenden Zellen, unterliegen die Daten der durchgeführten Zellabzugsversuche den natürlichen Schwankungen. So könnte zum Beispiel die Zeit seit der Trennung der Zellkulturen, beziehungsweise die Versorgung mit frischem Medium, und das aktuelle Stadium der Zellteilung bei Versuchsdurchführung einen Einfluss auf die Adhäsionseigenschaften der Fibroblasten haben, was in dieser Form bisher nicht wissenschaftlich dokumentiert wurde. Durch die Einhaltung eines genauen Zeitprotokolls mit definierten zeitlichen Abständen, zwischen der Trennung der Zellkulturen und der Versuchsdurchführung, könnten natürlichen Schwankungen theoretisch zum Teil ausgeglichen werden. Allerdings ist ein solches Protokoll durch die zeitlich sehr unterschiedlich ablaufenden Vorbereitungen vor Versuchsdurchführung, wie zum Beispiel das „Fischen“ der Zelle, praktisch nicht im Laboralltag zu integrieren. Die allgemeine Kraftverteilung wird allerdings nicht nur von diesen biologischen Bedingungen, sondern auch durch die inhomogene Oberflächentopografie und -rauigkeit beeinflusst [42]. Bei den Zellabzugsversuchen in dieser Studie wurde versucht, solche Schwankungen zum einen durch die große Anzahl von 45 Probekörpern sowie durch die hohe Anzahl von insgesamt 2.250-6.750 einzelnen Messungen (2-6 Durchgänge à 25 Messungen pro Probekörper) zu reduzieren.

## 4.2. Diskussion der Ergebnisse

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass es einen Zusammenhang zwischen der Oberflächenrauigkeit, der Oberflächenbenetzbarkeit und der Zelladhäsion gibt. Die Annahme, dass die Oberflächenrauigkeit einen Einfluss auf die Oberflächenbenetzbarkeit des Materials hat [78], konnte durch die Daten dieser Arbeit ebenfalls bestätigt werden.

In der Studie von *Zhao et al.* [2014] sind vergleichbare Werten für Ra aufgeführt, wobei die in dieser Studie aufgezeichneten Werte geringfügig höher ausfielen (Ra in  $\mu\text{m}$  der eigenen Studie: Ti poliert 0,1, Ti maschiniert 0,14, Zr maschiniert 0,13; Ra in  $\mu\text{m}$  von *Zhao et al.*: Reintitan poliert  $< 0,007$ , Reintitan und Zr maschiniert 0,1) [105].

Auch die Ra-Werte für die rauen Reintitan- und Zr-Oberflächen von *Rutkunas et al.* [2015] sind übereinstimmend mit denen dieser Studie. Lediglich die polierten Reintitanoberflächen wiesen eine deutlich geringere Oberflächenrauigkeit auf (Ra in  $\mu\text{m}$  der eigenen Studie: Ti rau 1,12, Zr rau 0,47, Ti poliert 0,1; Ra in  $\mu\text{m}$  von *Rutkunas et al.*: Reintitan rau 0,8, Zr rau 0,5, Reintitan poliert 0,03) [80]. *Brunot-Gohin et al.* [2013] publizierten deutlich höhere Werte für Ra, obwohl das Prozedere der Oberflächenpolitur sehr ähnlich zu dem in dieser Studie durchgeführt wurde (Ra in  $\mu\text{m}$  der eigenen Studie: LS maschiniert 0,13, LS poliert 0,03; Ra in  $\mu\text{m}$  von *Brunot-Gohin et al.*: LS maschiniert 2,7, LS polierte 1,7) [17].

Bei Reintitan und Titanlegierung stellen die vorliegenden Studien eine Tendenz der Erhöhung des Kontaktwinkels bei Aufrauung dar (*Rupp et al.* poliert  $70^\circ$  bis  $90^\circ$ , rau bis zu  $150^\circ$  [78]; *Zhao et al.* poliert  $60^\circ$ , maschiniert  $90^\circ$  [105]). Diese Verstärkung der Hydrophobie der Titanlegierung mit Erhöhung der Oberflächenrauigkeit kann in dieser Studie, mit Ausnahme der polierten Titanlegierungsoberflächen, bestätigt werden. Ebenso übereinstimmend mit den Daten der Literatur ist der Trend der Erhöhung der Hydrophilie mit steigender Oberflächenrauigkeit bei LS [17]. Die Annahme, dass die Hydrophilie von Oberflächen (Kontaktwinkel  $< 90^\circ$ ) mit erhöhter Oberflächenrauigkeit steigt [78], wird durch die hier gewonnenen Erkenntnisse unterstützt.

Ein Vergleich der Zelladhäsion in Bezug auf die verschiedenen Materialien ist aufgrund der mangelnden Literatur schwierig zu ziehen. Es liegen bisher lediglich Studien vor, welche die Zelladhäsion auf Titan und Zr sowie Zr und LS miteinander vergleichen. *Zhao et al.* [2014] stellten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Zelladhäsion auf Reintitan und Zr dar [105]. Die Ergebnisse einer erhöhten Zelladhäsion von

humanen Gingivafibroblasten auf Reintitan im Vergleich zu Zr (raue und polierte Oberflächen) der eigenen Studie und der von *Rutkunas et al.* [2015] [80] widersprechen dieser Aussage. Ein direkter Vergleich zwischen Zr und LS von *Teté et al.* [2014] zeigt eine verbesserte Zelladhäsion auf Zr (polierte und maschinerte Oberflächen) [90], was mit den eigenen Ergebnissen bestätigt werden kann. Die hohen Werte dieser Studie der Zelladhäsion auf HD lassen sich durch die auf natürliche Weise optimalen Bedingungen für Gingivafibroblasten auf Dentin erklären. Allerdings bedarf es hier, wie auch bei der Zelladhäsion auf ML, weiterer klinischer Studien, um versierte Aussagen bezüglich der Qualität der Zelladhäsion auf diesen Materialien zu treffen.

Die möglichen Zusammenhänge zwischen der Oberflächenrauigkeit, der Oberflächenbenetzbarkeit und der Zelladhäsion lassen sich mit den Angaben in der Literatur bestätigen. So wird für die Zelladhäsion von Fibroblasten auf Reintitan und Zr eine optimale Oberflächenrauigkeit von Ra 0,1-0,15  $\mu\text{m}$  angegeben [48, 89]. Diese Angaben stimmen mit den Messungen der höchsten Zellabzugskräfte auf Titanlegierung und Zr bei einer Oberflächenrauigkeit von Ra 0,13 - 0,14  $\mu\text{m}$ , die in dieser Studie aufgezeichnet wurden, überein.

Eine erhöhte Zelladhäsion von humanen Gingivafibroblasten auf Reintitan im Vergleich zu Zr und auf rauem im Vergleich zu polierten Oberflächen stellten *Rutkunas et al.* [2015] dar [80]. In Bezug auf die rauhen und polierten Oberflächen ist die erhöhte Adhäsion auf Titan im Vergleich zu Zr mit den Daten dieser Studie zu bestätigen. Allerdings zeigt sich hier bei beiden Materialien verbesserte Adhäsion auf den polierten im Gegensatz zu den rauhen Oberflächen.

Auf maschinerten LS Oberflächen zeigten *Brunot-Gohin et al.* [2013] im Vergleich zu polierten LS Oberflächen eine erhöhte Adhäsion von epithelialen Hühnerzellen. Die Schlussfolgerung, dass hydrophobe im Vergleich zu hydrophiler Keramik eine verbesserte Adhäsion ermöglicht [17], kann mit den Ergebnissen dieser Studie bestätigt werden. Erklären lässt sich dieser Sachverhalt durch die Induktion von Proteinadsorption auf hydrophoben Oberflächen, welche Zelladhäsion verstärkt [16, 17]. Einige Studien geben allerdings gegenteilig an, dass raue Keramikoberflächen ebenfalls die Protein- und Zelladsorption erhöhen und damit eine stärkere Haftung des epithelialen Gewebes an dem Material erzeugen [14, 17, 101].

Bei zunehmender Rauigkeit scheinen die Zellen die tieferen Areale zu überspannen und sich lediglich auf den Erhöhungen anzusiedeln [5, 24]. Damit kann die geringere

Zelladhäsion auf den rauen Oberflächen in dieser Studie erklärt werden. Klinisch könnte daraus eine verminderte Abdichtung des marginalen Implantatknochens resultieren, wodurch eine Penetration des periimplantären Gewebes durch Mikroorganismen begünstigt wird.

Auch wenn eine Reduktion der Oberflächenrauigkeit von weniger als circa 0,2 Mikrons (Ra) keinen großen Einfluss auf die supra- und subgingivale mikrobielle Zusammensetzung hat, erhöht sich dadurch hingegen die Sondierungstiefe um das Implantat [12, 72], welche als klinisches Maß von entzündlichen Prozessen mit Auflockerung des periimplantären Gewebes dient. Auch diese Erkenntnisse stimmen mit den Ergebnissen dieser Studie überein, dass polierte Oberflächen eine geringere Zelladhäsion und damit Abdichtung des periimplantären Gewebes im Vergleich zu maschinieren Oberflächen erzeugen.

Eine weitere Studie zeigte, dass die Anwesenheit von multiplen Integrinuntereinheiten in humanen gingivalen Fibroblasten sich durch den Kontakt mit Titanoberflächen und verschiedenen Oberflächenrauigkeiten in ihrer zellulären Morphologie verändern können [67]. Dennoch scheinen beide, Reintitanoberflächen und verschiedene Oberflächenrauigkeiten, nur begrenzte Auswirkungen auf die Integrin-Expression zu haben.

Einige Studien konnten hingegen keine Beeinflussung von verschiedenen Materialien und/oder Oberflächentopographien auf die Zelladhäsion feststellen [99, 105, 106]. So zeigte sich beispielsweise bei *Zhao et al.* [2014] auf allen Oberflächen eine vergleichbar hohe Zelladhäsion [105]. Diese Feststellung kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Es zeigt sich hingegen vielmehr, dass die maschinieren Oberflächen optimale Bedingungen für die Zelladhäsion und auf diese Weise eine gute Abdichtung des marginalen Knochens gegenüber dem Mundraum und somit eine Verminderung der Bakterienpenetration gewährleisten [11, 12, 76, 77].

### 4.3. Schlussfolgerungen

Folgende Schlussfolgerungen können aus den Ergebnissen der vorgelegten Arbeit gezogen werden:

1. Durch Einzelzellkraft-Spektroskopie gemessene Zellabzugskräfte liefern wichtige Informationen hinsichtlich des Zelladhäsionsverhaltens auf Biomaterialien.
2. Humanes Dentin war das hydrophilste der fünf getesteten Materialien und zeigte die höchste Zellabzugskraft. Damit könnte humanes Dentin als „Goldstandard“ für zukünftige Studien über Zelladhäsion in der Zahnmedizin angesehen werden.
3. Bei der Vorbereitung von dentalen Implantatabutments sind maschinerte Oberflächen hochglanzpolierten und rauen Oberflächen vorzuziehen, da sich auf ihnen die größte Zelladhäsion am Abutment ausbildet und damit eine potentielle Bakterienpenetration am ehesten vermieden werden kann.
4. Die der Arbeit zu Grunde liegende Nullhypothese, dass die verschiedenen Abutmentmaterialien (HD, Zr, Ti, ML und LS), die Benetzbarkeit der Oberflächen mit Wasser und die Oberflächenrauigkeit (rau, maschinert, poliert) keinen Einfluss auf die Abzugskraft der Gingivafibroblasten haben, muss abgelehnt werden.

## 5. Zusammenfassung

Um eine bakterielle Kontamination des periimplantären Knochens zu verhindern, muss die Durchtrittsstelle der Abutments durch die Schleimhaut abgedichtet werden. Diese Aufgabe wird durch die Adhäsion des periimplantären Weichgewebes an das Abutment erfüllt. Der Einfluss der verschiedenen Abutmentoberflächen auf die Zelladhäsion des Weichgewebes ist bisher nur geringfügig und mit uneinheitlichen Ergebnissen wissenschaftlich dokumentiert.

In dieser Studie wurden die Adhäsionseigenschaften lebender Gingivafibroblasten auf drei verschiedenen Implantatabutmentmaterialien (Titanlegierung, Zirkoniumdioxidkeramik und Lithiumdisilikatkeramik), einem Kompositkunststoff (Multilink Hybrid Abutment) und humanem Dentin mit jeweils drei Rauigkeitsstufen (rau, maschiniert und poliert) untersucht. Dabei wurde die Nullhypothese aufgestellt, dass die verschiedenen Abutmentmaterialien, die Benetzbarkeit der Oberflächen mit Wasser und die Oberflächenrauigkeiten keinen Einfluss auf die Abzugskraft der Gingivafibroblasten haben.

Zunächst wurden die Oberflächen der Probekörper aller Materialien auf die drei verschiedenen Oberflächenrauigkeiten (rau, maschiniert und poliert) aufbereitet. Ra (arithmetischer Mittelrauwert) sowie Rz (gemittelte Rautiefe) und die Oberflächenbenetzbarkeit mit Wasser wurden bestimmt. Außerdem wurde mit Hilfe der Einzelzellkraft-Spektroskopie die Kraft gemessen, welche notwendig ist, um einzelne humane Gingivafibroblasten von den Materialien zu lösen. Hierbei wurde ein Atomkraftmikroskop (AFM, engl. atomic force microscope) in Kombination mit einem optischen Mikroskop verwendet. Die statistische Analyse der Daten erfolgte durch parametrische Tests (ANOVA, MANOVA; Bonferroni post-hoc tests).

Die Ergebnisse zeigen, dass die Oberflächenrauigkeit bei allen Materialien deutlich die Benetzbarkeit der Probekörper mit Wasser, angegeben als Kontaktwinkel, beeinflusste ( $P \leq 0,05$ ). Insgesamt zeigte Dentin den niedrigsten Kontaktwinkel (rau:  $41,5^\circ$ , maschiniert:  $47,9^\circ$ , poliert:  $44,5^\circ$ ), gefolgt von Lithiumdisilikatkeramik (rau:  $59^\circ$ , maschiniert:  $62,5^\circ$ , poliert:  $64,5^\circ$ ), der Titanlegierung (rau:  $88,1^\circ$ , maschiniert:  $82,9^\circ$ , poliert:  $86^\circ$ ), Zirkoniumdioxidkeramik (rau:  $96,4^\circ$ , maschiniert:  $89,4^\circ$ , poliert:  $97,4^\circ$ ) und dem Kompositkunststoff (rau:  $115,2^\circ$ , maschiniert:  $97,5^\circ$ , poliert:  $98,5^\circ$ ). Die höchsten Abzugskräfte konnten insgesamt auf humanem Dentin (rau: 0,19 nN, maschiniert: 0,21 nN, poliert: 0,25 nN), gefolgt von der Titanlegierung (rau: 0,18 nN, maschiniert: 0,22

nN, poliert: 0,2 nN), dem Kompositkunststoff (rau: 0,18 nN, maschinert: 0,22 nN, poliert: 0,2 nN), Zirkoniumdioxidkeramik (rau: 0,15 nN, maschinert: 0,25 nN, poliert: 0,28 nN) und Lithiumdisilikatkeramik (rau: 0,18 nN, maschinert: 0,2 nN, poliert: 0,16 nN) gemessen werden. Die Abzugskräfte auf den rauen und maschinerten Oberflächen zeigten miteinander verglichen keine signifikanten Unterschiede ( $P > 0,05$ ), mit Ausnahme der rauen Oberflächen von Zirkoniumdioxidkeramik verglichen mit Dentin ( $P = 0,006$ ). Bei den polierten Oberflächen zeigte Dentin die höchste Abzugskraft ( $P \leq 0,0001$ ), gefolgt von der Titanlegierung, dem Kompositkunststoff und Zirkoniumdioxidkeramik, welche sich nicht signifikant voneinander ( $P > 0,05$ ) und von Lithiumdisilikatkeramik unterschieden; die Titanlegierung und der Kompositkunststoff wiederum waren schwach signifikant verschieden von Lithiumdisilikatkeramik ( $P \leq 0,05$ ). Mit Ausnahme von Dentin, bei dem die polierten Oberflächen die höchsten Abzugskräfte zeigten ( $P \leq 0,002$ ), wiesen die maschinerten Oberflächen bei allen anderen Materialien größere Abzugskräfte auf, als die rauen oder die polierten Oberflächen.

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass humanes Dentin als hydrophilstes der fünf getesteten Materialien die höchste Zellabzugskraft zeigte und damit als „Goldstandard“ für zukünftige Studien über Zelladhäsion in der Zahnmedizin gelten kann. Bei der Vorbereitung von dentalen Implantatabutments scheinen maschinerte Oberflächen hochglanzpolierten und rauen Oberflächen vorzuziehen zu sein, da sich auf ihnen die größte Zelladhäsion am Abutment ausbildet und damit am ehesten eine potentielle Bakterienpenetration vermieden werden kann.

## 6. Summary

Sealing the mucosal margin of the implant abutment tightly might prevent bacterial contamination of the peri-implant bone. This is accomplished by adhesion of peri-implant soft tissue onto the abutment. The connection between different abutment surfaces and cell adhesion of soft tissue has been the subject of only very few scientific studies with inconclusive results.

In this study the adhesion properties of living gingival fibroblasts to three different implant abutment materials (titanium alloy, zirconium dioxide and lithium disilicate), composite resin and human dentin were tested using three different levels of surface roughness (rough, machined and polished). The null-hypotheses tested were: "The different abutment materials, their surface wettability and roughness have no influence on the cell detachment force of gingival fibroblasts."

For that purpose disks of the above materials were fabricated with three different levels of surface roughness (rough, machined, and polished). Ra (arithmetic mean value) and Rz (mean roughness depths) and water contact angle were measured. Cell detachment force was measured for single cells using single-cell force spectroscopy combining an atomic force microscope and an optical microscope. The data were statistically analyzed using parametric tests (ANOVA, MANOVA, Bonferroni post-hoc tests).

Surface roughness significantly impacted the water contact angle for all materials ( $P \leq 0.05$ ). Overall, human dentin showed the lowest contact angle (rough:  $41.5^\circ$ , machined:  $47.9^\circ$ , polished:  $44.5^\circ$ ), followed by lithium disilicate (rough:  $59^\circ$ , machined:  $62.5^\circ$ , polished:  $64.5^\circ$ ), titanium alloy (rough:  $88.1^\circ$ , machined:  $82.9^\circ$ , polished:  $86^\circ$ ), zirconium dioxide (rough:  $96.4^\circ$ , machined:  $89.4^\circ$ , polished:  $97.4^\circ$ ), and composite resin (rough:  $115.2^\circ$ , machined:  $97.5^\circ$ , polished:  $98.5^\circ$ ). The highest detachment force was measured for human dentin (rough: 0.19 nN, machined: 0.21 nN, polished: 0.25 nN), followed by titanium alloy (rough: 0.18 nN, machined: 0.22 nN, polished: 0.2 nN), composite resin (rough: 0.18 nN, machined: 0.22 nN, polished: 0.2 nN), zirconium dioxide (rough: 0.15 nN, machined: 0.25 nN, polished: 0.28 nN) and lithium disilicate (rough: 0.18 nN, machined: 0.2 nN, polished: 0.16 nN).

The comparison of cell detachment forces between materials with rough and machined surfaces revealed no significant differences ( $P > 0.05$ ), with the exception of zirconium dioxide compared to human dentin with rough surfaces ( $P = 0.006$ ). For polished

surfaces, human dentin showed the highest detachment force ( $P \leq 0.0001$ ), followed by titanium alloy, composite resin, and zirconium dioxide, which did not significantly differ from each other ( $P > 0.05$ ) and from lithium disilicate; titanium alloy and composite resin were significantly different from lithium disilicate ( $P \leq 0.05$ ). Except for human dentin, where polished surfaces exhibited the highest cell detachment force ( $P \leq 0.002$ ), most machined surfaces showed higher cell detachment forces than polished or rough surfaces.

In conclusion, human dentin has shown the most hydrophilic behavior as well as the highest cell detachment force and consequently might be considered as the “gold standard” for future studies on cell adhesion. Dental implant abutments with a machined surface had the highest cell adhesion on the abutments and therefore might provide the tightest barrier against bacteria infiltration. It seems that implant abutments should be provided with a machined like surface roughness for best cell adhesion.

## 7. Literaturverzeichnis

- [1] Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1998; 9: 73-9.
- [2] Abrahamsson I, Zitzmann NU, Berglundh T, Linder E, Wennerberg A, Lindhe J. The mucosal attachment to titanium implants with different surface characteristics: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2002; 29: 448-55.
- [3] Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Brånemark PI, Jemt T. Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990; 5: 347-59.
- [4] Alharbi HM, Babay N, Alzoman H, Basudan S, Anil S, Jansen JA. Bone morphology changes around two types of bone-level implants installed in fresh extraction sockets- a histomorphometric study in Beagle dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2015; 26: 1106-12.
- [5] Baharloo B, Textor M, Brunette DM. Substratum roughness alters the growth, area, and focal adhesions of epithelial cells, and their proximity to titanium surfaces. *J Biomed Mater Res A.* 2005; 74: 12-22.
- [6] Bakker DP, Postmus BR, Busscher HJ, van der Mei HC. Bacterial strains isolated from different niches can exhibit different patterns of adhesion to substrata. *Appl Environ Microbiol.* 2004; 70: 3758-60.
- [7] Barwacz CA, Brogden KA, Stanford CM, Dawson DV, Recker EN, Blanchette D. Comparison of pro-inflammatory cytokines and bone metabolism mediators around titanium and zirconia dental implant abutments following a minimum of 6 months of clinical function. *Clin Oral Implants Res.* 2015; 26: e35-41.
- [8] Benoit M, Gabriel D, Gerisch G, Gaub HE. Discrete interactions in cell adhesion measured by single-molecule force spectroscopy. *Nat Cell Biol.* 2000; 2: 313-7.
- [9] Benoit M, Selhuber-Unkel C. Measuring cell adhesion forces: theory and principles. *Methods Mol Biol.* 2011; 736: 355-77.
- [10] Berglundh T, Lindhe J. Dimension of the periimplant mucosa. Biological width revisited. *J Clin Periodontol.* 1996; 23: 971-3.

- [11] Bolle C, Gustin MP, Fau D, Exbrayat P, Boivin G, Grosogoeat B. Early Periimplant Tissue Healing on 1-Piece Implants With a Concave Transmucosal Design: A Histomorphometric Study in Dogs. *Implant Dent.* 2015; 24: 598-606.
- [12] Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Clin Oral Implants Res.* 1996; 7: 201-11.
- [13] Bolortuya G, Ebihara A, Ichinose S, Watanabe S, Anjo T, Kokuzawa C, Saegusa H, Kawashima N, Suda H. Initial fibroblast attachment to Erbium:YAG laser-irradiated dentine. *Int Endod J.* 2011; 44: 1134-44.
- [14] Bolortuya G, Ebihara A, Ichinose S, Watanabe S, Anjo T, Kokuzawa C, Saegusa H, Kawashima N, Suda H. Effects of dentin surface modifications treated with Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on fibroblast cell adhesion. *Photomed Laser Surg.* 2012; 30: 63-70.
- [15] Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl.* 1977; 16: 1-132.
- [16] Brunot C, Grosogoeat B, Picart C, Lagneau C, Jaffrezic-Renault N, Ponsonnet L. Response of fibroblast activity and polyelectrolyte multilayer films coating titanium. *Dent Mater.* 2008; 24: 1025-35.
- [17] Brunot-Gohin C, Duval JL, Azogui EE, Jannetta R, Pezron I, Laurent-Maquin D, Gangloff SC, Egles C. Soft tissue adhesion of polished versus glazed lithium disilicate ceramic for dental applications. *Dent Mater.* 2013; 29: e205-12.
- [18] Burton L, Paget D, Binder NB, Bohnert K, Nestor BJ, Sculco TP, Santambrogio L, Ross FP, Goldring SR, Purdue PE. Orthopedic wear debris mediated inflammatory osteolysis is mediated in part by NALP3 inflammasome activation. *J Orthop Res.* 2013; 31: 73-80.
- [19] Canullo L, Micarelli C, Lembo-Fazio L, Iannello G, Clementini M. Microscopical and microbiologic characterization of customized titanium abutments after different cleaning procedures. *Clin Oral Implants Res.* 2014; 25: 328-36.
- [20] Canullo L, Penarrocha-Oltra D, Marchionni S, Bagan L, Penarrocha-Diago MA, Micarelli C. Soft tissue cell adhesion to titanium abutments after different cleaning

procedures: preliminary results of a randomized clinical trial. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014; 19: e177-83.

[21] Carrillo de Albornoz A, Vignoletti F, Ferrantino L, Cardenas E, De Sanctis M, Sanz M. A randomized trial on the aesthetic outcomes of implant-supported restorations with zirconia or titanium abutments. *J Clin Periodontol*. 2014; 41: 1161-9.

[22] Checco A, Guenoun P, Daillant J. Nonlinear dependence of the contact angle of nanodroplets on contact line curvature. *Phys Rev Lett*. 2003; 91: 186101.

[23] Cosgarea R, Gasparik C, Dudea D, Culic B, Dannewitz B, Sculean A. Peri-implant soft tissue colour around titanium and zirconia abutments: a prospective randomized controlled clinical study. *Clin Oral Implants Res*. 2015; 26: 537-44.

[24] Di Carmine M, Toto P, Feliciani C, Scarano A, Tulli A, Strocchi R, Piattelli A. Spreading of epithelial cells on machined and sandblasted titanium surfaces: an in vitro study. *J Periodontol*. 2003; 74: 289-95.

[25] Donald AM. The use of environmental scanning electron microscopy for imaging wet and insulating materials. *Nat Mater*. 2003; 2: 511-6.

[26] Dorigatti de Avila ESdM, R; Vergani, C. E.; de Assis Mollo, F.; Salih, V. The Relationship between Biofilm and Physical-Chemical Properties of Implant Abutment Materials for Successful Dental Implants. *Materials*. 2014; 7: 3651-3662.

[27] Duval JL, Letort M, Sigot-Luizard MF. Comparative assessment of cell/substratum static adhesion using an in vitro organ culture method and computerized analysis system. *Biomaterials*. 1988; 9: 155-61.

[28] Eriksson C, Nygren H, Ohlson K. Implantation of hydrophilic and hydrophobic titanium discs in rat tibia: cellular reactions on the surfaces during the first 3 weeks in bone. *Biomaterials*. 2004; 25: 4759-66.

[29] Foti B, Tavitian P, Tosello A, Bonfil JJ, Franquin JC. Polymetallism and osseointegration in oral implantology: pilot study on primate. *J Oral Rehabil*. 1999; 26: 495-502.

[30] Franz CM, Puech P.-H. Atomic force microscopy: A versatile tool for studying cell morphology, adhesion and mechanics. *Cellular and Molecular Bioengineering*. 2008; 1: 289-300.

- [31] Franz CM, Taubenberger A, Puech PH, Muller DJ. Studying integrin-mediated cell adhesion at the single-molecule level using AFM force spectroscopy. *Sci STKE*. 2007; 2007: p15.
- [32] Fretwurst T, Buzanich G, Nahles S, Woelber JP, Riesemeier H, Nelson K. Metal elements in tissue with dental peri-implantitis: a pilot study. *Clin Oral Implants Res*. 2016; 27: 1178-86.
- [33] Gittens RA, Olivares-Navarrete R, Cheng A, Anderson DM, McLachlan T, Stephan I, Geis-Gerstorfer J, Sandhage KH, Fedorov AG, Rupp F, Boyan BD, Tannenbaum R, Schwartz Z. The roles of titanium surface micro/nanotopography and wettability on the differential response of human osteoblast lineage cells. *Acta Biomater*. 2013; 9: 6268-77.
- [34] Gittens RA, Scheideler L, Rupp F, Hyzy SL, Geis-Gerstorfer J, Schwartz Z, Boyan BD. A review on the wettability of dental implant surfaces II: Biological and clinical aspects. *Acta Biomater*. 2014; 10: 2907-18.
- [35] Grundke K, Bogumil, T., Werner, C., Janke, A., Pöschel, K. & Jacobasch, H. Liquid/fluid contact angle measurements on hydrophilic cellulosic materials. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects*. 1996; 116: 79-91.
- [36] Gu Q, Shi Q, Yang H. The role of TLR and chemokine in wear particle-induced aseptic loosening. *J Biomed Biotechnol*. 2012; 2012: 596870.
- [37] Hahnel S, Wieser A, Lang R, Rosentritt M. Biofilm formation on the surface of modern implant abutment materials. *Clin Oral Implants Res*. 2015; 26: 1297-301.
- [38] Happe A, Schulte-Mattler V, Strassert C, Naumann M, Stimmelmayer M, Zöller JE, Rothamel D. In vitro color changes of soft tissues caused by dyed fluorescent zirconia and nondyed, nonfluorescent zirconia in thin mucosa. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2013; 33: e1-8.
- [39] Happe A, Stimmelmayer M, Schlee M, Rothamel D. Surgical management of peri-implant soft tissue color mismatch caused by shine-through effects of restorative materials: one-year follow-up. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2013; 33: 81-8.
- [40] Heimburg T. *Thermal Biophysics of Membranes*, Wiley-VCH, Berlin, 2007.
- [41] Helenius J, Heisenberg CP, Gaub HE, Muller DJ. Single-cell force spectroscopy. *J Cell Sci*. 2008; 121: 1785-91.

- [42] Herranz-Diez C, Li Q, Lamprecht C, Mas-Moruno C, Neubauer S, Kessler H, Manero JM, Guillem-Marti J, Selhuber-Unkel C. Bioactive compounds immobilized on Ti and TiNbHf: AFM-based investigations of biofunctionalization efficiency and cell adhesion. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015; 136: 704-11.
- [43] Hirota K, Yumoto H, Miyamoto K, Yamamoto N, Murakami K, Hoshino Y, Matsuo T, Miyake Y. MPC-polymer reduces adherence and biofilm formation by oral bacteria. *J Dent Res*. 2011; 90: 900-5.
- [44] Hisbergues M, Vendeville S, Vendeville P. Zirconia: Established facts and perspectives for a biomaterial in dental implantology. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009; 88: 519-29.
- [45] Hobkirk JA, Wiskott HW, Working G. Ceramics in implant dentistry (Working Group 1). *Clin Oral Implants Res*. 2009; 20 Suppl 4: 55-7.
- [46] Hormia M, Kononen M. Immunolocalization of fibronectin and vitronectin receptors in human gingival fibroblasts spreading on titanium surfaces. *J Periodontal Res*. 1994; 29: 146-52.
- [47] Hormia M, Kononen M, Kivilahti J, Virtanen I. Immunolocalization of proteins specific for adherens junctions in human gingival epithelial cells grown on differently processed titanium surfaces. *J Periodontal Res*. 1991; 26: 491-7.
- [48] Huang HH, Ho CT, Lee TH, Lee TL, Liao KK, Chen FL. Effect of surface roughness of ground titanium on initial cell adhesion. *Biomol Eng*. 2004; 21: 93-7.
- [49] Javed F, Al-Hezaimi K, Almas K, Romanos GE. Is titanium sensitivity associated with allergic reactions in patients with dental implants? A systematic review. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2013; 15: 47-52.
- [50] Jemt T, Chai J, Harnett J, Heath MR, Hutton JE, Johns RB, McKenna S, McNamara DC, van Steenberghe D, Taylor R, Watson RM, Herrmann I. A 5-year prospective multicenter follow-up report on overdentures supported by osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996; 11: 291-8.
- [51] Jung-Won Lee H-SC, Joo-Hee Lee. Fracture resistance of zirconia and resin nano ceramic implant abutments according to thickness after thermocycling. *Korean Acad Prosthodont*. 2017; 2: 144-150.

- [52] Kawahara H, Kawahara D, Hashimoto K, Takashima Y, Ong JL. Morphologic studies on the biologic seal of titanium dental implants. Report I. In vitro study on the epithelialization mechanism around the dental implant. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998; 13: 457-64.
- [53] Kern M, Beuer F, Frankenberger R, Kohal RJ, Kunzelmann KH, Mehl A, Pospiech P, Reiss B. *Vollkeramik auf einen Blick*, 6. Auflage ed., Ettlingen: AG Keramik 2015.
- [54] Kerschbaum T. VR. Zum Risiko der Überkronung. *Dtsch Zahnärztl Z*. 1979; 34: 740-743.
- [55] Kononen M, Hormia M, Kivilahti J, Hautaniemi J, Thesleff I. Effect of surface processing on the attachment, orientation, and proliferation of human gingival fibroblasts on titanium. *J Biomed Mater Res*. 1992; 26: 1325-41.
- [56] Kramer PR, Janikkeith A, Cai Z, Ma S, Watanabe I. Integrin mediated attachment of periodontal ligament to titanium surfaces. *Dent Mater*. 2009; 25: 877-83.
- [57] Lampin M, Warocquier C, Legris C, Degrange M, Sigot-Luizard MF. Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion, and cell migration. *J Biomed Mater Res*. 1997; 36: 99-108.
- [58] Lautenschlager EP, Monaghan P. Titanium and titanium alloys as dental materials. *Int Dent J*. 1993; 43: 245-53.
- [59] Linkevicius T, Apse P. Influence of abutment material on stability of peri-implant tissues: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008; 23: 449-56.
- [60] Linkevicius T, Vaitelis J. The effect of zirconia or titanium as abutment material on soft peri-implant tissues: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2015; 26 Suppl 11: 139-47.
- [61] Lussi JW, Falconnet D, Hubbell JA, Textor M, Csucs G. Pattern stability under cell culture conditions--a comparative study of patterning methods based on PLL-g-PEG background passivation. *Biomater*. 2006; 27: 2534-41.
- [62] MacQuarrie RA, Fang Chen Y, Coles C, Anderson GI. Wear-particle-induced osteoclast osteolysis: the role of particulates and mechanical strain. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004; 69: 104-12.

- [63] Manicone PF, Rossi Iommetti P, Raffaelli L. An overview of zirconia ceramics: basic properties and clinical applications. *J Dent.* 2007; 35: 819-26.
- [64] Mendez-Vilas A, Jodar-Reyes AB, Gonzalez-Martin ML. Ultrasmall liquid droplets on solid surfaces: production, imaging, and relevance for current wetting research. *Small.* 2009; 5: 1366-90.
- [65] Moopnar M, Faulkner KD. Accidental damage to teeth adjacent to crown-prepared abutment teeth. *Aust Dent J.* 1991; 36: 136-40.
- [66] Muller C, Luders A, Hoth-Hannig W, Hannig M, Ziegler C. Initial bioadhesion on dental materials as a function of contact time, pH, surface wettability, and isoelectric point. *Langmuir.* 2010; 26: 4136-41.
- [67] Oates TW, Maller SC, West J, Steffensen B. Human gingival fibroblast integrin subunit expression on titanium implant surfaces. *J Periodontol.* 2005; 76: 1743-50.
- [68] Osborn J, F. in: Quintessenz (Ed.), *Implantatwerkstoff Hydroxylapatit Grundlagen und klinische Anwendung*, Berlin, 1985.
- [69] Osman RBS, M. V. A critical review of dental implant materials with an emphasis on titanium versus zirconia. *Materials.* 2015; 932-958.
- [70] Pae A, Lee H, Kim HS, Kwon YD, Woo YH. Attachment and growth behaviour of human gingival fibroblasts on titanium and zirconia ceramic surfaces. *Biomed Mater.* 2009; 4: 025005.
- [71] Pjetursson BE, Brägger U, Lang NP, Zwahlen M. Comparison of survival and complication rates of tooth-supported fixed dental prostheses (FDPs) and implant-supported FDPs and single crowns (SCs). *Clin Oral Implants Res.* 2007; 18 Suppl 3: 97-113.
- [72] Quirynen M, Bollen CM, Papaioannou W, Van Eldere J, van Steenberghe D. The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1996; 11: 169-78.
- [73] Raisanen L, Kononen M, Juhanoja J, Varpavaara P, Hautaniemi J, Kivilahti J, Hormia M. Expression of cell adhesion complexes in epithelial cells seeded on biomaterial surfaces. *J Biomed Mater Res.* 2000; 49: 79-87.

- [74] Rasperini G, Maglione M, Cocconcelli P, Simion M. In vivo early plaque formation on pure titanium and ceramic abutments: a comparative microbiological and SEM analysis. *Clin Oral Implants Res.* 1998; 9: 357-64.
- [75] Rimondini L, Cerroni L, Carrassi A, Torricelli P. Bacterial colonization of zirconia ceramic surfaces: an in vitro and in vivo study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002; 17: 793-8.
- [76] Romeo E, Ghisolfi M, Carmagnola D. Peri-implant diseases. A systematic review of the literature. *Minerva Stomatol.* 2004; 53: 215-30.
- [77] Rompen E, Raepsaet N, Domken O, Touati B, Van Dooren E. Soft tissue stability at the facial aspect of gingivally converging abutments in the esthetic zone: a pilot clinical study. *J Prosthet Dent.* 2007; 97: S119-25.
- [78] Rupp F, Gittens RA, Scheideler L, Marmur A, Boyan BD, Schwartz Z, Geis-Gerstorfer J. A review on the wettability of dental implant surfaces I: theoretical and experimental aspects. *Acta Biomater.* 2014; 10: 2894-906.
- [79] Rupp F, Scheideler L, Eichler M, Geis-Gerstorfer J. Wetting behavior of dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2011; 26: 1256-66.
- [80] Rutkunas V, Bukelskiene V, Sabaliauskas V, Balciunas E, Malinauskas M, Baltriukiene D. Assessment of human gingival fibroblast interaction with dental implant abutment materials. *J Mater Sci Mater Med.* 2015; 26: 169.
- [81] Sculean A, Gruber R, Bosshardt DD. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. *J Clin Periodontol.* 2014; 41 Suppl 15: S6-22.
- [82] Selhuber-Unkel C, Lopez-Garcia M, Kessler H, Spatz JP. Cooperativity in adhesion cluster formation during initial cell adhesion. *Biophys J.* 2008; 95: 5424-31.
- [83] Sicilia A, Cuesta S, Coma G, Arregui I, Guisasola C, Ruiz E, Maestro A. Titanium allergy in dental implant patients: a clinical study on 1500 consecutive patients. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19: 823-35.
- [84] Sivan-Gildor A, Machtei EE, Gabay E, Frankenthal S, Levin L, Suzuki M, Coelho PG, Zigdon-Giladi H. Novel implant design improves implant survival in multirooted extraction sites: a preclinical pilot study. *J Periodontol.* 2014; 85: 1458-63.

- [85] Small PN, Tarnow DP. Gingival recession around implants: a 1-year longitudinal prospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000; 15: 527-32.
- [86] Stawarczyk B, Keul C, Eichberger M, Figge D, Edelhoff D, Lumkemann N. Three generations of zirconia: From veneered to monolithic. Part I. *Quintessence Int*. 2017; 48: 369-380.
- [87] Stawarczyk B, Keul C, Eichberger M, Figge D, Edelhoff D, Lumkemann N. Three generations of zirconia: From veneered to monolithic. Part II. *Quintessence Int*. 2017; 48: 441-450.
- [88] Strub JR, Kern M, Türp JC, Witkowski S, Heydecke G, Wolfart S. Curriculum Prothetik Band III. Kombinierte und abnehmbare Prothetik - Implantologie - Nachsorge - Lebensqualität, Berlin: Quintessenz 2011.
- [89] Takamori ER, Cruz R, Goncalvez F, Zanetti RV, Zanetti A, Granjeiro JM. Effect of roughness of zirconia and titanium on fibroblast adhesion. *Artif Organs*. 2008; 32: 305-9.
- [90] Tete S, Zizzari VL, Borelli B, De Colli M, Zara S, Sorrentino R, Scarano A, Gherlone E, Cataldi A, Zarone F. Proliferation and adhesion capability of human gingival fibroblasts onto zirconia, lithium disilicate and feldspathic veneering ceramic in vitro. *Dent Mater J*. 2014; 33: 7-15.
- [91] Textor M. SC, Frauchiger V., Tosatti S. Properties and biological significance of natural oxide films on titanium and its alloys, in: Brunette D.M. T P, Textor M., Thomsen P. (Ed.), *Titanium in Medicine*, Springer, Berlin, 2001, S. 31-35.
- [92] Torgersen S, Gjerdet NR, Erichsen ES, Bang G. Metal particles and tissue changes adjacent to miniplates. A retrieval study. *Acta Odontol Scand*. 1995; 53: 65-71.
- [93] Torgersen S, Moe G, Jonsson R. Immunocompetent cells adjacent to stainless steel and titanium miniplates and screws. *Eur J Oral Sci*. 1995; 103: 46-54.
- [94] Touati B, Rompen E, Van Dooren E. A new concept for optimizing soft tissue integration. *Pract Proced Aesthet Dent*. 2005; 17: 711-2, 714-5.
- [95] Tschernitschek H, Borchers L, Geurtsen W. Nonalloyed titanium as a bioinert metal--a review. *Quintessence Int*. 2005; 36: 523-30.

- [96] von Baehr VuS, S. Immunologische Grundlagen der titaninduzierten Periimplantitis. ZMK. 2011; 27: 21-25.
- [97] von Knoch M, Jewison DE, Sibonga JD, Sprecher C, Morrey BF, Loer F, Berry DJ, Scully SP. The effectiveness of polyethylene versus titanium particles in inducing osteolysis in vivo. J Orthop Res. 2004; 22: 237-43.
- [98] Vorburger TV, Raja J. Surface finish metrology tutorial. , Galthersburg, in: Technology N I o S a (Ed.) 1990.
- [99] Wennerberg A, Sennerby L, Kultje C, Lekholm U. Some soft tissue characteristics at implant abutments with different surface topography. A study in humans. J Clin Periodontol. 2003; 30: 88-94.
- [100] Wojcikiewicz EP, Zhang X, Moy VT. force and compliance measurements on living cells using atomic force microscopy (AFM). Biol Proced Online. 2004; 6: 1-9.
- [101] Yamashita D, Machigashira M, Miyamoto M, Takeuchi H, Noguchi K, Izumi Y, Ban S. Effect of surface roughness on initial responses of osteoblast-like cells on two types of zirconia. Dent Mater J. 2009; 28: 461-70.
- [102] Yang Y, Zhou J, Liu X, Zheng M, Yang J, Tan J. Ultraviolet light-treated zirconia with different roughness affects function of human gingival fibroblasts in vitro: the potential surface modification developed from implant to abutment. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2015; 103: 116-24.
- [103] Yildirim M, Edelhoff D, Hanisch O, Spiekermann H. Ceramic abutments--a new era in achieving optimal esthetics in implant dentistry. Int J Periodontics Restorative Dent. 2000; 20: 81-91.
- [104] Zembic A, Bosch A, Jung RE, Hämmerle CH, Sailer I. Five-year results of a randomized controlled clinical trial comparing zirconia and titanium abutments supporting single-implant crowns in canine and posterior regions. Clin Oral Implants Res. 2013; 24: 384-90.
- [105] Zhao B, van der Mei HC, Subbiahdoss G, de Vries J, Rustema-Abbing M, Kuijjer R, Busscher HJ, Ren Y. Soft tissue integration versus early biofilm formation on different dental implant materials. Dent Mater. 2014; 30: 716-27.

[106] Zitzmann NU, Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. Soft tissue reactions to plaque formation at implant abutments with different surface topography. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2002; 29: 456-61.

## 8. Danksagung

Diese Studie wurde von Camlog Foundation (Basel, Schweiz, Grant No. CF21405) und der Deutschen Gesellschaft für Prothetische Zahnmedizin und Biomaterialien e.V. (DGPro) finanziell unterstützt. Ivoclar Vivadent (Schaan, Liechtenstein) stellte die Materialien kostenfrei zur Verfügung.

Für die Überlassung des Themas danke ich Herrn Prof. Dr. Matthias Kern, Direktor der Klinik für Zahnärztliche Prothetik, Propädeutik und Werkstoffkunde, UKSH, Campus Kiel.

Meinem Betreuer Herrn PD Dr. Christian Mehl danke ich vor allem für das Organisieren des Projektes, die statistische Analyse und seine Hilfestellung bei der Verfassung dieser Arbeit.

Für die Unterstützung bei der Herstellung und Evaluation der Oberflächenrauigkeiten danke ich Herrn Rüdiger Möller und Herrn Frank Lehmann, Klinik für Zahnärztliche Prothetik, Propädeutik und Werkstoffkunde, UKSH, Campus Kiel.

Außerdem danke ich Herrn M.Sc. Alexander Vahl, Institut für Materialwissenschaften, CAU Kiel, für seine Hilfe bei der Kontaktwinkelmessung.

Ganz besonders danke ich Frau Prof. Dr. Christine Sellhuber-Unkel und ihrer Arbeitsgruppe Biocompatible Nanomaterials, Institut für Materialwissenschaften CAU Kiel, für die Bereitstellung ihrer Labore, einschließlich des AFMs, und vor allem ihrer Fachkompetenzen im Bereich der Zelladhäsion auf Biomaterialien. Genannt sei hierbei Herr Hannes Westerhaus, als unterstützende Kraft bei der Pflege der Zellkulturen. Insbesondere bin ich zudem Herrn Dr. Laith Kadem zu großem Dank verpflichtet. Ohne Deine Hilfe wäre die Durchführung der AFM-Versuche nicht möglich gewesen. Ich bin froh, dass sich so unsere Wege kreuzten und ich Dich als Freund dazugewonnen habe.

Außerdem danke ich meiner Familie und meinen Freundinnen für ihre allgegenwärtige Unterstützung, Motivation und Ablenkung zu den richtigen Momenten. Hierbei bin ich Kai Wimmer, Gesa Hauschildt und Dr. Nadine Mengis zudem für ihre liebevollen Korrekturen meiner Arbeit sehr dankbar.

In tiefer Freundschaft und Liebe danke ich zuletzt Dr. Kai Olbert für seine fachliche und vor allem persönliche Unterstützung, nicht nur beim Niederlegen dieser Arbeit,