

**Polymorphismen des Interleukin-4 Gens bei
Patienten mit aggressiver Parodontitis aus
Mittelamerika und Nordeuropa**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Vorgelegt von Andrea Christina Kothe
aus Gelsenkirchen

Giessen 2008

Aus dem Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Poliklinik für Parodontologie
Leiter: Prof. Dr. J. Meyle
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. J. Meyle

Gutachter: Prof. Dr. Hackstein

Tag der Disputation: 15.09.2008

Meinen Eltern, Großeltern,
Onkel Hans und
Philipp

1.	EINLEITUNG.....	1
2.	LITERATURÜBERSICHT.....	3
2.1	Klassifikation der Parodontitis.....	3
2.2	Pathogenese der Parodontitis.....	4
2.3	IL-4 und Parodontitis.....	10
2.4	Epidemiologie der Parodontitis.....	13
2.5	Genetische Einflüsse auf die Parodontitis.....	16
3.	ZIELE DER STUDIE.....	22
4.	MATERIAL UND METHODEN.....	23
4.1	STUDIENPROTOKOLL.....	23
4.2	KLINISCHE UND RADIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGSPARAMETER.....	23
4.3	GRUPPENEINTEILUNG.....	24
4.4	EINSCHLUSSKRITERIEN.....	25
4.5	AUSSCHLUSSKRITERIEN.....	26
4.6	STUDIENABLAUF.....	26
4.6.1	Blutentnahme.....	27
4.6.2	Extraktion der DNA.....	27
4.6.3	Polymerasekettenreaktion (PCR).....	28
4.6.3.1	PCR zum Nachweis des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus.....	29
4.6.3.2	PCR zum Nachweis des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2.....	30
4.6.3.3	PCR zum Nachweis des IL-4 GT Dinucleotid Repeat- Polymorphismus in Intron 3.....	31
4.6.4	Gelelektrophorese der PCR-Produkte.....	32
4.6.5	DNA Aufreinigung des PCR-Produktes bei dem IL-4 C(-590)-T Polymorphismus.....	35
4.6.6	Restriktionsverdau bei dem IL-4 C(-590)-T Polymorphismus.....	35
4.6.7	Gelelektrophorese der Restriktionsprodukte.....	36
4.7	STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	37
5.	ERGEBNISSE.....	40
5.1	KLINISCHE PARAMETER.....	40

5.1.1	Alter	40
5.1.2	Plaqueindex	40
5.1.3	Papillenblutungsindex	40
5.1.4	Sondierungstiefe	41
5.1.5	Sondierungsblutung	41
5.1.6	Klinischer Attachmentlevel	41
5.2	VERTEILUNG DES IL-4 C(-590)-T POLYMORPHISMUS	42
5.3	VERTEILUNG DES IL-4 70BP REPEAT-POLYMORPHISMUS IN INTRON 2	44
5.4	VERTEILUNG DES IL-4 GT DINUCLEOTID REPEAT-POLYMORPHISMUS IN INTRON 3	46
5.5	VERTEILUNG DER GENOTYPEN DES IL-4 C(-590)-T POLYMORPHISMUS UND DES IL-4 70BP REPEAT-POLYMORPHISMUS IN INTRON 2 ZUSAMMEN	47
5.6	VERTEILUNG DER GENOTYPEN DES IL-4 C(-590)-T POLYMORPHISMUS BZW. DES IL-4 70BP REPEAT-POLYMORPHISMUS IN INTRON 2 UND DES IL-4 GT DINUCLEOTID REPEAT-POLYMORPHISMUS IN INTRON 3 ZUSAMMEN	49
5.6.1	IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und IL-4 GT Dinucleotid Repeat- Polymorphismus in Intron 3 zusammen	49
5.6.2	IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zusammen	51
5.7	VERTEILUNG DER KOMBINATIONEN DER GENOTYPEN IN DEN PATIENTENGRUPPEN UND KLINISCHE PARAMETER	52
5.7.1	IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und IL-4 70bp Repeat- Polymorphismus in Intron 2 zusammen	53
5.7.2	IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 und IL-4 C(-590)-T Polymorphismus zusammen	55
5.7.3	IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 und IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 zusammen	56
5.8	UNTERSUCHUNG EINES MÖGLICHEN ZUSAMMENHANGS ZWISCHEN DEM GENOTYPEN UND DEM AUFTRETEN DER ERKRANKUNG	57
6.	DISKUSSION	58
7.	ZUSAMMENFASSUNG	68

8. SUMMARY	70
9. LITERATURVERZEICHNIS	72
10. LISTE DER GEBRAUCHTEN ABKÜRZUNGEN	86
11. ANHANG	87

1. Einleitung

Die Parodontitis ist gekennzeichnet durch ein komplexes Zusammenspiel zwischen den verursachenden Keimen und der Immunabwehr des Patienten. Es handelt sich um eine multifaktorielle, entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, die durch spezifische, pathogene Mikroorganismen des Biofilms verursacht und durch Mediatoren beeinflusst wird. Hierbei ist die Effektivität der individuellen Immunabwehr entscheidend für das Ausmaß der parodontalen Destruktion.

Inzwischen ist bekannt, dass es verschiedene Modifikatoren gibt, die die Entzündungsreaktion und die Immunabwehr derart beeinflussen, dass eine Prädisposition des Patienten entsteht, zum einen aus einer Gingivitis eine Parodontitis, und zum anderen eine schwere, rasch voranschreitende Form der Parodontitis zu entwickeln. Ein entscheidender Faktor ist das Rauchen, welches eine erhöhte Produktion der inflammatorischen Zytokine zur Folge zu haben scheint (Giannopoulou *et al.*, 2003), aber auch Stress und systemische Erkrankungen z.B. Diabetes mellitus, HIV und Osteoporose zählen zu den Modifikatoren (Salvi *et al.*, 1997).

Zudem gibt es zunehmend mehr Evidenz dafür, dass genetische Einflussfaktoren ebenfalls für ein erhöhtes Parodontitisrisiko verantwortlich sind. Deren Erforschung war in den letzten Jahren von besonderem Interesse (Hart & Kornman 1997, Hodge & Michalowicz 2001). Mit Hilfe mehrerer Zwillingsstudien gelang es, eine Beteiligung der genetischen Faktoren an Pathogenese und Vielfalt der Parodontitis und ihrer klinischen Symptome nachzuweisen (Corey *et al.*, 1993, Michalowicz *et al.*, 1991b, Michalowicz *et al.*, 1991a, Michalowicz *et al.*, 2000).

Bei der Identifikation genetischer Faktoren sind Polymorphismen der Gene, deren Proteine wichtig für die Entzündungs- und Immunreaktion sind, besonders interessant.

Kornman und Mitarbeitern gelang es 1997 mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion, einen Zusammenhang zwischen einem spezifischen Genotypen des IL-1 Gens und einer schweren Form der Erwachsenenparodontitis nachzuweisen. Auch bei der Untersuchung verschiedener Polymorphismen des IL-4 Gens wurde festgestellt, dass jeweils ein Genotyp der untersuchten Polymorphismen ausschließlich in der Patientengruppe auftrat, nicht jedoch bei gesunden Probanden. Die Ergebnisse dieser

Studie weisen auf eine mögliche Beeinflussung der Parodontitispathogenese durch die IL-4 Genotypen hin (Michel *et al.*, 2001).

Auch im Rahmen der vorliegenden Studie wurde der Einfluss verschiedener Polymorphismen des IL-4 Gens auf die Parodontitis untersucht. Es wurden 14 gesunde Probanden einer Kontrollgruppe und 16 Patienten mit aggressiver Parodontitis (AP) hispanischer Abstammung („Hispanics“), sowie 33 gesunde Probanden einer Kontrollgruppe und 34 Patienten mit AP aus Nordeuropa mittels Polymerasekettenreaktion auf Polymorphismen des IL-4 Gens untersucht. Die von Michel *et al.* (2001) gefundene Verteilung der IL-4 Genotypen des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 (Mout *et al.*, 1991) und des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus (Walley und Cookson, 1996) sollte anhand einer größeren Population Nordeuropäer verifiziert werden. Zudem war die Frage von besonderem Interesse, ob die von Michel *et al.* (2001) gefundene Verteilung der IL-4 Genotypen in ähnlicher Form auch bei Personen anderer Ethnizität auftritt. Es ist bekannt, dass es unterschiedliche Ergebnisse innerhalb verschiedener ethnischer Gruppen geben kann (Albandar *et al.*, 2002, Diehl *et al.*, 1999, Gonzales *et al.*, 2003). Außerdem wurde der IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 (Mout *et al.*, 1991), ein bisher in Hinblick auf Parodontitis noch nicht untersuchter Polymorphismus, bei den Europäern untersucht, um mögliche Zusammenhänge aufzuzeigen.

2. Literaturübersicht

2.1 Klassifikation der Parodontitis

Die heute gültige Klassifikation der Parodontitis hat 1999 das bis dahin gültige, 1989 auf dem *World Workshop in Clinical Periodontics* erstellte, Klassifikationssystem abgelöst (The American Academy of Periodontology 1989). Die zur Zeit gültige Klassifikation wurde 1999 auf einem internationalen Workshop verabschiedet.

Die Bezeichnung „adulte Parodontitis“, die die häufigste Form der Parodontitis darstellt, wurde, da sie auch bei Kindern und Jugendlichen auftreten kann, durch die Bezeichnung „chronische Parodontitis“ (CP) ersetzt. Initiiert und aufrechterhalten wird sie durch die Mikroorganismen in der subgingivalen Plaque. Prävalenz und Schweregrad der CP steigen mit zunehmendem Alter. Je nach Anzahl der betroffenen Stellen wird eine lokalisierte von der generalisierten Form unterschieden. Attachmentverlust und Knochendestruktion verlaufen in der Regel langsam und können durch eine adäquate Therapie aufgehalten werden (Lindhe *et al.*, 1999).

Eine bereits bei Kindern und Jugendlichen auftretende Parodontitisform wurde als Early-Onset-Parodontitis (EOP) bezeichnet. Sie wurde nach der Klassifikation von 1989 noch in die präpubertäre, juvenile und schnell voranschreitende Form unterteilt. Die Bezeichnung EOP wurde in der aktuellen Nomenklatur durch die Bezeichnung „aggressive Parodontitis“ (AP) ersetzt, denn das Alter hat sich als Klassifikationskriterium als ungeeignet erwiesen, da das Alter bei der Diagnose nicht notwendigerweise mit dem bei Krankheitsbeginn übereinstimmt (Tonetti & Mombelli 1999). Die aggressive Parodontitis ist durch einen schnell voranschreitenden Attachmentverlust in Kombination mit Knochendestruktion gekennzeichnet. Auch die aggressive Parodontitis lässt sich in eine lokalisierte und eine generalisierte Form einteilen (Lang *et al.*, 1999).

Bei der vorliegenden Studie wurden bei den Ein- und Ausschlusskriterien der mittelamerikanischen Personen auch das Alter zur Definition einer AP angegeben, da sowohl das Studienprotokoll als auch die Entnahme des Probenmaterials und die Befunderhebung bei dieser Population im Frühjahr 1999, also vor in Kraft treten der heute gültigen Klassifikation, stattfanden.

2.2 Pathogenese der Parodontitis

Die Parodontitis ist eine entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, der eine Gingivitis vorausgeht. Sowohl Gingivitis als auch Parodontitis werden durch Produkte der bakteriellen Flora verursacht und unterhalten (Kahnberg *et al.*, 1976, Loe *et al.*, 1965). Bei der Gingivitis handelt es sich um eine Entzündung des Saumepithels sowie des gingivalen Bindegewebes, die nach Entfernung des Biofilms in den meisten Fällen vollständig reversibel ist, da es im Gegensatz zur Parodontitis zu keinem Attachmentverlust kommt (Lindhe *et al.*, 1975). Die Parodontitis dagegen ist eine multifaktoriell hervorgerufene Erkrankung, die durch verschiedene schnelle und tiefe Zerstörung des Zahnhalteapparates zu irreversiblen Verankerungsverlust und, ohne Therapie, zu Zahnverlust führt (Page & Schroeder 1976). Die Pathogenese der Parodontitis stellt sich sehr komplex und unterschiedlich dar. Einfluss nimmt unter anderem eine Vielzahl mikrobieller Faktoren, die individuell unterschiedliche Immunabwehr der Patienten und Umwelteinflüsse.

Die bei schlechter Mundhygiene durch die Plaque hervorgerufene Gingivitis führt zu einer Auflockerung des Saumepithels. Als Folge können die Bakterien zwischen Zahn und Epithel in den subgingivalen Bereich vordringen, was zur Ausbildung einer gingivalen Tasche führt (Darveau *et al.*, 1997). Die in der gingivalen Tasche befindlichen Substanzen des mikrobiellen Biofilms, z.B. Enzyme und Lipopolysaccharide, bedingen eine direkte Schädigung der Zellen des Parodontiums (Kornman *et al.*, 1997b). Darüber hinaus schädigen Entzündungsmechanismen sowie die zelluläre und humorale Immunabwehr, die durch die Mikroorganismen und deren Stoffwechselprodukte aktiviert werden, zusätzlich die parodontalen Gewebe.

In experimentellen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass eine Gruppe von Erregern in der Plaque den Auslöser der Parodontitis darstellen. Drei dieser Mikroorganismen scheinen für Entstehung und Progression der Parodontitis von Bedeutung zu sein: *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter* und *Tannerella forsythia* (Haffajee & Socransky 1994, Offenbacher 1996, Socransky & Haffajee 1992). Seit 1996 werden diese Mikroorganismen als parodontale Pathogene bezeichnet (Page & Kornman 1997).

Die parodontalen Pathogene sind in der Lage, die Abwehr so zu beeinflussen, dass eine Gewebedestruktion mit Ausbildung parodontaler Taschen, eine Umwandlung

von Saum- in Taschenepithel, ein Abbau von Alveolarknochen und somit ein Attachmentverlust die Folge sind. Immunabwehr und Komplementsystem werden durch die Besiedelung der subgingivalen Zahnoberfläche aktiviert. Durch Chemotaxis wandern Leukozyten, insbesondere neutrophile Granulozyten, durch das Saumepithel in den Sulkus und errichten einen Leukozytenwall zwischen dem Biofilm und dem Epithel (Theilade & Attstrom 1985). Neutrophile Granulozyten und Monozyten stellen die schnell einsetzende Abwehr bei der parodontalen Entzündung dar. Ihre Aufgabe ist es, Mikroorganismen und deren Stoffwechselprodukte durch Phagozytose zu beseitigen, um deren Eindringen in das Gewebe zu verhindern. Überwinden die Pathogene diese Schranke, dringen sie und ihre Stoffwechselprodukte tief in das Gewebe ein und initiieren so vermutlich den Übergang von Gingivitis zu Parodontitis. Es kommt zur weiteren Aktivierung des Abwehrsystems, wobei T-Zellen aktiviert werden und das humorale System durch antikörperproduzierende Plasmazellen gekennzeichnet ist (Ishikawa *et al.*, 1997). Der ständige Antigennachschub durch das Vorhandensein der pathogenen subgingivalen Flora ist verantwortlich für die lokale Antikörperfreisetzung, so dass spezifische Antikörper in der Sulkusflüssigkeit nachweisbar sind (Ebersole 1990). Der Übergang von Gingivitis zu Parodontitis wird von einer Änderung der Lymphozytenpopulation begleitet. Bei der Gingivitis dominieren T-Zellen, wohingegen bei der Parodontitisläsion, neben T-Zellen, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten, verstärkt B-Zellen auftreten (Page & Schroeder 1976, Seymour *et al.*, 1979). Gelingt es der Immunabwehr, große Mengen schützender Antikörper freizusetzen und so die in das Gewebe eingedrungenen Antigene zu beseitigen, verläuft die Entzündung oberflächlich und die Gewebedestruktion kann verhindert werden (Salvi *et al.*, 1997). Die bereits genannten parodontalen Pathogene besitzen Virulenzfaktoren, die es ihnen ermöglichen, sich auf unterschiedlichen Wegen dem Zusammenwirken des Komplementsystems, der Granulozyten und Antikörper zu entziehen. *Porphyromonas gingivalis* ist in der Lage, Immunglobuline und Komplementproteine zu zerstören und so der Phagozytose durch die neutrophilen Granulozyten zu entgehen (Schenkein 1988, Sundqvist *et al.*, 1984). Zudem bildet das Bakterium eine Polysaccharidkapsel, die die Bindung von Komplementproteinen und Antikörpern an die Bakterienmembran verhindert (Schifferle *et al.*, 1993). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* kann, ähnlich wie

auch *Porphyromonas gingivalis*, durch die Endothelzellen aktiv in das parodontale Gewebe eindringen und ist zudem fähig, Leukotoxine freizusetzen, die es dem Bakterium ermöglichen, sich der Phagozytose zu entziehen (Holt & Bramanti 1991). Die Schwere der parodontalen Erkrankung ist von der Immunreaktion abhängig, wobei die Reaktion von Monozyten, T-Zellen und B-Zellen auf Antigene individuell sehr unterschiedlich ist. Bei der Immunreaktion kann es einerseits zur schützenden Antikörperreaktion, aber auch zu einer gewebezerstörenden Entzündungsreaktion kommen (Offenbacher 1996).

Wie bereits erwähnt stellen u.a. Monozyten die Abwehr bei der parodontalen Entzündung dar, wobei insbesondere Makrophagen wichtige Effektorzellen sind. Diese setzen durch den Kontakt mit bakteriellen Lipopolysacchariden (LPS) eine Vielzahl an Zytokinen frei. Dabei handelt es sich u.a. um Interleukin 1 α und 1 β (IL-1 α/β), Tumornekrosefaktor α (TNF- α), Interferon γ (IFN- γ), Interleukin 6 (IL-6) sowie Prostaglandin E2 (PGE2) und Matrixmetalloproteinasen (MMP) (Carswell *et al.*, 1975, Durum *et al.*, 1985, Fultz *et al.*, 1993, Temeles *et al.*, 1993). Diese Mediatoren spielen eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Parodontitis, indem sie entweder die Entzündungsreaktion begünstigen oder antiinflammatorisch wirken (Maeda *et al.*, 1994).

IL-1 β ist ein pluripotentes Zytokin, es hat als Teil des Zytokinnetzwerkes während einer Entzündungsreaktion Einfluss auf andere Mediatoren und steuert eine Vielzahl biologischer Abläufe. Bei Parodontitispatienten ist dieses katabolische und proinflammatorische Zytokin sowohl im Gewebe als auch in der Sulkusflüssigkeit in erhöhten Mengen nachzuweisen (Honig *et al.*, 1989, Michel *et al.*, 2001, Tokoro *et al.*, 1996). IL-1 β aktiviert eine verstärkte Freisetzung von PGE2 und MMP bei Monozyten und Fibroblasten, steigert die Kollagenaseproduktion der Fibroblasten und hemmt ihre Kollagensynthese (Birkedal-Hansen 1993, Ohshima *et al.*, 1994). Zudem führt es durch Aktivierung der Osteoklasten zur Knochendestruktion (Irwin *et al.*, 1994).

TNF- α gehört ebenfalls zu den gewebezerstörenden Zytokinen, da es wie auch IL-1 β die Fibroblasten zur Freisetzung von PGE2, MMP und Kollagenase stimuliert (Dayer *et al.*, 1985). Zusammen mit IL-1 β fördert es den Kollagenabbau und somit den Bindegewebsabbau (Meikle *et al.*, 1989).

IFN- γ bewirkt eine Differenzierung der TH-Vorläuferzellen zu TH1-Zellen,

beeinträchtigt die Funktion der TH2-Zellen und verhindert die Differenzierung der B-Zellen in Immunglobulin produzierende Plasmazellen (Gajewski *et al.*, 1989, Locksley *et al.*, 1991, Romagnani 1994). Darüber hinaus aktiviert es nach Kontakt mit bakterieller LPS Makrophagen, die dann die proinflammatorischen Mediatoren IL-1 β , TNF- α und PGE2 freisetzen (Page 1991).

Bei PGE2 handelt es sich um einen proinflammatorischen und gewebedestruierenden Mediator, der IL-1 β und TNF- α in ihrer Wirkung verstärkt. Es stimuliert bei Monozyten die Freisetzung von MMP, aktiviert den Bindegewebsabbau und die Knochenresorption und verhindert darüber hinaus die Antikörperproduktion von Plasmazellen (Birkedal-Hansen 1993).

Die MMP zählen zu den metabolischen Endprodukten einer Entzündung und sind in der Lage, die extrazelluläre Matrix systematisch abzubauen, um Platz für das sich ausbreitende Entzündungsinfiltrat zu schaffen, und ein Ausbreiten des mikrobiellen Biofilms nach apikal zu ermöglichen (Birkedal-Hansen 1993).

Bei der parodontalen Entzündung findet eine verstärkte Akkumulation von Makrophagen und T-Zellen sowie die Differenzierung von B-Zellen in Immunglobulin produzierende Plasmazellen statt (Kornman *et al.*, 1997b), wobei die Immunreaktion entscheidend von den T-Zellen und von durch diese freigesetzten Zytokinen beeinflusst wird. Dabei wird zwischen zwei CD4-T-Zellgruppen unterschieden. Es handelt sich um TH1- und TH2-Zellen, die unterschiedliche Zytokine freisetzen. TH1-Zellen sezernieren IL-2, IL-1 β und INF- γ , wohingegen TH2-Zellen IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10 freisetzen (Mosmann & Coffman 1989, Offenbacher 1996). Bisher konnte jedoch nicht genau nachgewiesen werden, welche der beiden CD4-T-Zellgruppen stimuliert wird und welches die Voraussetzungen für eine TH1- oder TH2-Zellreaktion sind. Eine entscheidende Rolle scheinen, nach Vermutung einiger Autoren, die biochemische Zusammensetzung des Antigens und dessen Konzentration zu spielen (Offenbacher 1996, Scott & Kaufmann 1991). Außer den bakteriellen Antigenen sind auch die von TH1- und TH2-Zellen freigesetzten Zytokine für die Stimulation der beiden CD4-T-Zellgruppen verantwortlich. So wirken die freigesetzten Zytokine selbst aktivierend oder hemmend auf jeweils eine der beiden Gruppen. Die Differenzierung von TH-Vorläuferzellen zu TH1-Zellen bewirkt das IFN- α (Gajewski *et al.*, 1989, Locksley *et al.*, 1991), wohingegen IL-4 die Differenzierung zu TH2-Zellen unterstützt

(Coffman *et al.*, 1991, Swain 1991).

Die Stimulation von TH1-Zellen bewirkt die Freisetzung von IFN- γ , welches seinerseits, wie bereits erwähnt, die Funktion der TH2-Zellen beeinträchtigt und die Differenzierung von B-Zellen in Immunglobulin produzierende Plasmazellen verhindert (Romagnani 1994). Zudem aktiviert es die Makrophagen, die proinflammatorischen Mediatoren IL-1 β , TNF- α und PGE2 freizusetzen. Somit führt eine TH1-Zell-Stimulation nicht zu einer B-Zellaktivierung, sondern zu einer entzündlichen Monozytenreaktion (Page 1991).

Die Stimulation von TH2-Zellen dagegen bewirkt durch Freisetzung von IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10 eine Unterdrückung der entzündlichen Monozytenreaktion, da diese Interleukine die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β aus Makrophagen verhindern, und stattdessen B-Zellen aktivieren, die sich ihrerseits zu antikörperproduzierenden Plasmazellen differenzieren. Von den Plasmazellen freigesetzte Immunglobuline schützen den Wirt durch Hemmung der bakteriellen Adhärenz, Inaktivierung der bakteriellen Toxine und Opsonisierung der Antigene (Gemmell *et al.*, 1997). Sowohl für das Ausmaß der gewebezerstörenden Entzündungsreaktion und somit für die Prognose der Erkrankung als auch für die Bildung schützender Antikörper, scheinen die Dominanz von TH1- und/oder TH2-Zellen und das jeweilige Zytokinprofil in der parodontalen Läsion entscheidend zu sein (Offenbacher 1996).

Im Vergleich zum gesunden Parodont sind im entzündeten Parodont stark erhöhte Mengen des proinflammatorischen und gewebedestruierenden PGE2 nachweisbar (Howell & Williams 1993). Dies wird nach Stimulation mit bakteriellen LPS und IL-1 β von Makrophagen und gingivalen Fibroblasten freigesetzt (Richards & Rutherford 1988) und verstärkt, wie oben beschrieben, die Wirkung des IL-1 β und TNF- α . Die PGE2-Menge in der Sulkusflüssigkeit spiegelt die LPS-Penetration ins Gewebe und die Makrophagenaktivität wider und wird von einigen Autoren als Marker für die Krankheitsaktivität, bzw. die Schwere der Erkrankung betrachtet (Derckx *et al.*, 1995, Offenbacher *et al.*, 1986, Smith *et al.*, 1993).

Der Schweregrad der Parodontitis steht in Zusammenhang mit dem Ausmaß der Entzündungsreaktion, welches durch die Produktion von PGE2, IL-1 β und TNF- α repräsentiert wird (Schwartz *et al.*, 1997), da diese Mediatoren die Freisetzung von MMP bei Makrophagen und Fibroblasten stimulieren. Ein Zusammenspiel aller

bisher genannten Mediatoren führt zu den typischen klinischen Zeichen einer Parodontitis, wie Entzündung, Knochen- und Bindegewebsdestruktion, Taschenbildung und somit dem Attachmentverlust.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Entstehung und die Schwere der Parodontitis von dem Zusammenspiel der in der Mundhöhle befindlichen Bakterien und der Immunabwehr abhängen. Für die Initiation der Parodontitis verantwortlich sind die Plaquebakterien, da sie ursächlich für die Entzündungsreaktion des Parodontiums sind. Von der Immunabwehr hingegen sind der Zeitpunkt des Krankheitsbeginns, der Schweregrad der Erkrankung und die Progression abhängig. Zwar sind noch nicht alle Details der Parodontitispathogenese bekannt, jedoch kann man von einer multifaktoriellen Erkrankung sprechen, bei der neben dem auslösenden Faktor Plaque auch solche Faktoren eine entscheidende Rolle spielen, die die Entzündungsreaktion und die Immunabwehr modifizieren. Dies führt zu einer Veranlagung des Patienten aus einer Gingivitis eine Parodontitis zu entwickeln und macht ihn für eine besonders schwere, rasch voranschreitende Form der Parodontitis empfänglich. Neben den bekannten Faktoren Rauchen, Stress, Diabetes mellitus, HIV und Osteoporose (Salvi *et al.*, 1997) wird auch zunehmend eine genetische Prädisposition erforscht und diskutiert. So beeinflussen genetisch bedingte Leukozytendefekte, genetisch bedingte Veränderung der Zytokinexpression und genetisch beeinträchtigte Phagozytoseaktivität der neutrophilen Granulozyten den Krankheitsverlauf, den Schweregrad und die Progression der Parodontitis negativ (Hart & Kornman 1997).

2.3 IL-4 und Parodontitis

Zytokine spielen eine wichtige Rolle bei der parodontalen Entzündung und Destruktion. Zytokine sind Proteine, die die immunoinflammatorischen Reaktionen beeinflussen. Die genaue Wirkungsweise ist in der Pathogenese oft schwer zu erkennen, da sich die einzelnen Substanzen gegenseitig beeinflussen und regulieren. Sie binden an spezifische Rezeptoren der Zielzellen. Ihre Wirkung ist additiv, synergistisch oder antagonistisch. Sie stimulieren oder hemmen gegenseitig ihre Synthese und die Expression ihrer Rezeptoren. Die Effekte der Zytokine sind sehr vielfältig, wobei sich die biologische Aktivität der Zytokine auch überschneiden kann (Balkwill & Burke 1989).

Bei der parodontalen Erkrankung werden die Entzündungs- und Antikörperreaktion durch das Zytokinprofil im Parodontium bestimmt (Gemmell *et al.*, 1997).

Erstmals identifiziert wurde IL-4 1982 bei Mäusen, da es die Fähigkeit besitzt, aktivierte B-Zellen zur Proliferation und Freisetzung von IgG zu stimulieren (Howard *et al.*, 1982). Die Isolation der DNA des menschlichen IL-4 Gens gelang erstmals 1986 (Yokota *et al.*, 1986). IL-4 löst bei einer Vielzahl von Zellen biologische Effekte aus, was sein pleiotropes Wesen unterstreicht. (Brown & Hural 1997, O'Garra & Spits 1993).

Das IL-4 Gen besteht aus vier Exons und drei Introns (schematische Darstellung siehe Kapitel 5). Es befindet sich auf dem langen Arm des menschlichen Chromosoms 5 (5q23.3-31.2), in enger Nachbarschaft zu den Genen der Zytokine IL-3 und IL-5 (Van Leeuwen *et al.*, 1989).

Bei IL-4 handelt es sich um ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 20 kDa, welches in der entzündeten Gingiva in erster Linie von TH2-Zellen, Mastzellen und Basophilen produziert wird (Sher *et al.*, 1992).

Wie bereits geschildert, können die CD4-T-Zellen in zwei Gruppen unterteilt werden, die unterschiedliche Zytokine freisetzen. TH1-Zellen sezernieren IL-1 β , IL-2 und IFN- γ , wohingegen TH2-Zellen IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10 freisetzen (Mosmann & Coffman 1989, Offenbacher 1996). Die biochemische Struktur des Antigens, spezifische Transkriptionsfaktoren in der Zelle sowie Moleküle von Lymphozyten und anderen Zellen, die Zytokine stimulieren, aktivieren die Differenzierung von pluripotenten Vorläuferzellen in TH1- und TH2-Zellen

(Offenbacher 1996, Scott & Kaufmann 1991). Die Differenzierung in TH1-Zellen wird von IFN- α , die in TH2-Zellen von IL-4 unterstützt (Coffman *et al.*, 1991, Gajewski *et al.*, 1989, Gemmell *et al.*, 1997, Locksley *et al.*, 1991, Mosmann & Coffman 1989, Swain 1991). Gleichzeitig wird die Zytokinproduktion der TH1-Zellen von IL-4 gehemmt (Peleman *et al.*, 1989).

Die von den TH1-Zellen freigesetzten Zytokine unterstützen eine durch T-Zellen und Makrophagen gekennzeichnete zelluläre Immunreaktion und verstärken die Fähigkeit der Makrophagen, Pathogene zu zerstören (Mosmann & Sad 1996), wohingegen die Zytokine der TH2-Zellen für Antikörper- und allergische Reaktionen verantwortlich sind (Romagnani 1992). Die Zytokine der TH1- und TH2-Zellen können das Wachstum und die Differenzierung der anderen TH-Zellgruppe inhibieren und umgekehrt (Powrie & Coffman 1993). So unterdrückt das von TH2-Zellen freigesetzte IL-4 die zellvermittelnde Reaktion und aktiviert die Differenzierung antigenspezifischer B-Zellen in Plasmazellen und deren Produktion wirksamer Antikörper (Modlin & Nutman 1993).

Auch bei der Parodontitis wird die Balance zwischen Entzündungsreaktion und Antikörperreaktion entscheidend durch das Zytokinprofil im parodontalen Gewebe beeinflusst (Kelso 1990). Die Immunantwort auf eine bakterielle Infektion, wie die Parodontitis, wird hauptsächlich durch die von TH1- und TH2-Zellen freigesetzten Zytokine und deren Gleichgewicht gesteuert (Gemmell *et al.*, 1997).

Das IL-4 ist, wie bereits erwähnt, ein vielgestaltiges, multifunktionelles Zytokin und reagiert mit verschiedenen Zellen, wie T-Zellen, B-Zellen, Fibroblasten und Monozyten. So stimuliert es die antigenspezifischen B-Zellen, sich in antikörperproduzierende Plasmazellen zu differenzieren (Chomarat *et al.*, 1998). Es kann ebenfalls Makrophagen aktivieren und so ihre Fähigkeit, Antigene zu repräsentieren, steigern (Howard *et al.*, 1982, Yokota *et al.*, 1988). Parodontale Läsionen sind durch Akkumulation aktivierter Makrophagen, die Entzündungsmediatoren freisetzen, gekennzeichnet (Page & Schroeder 1976). Durch IL-4 wird hier die Freisetzung von des PGE2 und Zytokinen verhindert (Corcoran *et al.*, 1992, te Velde *et al.*, 1990).

Die Monozyten und Makrophagen besitzen den CD14 Oberflächenrezeptor, an den die von Bakterien freigesetzten Lipopolysaccharide binden. Daraufhin kommt es zur Aktivierung und Zytokinfreisetzung (Wright *et al.*, 1990). Durch IL-4 kann die

Expression des CD14-Oberflächenrezeptors in erheblichem Maße eingeschränkt werden. Als Folge wird die Aktivierbarkeit der Monozyten und Makrophagen durch bakterielle Lipopolysaccharide ebenso wie die daraus resultierende Freisetzung proinflammatorischer und katabolischer Zytokine verhindert (Lauener *et al.*, 1990). Die Produktion des IL-1 Rezeptorantagonisten (IL-1 Ra) wird bei Makrophagen durch IL-4 verstärkt, wodurch die gewebedestruierende Wirkung des IL-1 β herabgesetzt wird, da IL-1 Ra an den IL-1 Rezeptor bindet, ohne biologische Signale auszulösen (Fenton *et al.*, 1992, Orino *et al.*, 1992)

Obwohl die Makrophagen im Entzündungsgebiet pathogene Bakterien und Fremdkörper beseitigen, führt eine persistierende Akkumulation aktivierter Makrophagen, wie im entzündeten Parodontium, zu Knochenabbau und Bindegewebsdestruktion, da die Makrophagen, wie bereits beschrieben, nach einer Stimulation mit bakteriellen Lipopolysacchariden entzündungsfördernde und gewebezerstörende Mediatoren freisetzen. Auch hier greift das IL-4 ein, indem es bei den Makrophagen den programmierten Zelltod (Apoptosis) einleitet und so ihre Zahl und damit verbunden die Freisetzung gewebedestruierender und entzündungsfördernder Zytokine verhindert (Mangan *et al.*, 1992, Yamamoto *et al.*, 1996).

Bei den Fibroblasten des Parodontiums reduziert IL-4 die Cyclooxygenase2-Expression (COX) und verhindert dadurch die Freisetzung des proinflammatorischen und mit Attachmentverlust einhergehenden Mediators PGE₂. Dieser wird nach Stimulation mit bakteriellen Lipopolysacchariden und IL-1 β von Fibroblasten des Parodontiums via COX-Synthese produziert (Hayashi *et al.*, 2000, Noguchi *et al.*, 1996, Noguchi *et al.*, 1999).

Die dargestellten Effekte des IL-4 auf die an der Parodontitis beteiligten Zellen zeigen seine antiinflammatorische Wirkung. Es wird auch zu den Inhibitoren der proinflammatorischen und gewebedestruierenden Zytokine gezählt (Shapira *et al.*, 1992, Zurawski & de Vries 1994).

In den letzten Jahren wurde vermehrt der Einfluss des IL-4 auf die Pathogenese der Parodontitis untersucht. Verschiedene Autoren haben sich mit dem Nachweis der IL-4 produzierenden Zellen bei Patienten mit verschiedenen Formen der Parodontitis beschäftigt. Es wurde untersucht, ob neben den bereits beschriebenen IL-4 produzierenden Zellen IL-4 selbst als Protein oder als mRNA im parodontalen

Gewebe zu finden ist. Die Untersuchungsergebnisse sind sehr unterschiedlich. So kamen Yamazaki *et al.* (1994) und Aoyagi *et al.* (1995) zu dem Ergebnis, dass der Anteil IL-4 produzierender Zellen in der Gingiva und dem Blut bei Patienten mit chronischer Parodontitis wesentlich höher ist als bei gesunden Personen. Mc Farlane *et al.* (1991) untersuchten das Serum von Patienten mit chronischer Parodontitis und konnten bei den Patienten im Gegensatz zu gesunden Personen verstärkt IL-4 nachweisen. Auch in der Gingiva von Patienten mit AP wurde eine vermehrte IL-4 Produktion beobachtet (Manhart *et al.*, 1994).

Verwunderlich ist, dass die Mehrheit der internationalen Studien zu anderen Ergebnissen kommt als die oben genannten Autoren. In der überwiegenden Zahl der Studien war es nicht möglich, IL-4 als Protein oder mRNA im Parodontium oder im Blut von Parodontitispatienten nachzuweisen (Bottomly *et al.*, 1989, Fujihashi *et al.*, 1993, Giannopoulou *et al.*, 2003, Prabhu *et al.*, 1996, Salvi *et al.*, 1998, Tokoro *et al.*, 1996, Yamamoto *et al.*, 1997).

Der lokale Mangel an IL-4 bei Parodontitispatienten, der in der überwiegenden Zahl der Studien festgestellt wurde, fällt insbesondere auf, da es gelang, andere an der parodontalen Entzündung beteiligte Zytokine qualitativ und quantitativ nachzuweisen.

2.4 Epidemiologie der Parodontitis

Die Parodontitis ist neben der Karies die häufigste Ursache für Zahnverlust. Ungefähr 50% aller Zähne werden als Folge einer kariösen Zerstörung extrahiert. Bei immerhin 30-35% aller Zahnextraktionen ist die Parodontitis für den Zahnverlust verantwortlich (Papapanou 1996).

Bei 85,9% der Jugendlichen in Deutschland sind gingivale Entzündungen diagnostizierbar. Dies geht aus der vierten deutschen Mundgesundheitsstudie von 2006 hervor (Micheelis und Scheffner, 2006). Die Gingivitis ist eine auf das gingivale Bindegewebe und das Saumeptithel beschränkte Entzündung. Der Parodontitis geht immer eine Gingivitis voraus, wohingegen die Gingivitis nicht immer in eine Parodontitis übergehen muss (Lindhe *et al.*, 1975).

Welche Einflussfaktoren zusätzlich zur bakteriellen Infektion für den Übergang einer Gingivitis in eine Parodontitis verantwortlich sind, konnte bis heute noch nicht

eindeutig geklärt werden.

Wie bereits erwähnt, kann die Parodontitis bereits bei Kindern und Jugendlichen auftreten. So wurde bei einer Studie in Schweden gezeigt, dass zwischen 20 und 50% der jugendlichen Parodontitispatienten der Alveolarknochenverlust bereits im Milchgebiss aufgetreten ist (Sjodin *et al.*, 1993). In einer späteren Studie wurde festgestellt, dass bei 2 – 4,5% der schwedischen Kinder zwischen 7 – 9 Jahren bereits ein entzündlicher Alveolarknochenverlust diagnostizierbar ist (Sjodin & Matsson 1994).

Frühe Formen der Parodontitis, wie sie bei Kindern und Jugendlichen auftreten, zeigen weltweit eine durchschnittliche Prävalenz von unter 1%. Auffällig ist, dass diese Formen häufiger in Entwicklungsländern und bei Schwarzen anzutreffen sind (Papapanou 1996). So wurde in einer Studie an Schülern und Schülerinnen aus den USA zwischen 5 – 17 Jahren gezeigt, dass die AP bei weißen Jugendlichen mit einer Häufigkeit von 0,2% wesentlich seltener auftritt als bei schwarzen Jugendlichen, bei denen die Häufigkeit 2,6% beträgt (Tonetti & Mombelli 1999). Auch andere Studien zeigten, dass Schwarze ein höheres Risiko haben an AP zu erkranken als Weiße (Loe & Brown 1991).

In Bezug auf hispanische Personen („Hispanics“) gibt es nur wenige Studien, die sich mit Parodontitis befassen. In einer Studie an heranwachsenden hispanischen Amerikanern wurde festgestellt, dass 25,7% an AP erkrankt waren (Cappelli *et al.*, 1994). In einer anderen Studie an drei amerikanischen Populationen konnte gezeigt werden, dass Amerikaner afrikanischer Abstammung mehr fehlende Zähne, größere Taschentiefen und stärkeren Attachmentverlust aufwiesen als asiatische Amerikaner und die Gruppe der hispanischen Personen (Craig *et al.*, 2001).

Gonzales *et al.* (2003) untersuchten in ihrer Studie unter anderem die Verteilung zweier IL-1 Polymorphismen, IL-1 α G(+4845)-T und IL-1 β C(+3954)-T bei hispanischen Personen aus El Salvador mit aggressiver Parodontitis im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten- und Kontrollgruppe bezüglich der IL-1 Genotypen.

Die Einführung des Community Periodontal Index of Treatment Needs (CPITN) führte zu einer Standardisierung der erhobenen Befunde, so dass ein Vergleich der epidemiologischen Daten weltweit möglich ist (Almas *et al.*, 1991, Plagman 1990).

Daher konnte beim Vergleich von über 100 CPITN-Studien aus über 60 Ländern

festgestellt werden, dass Sondierungstiefen von mehr als 6 mm bei Jugendlichen zwischen 15 und 19 Jahren nur sehr selten auftraten (Miyazaki *et al.*, 1991).

Auch die Prävalenz der Parodontitis bei Erwachsenen wurde in vielen Studien untersucht. Bei den Erwachsenen ist im Vergleich zu den Jugendlichen eine altersabhängige Zunahme der Parodontalerkrankungen festzustellen. Mit zunehmendem Alter steigen sowohl die Anzahl der Personen, bei denen ein Attachmentverlust diagnostizierbar ist als auch der Schweregrad des Attachmentverlustes und die Zahl der erkrankten Stellen (Flemmig 1999).

Aus der vierten deutschen Mundgesundheitsstudie von 2006 geht hervor, dass Attachmentverluste bei vielen deutschen Erwachsenen vorhanden sind. Maximale Taschentiefen von bis zu 5 mm sind bei 53% der deutschen Erwachsenen messbar. 20% haben eine schwere Form der Parodontitis mit Taschentiefen größer als 6 mm. Dieser Anteil erhöht sich in der Altersgruppe der Senioren auf 40% (Micheelis und Scheffner, 2006).

Beim Vergleich von ca. 100 CPITN-Studien aus über 50 Ländern variiert der Anteil der Personen mit Taschentiefen größer als 6 mm, sowohl innerhalb als auch zwischen den geographischen Gebieten, erheblich (Miyazaki *et al.*, 1991).

Die Frage nach der weltweiten Änderung der Parodontitisprävalenz im Sinne eines Anstiegs oder Abfalls kann anhand der vorliegenden Literatur nicht eindeutig beantwortet werden, da die Prävalenz je nach Ethnizität und geographischer Lage stark variiert und die Daten aufgrund der unterschiedlichen Erhebung nicht direkt vergleichbar sind.

Wie bereits erwähnt, sind die Einflussfaktoren, welche zusätzlich zur bakteriellen Infektion für den Übergang einer Gingivitis in eine Parodontitis verantwortlich sind, bis heute noch nicht eindeutig geklärt. Es wird daher Aufgabe zukünftiger epidemiologischer Studien sein, den Einfluss der bekannten Risikofaktoren, wie Rauchen, Stress, Stoffwechselerkrankungen etc., zu definieren. In Zusammenhang mit den Einflussfaktoren wurden in den letzten Jahren verstärkt genetische Faktoren erforscht und diskutiert. Im Rahmen epidemiologischer Studien ist die Erhebung von Zwillingsstudien eine nützliche Methode, genetische Einflüsse auf einen komplexen Krankheitsprozess, wie die Parodontitis, zu untersuchen.

Eine frühere Studie an 26 Zwillingspaaren im Alter von 12 – 17 Jahren kam zu dem Ergebnis, dass die Parodontitis nicht genetisch beeinflusst wird (Ciancio *et al.*,

1969). Dieses Ergebnis ließ sich in neueren Untersuchungen an Zwillingen nicht bestätigen. Statt dessen konnten die neueren Zwillingsstudien an über 500 Zwillingspaaren eine eindeutige Beteiligung genetischer Faktoren an der Pathogenese und somit ein genetisch beeinflusstes Parodontitisrisiko nachweisen (Corey *et al.*, 1993, Michalowicz *et al.*, 1991b, Michalowicz *et al.*, 1991a, Michalowicz *et al.*, 2000). Es gibt folglich genetische Einflüsse, die das Zusammenspiel von Plaquebakterien und Wirtsabwehr so beeinflussen könnten, dass das pathogene Potential der Plaquebakterien erhöht bzw. die Wirtsabwehr herabgesetzt wird und so die Patienten für den Übergang der Gingivitis in die Parodontitis prädisponiert sind (Hart & Kornman 1997, Kornman *et al.*, 2000). In diesem Zusammenhang ist auch die Frage nach abstammungsspezifischen Unterschieden von entscheidender Bedeutung. Hispanische Personen haben eine erhöhte Prävalenz an Parodontitis, als Personen anderer Populationen, jedoch finden sich zum heutigen Zeitpunkt wenig Daten in Hinblick auf die Parodontitis und deren genetischer Beeinflussung in dieser Population (Albandar *et al.*, 1991, Lopez *et al.*, 1991, Tinoco *et al.*, 1997). Daher beschäftigt sich die vorliegende Studie auch mit dieser Population.

2.5 Genetische Einflüsse auf die Parodontitis

In den letzten Jahren gibt es immer mehr Evidenz dafür, dass die Anfälligkeit eines Individuums für eine bakterielle Infektion entscheidend vom menschlichen Genotypen beeinflusst werden kann. So kann der Genotyp das Risiko, eine schwere Parodontitis zu entwickeln, erhöhen (Hodge & Michalowicz 2001). In Studien konnte eine erbliche Anfälligkeit bzw. eine familiäre Häufung besonders bei der aggressiven Parodontitis (AP) aber auch bei der chronischen Parodontitis (CP) beobachtet werden (Hart 1996, Hassell & Harris 1995, Page *et al.*, 1984). Aufgrund dieser Studien wurde der genetische Einfluss auf das Parodontitisrisiko in den letzten Jahren vermehrt untersucht (Hart & Kornman 1997, Hodge & Michalowicz 2001). Es wird vermutet, dass die AP aber auch die CP einen genetischen Hintergrund haben. Für die Erforschung einer genetisch beeinflussten Prädisposition der Parodontitis dienen vor allem genetisch bedingte Veränderungen des Immunsystems (Hodge & Michalowicz 2001). Genetisch beeinflusste Veränderungen der

Leukozytenzahl und/oder ihrer Funktion sind aufgrund der dadurch beeinträchtigten Abwehr, z.B. mit einer schon im Kindesalter diagnostizierbaren schweren Form der Parodontitis, vergesellschaftet (Deasy *et al.*, 1980, Kyle & Linman 1970, Porter *et al.*, 1994). So geht beim Leukozytenadhäsionsdefizit (LAD) I-Syndrom ein genetischer Defekt in der CD 11/18 Rezeptorfamilie der Leukozytenadhäsionsmoleküle mit der generalisierten Form der präpubertären Parodontitis einher (Meyle 1994, Page *et al.*, 1987, Waldrop *et al.*, 1987).

Chemotaxisdefekte der neutrophilen Granulozyten haben ebenfalls eine genetische Ursache. Hier wurde beobachtet, dass bei 70-75% der Patienten mit lokalisierter AP eine beeinträchtigte Chemotaxis der Neutrophilen nachweisbar ist. Dies deutet auf eine Vergesellschaftung der juvenilen Parodontitis mit einer eingeschränkten Neutrophilenfunktion hin (Van Dyke *et al.*, 1985, Van Dyke *et al.*, 1987). Dies konnte von Meyle *et al.* (1999) nicht in diesem Umfang bestätigt werden (Meyle & Axmann-Krcmar 1999)

Besonderes interessant sind Polymorphismen in regulatorischen Bereichen solcher Gene, deren Proteine wichtig für die Entzündungs- und Immunreaktion sind. Die molekularbiologische Identifikation von Polymorphismen in diesen Bereichen unterstützt daher entscheidend die Erforschung der genetischen Beeinflussung der Parodontitis. Blut kann auf die für die Parodontitis relevanten genetischen Marker getestet werden. Ist ein solcher Polymorphismus signifikant häufiger in der Untersuchungsgruppe der an Parodontitis erkrankten Patienten als in der gesunden Kontrollgruppe zu finden, so ist das ein Hinweis darauf, dass dieses Gen den Patienten für die Erkrankung prädisponiert (Hodge & Michalowicz 2001, Sofaer 1990). In diesem Zusammenhang gibt es Untersuchungen, bei denen eine Verbindung zwischen Genpolymorphismen und einem erhöhten Entzündungsrisiko beobachtet werden konnte (Duff 1994). So zeigte sich bei der Untersuchung von Polymorphismen des Vitamin D Rezeptors bei AP-Patienten im Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe, dass der Polymorphismus des Vitamin D Rezeptorgens mit einem erhöhten Risiko für die lokalisierte AP einhergeht (Hennig *et al.*, 1999).

Auch die kodierende DNA der Fc-gamma Rezeptoren (Fc γ R), die sich auf der Oberfläche von Immunzellen befinden und den Zellen das Erkennen von Immunglobulinen und somit auch von IgG2 opsonierten Bakterien und deren Phagozytose ermöglichen, wurde untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass

Polymorphismen in diesen Genen die Phagozytose hemmen und das Infektionsrisiko erhöhen (Sanders *et al.*, 1995). Der Fc γ RIIa (CD32) Rezeptor befindet sich auf der Oberfläche von neutrophilen Granulozyten. Durch den Fc γ RIIa-R131 Polymorphismus wird die Rezeptoraffinität und in Folge die Phagozytoseaktivität beeinträchtigt, wodurch die Anfälligkeit für eine bakterielle Infektion erhöht ist. Auch dieser Polymorphismus ist mit einem erhöhten Risiko für die lokalisierte AP vergesellschaftet und gilt als vielversprechender Marker für diese (Wilson *et al.*, 1995, Wilson & Kalmar 1996).

Auch menschliche Leukozytenantigene (HLA), die wichtig für die Regulierung der Immunprozesse sind, wurden in den letzten Jahren häufig mit AP in Verbindung gebracht (Bonfil *et al.*, 1999, Kaslick *et al.*, 1980).

Auf der Oberfläche von polymorphkernigen Leukozyten befinden sich N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanin Rezeptoren. Diese haben bei einer bakteriellen Infektion, nach Stimulation mit Produkten der Bakterien, eine chemotaktische Funktion. Zwei Basenaustausche in der den Rezeptor kodierenden DNA kommen ausschließlich bei Patienten mit AP vor, nicht aber bei Patienten mit CP oder gesunden Patienten. Es wird vermutet, dass dieser Basenaustausch die Struktur des Rezeptors und somit die Rezeptor-Liganden-Bindung beeinflusst. Dies wirkt sich bei der AP nachteilig auf die chemotaktische Reaktion aus (Gwinn *et al.*, 1999).

Auch IL-1 und TNF- α wurden auf Polymorphismen untersucht, die auf das Parodontitisrisiko Einfluss nehmen können. Es wurde festgestellt, dass beim TNF- α -308 Polymorphismus der heterozygote Genotyp mit einer verstärkten TNF- α Sekretion der oralen Leukozyten mit einer schweren CP einhergeht (Galbraith *et al.*, 1998).

In Bezug auf IL-1 zeigte die Studie von Kornman *et al.* (1997), dass der von den Autoren als IL-1 positiv beschriebene Genotyp (Allel 2 des IL-1 α -889 Polymorphismus und Allel 2 des IL-1 β +3953 Polymorphismus) Patienten mit einer schweren Erwachsenenparodontitis von Patienten mit einer milden Form unterscheidet. Dies traf jedoch nur für Nichtraucher zu. Bei Rauchern konnte dieser Unterschied nicht festgestellt werden. Zudem fanden sowohl Kornman *et al.* (1997), als auch andere Autoren eine erhöhte IL-1 Konzentration in der Sulkusflüssigkeit IL-1 Genotyp positiver Patienten im Vergleich zu IL-1 Genotyp negativen Patienten

(Engebretson *et al.*, 1999, Shirodaria *et al.*, 2000). Auch die Produktion des IL-1 β durch weiße Blutzellen IL-1 Genotyp positiver Patienten war nach Inkubation mit Produkten gramnegativer Bakterien deutlich höher, als bei weißen Blutzellen IL-1 negativer Patienten (Galbraith *et al.*, 1997, Mark *et al.*, 2000). Der IL-1 Genotyp gilt als ein prognostischer Marker für das Parodontitisrisiko. Personen, die IL-1 Genotyp positiv sind haben ein erhöhtes Risiko, an einer schweren generalisierten Parodontitis zu erkranken (Stashenko *et al.*, 1991, Yavuzylmaz *et al.*, 1995). Sie haben ein dreifach erhöhtes Risiko hinsichtlich eines Zahnverlustes als IL-1 Genotyp negative Personen (Ehmke *et al.*, 1999, McGuire & Nunn 1999). Cullinan *et al.* (2001) beschrieben den IL-1 Genotypen im Gegensatz dazu als einen Beitrag für die Progression der Parodontitis, jedoch nicht als Risikofaktor.

Der IL-1 Genotyp ist ein Beispiel für den Zusammenhang zwischen der Schwere der Parodontitis und dem Genotypen des Individuums. Die Immunabwehr bei Patienten mit IL-1 positivem Genotyp reagiert auf einen bakteriellen Angriff mit verstärkter IL-1 Produktion, wodurch die Entzündung verstärkt wird. Ein Zusammenhang zwischen dem IL-1 Genotypen und AP konnte in einer anderen Studie bei Europäern nicht festgestellt werden (Hodge *et al.*, 2001).

Auch das Gen des bereits erwähnten Zytokins IL-4 wurde, aufgrund seiner Rolle in der Parodontitispathogenese, auf Polymorphismen untersucht. Der T/T Genotyp des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und der B1/B1 Genotyp des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 traten weder bei den an CP erkrankten Patienten noch in der gesunden Kontrollgruppe, sondern ausschließlich in der an AP erkrankten Patientengruppe auf. Die Autoren vermuten daher eine mögliche Beeinflussung der Parodontitispathogenese durch den IL-4 Genotypen (Michel *et al.*, 2001). In einer anschließenden Untersuchung wurde sowohl bei den an AP erkrankten Patienten als auch bei der gesunden Kontrollgruppe die IL-4 Konzentration im Serum mittels ELISA bestimmt. Die IL-4 Konzentration im Serum der AP Patienten mit Homozygotie des T-Allels (Genotyp T/T) des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und Homozygotie des B1-Allels (Genotyp B1/B1) des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 lag, im Gegensatz zu der IL-4 Serumkonzentration der AP-Patienten mit Homozygotie des C-Allels (Genotyp C/C) des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und Homozygotie des B2-Allels (Genotyp B2/B2) des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und der gesunden Kontrollgruppe, unterhalb der

Nachweisgrenze (Michel *et al.*, 2001). Dies stützt, zusammen mit anderen Studien, bei denen ebenfalls eine reduzierte IL-4 Konzentration im Serum bei Parodontitispatienten beobachtet wurde (Bottomly *et al.*, 1989, Fujihashi *et al.*, 1993, Giannopoulou *et al.*, 2003, Prabhu *et al.*, 1996, Salvi *et al.*, 1998, Tokoro *et al.*, 1996, Yamamoto *et al.*, 1997), die These, dass eine reduzierte IL-4 Konzentration die parodontale Destruktion begünstigen könnte (Shapira *et al.*, 1992). Bezug nehmend auf die Untersuchung der zwei Polymorphismen des IL-4 Gens bei Europäern (Michel *et al.*, 2001) sollen in der vorliegenden Studie die gefundenen Ergebnisse anhand einer größeren Population von Nordeuropäern verifiziert werden. Außerdem werden an AP erkrankte mittelamerikanische Patienten und gesunde Probanden auf die genannten zwei Polymorphismen des IL-4 Gens untersucht, um zu sehen, ob die an Europäern gefundenen Ergebnisse auf andere Bevölkerungsgruppen übertragbar sind. Bereits andere Studien zeigten unterschiedliche Ergebnisse aufgrund unterschiedlicher Abstammung (Albandar *et al.*, 2002, Diehl *et al.*, 1999, Gonzales *et al.*, 2003, Gonzales *et al.*, 2004). Zudem soll die Gruppe der Nordeuropäer in Hinblick auf einen weiteren Polymorphismus des IL-4 Gens, den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3, betrachtet werden. Dieser wurde bisher noch nicht in Zusammenhang mit Parodontitis beschrieben. In einigen wenigen Studien wurde ein Zusammenhang des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 mit anderen Erkrankungen untersucht (Chou *et al.*, 2005, Gyan *et al.*, 2004, Lin *et al.*, 2005, Tsai *et al.*, 2002, Tsai *et al.*, 2005a, Tsai *et al.*, 2005b). Bei Durchsicht der Artikel zeigt sich jedoch, dass die benutzten Primer, sowie die genannten Allelgrößen (183 bp und 253 bp) darauf schließen lassen, dass es sich bei dem dort gezeigten Polymorphismus um den ebenfalls von Mout *et al.* beschriebenen IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 handelt (Mout *et al.*, 1991) und nicht um den in der vorliegenden Studie untersuchten IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 (Mout *et al.*, 1991).

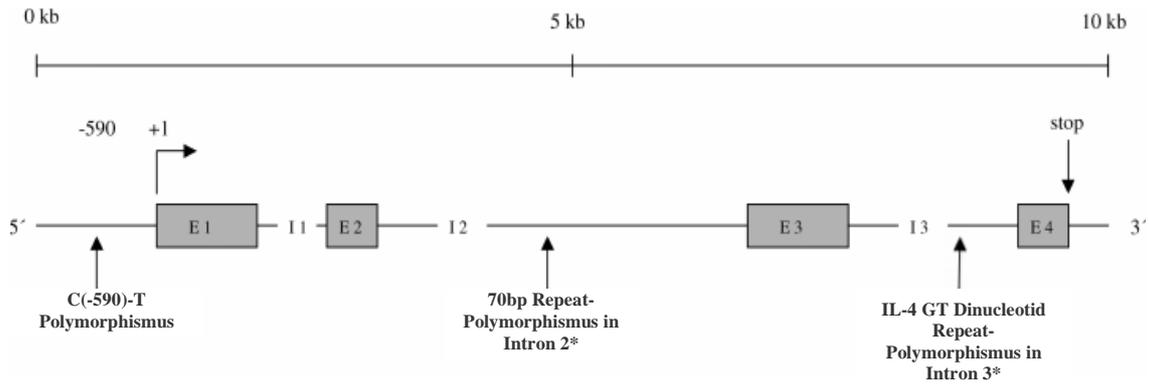


Abb.1: Schema des menschlichen Interleukin 4 Gens (Michel *et al.*, 2001)

Schematische Übersicht über den Aufbau des menschlichen IL-4 Gens. Kb = kilo Basenpaare; E = Exon; I = Intron; +1 = erste übersetzte Aminosäure; Stop = letzte übersetzte Aminosäure;

* der genaue Ort des 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 sind nicht eindeutig bestimmt.

3. Ziele der Studie

Ziel der vorliegenden Studie war es, drei verschiedene Polymorphismen des Interleukin 4 Gens [IL-4 C(-590)-T Polymorphismus; IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2; IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3] mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR) zu identifizieren und Patienten mit aggressiver Parodontitis (AP) im Vergleich zu gesunden Kontrollen auf diese Polymorphismen hin zu untersuchen. Dabei sollten zum einen die Ergebnisse von Michel *et al.* (2001) anhand einer größeren Population von Nordeuropäern verifiziert und diese Population bezüglich der Verteilung eines weiteren Polymorphismus (IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3) untersucht werden. Zudem sollten der IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 sowie der IL-4 C(-590)-T Polymorphismus bei mittelamerikanischen Personen identifiziert werden. Desweiteren sollte festgestellt werden, ob sich hinsichtlich der Verteilung dieser Polymorphismen auf die zu untersuchenden Gruppen statistisch signifikante Unterschiede ergeben, wie es die Ergebnisse von Michel *et al.* (2001) vermuten lassen. Dabei war die Frage zu klären, inwieweit die Verteilung der IL-4 Genotypen auf die Untersuchungsgruppen von der Ethnizität der untersuchten AP-Patienten und gesunden Probanden beeinflusst wird.

4. Material und Methoden

4.1 Studienprotokoll

In dem Studienprotokoll wurden Thema und Ziel der Studie beschrieben sowie die Definition der Gruppen und Gruppengrößen festgelegt. Ferner wurden Ein- und Ausschlusskriterien der Studie, sowie alle labortechnischen Parameter definiert und das experimentelle Vorgehen erläutert.

4.2 Klinische und radiologische Untersuchungsparameter

Die an der Studie beteiligten Patienten und gesunden Probanden wurden nach eingehender klinischer und radiologischer Untersuchung, anhand der dabei erfassten Befunde, der jeweiligen Untersuchungsgruppe zugeordnet. Zur Dokumentation wurden die entsprechenden Befundbögen der Poliklinik für Parodontologie verwendet (siehe Anhang 9). Alle Befunde wurden vom gleichen Behandler erhoben. Vor Beginn der klinischen Untersuchung wurde die allgemeine Anamnese aufgenommen.

Zur Beurteilung der Mundhygiene wurden der Plaqueindex nach *O'Leary* (*O'Leary et al.*, 1972) und der Papillenblutungsindex (*Saxer & Mühlemann* 1975) erhoben.

Alle Flächen (außer okklusal) sämtlicher Zähne wurden mit dem Plaquerelevator 2-Tone® (*Firma Hager und Werken*, Duisburg; wässrige Lösung: 3% Erythrosin, 1% Brilliantblau) angefärbt und an vier Flächen pro Zahn eine Ja-/Nein- Entscheidung getroffen und dokumentiert. Der Plaqueindex wurde als prozentualer Anteil der positiven Stellen berechnet. Der verwendete Plaquerelevator färbt frische und dünne Plaque rosa, ältere und dicke Plaque violett.

Der Papillenblutungsindex stellt ein Mittel zur Beurteilung des Entzündungsgrades der Gingiva durch Plaqueakkumulation dar. Da er nicht so raschen Veränderungen unterliegt wie der Plaqueindex, lässt er eine Beurteilung der längerfristigen Mundhygienegewohnheiten zu. Zur Erfassung des Papillenblutungsindex wurde mit einer konventionellen PAR-Sonde (PCP-UNC 15) im Sulkus jedes Zahnes jeweils distal und mesial, von der Papillenbasis zur Papillenspitze, mit leichtem Druck entlanggestrichen. Das Auftreten einer Blutung wurde wiederum mittels Ja-/Nein-

Entscheidung dokumentiert. Auch der Papillenblutungsindex wurde als prozentualer Anteil der positiven Stellen errechnet.

Weiter wurde der Parodontalstatus (spezielle parodontologische Untersuchung) erhoben. Dieser umfasst folgende Befunde: „Sondierungstiefe“, „Sondierungsblutung“, „Attachmentniveau“, „Verlauf des Gingivalrandes“ an sechs Stellen pro Zahn sowie „Lockerungsgrad“ an allen Zähnen und „Furkationsgrad“ an den mehrwurzeligen Zähnen. Für Sondierungstiefe und Attachmentniveau wurde für jede Person jeweils der Mittelwert aller Stellen errechnet und dokumentiert.

Bei der Untersuchung der Sondierungstiefen wurde jeweils das Auftreten einer Blutung im Sulkus notiert und daraus die Sondierungsblutung als prozentualer Anteil der blutenden Stellen errechnet.

Die röntgenologische Beurteilung des horizontalen und vertikalen Knochenabbaus erfolgte mittels OPMG (zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht älter als drei Jahre). Dabei wurde der prozentuale interapproximale Knochenabbau, von der Schmelz-Zement-Grenze bis zur Knochenkante, in Prozent bezogen auf die gesamte Wurzellänge angegeben (Kornman *et al.*, 1997a).

4.3 Gruppeneinteilung

Die Patienten und gesunden Probanden, deren Blutproben ausgewertet wurden, waren zum einen mittelamerikanische Personen aus El Salvador, zum anderen Nordeuropäer, die Studenten bzw. Patienten der Poliklinik für Parodontologie im Zentrum für ZMK der Justus-Liebig-Universität Giessen waren. Bei den Studienteilnehmern wurde eine Eingangsuntersuchung durchgeführt, bei der die unter 4.2 definierten Befunde erhoben und dokumentiert wurden. Die Untersuchungen und Probenentnahmen wurden vor Ort vom selben Behandler durchgeführt. Patienten und gesunde Probanden wurden den Gruppen entsprechend der Einschlusskriterien (siehe 4.4) zugeteilt. Es gab sowohl bei den mittelamerikanischen Personen, als auch bei den Nordeuropäern jeweils zwei Untersuchungsgruppen:

Gruppe 1 der Mittelamerikaner war eine Kontrollgruppe bestehend aus 14 gesunden Probanden, 9 männlichen und 5 weiblichen im Alter zwischen 22 und 34 Jahren. Der Altersdurchschnitt betrug 24,5 Jahre.

Gruppe 2 der Mittelamerikaner war die Patientengruppe und bestand aus 16 Patienten mit aggressiver Parodontitis (AP) im Alter zwischen 16 und 35 Jahren. Es handelte sich um 3 männliche und 13 weibliche Patienten. Der Altersdurchschnitt betrug 27,7 Jahre.

Gruppe 1 der Nordeuropäer war eine Kontrollgruppe mit 33 gesunden Probanden, davon 27 männliche und 6 weibliche Personen im Alter zwischen 22 und 33 Jahren. Der Altersdurchschnitt betrug 25 Jahre.

Gruppe 2 der Nordeuropäer war die Patientengruppe mit 34 an aggressiver Parodontitis (AP) erkrankten Patienten (7 männliche und 27 weibliche) im Alter zwischen 18 und 44 Jahren. Der Altersdurchschnitt betrug 29 Jahre.

Sowohl Probanden als auch Patienten wurden vor Untersuchung und Probenentnahme über den Inhalt der Studie informiert und gaben ihr schriftliches Einverständnis (siehe Anhang 9).

4.4 Einschlusskriterien

Gesunde Probanden und Patienten mussten frei von Allgemeinerkrankungen sein (siehe 4.5).

Die gesunden Probanden der Gruppe 1 waren im Falle der Mittelamerikaner alle jünger als 35 Jahre.

Zudem mussten die gesunden Probanden beider Gruppen folgende Kriterien erfüllen:

Sondierungstiefe < 4 mm (gemessen an sechs Stellen pro Zahn)

Kein Attachmentverlust

Keine Sondierungsblutung/Pus

In der Gruppe 2 war bei den Mittelamerikanern keiner der Patienten älter als 35 Jahre. Aufgrund der klinischen und radiologischen Befunde hatten alle Patienten eine AP. Es mussten folgende Kriterien an mindestens vier Zähnen an mindestens einer Stelle pro Zahn bei den Patienten gefunden werden:

Sondierungstiefe > 5 mm (gemessen an sechs Stellen pro Zahn)

Attachmentverlust > 6 mm (gemessen an sechs Stellen pro Zahn)

Sondierungsblutung/Pus.

Auf dem OPG war an mehr als vier Stellen ein interdentaler Knochenabbau von mindestens 50% diagnostizierbar.

4.5 Ausschlusskriterien

Aus der Studie ausgeschlossen wurden Personen, die anamnestisch schwere Allgemeinerkrankungen, wie z.B. Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems; Autoimmunerkrankungen, wie rheumatische Arthritis; HIV-Infektion; Hepatitisinfektion oder Stoffwechselerkrankungen, wie Diabetes mellitus, aufwiesen. Auch ausgeschlossen wurden Patienten mit Allergien oder Osteoporose. Die oben genannten Personengruppen wurden ausgeschlossen, da alle voran genannten Erkrankungen und Einflüsse als Risikofaktoren betrachtet werden, die die Pathogenese der Parodontitis beeinflussen und die Wahrscheinlichkeit zu erkranken erhöhen (Salvi *et al.*, 1997). Weiterhin ausgeschlossen wurden Patienten, die in den drei Monaten vor der Untersuchung Antibiotika, Immunsuppressiva oder entzündungshemmende Medikamente eingenommen hatten sowie schwangere oder stillende Frauen.

4.6 Studienablauf

Aus Blutzellen der Gruppen 1 (gesunde Kontrollgruppe) und 2 (Patienten mit AP) wurde DNA isoliert und auf Polymorphismen des IL-4 Gens untersucht.

Bei dem ersten zu untersuchenden Polymorphismus handelte es sich um den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus ausgehend vom ersten ATG-Codon (Borish *et al.*, 1995, Walley & Cookson 1996).

Der zweite Polymorphismus war der IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 der dritte Polymorphismus der IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 (Mout *et al.*, 1991).

Die DNA-Abschnitte der zu untersuchenden Polymorphismen des IL-4 Gens wurden mittels der Polymerasekettenreaktion (PCR) vervielfacht und ließen sich mit Hilfe der Gelelektrophorese in Agarosegel als Banden darstellen sowie im Falle des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 direkt auswerten.

Zum Nachweis des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus musste zusätzlich ein Restriktionsverdau des PCR-Produktes mit Hilfe von Restriktionsenzymen (BsmFa)

durchgeführt werden. Auch die Restriktionsprodukte ließen sich mittels Gelelektrophorese als spezifische Banden im Agarosegel darstellen und auswerten.

4.6.1 Blutentnahme

Bei den Mittelamerikanern wurde aus dem Finger Blut in herkömmlicher Weise entnommen. DNA-freies Papier (Isocode® Stix, *Schleicher und Schuell*, Dassel, Deutschland) wurde mit dem entnommenen Blut durchtränkt und über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet.

Bei den Nordeuropäern wurde das benötigte Blut aus einer Armvene in herkömmlicher Weise entnommen und in dafür vorgesehene EDTA-Röhrchen appliziert. Zu beachten war, dass das Mischungsverhältnis mit den Antikoagulantien eingehalten wurde. Dazu musste das Röhrchen vollständig gefüllt werden. Die Lagerung erfolgte bei -80°C .

4.6.2 Extraktion der DNA

Bei den Proben aus Mittelamerika erfolgte die DNA-Extraktion aus den Blutzellen exakt nach Herstellerangaben (IsoCode Stix; *Schleicher und Schuell*, Dassel, Deutschland).

Zunächst wurde die DNA mit dem Trägermaterial gewaschen. Dazu wurde es jeweils in ein 1,5 ml Plastikreaktionsgefäß gegeben, mit 500 µl aqua bidest. versetzt und 5 Sek. gevortext. Dadurch wurde das getrocknete Blut rehydriert. Danach wurden die Spitzen jeweils in ein frisches Cap gegeben und ausgekocht. Dazu wurden sie mit 50 µl aqua bidest. versetzt, 15 Min. bei 100°C gekocht und anschließend extensiv gevortext.

Nach Verwerfen des Trägermaterials (Isocode®-Stick-Spitze) wurde die extrahierte DNA bei -20°C gelagert.

Bei den Proben aus Nordeuropa erfolgte die DNA-Extraktion aus den Blutzellen mit Hilfe des InstaGene® Whole Blood Kit der Firma BioRad exakt nach Herstellerangaben (*BioRad-Laboratories GmbH*, München, Deutschland). Zunächst wurde das EDTA-Blut aufgetaut. In ein 1,5ml Plastikreaktionsgefäß wurden 50 µl Blut und 1ml des Lysis-Puffers gegeben und unter gelegentlichem Schütteln vermischt. Dabei lief die Zelllyse 8 Min. bei Raumtemperatur ab. Danach wurde der

Reaktionsansatz 1 Min. bei 10000 bis 12000 U/Min. zentrifugiert. Dadurch setzte sich am Boden des Reaktionsgefäßes ein Pellet ab. Die Flüssigkeit über dem Pellet wurde vorsichtig, ohne das Pellet zu zerstören, abpipettiert. Nach Wiederholung dieses Vorgangs, wurden 200µl der InstantGene Matrix zugegeben, um die extrahierte DNA zur Lagerung zu stabilisieren. Dieser Ansatz wurde 8 Min. bei 70°C inkubiert, dann 10 Sek. gemischt und 4 Min. in einem 95°C Wasserbad erwärmt. Danach wurde die extrahierte DNA bei -20°C gelagert.

4.6.3 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die Polymerasekettenreaktion (engl. Polymerase chain reaction = PCR) wurde erstmalig 1987 von Mullis *et al.* beschrieben.

Mit Hilfe dieser Methode lassen sich DNA-Abschnitte vervielfältigen, von denen mindestens zwei kurze Teilsequenzen bekannt sind. Der zu amplifizierende Abschnitt wird von entsprechenden Primersequenzen begrenzt und mit Hilfe einer DNA-Polymerase in einem geeigneten Puffersystem in Gegenwart von Nukleotiden mehrfach repliziert. Die Reaktion erfolgt in zyklischen Temperaturwechseln, wobei jeder Zyklus aus drei Teilschritten besteht. Als Erstes erfolgt die Denaturierung der doppelsträngigen DNA bei 93-100°C. Im zweiten Schritt erfolgt das sogenannte Annealing, d.h. die Anlagerung der Primer an die DNA-Einzelstränge. Die Annealing-Temperatur ist abhängig von der Primersequenz. Bei der Extension (dritter Schritt) startet bei 72-75°C eine hitzestabile DNA-Polymerase an den Primern die DNA-Synthese und verlängert die Primer durch Anlagerung der entsprechenden Desoxynukleosidtriphosphate (dNTPs) zum komplementären DNA-Strang.

Dieser aus den drei Schritten bestehende Zyklus wird mehrfach wiederholt, wodurch der gewünschte DNA-Abschnitt exponentiell vervielfacht wird, so dass er nachgewiesen werden kann. 1988 konnte die PCR-Methode durch Verwendung einer hitzestabilen DNA-Polymerase, die aus dem *Bakterium Thermus aquaticus* gewonnen wird, verbessert werden, da die Polymerase nicht mehr durch Hitze denaturiert wird (Saiki *et al.*, 1988). Somit ist eine einmalige Zugabe zu dem Reaktionsgemisch ausreichend, was eine Automatisierung der PCR ermöglicht.

4.6.3.1 PCR zum Nachweis des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus

Die Untersuchung des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus erfolgte mittels PCR in Anlehnung an die Beschreibung von *Walley* und *Cookson* (1996). Der -590 C→T Polymorphismus wird mit dem Primerpaar IL-4 AW41 1/2 amplifiziert (*Walley & Cookson* 1996).

IL-4 (AW41A): 5'-ACT AGG CCT CAC CTG ATA CG-3'

IL-4 (AW41B): 5'-GTT GTA ATG CAG TCC TCC TG-3'

Die Annealing-Temperatur dieses Primerpaares beträgt 57°C.

Bei den Proben aus Mittelamerika wurde die PCR mit einem Gesamtvolumen von 100 µl (pro Probe/Patient) durchgeführt. Darin enthalten waren, 73,5 µl aqua bidest, 10 µl 10x Reaktionspuffer (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland), 200 µM jedes NTP (*Roche Diagnostik*, Mannheim, Deutschland), 20 pM eines jeden Primer (IL4 AW41 1/2) (*MWG-Biotech GmbH*, Ebersberg, Deutschland), 5 µl DNA-Template, 125 µM MgCl₂ (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland) sowie 2,5 U Hot-Star TaqTM-DNA-Polymerase (*Qiagen GmbH*, Hilden Deutschland).

Bei den Proben aus Nordeuropa wurde die PCR mit einem Gesamtvolumen von 100 µl (pro Probe/Patient) durchgeführt. Darin enthalten waren 68,5 µl aqua bidest, 10 µl 10x Reaktionspuffer (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland), 200 µM jedes NTP (*Roche Diagnostik*, Mannheim, Deutschland), 20 pM eines jeden Primer (IL4 AW41 1/2) (*MWG-Biotech GmbH*, Ebersberg, Deutschland), 10 µl DNA-Template, 125 µM MgCl₂ (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland) sowie 2,5 U Hot-Star TaqTM-DNA-Polymerase (*Qiagen GmbH*, Hilden Deutschland).

Die Amplifizierung erfolgte in einem Thermocycler (Mastercycler Gradient, *Eppendorf-Netheler-Hinz*, Hamburg, Deutschland) und verlief in mehreren Zyklen.

Anfangs erfolgte eine 15-minütige initiale Denaturierung bei 95°C. Danach folgten 35 Zyklen mit einem Temperaturverlauf von jeweils 1 Min. Denaturierung bei 94°C, 1 Min. Annealing bei 57°C und 1 Min. Elongation bei 72°C. Abschließend erfolgte die finale Elongation, 10 Min. bei 72°C.

Das PCR-Produkt wurde bei -20°C gelagert.

4.6.3.2 PCR zum Nachweis des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2

Die PCR zum Nachweis des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 wurde von *Mout et al.*, 1991, beschrieben. Dazu wird das Primerpaar IL-4 RP 2 benötigt (*Mout et al.*, 1991).

IL-4 (RP2A): 5`-TAG GCT GAA AGG GGG AAA GC-3`

IL-4 (RP2B): 5`-CTG TTC ACC TCA ACT GCT CC-3`

Die Annealing-Temperatur liegt bei 55°C.

Bei den Proben aus Mittelamerika wurde die PCR mit einem Gesamtvolumen von 100 µl (pro Probe/Patient) durchgeführt. Darin enthalten waren 56 µl aqua bidest, 10 µl 10x Reaktionspuffer (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland), 20 µl Q-Puffer (*Qiagen GmbH*, Hilden Deutschland), 200 µM jedes NTP (*Roche Diagnostik*, Mannheim, Deutschland), 50 pM von jedem Primer (IL4 RP 2A/2B) (*MWG-Biotech GmbH*, Ebersberg, Deutschland), 5 µl DNA-Template, 62,5 µM MgCl₂ (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland) sowie 2,5 U Hot-Star TaqTM-DNA-Polymerase (*Qiagen GmbH*, Hilden Deutschland).

Bei den Proben aus Nordeuropa wurde die PCR mit einem Gesamtvolumen von 100 µl (pro Probe/Patient) durchgeführt. Darin enthalten waren 56 µl aqua bidest, 10 µl 10x Reaktionspuffer (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland), 20 µl Q-Puffer (*Qiagen GmbH*, Hilden Deutschland), 200 µM jedes NTP (*Roche Diagnostik*, Mannheim, Deutschland), 50 pmol von jedem Primer (IL4 RP 2A/2B) (*MWG-Biotech GmbH*, Ebersberg, Deutschland), 5 µl DNA-Template, 62,5 µM MgCl₂ (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland) sowie 2,5 U Hot-Star TaqTM-DNA-Polymerase (*Qiagen GmbH*, Hilden Deutschland).

Nach einer 15-minütigen initialen Denaturierung bei 95°C folgten 35 Zyklen mit einem Temperaturverlauf von jeweils 1 Min. Denaturierung bei 94°C, 1 Min. Annealing bei 55°C und 1 Min. Elongation bei 72°C, abschließend die finale Elongation 10 Min. bei 72°C.

Das PCR-Produkt wurde ebenfalls bei -20°C gelagert.

4.6.3.3 PCR zum Nachweis des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3

Die PCR zum Nachweis des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 wurde von *Mout et al.*, 1991, beschrieben. Dazu wird das Primerpaar IL-4 RP 1 benötigt (*Mout et al.*, 1991).

IL-4 (RP1A): 5`-CTC AAA GTG CTG GGA TTA GC-3`

IL-4 (RP1B): 5`-AGC CAT CTC GGT TGG ATG GA-3`

Die Annealing-Temperatur liegt bei 55°C.

Die PCR wurde mit einem Gesamtvolumen von 100µl (pro Probe/Patient) durchgeführt. Darin enthalten waren 71 µl aqua bidest, 10 µl 10x Reaktionspuffer (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland), 200µM jedes NTP (*Roche Diagnostik*, Mannheim, Deutschland), 125 pmol von jedem Primer (IL4 RP 2A/2B) (*MWG-Biotech GmbH*, Ebersberg, Deutschland), 0,5 µl DNA-Template, 150µM MgCl₂ (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland) sowie 2,5 U Hot-Star TaqTM-DNA-Polymerase (*Qiagen GmbH*, Hilden Deutschland).

Die PCR zum Nachweis des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 erfolgte analog zum Nachweis des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 der nordeuropäischen Proben (siehe 4.6.3.2).

4.6.4 Gelelektrophorese der PCR-Produkte

Die PCR-Produkte wurden mit Ethidiumbromid angefärbt und durch Agarosegelelektrophorese getrennt.

Für die Gelelektrophorese wurde 2%ige (w/v) Agarose benutzt. Dazu wurde 1g Agarose (Agarose Typ1: Low EEO; *Sigma-Aldrich-Chemie GmbH*, Steinheim, Deutschland) mit 50 ml 1x TAE-Puffer (Tris/Acetic Acid/EDTA Buffer 50fach, pH 8,3; *Bio-Rad Laboratories GmbH*, München, Deutschland) versetzt. Die Ethidiumbromidkonzentration im Agarosegel betrug 0,5 µg/ml (*Fluka BioChemica*, Neu.Ulm, Deutschland). Die Ethidiumbromidkonzentration im 1xTAE-Puffer betrug 0,2 µg/ml. Das Gel wurde aufgekocht, blasenfrei in das Elektrophoresegerät gefüllt und nach Erkalten mit 1xTAE-Puffer bedeckt.

Für die Elektrophorese der PCR-Produkte wurden zu 18 µl PCR-Produkt 2 µl des Ladepuffers (40% Ficoll, 0,05% Bromphenolblau, 0,05% Xylencyanol) gegeben. Diese insgesamt 20 µl wurden nach Entfernen des Geltaschenformers in die Geltaschen appliziert. Als Referenz wurde 1 µl eines DNA-molecular weight marker (100bp DNA Ladder) (*New England BioLabs Inc.*, Schwalbach/Taunus, Deutschland) auf das Gel geladen. Nach erfolgter Elektrophorese wurden die spezifischen Banden durch UV-Licht sichtbar gemacht (Macro Vue UV 25, Hoefer) und fotografiert (Bio-Print, Mitsubishi).

Für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 wurden zwei Allele beschrieben. Allel B1 = 183bp und Allel B2 = 253bp (Mout *et al.*, 1991). Im Agarosegel war entweder eine 183bp große Bande (Genotyp: homozygot B1/B1), oder eine 253bp große Bande (Genotyp: homozygot B2/B2) sichtbar. Die Frequenz des Allels B1 liegt bei 0,17, die von B2 bei 0,83. Waren beide Banden erkennbar lag Heterozygotie vor (Heterozygoter Genotyp B1/B2). Diese hat eine Frequenz von 0,12 (Mout *et al.*, 1991).

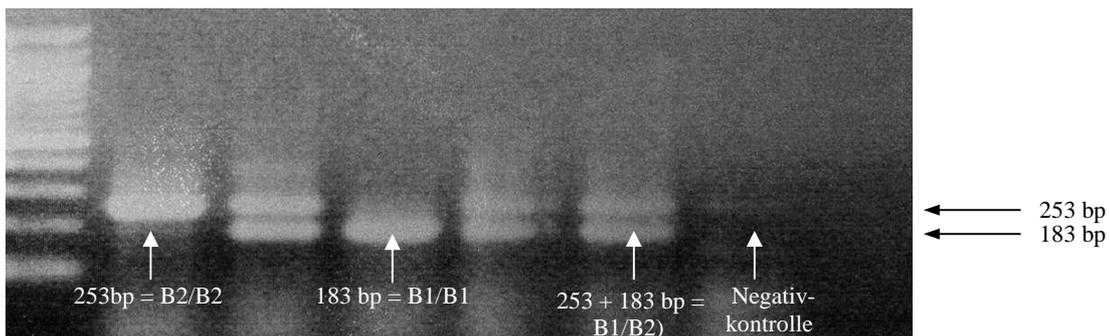


Abb.2: Beispiel eines Gelbildes des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2

Analyse des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2. Bahn 1 = DNA molecular weight marker, Bahn 2-6 = verschiedene an AP erkrankten Patienten, die auf den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 getestet wurden, Bahn 7 = Negativkontrolle. In Bahn 2 ist nur eine 253 bp große Bande zu erkennen. Diese Person zeigt Homozygotie des B2-Allels (Genotyp B2/B2). Bahn 4 zeigt nur eine 183 bp große Bande. Die Person ist somit homozygot für das B1-Allel (Genotyp B1/B1). Die Bahnen 3, 5 und 6 zeigen zwei Banden untereinander, 253 bp und 183 bp. Diese untersuchten Personen weisen den heterozygoten Genotypen auf (B1/B2).

Bei der Untersuchung des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 war im Agarosegel eine 184bp große Bande (Genotyp: homozygot A1/A1), eine 196bp große Bande (Genotyp: homozygot A2/A2) oder eine 206bp große Bande (Genotyp: homozygot A3/A3) sichtbar. Die Frequenz des Allels A1 beträgt 0,73, von A2 0,07 und von A3 0,20. Waren verschiedene Banden erkennbar lag Heterozygotie vor (Genotypen: heterozygot A1/A2; heterozygot A1/A3; heterozygot A2/A3). Diese hat eine Frequenz von 0,27 (Mout *et al.*, 1991).

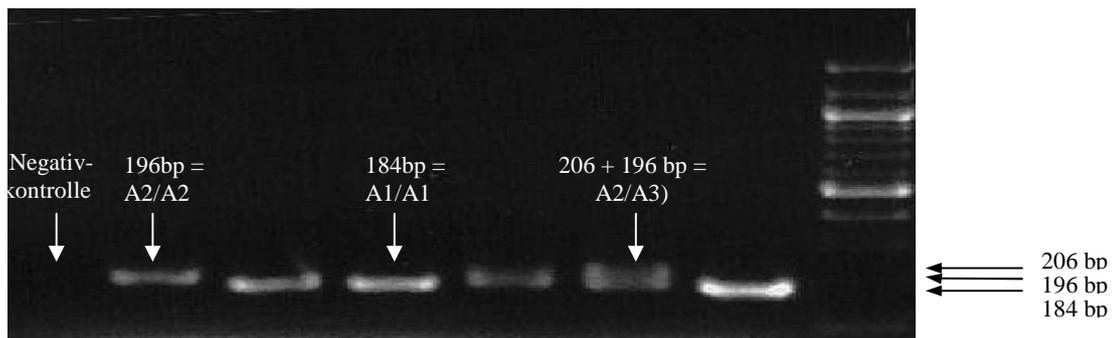


Abb.3: Beispiel eines Gelbildes des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3

Analyse des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3. Bahn 1 = Negativkontrolle, Bahn 2-7 = verschiedene an AP erkrankten Patienten, die auf den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 getestet wurden, Bahn 8 = DNA molecular weight marker. In den Bahnen 2 und 5 ist nur eine 196 bp große Bande zu erkennen. Diese Personen zeigen Homozygotie des A2-Allels (Genotyp A2/A2). Bahn 3,4 und 7 zeigen nur eine 184 bp große Bande. Die Personen sind somit homozygot für das A1-Allel (Genotyp A1/A1). Die Bahn 6 zeigt zwei Banden untereinander, 206 bp und 196 bp. Diese untersuchte Person weist den heterozygoten Genotypen (A2/A3) auf.

Zur Auswertung des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus wurde zunächst der Erfolg der PCR mittels Gelelektrophorese überprüft. Es war im Agarosegel ein 252bp großes PCR-Produkt sichtbar (Position -522 bis -774 der IL-4 Promotorregion) (Wallney und Cookson, 1996). Die DNA wurde anschließend aus dem PCR-Produkt isoliert (siehe 4.6.5), und dann zum Nachweis des Polymorphismus mittels eines Restriktionsenzym (BsmFa) verdaut (siehe 4.6.6). Anschließend erfolgte eine erneute Gelelektrophorese (siehe 4.6.7).

4.6.5 DNA Aufreinigung des PCR-Produktes bei dem IL-4 C(-590)-T Polymorphismus

Vor dem Restriktionsverdau musste zunächst die amplifizierte DNA aus dem PCR-Produkt isoliert werden. Die Aufreinigung des PCR-Produkts erfolgte mit Hilfe des QIAquick PCR purification kit (*Qiagen GmbH*, Hilden, Deutschland) exakt nach Herstellerangaben. Dabei wurde die DNA (100bp – 10kb), doppel- oder einsträngig, von Primern, Nukleotiden, Polymerasen und Salzen gereinigt. Zunächst wurden im PCR-Produkt die Primer, Nukleotiden, Polymerasen und Salze gebunden. Dazu wurde zu 80 µl des PCR-Produkts 400 µl des entsprechenden Puffers gegeben. Dieses Gemisch wurde in eine QIAquick-Säule pipettiert und bei 13.000 U/Min. zentrifugiert. Für den Waschvorgang wurden 750 µl des entsprechenden Puffers in die QIAquick-Säule gegeben und 1 Min. bei 13.000 U/Min. und danach 1 Min. bei 14.000 U/Min. zentrifugiert. Zuletzt wurden 30 µl des Elution-Puffers in die QIAquick-Säule appliziert und 1 Min. zentrifugiert, um die DNA aus der Präzipitationssäule herauszuwaschen.

Die aufgereinigte/eluierte DNA konnte bei –20°C bis zum Restriktionsverdau gelagert werden.

4.6.6 Restriktionsverdau bei dem IL-4 C(-590)-T Polymorphismus

Für die Untersuchung des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus erfolgte nach der Aufreinigung des PCR-Produkts der Restriktionsverdau.

Der Restriktionsverdau erfolgte in einem Gesamtvolumen von 40 µl. Darin enthalten waren 30 µl eluiertes PCR-Produkt, 2,6 µl aqua bidest., 4 µl NEBuffer 4 (*New England BioLabs Inc.*, Schwalbach/Taunus, Deutschland), 3 µl Enzym BsmFa (2 U/µl) (*New England BioLabs Inc.*, Schwalbach/Taunus, Deutschland) sowie 0,4 µl BSA (Nuklease-freies Rinderserumalbumin) (*New England BioLabs Inc.*; Schwalbach/Taunus, Deutschland).

Der Restriktionsverdau wurde 6-8 Stunden bei 65°C inkubiert und danach durch Zugabe von EDTA gestoppt.

Die Restriktionsprodukte konnten bei –20°C gelagert werden.

Danach erfolgte wiederum eine Gelelektrophorese.

4.6.7 Gelelektrophorese der Restriktionsprodukte

Für die Gelelektrophorese wurde 3%iges (w/v) Agarosegel benutzt. Dazu wurde 1,95g Agarose (Agarose Typ1: Low EEO; *Sigma-Aldrich-Chemie GmbH*, Steinheim, Deutschland) mit 65 ml 1x TAE-Puffer (Tris/Acetic Acid/EDTA Buffer 50fach, pH 7,8; *Bio-Rad Laboratories GmbH*, München, Deutschland) versetzt. Die Ethidiumbromidkonzentration im Agarosegel betrug 0,5 µg/ml (*Fluka BioChemica*, Neu.Ulm, Deutschland). Die Ethidiumbromidkonzentration im 1xTAE-Puffer betrug 0,2 µg/ml. Das Gel wurde aufgekocht, blasenfrei in das Elektrophoresegerät gefüllt und nach Erkalten mit 1xTAE-Puffer bedeckt.

Für die Elektrophorese des Restriktionsverdauansatzes wurden zu 40 µl Restriktionsverdaumischung 5 µl des Ladepuffers (40% Ficoll, 0,05% Bromphenolblau, 0,05% Xylencyanol) gegeben. Diese insgesamt 45 µl wurden nach Entfernen des Geltaschenformers in die Geltaschen appliziert. Als Referenz wurde ein DNA-molecular weight marker (100bp DNA Ladder) (*New England BioLabs Inc.*, Schwalbach/Taunus, Deutschland) auf das Gel geladen.

Das Gelbild wurde unter UV-Licht ausgewertet und fotografiert.

Bei der Untersuchung des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus waren nach dem Restriktionsverdau auf dem Gelbild verschiedene Banden sichtbar.

Eine 252 bp große Bande war erkennbar, wenn es sich bei beiden Allelen um T-Allele handelte, da das Restriktionsenzym das 252 bp große DNA-Stück aufgrund des Wechsels von C→T nicht schneiden konnte (Genotyp: homozygot T/T).

Lagen zwei C-Allele vor, waren eine 192 bp große Bande sichtbar, da das Restriktionsenzym beide Allele in Position -590 schneiden konnte, die 60 bp große Banden war unter den gegebenen Elektrophoresebedingungen nicht sichtbar (Genotyp: homozygot C/C). Die Frequenz von T/T liegt bei 0,02, die von C/C bei 0,63 (Borish *et al.*, 1995).

Lag Heterozygotie, d.h. ein C-Allel und ein T-Allel vor, gab es drei Banden (252 bp; 192 bp; 60 bp), da nur ein Allel (C-Allel) durch das Restriktionsenzym verdaut werden konnte, auch hier war die 60 bp große Bande unter den gegebenen Elektrophoresebedingungen nicht sichtbar (Genotyp: heterozygot C/T). Hier liegt die Frequenz bei 0,37 (Borish *et al.*, 1995).

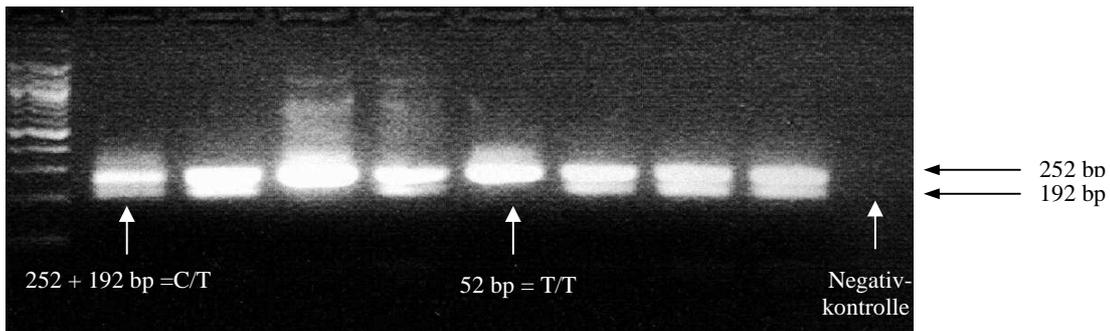


Abb.4: Beispiel eines Gelbildes des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus

Analyse des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus. Bahn 1 = DNA molecular weight marker, Bahn 2-9 = verschiedene an AP erkrankten Patienten, die auf den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus getestet wurden, Bahn 10 = Negativkontrolle. Bei den Bahnen 4 und 6 ist jeweils nur eine 252 bp große Bande sichtbar. Diese Personen sind im Hinblick auf den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus homozygot für das T-Allel (Genotyp T/T). Die Bahnen 2, 3, 5, 7, 8 und 9 zeigen jeweils sowohl eine 192 bp als auch eine 252 bp große Bande. Dies sind Beispiele für den heterozygoten Genotypen C/T. Die 60 bp große Bande ist unter den gegebenen Elektrophoresebedingungen nicht sichtbar.

4.7 Statistische Auswertung

Vor Beginn der Untersuchung wurden Fragestellung und Ziel der Studie definiert. Als Zielgrößen wurden die Verteilung des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus, des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und die Betrachtung beider Genotypen zusammen, sowie die Verteilung des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 und dessen Genotypen zusammen mit denen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus bzw. des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 in den Untersuchungsgruppen festgelegt. Bei den untersuchten Polymorphismen ließen verschiedene Genotypen unterscheiden. Die Verteilung der Genotypen der untersuchten Abschnitte auf die Untersuchungsgruppen wurde mit Excel (Version 2000) und SPSS (Version 11.01) tabellarisch und graphisch dargestellt.

Die statistische Analyse erfolgte mit dem Fisher's Exact Test, einem nicht parametrischen Test, mit dem Programmpaket „SAS“ (SAS Institute Inc., North Carolina, U.S.A. Version 8.2). Die Kollektive (insbesondere das der Mittelamerikaner) waren jedoch zu klein, um auf Signifikanz zu testen. Es handelt sich daher um eine rein explorative Datenanalyse, die Hinweise liefern soll, dass das

Vorliegen eines Genotyps mit dem Vorliegen eines möglichen Risikos bezüglich des Auftretens der Erkrankung verknüpft ist.

Zudem wurde getrennt von den gesunden Probanden nur die Patientengruppe auf Häufigkeit/Verteilung bei gleichzeitiger Betrachtung beider Genotypen und auf Zusammenhänge zwischen der gleichzeitigen Betrachtung beider Genotypen und den klinischen Parametern untersucht. Hierzu wurden ebenfalls nicht parametrische Tests (Wilcoxon-Test, Median-Test) aus dem Programmpaket „SAS“ (SAS Institute Inc., North Carolina, U.S.A. Version 8.2) verwendet.

Das Hardy-Weinberg Equilibrium (Stern 1943) wurde mit dem Fisher's Exakt Test analysiert.

Die Analyse der klinischen Daten („Plaqueindex“, „Papillenblutungsindex“, „Sondierungstiefe“, „Sondierungsblutung“ und „klinischer Attachmentlevel“) erfolgte im Sinne der explorativen Datenanalyse. Da nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden konnte, wurde die Verteilung der genannten Parameter getrennt für die beiden Untersuchungsgruppen tabellarisch und graphisch in Form von Boxplots nach Tukey beschrieben. Die Boxplots wurden mit dem Statistikprogramm „SPSS“ (SPSS für Windows, Version 11.01) erstellt. Sie bestehen aus dem Median als Lageparameter, dem Interquartilintervall als Maß für die Streuung sowie dem Minimum und dem Maximum der Einzelwerte. Die aufgeführten Werte, die zwischen 1,5 und 3 Boxenlängen von der oberen oder unteren Kante der Box entfernt waren, wurden als „Extreme“ in der Graphik mit „o“ gekennzeichnet. Werte, die mehr als 3 Boxenlängen von der oberen oder unteren Kante entfernt waren, wurden als „Ausreißer“ in der Graphik mit „*“ gekennzeichnet. Da in Veröffentlichungen häufig von der in diesem Falle nicht erfüllten Annahme der Normalverteilung ausgegangen wird, wurden, um die Vergleichbarkeit mit der Literatur zu gewährleisten, zusätzlich zu den nicht parametrischen Parametern auch der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet und in Tabellen angegeben.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der DNA-Untersuchung auf den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus, den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 dargestellt. Die Verteilung der Polymorphismen auf die beiden Untersuchungsgruppen werden tabellarisch und graphisch dargestellt. Ferner werden die der Studie zu Grunde liegenden klinischen

Daten der beteiligten Personen beschrieben sowie tabellarisch und graphisch ausgewertet, um einerseits die Gruppeneinteilung zu verifizieren und außerdem, die klinischen Daten der Patienten mit dem Vorhandensein eines oder beider Polymorphismen vergleichen zu können. Die Daten, auf denen die Darstellungen der Ergebnisse beruhen, sind in Tabellen im Anhang aufgeführt (siehe Anhang).

5. Ergebnisse

5.1 Klinische Parameter

Im Folgenden werden die erhobenen klinischen Daten der beteiligten Personen (gesunde Probanden, Patienten) beschrieben und graphisch dargestellt. Da von keiner Normalverteilung auszugehen ist, wurden für die grafische Darstellung Boxplots nach Tukey gewählt. Zusätzlich wurden noch Mittelwert und Standardabweichung berechnet und in Tabellen angegeben.

Wie zu erwarten, konnte ein Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich der Verteilung der Parameter aufgezeigt werden.

5.1.1 Alter

Bei den Mittelamerikanern war der Medianwert des Lebensalters der gesunden Probandengruppe, deren Alter zwischen 22 und 34 Jahren lag, 23 Jahre. Das mediane Alter der Gruppe der Patienten im Alter zwischen 16 und 35 Jahren betrug 30,5 Jahre. Die Gruppen sind als alterskorreliert zu bezeichnen (Anhang 1e).

Bei den Nordeuropäern war bei den gesunden Probanden, deren Alter zwischen 22 und 33 Jahren lag, der Medianwert 25 Jahre. Die Patienten waren zwischen 18 und 44 Jahre alt. Hier betrug der Medianwert 31 Jahre (Anhang 1e).

5.1.2 Plaqueindex

Die Mundhygiene war individuell sehr verschieden.

Bei den Mittelamerikanern war der Median des Plaqueindex in der Patientengruppe mit 0,495 erwartungsgemäß höher als bei den gesunden Probanden mit 0,263 (Anhang 1f).

Auch bei den Nordeuropäern war der Median in der Patientengruppe (0,522) höher als bei den gesunden Probanden (0,38) (Anhang 1f).

5.1.3 Papillenblutungsindex

Im Gegensatz zum Plaqueindex, mit dem die Mundhygiene lediglich zum Zeitpunkt der Untersuchung beurteilt werden kann, lassen sich mit Hilfe des

Papillenblutungsindex längerfristige Aussagen über die Mundhygienegewohnheiten der untersuchten Person machen.

Wie zu erwarten war bei den Mittelamerikanern auch der Median des Papillenblutungsindex bei den gesunden Probanden mit 0,070 deutlich niedriger als bei den Patienten mit 0,475 (Anhang 1g).

Auch bei den Nordeuropäern war der Median bei den gesunden Probanden (0,054) deutlich niedriger als bei den Patienten (0,181) (Anhang 1g).

5.1.4 Sondierungstiefe

Es wurde aus den an 6 Stellen pro Zahn gemessenen Sondierungstiefen für jede Person aus den Einzelwerten aller Zähne ein Mittelwert gebildet.

Der Medianwert der gesunden Probanden der Mittelamerikaner war mit 2,115 deutlich niedriger als der Medianwert der Patienten mit 3,180 (Anhang 1h).

Bei den Nordeuropäern war der Median der Probanden mit 1,76 ebenfalls deutlich niedriger als der der Patienten mit 3,36 (Anhang 1h).

5.1.5 Sondierungsblutung

Bei den Mittelamerikanern war der Median der Werte der Sondierungsblutung bei den gesunden Probanden mit 0,050 deutlich niedriger als in der Patientengruppe mit 0,321 (Anhang 1i).

Der Medianwert der gesunden Probanden der Nordeuropäer war mit 0,054 deutlich niedriger als der der Patienten mit 0,523 (Anhang 1i).

5.1.6 Klinischer Attachmentlevel

Bei den Patientengruppe der Mittelamerikaner war der Attachmentverlust erwartungsgemäß höher als bei den gesunden Probanden. Der Median des klinischen Attachmentlevels war in der Patientengruppe mit 3,45 deutlich höher als der Median der gesunden Probandengruppe (Anhang 1j).

Auch bei den Nordeuropäern war der Attachmentverlust bei den Patienten erwartungsgemäß höher als bei den gesunden Probanden (Median der Patienten 3,37; Median der Probanden 1,79) (Anhang 1j).

5.2 Verteilung des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus

Es gibt drei verschiedene Genotypen (homozygot C/C; homozygot T/T; heterozygot C/T) des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus.

Bei den Mittelamerikanern traten zwei der genannten Genotypen auf (T/T; C/T).

Von den 14 an der Studie beteiligten gesunden Probanden waren 3 homozygot für das T-Allel (Genotyp T/T) und 11 heterozygot (Genotyp C/T). Keiner der gesunde Probanden war homozygot für das C-Allel (Genotyp C/C).

In der Gruppe der 16 Patienten mit AP wurden 4 homozygot für das T-Allel (Genotyp T/T) getestet. 12 Patienten waren heterozygot (Genotyp C/T). Auch in dieser Gruppe war niemand homozygot für das C-Allel (Genotyp C/C).

Es waren 21,4% der getesteten gesunden Probanden und 25% der getesteten Patienten mit AP homozygot für das T-Allel (Genotyp T/T) (Tab.1, Abb.5a).

Es konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich des Auftretens des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus gezeigt werden (Fisher`s Exact Test, $p > 0,05$).

Die Verteilung der IL-4 Genotypen an Position -590 steht bei den an AP erkrankten Patienten und den gesunden Probanden nicht im Hardy-Weinberg Equilibrium.

Bei den Nordeuropäern waren 5 der 33 gesunden Probanden homozygot für das T-Allel (Genotyp T/T), 11 homozygot für das C-Allel (Genotyp C/C) und 17 wiesen Heterozygotie (Genotyp C/T) auf.

In der Gruppe der 34 Patienten mit AP konnte bei 8 Patienten Homozygotie des T-Allels nachgewiesen werden (Genotyp T/T). Bei weiteren 8 Patienten zeigte sich Homozygotie des C-Allels (Genotyp C/C) und bei 18 der Patienten der heterozygote Genotyp (C/T).

15% der gesunden Probanden und 24% der Patienten mit AP waren homozygot für das T-Allel (Genotyp T/T) (Tab.1, Abb.5b).

Ein Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich des Auftretens des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus konnte nicht gezeigt werden (Fisher`s Exact Test, $p > 0,05$).

Die Verteilung der IL-4 Genotypen an Position -590 steht, sowohl bei den an AP erkrankten Patienten, als auch bei den gesunden Probanden im Hardy-Weinberg Equilibrium.

Genotyp	Mittelamerikaner		Nordeuropäer	
	gesunde Probanden n = 14	Patienten (AP) n = 16	gesunde Probanden n = 33	Patienten (AP) n = 34
T/T	3 (21,4%)	4 (25%)	5 (15,2%)	8 (23,5%)
C/C	0	0	11 (33,3%)	8 (23,5%)
C/T	11 (78,6%)	12 (75%)	17 (51,5%)	18 (53%)

Tab.1: Verteilung der Genotypen in den Gruppen

Die Tabelle zeigt die zahlenmäßige und prozentuale Verteilung der Genotypen bei den gesunde Probanden (n = 14, n = 33) und bei den an AP erkrankten Patienten (n = 16, n = 34). Bei den Mittelamerikanern waren weder gesunde Probanden noch Patienten homozygot für das C-Allel (Genotyp C/C).

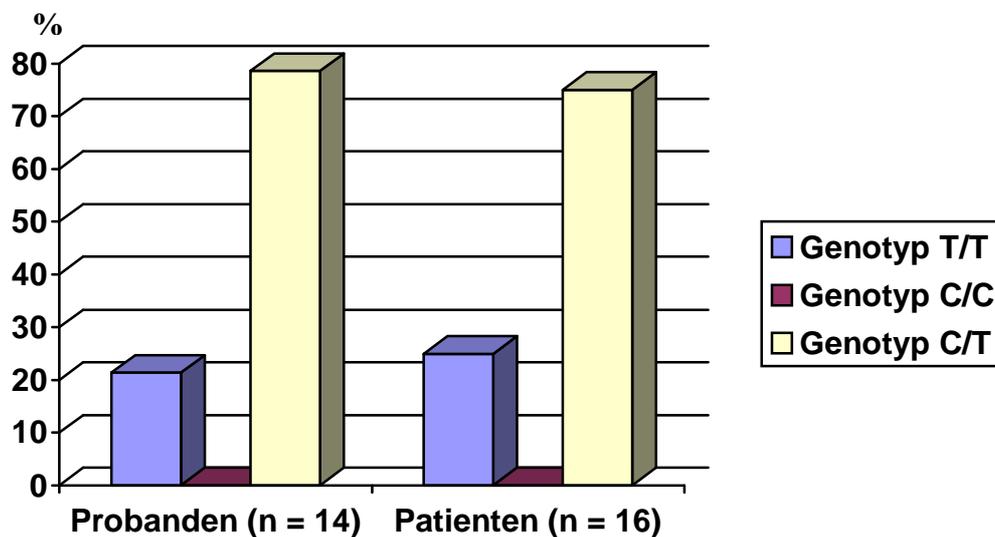


Abb.5a: Verteilung der Genotypen bei den Mittelamerikanern (Werte in Prozent)

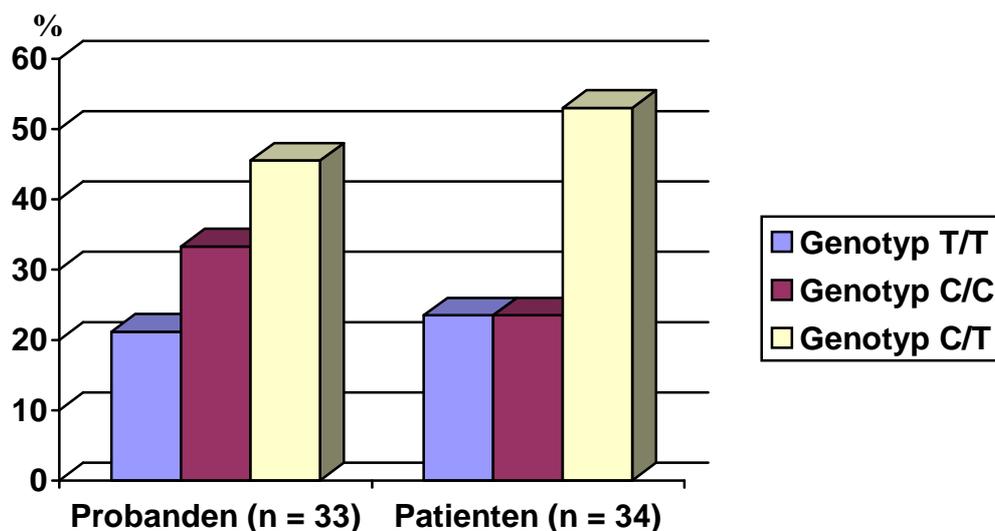


Abb.5b: Verteilung der Genotypen bei den Nordeuropäern (Werte in Prozent)

5.3 Verteilung des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2

Auch hier gibt es drei Genotypen (homozygot B1/B1, homozygot B2/B2, heterozygot B1/B2).

Bei den Mittelamerikanern waren 6 der 14 gesunden Probanden homozygot für das B2-Allel (Genotyp B2/B2), 3 homozygot für das B1-Allel (Genotyp B1/B1) und 5 wiesen Heterozygotie auf (Genotyp B1/B2).

In der Gruppe der 16 Patienten mit AP konnte bei 4 Patienten Homozygotie des B1-Allels nachgewiesen werden (Genotyp B1/B1). Bei 3 der Patienten wurde Homozygotie des B2-Allels (Genotyp B2/B2) und bei 9 der Patienten der heterozygote Genotyp (B1/B2) nachgewiesen.

Es waren 21,4% der getesteten gesunden Probanden und 25% der getesteten Patienten mit AP homozygot für das B1-Allel (Genotyp B1/B1) (Tab.2, Abb.6a).

Auch für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 ergab der Fisher`s Exact Test keinen Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen ($p > 0,05$).

Die Verteilung der Genotypen des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 steht, sowohl bei den an AP erkrankten Patienten, als auch bei den gesunden Probanden im Hardy-Weinberg Equilibrium.

Bei den Nordeuropäern war von den 33 an der Studie beteiligten gesunden Probanden einer homozygot für das B1-Allel (Genotyp B1/B1), 17 heterozygot (Genotyp B1/B2) und 15 homozygot für das C-Allel (Genotyp B2/B2).

In der Gruppe der 34 Patienten mit AP wurden 5 homozygot für das B1-Allel (Genotyp B1/B1) getestet. 19 waren heterozygot (Genotyp B1/B2) und 10 homozygot für das B2-Allel (Genotyp B2/B2).

Es waren 3% der getesteten gesunden Probanden und 14,7% der getesteten Patienten mit AP homozygot für das B1-Allel (Genotyp B1/B1) (Tab.2, Abb.6b).

Auch für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 ergab der Fisher`s Exact Test keinen Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen ($p > 0,05$).

Die Verteilung der Genotypen des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 steht, sowohl bei den an AP erkrankten Patienten, als auch bei den gesunden Probanden im Hardy-Weinberg Equilibrium.

Genotyp	Mittelamerikaner		Nordeuropäer	
	gesunde Probanden n = 14	Patienten (AP) n = 16	gesunde Probanden n = 33	Patienten (AP) n = 34
B1/B1	3 (21,4%)	4 (25%)	1 (3%)	5 (14,7%)
B2/B2	6 (42,9%)	3 (18,75%)	15 (45,5%)	10 (29,4%)
B1/B2	5 (35,7%)	9 (56,25%)	17 (51,5%)	19 (55,9%)

Tab.2: Verteilung der Genotypen in den Gruppen

Die Tabelle zeigt die zahlenmäßige und prozentuale Verteilung der Genotypen sowohl in der gesunden Probanden- (n = 14, n = 33) als auch in der an AP erkrankten Patientengruppe (n = 16, n = 34).

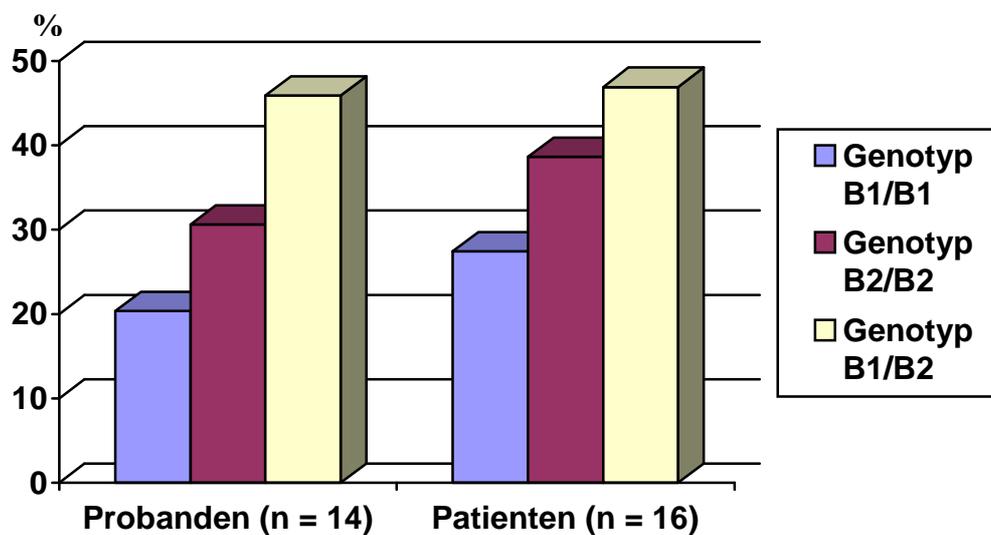


Abb.6a: Verteilung der Genotypen bei den Mittelamerikanern (Werte in Prozent)

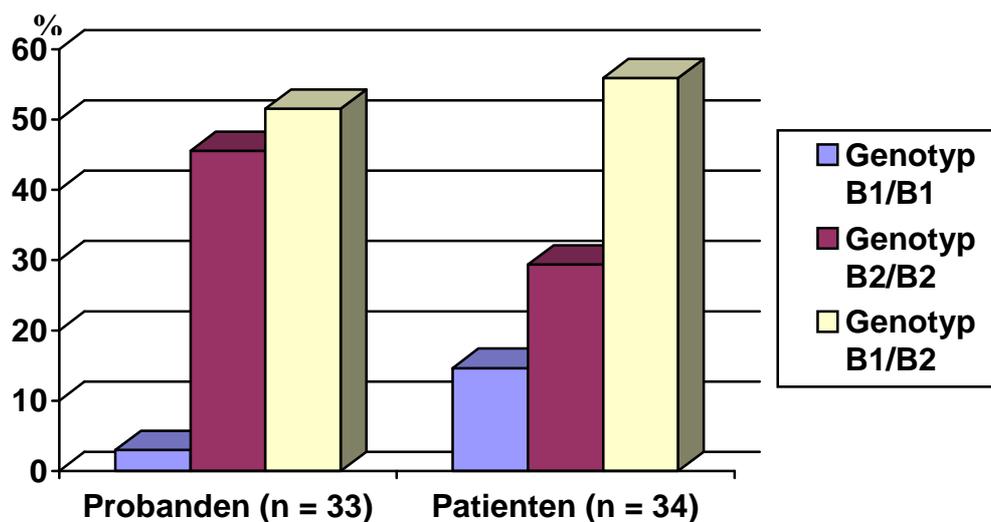


Abb.6b: Verteilung der Genotypen bei den Nordeuropäern (Werte in Prozent)

5.4 Verteilung des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3

Der IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 wurde bei den Nordeuropäern getestet.

Hier gibt es die Genotypen homozygot A1/A1, homozygot A2/A2 und homozygot A3/A3, sowie heterozygot A1/A2, A1/A3 und A2/A3. Diese waren in den beiden untersuchten Gruppen wie folgt verteilt:

Von den 33 an der Studie beteiligten gesunden Probanden war keiner homozygot für das A3-Allel (Genotyp A3/A3). 12 waren homozygot für das A1-Allel (Genotyp A1/A1) und 11 für das A2-Allel (Genotyp A2/A2). Heterozygot wurden insgesamt 10 der Probanden getestet. Davon zeigten jeweils 2 den Genotypen A1/A2 sowie A1/A3 und 6 den Genotypen A2/A3.

In der Gruppe der 34 Patienten mit AP wurden 9 homozygot für das A1-Allel (Genotyp A1/A1) getestet. 7 waren homozygot für das A2-Allel (Genotyp A2/A2) und 4 für das A3-Allel (Genotyp A3/A3). Von den 14 Patienten die Heterozygotie zeigten wiesen jeweils einer den Genotypen A1/A2 sowie A1/A3 auf und 12 den Genotypen A2/A3 (Tab.3; Abb.7).

Der Genotyp A3/A3 kam nur in der an AP erkrankten Patientengruppe vor.

Für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 ergab der Fisher`s Exact Test keinen Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen (Fisher`s Exact Test, $p > 0,05$).

Die Verteilung der Genotypen des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 steht, sowohl bei den an AP erkrankten Patienten, als auch bei den gesunden Probanden im Hardy-Weinberg Equilibrium.

Genotyp	gesunde Probanden n = 33	Patienten (AP) n = 34
A1/A1	12 (36,4%)	9 (26,5%)
A2/A2	11 (33,3%)	7 (20,6%)
A3/A3.	0	4 (11,8%)
A1/A2	2 (6,1%)	1 (2,9%)
A1/A3	2 (6,1%)	1 (2,9%)
A2/A3	6 (18,2%)	12 (35,3%)

Tab.3: Verteilung der Genotypen in den beiden Gruppen der Nordeuropäer

Die Tabelle zeigt die zahlenmäßige und prozentuale Verteilung der Genotypen bei den gesunden Probanden- (n = 33) und bei den an AP erkrankten Patienten (n = 34).

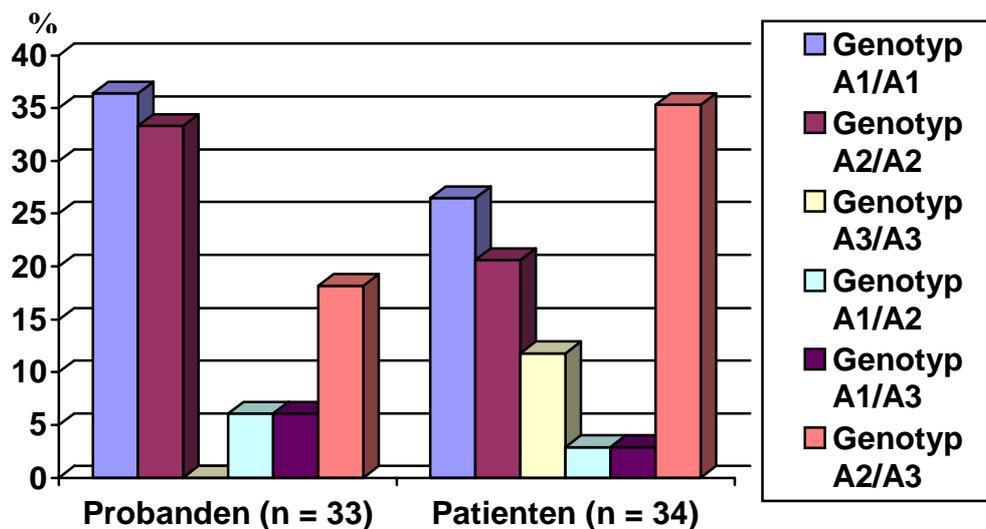


Abb.7: Verteilung der Genotypen in den beiden Gruppen der Nordeuropäer (Werte in Prozent)

5.5 Verteilung der Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 zusammen

In der Gruppe der Mittelamerikaner konnte Homozygotie des C-Allels und des B2-Allels (Genotyp B2/B2+C/C) bei keiner der untersuchten Personen nachgewiesen werden, da keine homozygot für das C-Allel des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus (Genotype C/C) getestet wurde. 5 der untersuchten gesunden Probanden und 9 der untersuchten Patienten wiesen Heterozygotie beider Genotypen auf (B1/B2+C/T). Weiterhin gab es in beiden Gruppen die Kombination B2/B2+C/T. Diese traf bei den gesunden Probanden auf 6 und bei den Patienten auf 3 Personen zu (Tab.4, Abb.8a). Für beiden Genotypen zusammen ergab der Fisher`s Exact Test keinen Hinweis auf einen Unterschied ($p > 0,05$).

In der Gruppe der Nordeuropäer gab weder in der Patienten- noch in der gesunden Probandengruppe die Kombination B1/B1+C/T. Die Kombination der Genotypen B1/B1+C/C trat bei den gesunden Probanden, die Kombination B1/B2+C/C bei den Patienten nicht auf. Homozygotie B1/B1+C/C konnte bei einem der Patienten, Homozygotie B1/B1+T/T bei einem der gesunden Probanden und 4 der Patienten nachgewiesen werden. Homozygot B2/B2+T/T waren 2 der gesunden Probanden und

einer der Patienten, homozygot B2/B2+C/C 9 gesunde Probanden und 7 Patienten, homozygot B2/B2+C/T 4 gesunde Probanden und 2 Patienten und B1/B2+T/T 2 gesunde Probanden und 3 Patienten. Heterozygotie beider Genotypen fand sich bei 13 gesunden Probanden und 16 Patienten (Tab.4, Abb.8b). Auch hier ergab der Fisher's Exact Test auch bei den Nordeuropäern keinen Hinweis auf einen Unterschied ($p > 0,05$). Heterozygotie beider Genotypen ist die am häufigsten vorkommende Kombination in beiden untersuchten Populationen.

Genotyp	Mittelamerikaner		Nordeuropäer	
	gesunde Probanden n = 14	Patienten (AP) n = 16	gesunde Probanden n = 33	Patienten (AP) n = 34
B1/B1 und T/T	3 (21,4%)	4 (25%)	1 (3%)	4 (11,8%)
B1/B1 und C/C	0	0	0	1 (2,9%)
B2/B2 und T/T	0	0	2 (6,1%)	1 (2,9%)
B2/B2 und C/C	0	0	9 (27,3%)	7 (20,6%)
B2/B2 und C/T	6 (42,9%)	3 (18,75%)	4 (12,1%)	2 (5,9%)
B1/B2 und T/T	0	0	2 (6,1%)	3 (8,8%)
B1/B2 und C/C	0	0	2 (6,1%)	0
B1/B2 und C/T	5 (35,7%)	9 (56,25%)	13 (39,4%)	16 (47,1%)

Tab.4: Verteilung der Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 zusammen in den Gruppen

Die Tabelle zeigt die zahlenmäßige und prozentuale Verteilung der beiden Genotypen zusammen.

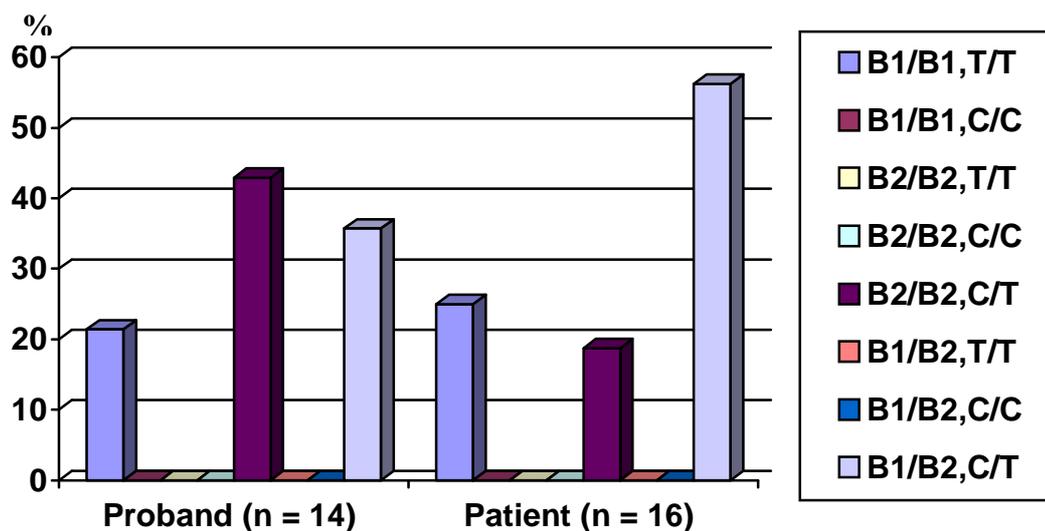


Abb.8a: Verteilung der Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 zusammen bei den Mittelamerikanern (Werte in Prozent)

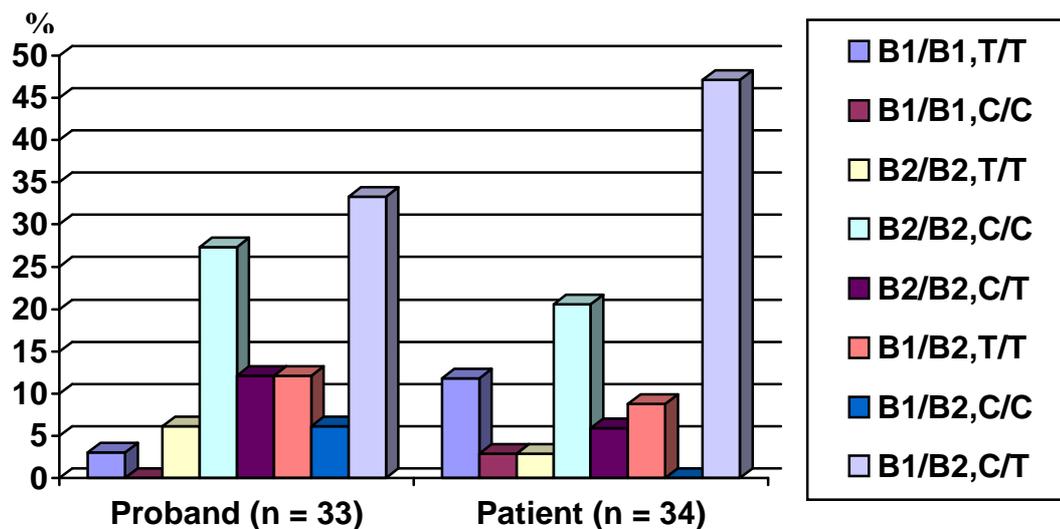


Abb.8b: Verteilung der Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 zusammen bei den Nordeuropäern (Werte in Prozent)

5.6 Verteilung der Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus bzw. des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zusammen

5.6.1 IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zusammen

Weder in der Patienten- noch in der Probandengruppe der Nordeuropäer zeigten sich die Kombinationen der Genotypen C/C+A3/A3, C/C+heterozygot für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 und C/T+A3/A3. Die Kombination der Genotypen T/T+A2/A2 trat bei den Patienten, die Kombination der Genotypen T/T+A3/A3 bei den gesunden Probanden nicht auf. Homozygotie T/T+A2/A2 zeigte sich bei 2 der gesunden Probanden, Homozygotie T/T+A3/A3 bei 4 der Patienten, Homozygotie T/T+A1/A1 bei 2 gesunden Probanden und 3 Patienten. Homozygot C/C+A2/A2 waren 4 Patienten und 5 gesunde Probanden, homozygot C/C+A1/A1 6 gesunde Probanden und 4 Patienten. Bei 4 gesunden Probanden und 3 Patienten zeigte sich Heterozygotie C/T+Homozygotie A2/A2, bei 4 gesunden Probanden und 2 Patienten Heterozygotie C/T+Homozygotie A1/A1 und bei sowohl einem

gesunden Probanden als auch bei einem Patienten Homozygotie T/T+Heterozygotie für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3. Heterozygotie beider Polymorphismen zeigten 9 gesunde Probanden und 13 Patienten (Tab.5a, Abb.9a). Für die beiden Genotypen zusammen ergab der Fisher`s Exact Test keinen Hinweis auf einen Unterschied ($p > 0,05$).

Heterozygotie beider Genotypen ist sowohl bei den gesunden Probanden, als auch bei den Patienten die am häufigsten vorkommende Kombination.

Genotyp	gesunde Probanden n = 33	Patienten (AP) n = 34
T/T und A2/A2	2 (6,1%)	0
T/T und A3/A3	0	4 (11,8%)
T/T und A1/A1	2 (6,1%)	3 (8,8%)
T/T und heterozygot	1 (3%)	1 (2,9%)
C/C und A2/A2	5 (15,2%)	4 (11,8%)
C/C und A3/A3	0	0
C/C und A1/A1	6 (18,2%)	4 (11,8%)
C/C und heterozygot	0	0
C/T und A2/A2	4 (12,1%)	3 (8,8%)
C/T und A3/A3	0	0
C/T und A1/A1	4 (12,1%)	2 (5,9%)
C/T und heterozygot	9 (27,3%)	13 (38,2%)

Tab.5a: Verteilung der Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zusammen

Die Tabelle zeigt die zahlenmäßige und prozentuale Verteilung der beiden Genotypen zusammen

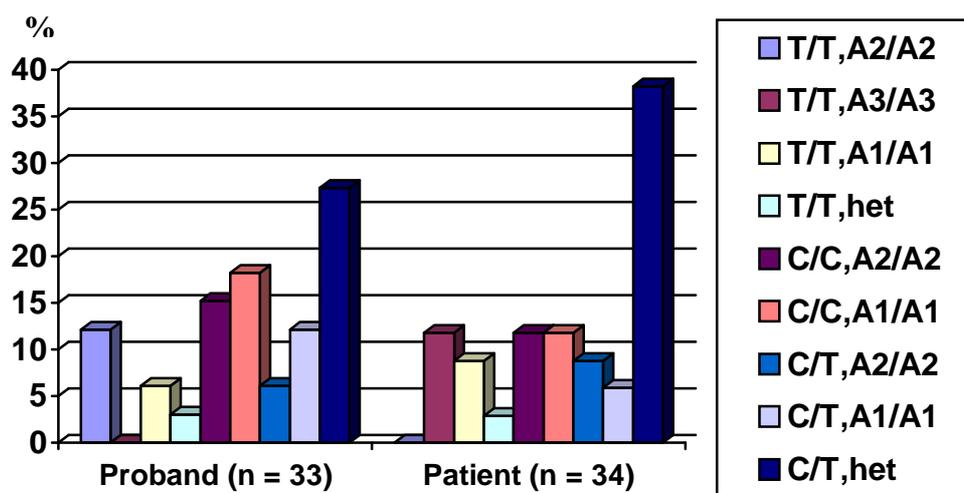


Abb.9a: Verteilung der Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zusammen (Werte in Prozent)

5.6.2 IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zusammen

Homozygote Kombinationen B1/B1+A1/A1, B2/B2+A3/A3 und B2/B2+Heterozygotie für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zeigten sich weder in der Patienten- noch in der Probandengruppe der Nordeuropäer. Die Kombination der Genotypen B1/B1+A3/A3, B1/B2+A3/A3 und B1/B1+Heterozygotie für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 trat bei den gesunden Probanden nicht auf. Homozygotie B1//B1+A2/A2 zeigte sich sowohl bei einem der gesunden Probanden als auch bei einem der Patienten, Homozygotie B2/B2+A2/A2 sowohl bei 4 der Patienten als auch bei 4 der gesunden Probanden, Homozygotie B2/B2+A1/A1 bei 11 gesunden Probanden und 6 Patienten. Heterozygot B1/B2+homozygot A2/A2 waren 6 gesunde Probanden und 2 Patienten, heterozygot B1/B2+homozygot A1/A1 ein gesunder Proband und 3 Patienten. Jeweils ein Patient wurde homozygot B1/B1+ heterozygot für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 und heterozygot B1/B2+homozygot A1/A1 getestet (Tab.5b, Abb.9b). Für die beiden Genotypen zusammen ergab der Fisher`s Exact Test keinen Hinweis auf einen Unterschied ($p > 0,05$).

Genotyp	gesunde Probanden n = 33	Patienten (AP) n = 34
B1/B1 und A2/A2	1 (3%)	1 (2,9%)
B1/B1 und A3/A3	0	3 (8,8%)
B1/B1 und A1/A1	0	0
B1/B1 und heterozygot	0	1 (2,9%)
B2/B2 und A2/A2	4 (12,1%)	4 (11,8%)
B2/B2 und A3/A3	0	0
B2/B2 und A1/A1	11 (33,3%)	6 (17,6%)
B2/B2 und heterozygot	0	0
B1/B2 und A2/A2	6 (18,2%)	2 (5,9%)
B1/B2 und A3/A3	0	1 (2,9%)
B1/B2 und A1/A1	1 (3%)	3 (8,8%)
B1/B2 und heterozygot	10 (30,3%)	13 (38,2%)

Tab.5b: Verteilung der Genotypen des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zusammen

Die Tabelle zeigt die zahlenmäßige und prozentuale Verteilung der beiden Genotypen zusammen.

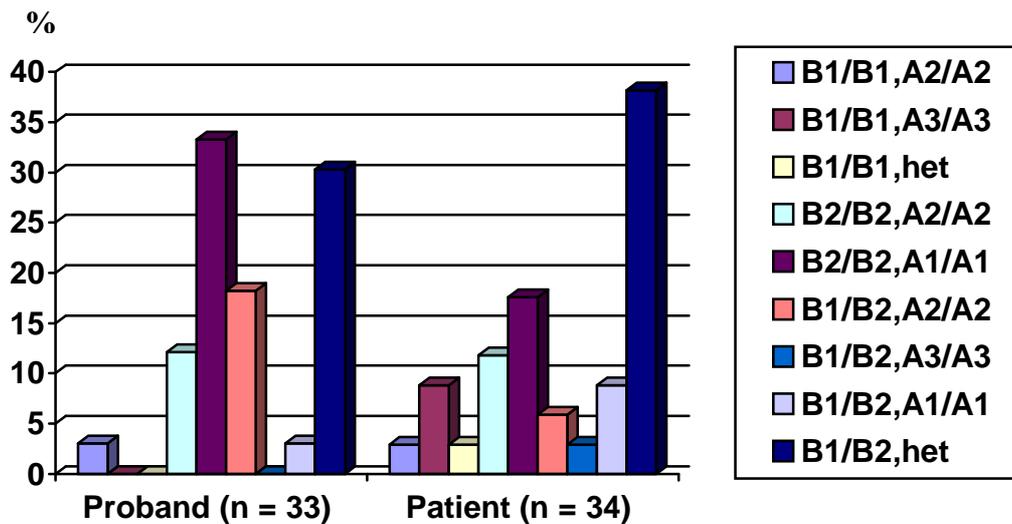


Abb.9b: Verteilung der Genotypen des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zusammen (Werte in Prozent)

5.7 Verteilung der Kombinationen der Genotypen in den Patientengruppen und klinische Parameter

Es wurden die Patientengruppen auf die Kombinationen der Genotypen und deren möglicher Zusammenhang mit den klinischen Parametern genauer betrachtet, da sich bei den vorherigen Tests keine Hinweise auf Zusammenhänge ergeben hatten. Bei den Mittelamerikanern wurden die Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 diesbezüglich zusammen betrachtet. Bei den Nordeuropäern wurden zusätzlich die Genotypen des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 sowohl zusammen mit den Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus als auch zusammen mit den Genotypen des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 diesbezüglich untersucht.

5.7.1 IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 zusammen

Bei den Mittelamerikanern ist auffallend, dass bei Homozygotie des B1-Allels (Genotyp B1/B1) des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 dieser immer zusammen mit Homozygotie des T-Allels (Genotyp T/T) des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus vorliegt. Auch scheint der heterozygote Genotyp gehäuft mit dem heterozygoten Genotypen des anderen Polymorphismus vorzukommen (Tab.6a1). Bei dem vorhandenen Datenpool zeigte sich jedoch keine Signifikanz.

Bei den Nordeuropäern scheint Homozygotie des B2-Allels (Genotyp B2/B2) des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 gehäuft mit Homozygotie des C-Allels (Genotype C/C) des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und Homozygotie des B1-Allels (Genotyp B1/B1) des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 gehäuft mit Homozygotie des T-Allels (Genotype T/T) des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus vorzukommen. Auch scheint der heterozygote Genotyp deutlich gehäuft mit dem heterozygoten Genotypen des anderen Polymorphismus vorzukommen (Tab.6a2). Bei dem vorhandenen Datenpool zeigte sich jedoch keine Signifikanz.

IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 / IL-4 C(-590)-T Polymorphismus	T/T	C/T	C/C
B1/B1	4	0	0
B1/B2	0	9	0
B2/B2	0	3	0

Tab.6a1: Verteilung der Genotypen des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus zusammen in der Patientengruppe der Mittelamerikaner

Die Tabelle stellt die Verteilung der beiden Genotypen in der an AP erkrankten Patientengruppe der Mittelamerikaner dar (n = 16). 4 Patienten zeigten für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Homozygotie B1/B1 sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus Homozygotie des T-Allels (Genotyp B1/B1+T/T), 9 Patienten wiesen Heterozygotie beider Genotypen auf (B1/B2+C/T) und 3 Patienten waren heterozygot für den IL-4 C(-590)-T Genotypen und homozygot für das B2-Allel des IL-4 70bp Repeat Polymorphismus in Intron 2 (B2/B2+C/T).

IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 / IL-4 C(-590)-T Polymorphismus	T/T	C/T	C/C
B1/B1	4	0	1
B1/B2	3	16	0
B2/B2	1	2	7

Tab.6a2: Verteilung der Genotypen des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus zusammen in der Patientengruppe der Nordeuropäer

Die Tabelle stellt die Verteilung der beiden Genotypen in der an AP erkrankten Patientengruppe der Nordeuropäer dar (n = 34). 4 Patienten wiesen für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Homozygotie B1/B1 sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus Homozygotie des T-Allels auf (Genotyp B1/B1+T/T), 1 Patient zeigte für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Homozygotie für das B1-Allel sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus Homozygotie des C-Allels (Genotyp B1/B1+C/C), 3 Patienten waren heterozygot B1/B2 für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 sowie homozygot T/T für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus (Genotyp B1/B2+T/T), 16 Patienten zeigten Heterozygotie beider Genotypen (B1/B2+C/T), 1 Patient wies für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Homozygotie B2/B2 sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus Homozygotie des T-Allels auf (Genotyp B2/B2+T/T), 7 Patienten zeigten für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Homozygotie des B2-Allels sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus Homozygotie des C-Allels (Genotyp B2/B2+C/C)

5.7.2 IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 und IL-4 C(-590)-T Polymorphismus zusammen

Der heterozygote Genotyp scheint deutlich gehäuft mit dem heterozygoten Genotypen des anderen Polymorphismus vorzukommen (Tab.6b1). Bei dem vorhandenen Datenpool zeigte sich jedoch keine Signifikanz.

IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3/ IL-4 C(-590)-T Polymorphismus	T/T	C/T	C/C
A2/A2	0	3	4
A3/A3	4	0	0
Heterozygotie	1	13	0
A1/A1	3	2	4

Tab.6b1: Verteilung der Genotypen des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 zusammen in der Patientengruppe der Nordeuropäer

Die Tabelle stellt die Verteilung der beiden Genotypen in der an AP erkrankten Patientengruppe der Nordeuropäer dar (n = 34). 3 Patienten wiesen für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie A2/A2 sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus Heterozygotie auf (Genotyp A2/A2+C/T), 4 Patienten zeigten für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie des A2-Allels sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus Homozygotie des C-Allels (Genotyp A2/A2+C/C), 4 Patienten waren homozygot A3/A3 sowie homozygot T/T (Genotyp A3/A3+T/T), 13 Patienten wiesen Heterozygotie beider Genotypen auf (Heterozygotie für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 +Genotyp C/T), 3 Patient zeigten für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie des A1-Allels sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus Homozygotie des T-Allels (Genotyp A1/A1+T/T), 2 Patienten waren für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 homozygot A1/A1 sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus heterozygot (Genotyp A1/A1+C/T), 4 Patienten zeigten für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie des A1-Allels sowie für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus Homozygotie des C-Allels (Genotyp A1/A1+C/C)

5.7.3 IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 und IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 zusammen

Der heterozygote Genotyp scheint deutlich gehäuft mit dem heterozygoten Genotypen des anderen Polymorphismus vorzukommen (Tab.6b2). Bei dem vorhandenen Datenpool zeigte sich jedoch keine Signifikanz.

IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3/ IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2	B1/B1	B1/B2	B2/B2
A2/A2	1	2	4
A3/A3	3	1	0
Heterozygote	1	13	0
A1/A1	0	3	6

Tab.6b2: Verteilung der Genotypen des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 und des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 zusammen in der Patientengruppe der Nordeuropäer

Die Tabelle stellt die Verteilung der beiden Genotypen in der an AP erkrankten Patientengruppe der Nordeuropäer dar (n = 34). Bei einem Patienten fand sich für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie A2/A2 sowie für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Homozygotie B1/B1 (Genotyp A2/A2+B1/B1), 2 Patienten zeigten für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie des A2-Allels sowie für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Heterozygotie (Genotyp A2/A2+B1/B2), 4 Patienten wiesen Homozygotie A2/A2 sowie Homozygotie B2/B2 auf (Genotyp A2/A2+B2/B2), 3 Patienten zeigten für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie des A3-Allels sowie Homozygotie B1/B1 für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 (Genotyp A3/A3+B1/B1), bei einem Patienten fand sich für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie A3/A3 sowie für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Heterozygotie (Genotyp A3/A3+B1/B2), ein Patient zeigte für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Heterozygotie sowie für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Homozygotie für das B1-Allel (Heterozygotie für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 +Genotyp B1/B1), 13 Patienten wiesen Heterozygotie beider Genotypen auf (Heterozygotie für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 +Genotyp B1/B2), bei 3 Patienten fand sich

für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie des A1-Allels sowie für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Heterozygotie (Genotyp A1/A1+B1/B2), 6 Patienten zeigten für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 Homozygotie des A1-Allels sowie für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 Homozygotie des B2-Allels (Genotyp A1/A1+B2/B2)

Ein Zusammenhang der Polymorphismen mit den klinischen Parametern ist im vorliegenden Datenkollektiv nicht zu erkennen.

5.8 Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen dem Genotypen und dem Auftreten der Erkrankung

Mit Hilfe der logistischen Regression wurde untersucht, ob sich Hinweise darauf finden lassen, dass das Vorliegen eines Genotyps mit einem Risiko bezüglich des Auftretens der Erkrankung verknüpft ist ¹.

Hierbei wurde die Studie als Fall-Kontroll-Studie betrachtet.

Da der Genotyp nominal skaliert ist, wurden für diese Analyse 2 Dummyvariablen für den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und 3 Dummyvariablen für den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 (hier wurden die heterozygoten Genotypen als eine Ausprägung zusammengefasst) definiert, mit deren Hilfe das mögliche „Risiko“ der Ausprägungskombinationen für das Vorliegen einer AP bestimmt werden kann.

In Bezug auf den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 konnten weder bei den Mittelamerikanern noch bei den Nordeuropäern Hinweise gefunden werden, die mit einem möglichen Risiko für das Auftreten der Erkrankung einhergehen.

Auch in Bezug auf den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus konnten keine Hinweise auf mögliche Risiken gefunden werden.

Ebenso verhielt es sich bei den Nordeuropäern in Hinblick auf den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3. Auch hier konnten keine Hinweise auf mögliche Risiken gefunden werden.

¹„Risiko“ richtig beschrieben durch „Odds ratio“

6. Diskussion

Parodontitis ist die häufigste Ursache für Zahnverlust im Erwachsenenalter (Papapanou 1996). Es handelt sich hierbei um eine destruktive entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, die durch Abbau des Bindegewebes und des Alveolarknochens zu einem irreversiblen Attachmentverlust führt. In verschiedenen Arbeitsgruppen konnten die mikrobiellen Ursachen der Parodontitis nachgewiesen werden (Socransky & Haffajee 1992); (Socransky & Haffajee 1997); (Loe *et al.*, 1965). Von den über 500 verschiedenen Bakterienspezies der menschlichen Mundhöhle (Moore & Moore 1994) initiiert eine kleine Gruppe von Erregern in der Plaque die Parodontitis (Haffajee & Socransky 1994); (Listgarten 1994). Von dieser Gruppe wurden drei Mikroorganismen auf dem World Workshop on Clinical Periodontics 1996 als parodontale Pathogene anerkannt. Es handelt sich dabei um *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Tannerella forsythia* (Page & Kornman 1997).

Es ist daher davon auszugehen, dass das Vorhandensein der parodontalen Pathogene in der subgingivalen Plaque eine der wichtigsten Voraussetzungen für die Initiation der Parodontitis ist. Jedoch verursachen die Bakterien nicht direkt die Gewebedestruktion, sondern indirekt, durch Aktivierung von Entzündungsmechanismen. Folglich ist die Beseitigung der mikrobiellen Plaque durch optimale Mundhygiene von größter Bedeutung für die Prävention von Gingivitis und Parodontitis (Kornman 1986, Listgarten 1988, Loe *et al.*, 1965).

Die Beurteilung der Mundhygiene erfolgte mit Hilfe des Plaqueindex und Papillenblutungsindex, wobei der Plaqueindex über den Plaquebefall der Zähne und somit über die Mundhygienesituation lediglich zum Zeitpunkt der Untersuchung Auskunft gibt. Wie in Kapitel 5.11.2 gezeigt, war ein deutlicher Unterschied zwischen gesunden Probanden und Patienten bei den Mittelamerikanern erkennbar. Auch bei den Nordeuropäern zeigte sich bezüglich des Plaqueindex ein Unterschied zwischen gesunden Probanden und Patienten. Um Rückschlüsse auf die längerfristigen Mundhygienegewohnheiten ziehen zu können, ist der Papillenblutungsindex ein adäquates Mittel, da er den Entzündungsgrad der Gingiva als Folge der Plaqueakkumulation repräsentiert und somit keinen schnellen Veränderungen unterworfen ist. Hier konnte sowohl bei den Mittelamerikanern als

auch bei den Nordeuropäern ein deutlicher Unterschied zwischen Patienten und gesunden Probanden gezeigt werden (siehe 5.11.3).

Obwohl die Ansammlung spezifischer Bakterien die Parodontitis initiiert (Haffajee und Socransky, 1994), unterscheidet sich die bakterielle Flora in der Plaque der Personen mit Parodontitis nicht wesentlich von der bei Personen mit Gingivitis oder von der parodontal gesunder Personen (Gmur & Guggenheim 1994, McNabb *et al.*, 1992). Zudem liefern Menge und Spezies der in der subgingivalen Plaque vorliegenden Bakterien alleine keine hinreichende Erklärung für die unterschiedliche Schwere der Erkrankung (Kornman *et al.*, 1994). So gibt es Personen, die an einer leichten Form der Parodontitis erkrankt sind, welche über Jahre besteht und trotzdem nicht zu weiterem Attachmentverlust führt. Im Gegensatz dazu gibt es andere Patienten, bei denen eine schwere Form der Parodontitis beobachtet wird, die trotz intensiver Therapie mit ungehindertem Attachmentverlust und in der Folge mit Zahnverlust einhergeht (Seymour 1987).

Die Variabilität in der Anfälligkeit, aus einer Gingivitis eine Parodontitis zu entwickeln, lässt sich nicht allein aus der Präsenz der parodontal pathogenen Keime im subgingivalen Biofilm erklären, sondern muss durch weitere Faktoren beeinflusst sein. Dies zeigten bereits Papapanou *et al.* (1997) in ihrer Untersuchung in einem ländlichen Gebiet Chinas. 90 – 95% der dort lebenden Erwachsenen wiesen die parodontalen Pathogene *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Tannerella forsythia* in der subgingivalen Plaque auf. Trotzdem waren überraschenderweise Parodontitisprävalenz und Schweregrad der Parodontitis bei den Personen in diesem Gebiet nicht höher als in der Bevölkerung von Industriestaaten mit hoch entwickelter zahnärztlicher Versorgung. Weitere Studien kommen zu ähnlichen Schlussfolgerungen. In einer experimentellen Studie an Beagle-Hunden konnte gezeigt werden, dass bei der überwiegenden Zahl der Tiere aus einer chronischen Gingivitis eine Parodontitis hervorgeht, wohingegen bei knapp 25%, trotz permanenter bakterieller Infektion und daraus folgender chronischer Gingivitis, kein Attachmentverlust entstand (Lindhe *et al.*, 1975). Loe *et al.* machten 1986 ähnliche Beobachtungen bei Arbeitern einer Teeplantage auf Sri Lanka. Bei 8% der Arbeiter zeigte sich eine schwere Parodontitis, wohingegen 11% von ihnen, trotz bestehender chronischer Gingivitis, aufgrund massiver Plaqueablagerungen keine Parodontitis zeigten.

Obwohl die klinischen Symptome bei Parodontitispatienten sehr ähnlich sind, gibt es große Unterschiede bezüglich der Schwere und Progression der Erkrankung (Johnson *et al.*, 1988). Dies führt zu der Annahme, dass Wirtsfaktoren für Initiation und Progression eine wichtige Rolle spielen. Spezifische Bakterien aktivieren die Wirtantwort indem sie eine lokale Entzündungsreaktion induzieren (Genco und Slots, 1984). Daher wird dem Immunsystem eine besondere Bedeutung als Regulator der Balance zwischen parodontaler Gesund- und Krankheit zugesprochen. Es könnte vererbte Faktoren geben, die eine uneffektive oder hyperaktive Immunantwort auslösen und so die Anfälligkeit gegenüber oralen Pathogenen erhöhen.

In den letzten Jahren gibt es zunehmend Studien, die einen Einfluss genetischer Faktoren bei der Pathogenese der Parodontitis zeigen (Hart & Kornman 1997, Hodge & Michalowicz 2001). In verschiedenen Zwillingsstudien konnte deren Einfluss auf die Pathogenese und die Vielfalt der klinischen Symptome nachgewiesen werden (Corey *et al.*, 1993, Michalowicz *et al.*, 1991b, Michalowicz *et al.*, 1991a, Michalowicz *et al.*, 2000). Es konnte gezeigt werden, dass annähernd die Hälfte der Variabilität der chronische Parodontitis (CP) einer Population auf Vererbung zurückzuführen ist (Michalowicz *et al.*, 2000). Auch bei der aggressiven Parodontitis (AP) wird eine erblich bedingte Anfälligkeit angenommen (Marazita *et al.*, 1994). Es wurde in Studien eine familiäre Häufung der AP gezeigt (Page *et al.*, 1984). Besonderes Augenmerk wird bei der Erforschung der genetischen Beeinflussung der Parodontitis auf die Identifikation von Genpolymorphismen gelegt, die Proteine verschlüsseln, welche eine Rolle in der Parodontitispathogenese spielen. Ein deutlich gehäuftes Auftreten eines solchen Polymorphismus in der Patientengruppe ist ein Hinweis darauf, dass durch dieses Gen die Anfälligkeit eines Individuums beeinflusst werden könnte. Nach Identifikation derartiger Veränderungen auf Proteinebene (phänotypische Veränderungen) und Nachweis von deren Bedeutung *in vitro* und *in vivo*, ergeben sich daraus neue Erkenntnisse über die Pathogenese. Vorrangig kann die Erfassung von Polymorphismen dazu dienen, Personen mit einem erhöhten Krankheitsrisiko zu erkennen (Hodge & Michalowicz 2001, Sofaer 1990). Neben der klassischen Art der Parodontisdiagnostik (klinische und radiologische Parameter), könnten mittels genetischer Untersuchungen möglicherweise Voraussagen über die zukünftige Entwicklung von Erkrankungen getroffen und genetische Marker als Hilfsmittel für die Prävention genutzt werden (Van Dyke & Tohme 2000).

IL-4 spielt eine wichtige Rolle in der Parodontitispathogenese (Chomarat *et al.*, 1998, Corcoran *et al.*, 1992, Gibbons *et al.*, 1990, Hart *et al.*, 1989, Lacraz *et al.*, 1992, te Velde *et al.*, 1990, Zurawski & de Vries 1994). Es inhibiert die Makrophagenfunktion wirksam (Shapira *et al.*, 1992) und vermindert die Produktion von PGE2 und anderen Zytokinen (Te Velde *et al.*, 1990; Corcoran *et al.*, 1992). Dieser Vorgang wird als negative Regulation der Makrophagenaktivierung bezeichnet (Immunologie, 3. Auflage, 1995, Thieme). Zudem kann IL-4 den CD14-Rezeptorbesatz von Zellen vermindern (Lauener *et al.*, 1990) und eine Apoptose bei Monozyten induzieren (Mangan *et al.*, 1992).

Dieses führte zur Hypothese von Shapira *et al.*, dass durch die Abwesenheit von IL-4 und damit fehlender Herabregulierung der Monozyten möglicherweise die Entstehung der Parodontitis begünstigt wird (Shapira *et al.*, 1992).

Bisher fanden Kawashima *et al.*, (1998) bei ihren Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen dem T-Allel des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus (Walley & Cookson 1996) und einer erhöhten Prädisposition für atopische Dermatitis, was sie auf eine durch den Polymorphismus bedingte Veränderung der Promotor- und Transkriptionsaktivität des IL-4 Gens zurückführen.

Weiterhin konnte der IL-4 C(-590)-T Polymorphismus mit entzündlichen Darmerkrankungen, wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa (Klein *et al.*, 2001), in Zusammenhang gebracht werden.

Ein weiterer Polymorphismus des IL-4, der IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 (Mout *et al.*, 1991), wurde von Vandenbroeck *et al.*, (1997) mit Multipler Sklerose in Verbindung gebracht.

In letzter Zeit wurden diese zwei Polymorphismen des IL-4 Gens bei Patienten mit Parodontitis nachgewiesen (Michel *et al.*, 2001). In Hinblick auf Patienten mit AP lässt die Untersuchung von Michel *et al.* (2001) einen Zusammenhang vermuten. Es wurden die IL-4 Genotypen von 21 parodontal gesunde Probanden einer Kontrollgruppe, 17 Patienten mit AP und 23 Patienten mit CP mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion untersucht. In der Studie wurde festgestellt, dass der Genotyp T/T des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus, wie auch der Genotyp B1/B1 des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2, ausschließlich in der Patientengruppe mit AP auftrat. Die Ergebnisse dieser Studie weisen auf eine mögliche Beeinflussung der Parodontitispathogenese durch die IL-4 Genotypen hin, da die genannten

Genotypen ausschließlich bei Patienten und nicht bei parodontal gesunden Probanden auftraten (Michel *et al.*, 2001).

Im Anschluss an die Studie haben Michel *et al.* (2001) bei gesunden Probanden und bei AP-Patienten die IL-4 Konzentration mittels ELISA im Serum bestimmt. Die IL-4 Konzentration im Serum lag bei den AP-Patienten die eine Homozygotie für das T-Allel des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus (Genotyp T/T) und eine Homozygotie des B1-Allels des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 (Genotyp B1/B1) zeigten, unterhalb der Nachweisgrenze und unterschieden sich von den IL-4 Konzentrationen der AP-Patienten mit den anderen Genotypen [homozygot für das C-Allel des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus (Genotyp C/C) und homozygot für das B2-Allel des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 (Genotyp B2/B2)] und der Kontrollgruppe. Auch andere Untersuchungen beobachteten einen lokal reaktiven IL-4 Mangel bei Parodontitispatienten (Bottomly *et al.*, 1989, Fujihashi *et al.*, 1993, Giannopoulou *et al.*, 2003, Prabhu *et al.*, 1996, Salvi *et al.*, 1998, Tokoro *et al.*, 1996, Yamamoto *et al.*, 1997). Ein lokal reaktiver IL-4 Mangel könnte die parodontale Destruktion begünstigen (Shapira *et al.*, 1992).

In letzter Zeit gewonnene Daten lassen vermuten, dass Unterschiede bei Patienten mit AP vorliegen. Es bestehen signifikante Unterschiede bzgl. der Verteilung von IL-1 Genotypen zwischen kaukasischen und afrikanischen Amerikanern (Walker *et al.*, 2000), Kaukasiern und Japanern (Tai *et al.*, 2002) und bzgl. der FcγRIIIa-Genotypen und Haplotypen innerhalb des IL-10 Promotors zwischen Kaukasiern und Japanern (Turner *et al.*, 1997; Sugita *et al.*, 1999; Meisel *et al.*, 2001; Yamazaki *et al.*, 2001). Bis heute sind die meisten Studien an kaukasischen und japanischen Populationen durchgeführt worden. Es wird vermutet, dass das Vorkommen von Parodontitis bei hispanischen Personen höher ist als in anderen Populationen; allerdings existieren bis heute wenige Berichte über diese Erkrankung in dieser Population (Tinoco *et al.*, 1997; Lopez *et al.*, 1991; Albandar *et al.*, 1991). Cappelli *et al.* (1994) zeigten in ihrer Studie an Heranwachsenden (12-17 Jahre), dass 25,7% der hispanischen Amerikaner eine AP aufwiesen, wohingegen das Auftreten der AP bei kaukasischen Jugendlichen mit 0,2% und bei schwarzen Jugendlichen mit 2,6% angegeben wird (Tonetti und Mombelli, 1999).

In Bezug auf die Studie von Michel *et al.* (2001), die ausschließlich Europäer testeten, wurden in der vorliegenden Studie auch gesunde Probanden und Patienten

mit AP aus Mittelamerika mittels Polymerasekettenreaktion untersucht. Da für die Erhebung der Daten und die Probenentnahmen aufgrund der Herkunft der Population (Mittelamerika) nur eine Woche zur Verfügung stand, konnte nur von einer begrenzten Anzahl von Personen Proben entnommen und klinische Daten erhoben werden. Allerdings haben auch andere Autoren kleine Fallzahlen untersucht (Kornman *et al.*, 1997; Gonzales *et al.*, 2003, 2004).

Die Kontrollgruppe umfasste 14 gesunde Probanden, die Patientengruppe 16 Personen mit AP. Zudem wurden Personen aus Nordeuropa (33 gesunde Probanden und 34 an AP erkrankte Patienten) getestet. Diese Personen wurden zusätzlich auf den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 (Mout *et al.*, 1991) untersucht. Dies ist, nach meinen Erkenntnissen, die erste Studie, die den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 bei Parodontitispatienten untersucht. Für die vorliegende Studie wurde auf eine Einteilung der untersuchten Gruppen in Raucher und Nichtraucher aufgrund der niedrigen Fallzahlen verzichtet, obwohl das Rauchen einen wichtigen Einflussfaktor auf die Parodontitis darstellt (Haber 1994, Hyman & Reid 2003, Schenkein *et al.*, 1995). Jedoch wurden Raucher, die angaben mehr als 10 Zigaretten pro Tag zu rauchen, ausgeschlossen (siehe 4.5).

In der vorliegenden Studie konnten die untersuchten Polymorphismen erstmals auch bei Individuen aus Mittelamerika identifiziert werden. Dies ist eine wichtige Ausgangsbasis für weitere Untersuchungen. Zudem konnte bei Nordeuropäern erstmals der IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 nachgewiesen werden. Auch dies stellt eine wichtige Ausgangsbasis für weitere Studien dar.

Michel *et al.* (2001) fanden den Genotypen T/T des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus nur bei den AP-Patienten. In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch kein Hinweis auf einen Unterschied zwischen den Untersuchungsgruppen bezüglich des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus gefunden werden (Mittelamerikaner: $p = 1,0$; Nordeuropäer: $p > 0,05$). Dies liegt möglicherweise daran, dass die Fallzahl bei Michel *et al.* (2001) nur halb so groß war und dieser Genotypen generell seltener vorkommt. Überraschenderweise wurden weder in der Patientengruppe noch in der gesunden Probandengruppe der Mittelamerikaner Personen identifiziert, die homozygot C/C für den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus waren. Dies kann sowohl durch das kleine Datenkollektiv als auch durch die lateinamerikanische Abstammung begründet sein. Bei diesen Personen stehen allerdings auch weder die gesunden Probanden- noch die

an AP erkrankten Patientengruppe im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Dies kann durch Fehler bei der Genotypisierung, genetische Abweichung, unterschiedliche Übertragung bestimmter Genabschnitte von Population zu Population, nicht repräsentative Stichproben oder Kombinationen dieser Dinge begründet sein (Trikalinos *et al.*, 2006). Im vorliegenden Fall liegt der Grund vermutlich in den zu kleinen Kollektiven.

Um dies abschließend zu klären, sollten weitere Untersuchungen mit größeren Kollektiven dieser Population folgen.

In Hinblick auf den IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 konnte kein Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen festgestellt werden (Mittelamerikaner: $p > 0,05$; Nordeuropäer: $p > 0,05$). Allerdings zeigte sich mit $p = 0,084$ bei den Nordeuropäern eine Tendenz für einen Unterschied aufgrund der geringen Häufigkeit des Genotypen B1/B1 bei den Probanden. Der Genotyp B1/B1 scheint in der an AP erkrankten Patientengruppe häufiger vorzukommen. Dies wird durch die Ergebnissen von Michel *et al.* (2001), die diesen Genotypen bei den gesunden Probanden nicht nachweisen konnten, gestützt. Um diese Tendenz zu verifizieren, sollten größere Kollektive untersucht werden. Allerdings scheint dieser Genotyp bei den Nordeuropäern generell selten vorzukommen. Bei der an AP erkrankten Patientengruppe wiesen 5, bei den gesunden Probanden einer diesen Genotyp auf. Zudem sollten diese Ergebnisse mit den Ergebnissen von größeren Kollektiven anderer Ethnizitäten verglichen werden, um festzustellen, ob der Genotyp des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 von der Ethnizität beeinflusst wird.

Bei Betrachtung beider Genotypen zusammen (IL-4 C(-590)-T und IL-4 70bp Repeat) lässt sich kein Unterschied zwischen den gesunden Probanden und den AP-Patienten feststellen (Mittelamerikaner: $p > 0,05$; Nordeuropäer: $p > 0,05$). Auffallend jedoch ist bei den Mittelamerikanern, dass die Homozygotie des B1-Allels des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 (Genotyp B1/B1) immer zusammen mit der Homozygotie des T-Allels des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus (Genotyp T/T) vorkommt. Dies entspricht den Ergebnissen von Michel *et al.* (2001), bestätigte sich bei den Nordeuropäern jedoch nicht. Die Heterozygoten beider Genotypen scheinen sowohl bei den Mittelamerikanern, als auch bei den Nordeuropäern gehäuft zusammen vorzukommen. Dies deutet auf einen möglichen

Zusammenhang zwischen dem IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und dem IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 hin. Eine eindeutige Tendenz zeigt sich bei dem von uns untersuchten Datenpool jedoch nicht.

In Hinblick auf den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen festgestellt werden. Hier fällt auf, dass der Genotyp A3/A3 nur in der Gruppe der an AP erkrankten Patienten vorkommt, was auf eine mögliche Beeinflussung der Parodontitispathogenese durch den Genotypen des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 hinweisen könnte. Bei der Betrachtung eines möglichen Zusammenhangs zwischen dem Genotyp und dem Auftreten der Erkrankung konnte jedoch kein Hinweis auf ein mögliches Erkrankungsrisiko diesen Genotypen betreffend festgestellt werden. Dies liegt unter Umständen an der Größe des Datenkollektivs, das, aufgrund der großen Anzahl an Ausprägungskombinationen des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3, zu klein ist, um Signifikanzen berechnen zu können.

Bei der Betrachtung der Genotypen zusammen (IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 + IL-4 C(-590)-T Polymorphismus; IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 + IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2) konnten bei beiden Populationen keine Hinweise, die mit einem möglichen Erkrankungsrisiko einhergehen, gefunden werden.

Durch die Untersuchungen dieser Arbeitsgruppe ergaben sich erstmals Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang zwischen dem A3/A3 Genotyp und der aggressiven Parodontitis. Nach meinen Erkenntnissen gibt es bisher keine weiteren Studien, die den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 in Hinblick auf Parodontitis untersucht haben. Dies ist eine wichtige Ausgangsbasis für weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen, die eine eindeutige Berechnung von Signifikanzen zulassen.

In der vorliegenden Untersuchung wurden die klinischen Parameter „Sondierungstiefe“, „Sondierungsblutung“ und „klinischer Attachmentlevel“, von allen beteiligten Patienten und gesunden Probanden erfasst und ausgewertet.

Die Sondierungsblutung gilt als wichtiger diagnostischer Parameter für die Krankheitsprogression, wobei das Fehlen der Sondierungsblutung parodontale Stabilität und häufiges Bluten auf Sondierung ein signifikant erhöhtes Risiko für das

Fortschreiten der Parodontitis repräsentiert (Armitage, 1996, Claffey, 1991, Haffajee *et al.*, 1991).

Es konnte bei der Untersuchung von 320 Parodontitispatienten beobachtet werden, dass die Individuen die einen spezifischen Genotypen des IL-1 Gens trugen, eine signifikant höhere Sondierungsblutung aufwiesen als Personen die diesen IL-1 Genotypen nicht trugen (Lang *et al.*, 2000).

Daher wurde in der vorliegenden Studie zusätzlich ein möglicher Einfluss der untersuchten IL-4 Genotypen auf die klinischen Parameter Sondierungstiefe, Sondierungsblutung und klinischer Attachmentlevel untersucht. Die Auswertung ließ keinen Zusammenhang zwischen den Genotypen der Patientengruppen und den klinischen Parametern in diesen Datenkollektiven erkennen. Dieses war aufgrund des fehlenden Zusammenhangs von dem Auftreten der AP und den untersuchten Polymorphismen zu erwarten.

Insgesamt betrachtet zeigen die vorliegenden Ergebnisse, anders als bei der Untersuchung von Michel *et al.* (2001) keinen Zusammenhang zwischen dem IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 bzw. dem IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und dem Auftreten der AP. Es zeigt sich lediglich bei den Nordeuropäern eine leichte Tendenz, dass der Genotyp B1/B1 bei den Patienten häufiger auftritt als bei den Patienten. Auffällig ist jedoch, dass bei den Proben aus Mittelamerika weder bei den Patienten noch bei den gesunden Probanden eine Homozygotie des C-Allels des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus gefunden wurde. In Bezug auf den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 fällt auf, dass der Genotyp A3/A3 nur bei den an AP erkrankten Patienten auftrat. Ansonsten fand sich bei keinem der untersuchten Bereiche ein Hinweis auf einen Unterschied zwischen gesunden Probanden und Patienten.

Neuere Publikationen zeigen allerdings Unterschiede zwischen gesunden Probanden und an AP erkrankten Patienten aus Nordeuropa in Bezug auf den IL-4 C(-590)-T Polymorphismus. Die Studie von Gonzales *et al.*, 2007, zeigt ein gehäuftes Vorkommen von Homozygotie des T-Allels (Genotyp T/T) an der an AP erkrankten Patientengruppe. In dieser Studie wurden 58 an AP erkrankte Patienten und 51 Personen einer Kontrollgruppe untersucht.

Trotz Erhöhung der Gruppengröße in Hinblick auf die Studie von Michel *et al.*, 2002, scheint die untersuchte Fallzahl in der vorliegenden Studie nicht ausreichend

zu sein, um eindeutige Aussagen zu treffen. Die Probeentnahme bei den Mittelamerikanern war aus verschiedenen Gründen eingeschränkt. Das Design war daher so konzipiert, dass die Populationen zunächst auf Unterschiede untersucht werden sollten. Zudem wurde im Folgenden zusätzlich der IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 untersucht und dieser bei Nordeuropäern erfolgreich nachgewiesen. Der eindeutige Nachweis von Unterschieden gelang bei den vorliegenden Kollektivgrößen jedoch bei keiner der gestellten Fragen. Diesbezüglich zeigt sich, auch in Hinblick auf die Ergebnisse von Gonzales *et al.*, 2007, dass größere Kollektive von mindestens 50 Personen untersucht werden müssen, da sich in der vorliegenden Studie lediglich Tendenzen ausmachen lassen.

Ob die unterschiedlichen Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung der Mittelamerikaner in Bezug auf die Untersuchung von Michel *et al.* (2001) auf den kleinen Datenpool der Untersuchung zurückzuführen sind oder ob die Verteilung der IL-4 Genotypen von der Ethnizität der untersuchten Personen beeinflusst wird, kann zu diesem Zeitpunkt nicht geklärt werden. Auch die Frage, ob es einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Genotypen B1/B1 des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und dem Auftreten der AP gibt, wie man es bei den Nordeuropäern vermuten kann, kann hier nicht abschließend geklärt werden. Ebenso verhält es sich mit der Frage nach einem möglichen Zusammenhang des A3/A3 Genotypen des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 mit dem Auftreten der AP. Untersuchungen mit größeren Kollektiven beider Populationen sind für die Klärung dieser Fragen unbedingt notwendig. Hier sollten Kollektivgrößen von über 50, besser über 100 Personen untersucht werden.

Die vorgelegten Daten sind eine wichtige Basis für weitere Studien, da der IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 erstmals bei Nordeuropäern identifiziert wurde. Ebenso wurden der IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und der IL-4 C(-590)-T Polymorphismus erstmals auch bei Individuen aus Mittelamerika identifiziert. Dies ist daher von besonderer Bedeutung, da die Prävalenz der aggressiven Parodontitis in Mittelamerika höher ist als in Mitteleuropa (Tinoco *et al.*, 1997; Lopez *et al.*, 1991; Albandar *et al.*, 1991).

Da es sich bei der Untersuchung um eine Pilotstudie handelt, müssen sich andere Untersuchungen mit größeren Datenkollektiven anschließen.

7. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, drei verschiedene Polymorphismen des Interleukin 4 Gens zu identifizieren und deren Einfluss auf die aggressive Parodontitis (AP) mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR) zu untersuchen. Dabei sollten zum einen die Ergebnisse von Michel *et al.* (2001) anhand einer größeren Population von Nordeuropäern verifiziert und ein weiterer Polymorphismus (IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron3) und dessen Verteilung auf die untersuchten Gruppen betrachtet werden. Zudem sollten der IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 sowie der IL-4 C(-590)-T Polymorphismus auch bei mittelamerikanischen Personen identifiziert werden. Des Weiteren sollte festgestellt werden, ob sich hinsichtlich der Verteilung dieser beiden Polymorphismen auf die zu untersuchenden mittelamerikanischen Gruppen statistisch signifikante Unterschiede ergeben, wie es die Ergebnisse von Michel *et al.* (2001) in ihrer Studie mit Europäern vermuten lassen. Dabei war auch die Frage zu klären, inwieweit die Verteilung der IL-4 Genotypen auf die Untersuchungsgruppen von der Ethnizität der untersuchten AP-Patienten und gesunden Probanden beeinflusst wird. Bei den Mittelamerikanern setzte sich die Gruppe 1 aus 14 parodontal gesunden Probanden mit einem medianen Alter von 23 Jahren zusammen. Die zweite Gruppe bestand aus 16 AP-Patienten mit einem medianen Alter von 30,5 Jahren. Bei den Nordeuropäern bestand die Gruppe 1 aus 33 gesunden Probanden mit einem medianen Alter von 25 Jahren. Die Gruppe 2 setzte sich hier aus 34 an AP erkrankten Patienten mit einem medianen Alter von 31 Jahren zusammen.

In der vorliegenden Studie konnten die untersuchten Allele des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus und des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 erstmals auch bei Individuen aus Mittelamerika identifiziert werden. Bei den Nordeuropäern konnten die Allele des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 erstmals nachgewiesen werden. Dies ist eine wichtige Ausgangsbasis für weitere Studien.

Die Ergebnisse zeigen, im Gegensatz zu der Studie von Michel *et al.* (2001) keinen Hinweis auf einen Unterschied zwischen den Untersuchungsgruppen bezüglich des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus. Überraschenderweise trat weder in der Patientengruppe noch in der gesunden Probandengruppe der Mittelamerikaner eine

Homozygotie des C-Allels (Genotyp C,C) des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus auf. Allerdings standen diese Gruppen nicht im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Auch bei dem IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 ergab sich kein Hinweis auf einen Unterschied zwischen den Untersuchungsgruppen. Bei Betrachtung dieser beiden Genotypen zusammen lässt sich kein Unterschied zwischen den gesunden Probanden und den AP-Patienten feststellen. Auffallend ist jedoch bei den Mittelamerikanern, dass die Homozygotie des T-Allels des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus (Genotype T/T) immer zusammen mit der Homozygotie des B1-Allels des IL-4 70bp Repeat Polymorphismus in Intron 2 (Genotyp B1/B1) vorkommt. Dies entspricht den Ergebnissen von Michel *et al.* (2001). Allerdings bestätigt sich dies in der vorliegenden Studie bei den Nordeuropäern nicht. Den IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 betreffend konnte ebenfalls kein Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen festgestellt werden. Hier fällt auf, dass der Genotyp A3/A3 nur in der Gruppe der an AP erkrankten Patienten vorkommt. Es konnte allerdings kein Hinweis auf einen möglichen Zusammenhang mit dem Erkrankungsrisiko gefunden werden. Auch die Betrachtung mit den Genotypen der zuvor untersuchten Polymorphismen zusammen zeigte keinen Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen. Der heterozygoten Genotypen der untersuchten Polymorphismen scheinen in beiden Populationen in den untersuchten Kombinationen gehäuft miteinander vorzukommen. Dies deutet auf einen möglichen Link zwischen den untersuchten Polymorphismen hin. Eine eindeutige Tendenz zeigt sich bei unserem Datenpool jedoch nicht.

Da es sich um eine Pilotstudie mit kleinen Kollektiven handelt, müssen sich, um gesicherte Antworten auf die gestellten Fragen zu erhalten, noch andere Untersuchungen mit größeren Datenkollektiven anschließen. Auch ein möglicher Zusammenhang mit anderen Parodontitisformen sollte in weiteren Studien geklärt werden.

Die vorgelegten Daten sind eine wichtige Basis für weitere Studien, da die untersuchten Allele des IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 erstmals bei Nordeuropäern und die untersuchten Allele des IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 und des IL-4 C(-590)-T Polymorphismus erstmals auch bei Individuen aus Mittelamerika identifiziert wurden und die Prävalenz der Parodontitis in Mittelamerika höher zu sein scheint als in Mitteleuropa.

8. Summary

The objective of this study was to identify three polymorphisms of the Interleukin 4 gene and to investigate their influence on the aggressive periodontitis by means of the polymerase-chain-reaction (PCR). The assumption suggested by Michel *et al.* (2001) in a study in a European population should be assessed, a further polymorphism identified and its distribution considered. Additionally, the IL-4 C (-590)-T polymorphism and the IL-4 70bp repeat-polymorphism in intron 2 should be detected in a Central American population. Furthermore, it should be discovered if the distribution of these both polymorphisms also differs in the Central American populations, as Michel *et al.* suggested in their study in Europeans. Finally, the influence of the origin of the AP-patients and healthy volunteers on the distribution of IL-4 genotypes was examined in the tested populations as well.

The Central American group 1 consisted of 14 periodontal healthy probands with a median age of 23 years. Group 2 was composed of 16 AP-patients with a median age of 30,5 years.

The European group 1 consisted of 33 periodontal healthy probands with a median age of 25 years. Group 2 was composed of 34 AP-patients with a median age of 31 years.

In the present study the investigated alleles of the IL-4 C (-590)-T polymorphism and of the IL-4 70bp repeat-polymorphism in intron 2 were identified in individuals from Central America for the first time. The investigated alleles of the IL-4 GT dinucleotid repeat-polymorphism in intron 3 were identified in European individuals for the first time. These findings are a basis for broader studies.

The findings show no evidence for a different distribution of the IL-4 C(-590)-T polymorphism in the examined populations, which is contrary to the survey of Michel *et al.* (2001). Surprisingly, the genetically homozygous C-allele (genotype C/C) was neither found in the group of patients nor in healthy probands of the Central Americans, however the distribution of the IL-4 C(-590)-T genotypes differed from the Hardy-Weinberg equilibrium. Similar results were obtained from the IL-4 70bp repeat-polymorphism in intron 2 where no differences between patients and healthy probands ($p=0,41$) could be observed when both genotypes were

compared solitarily and aligned.

Interestingly, in the Central American population homozygous T-alleles of the IL-4 C(-590)-T polymorphism always coincide with homozygous B1-alleles of the IL-4 70bp repeat-polymorphism in intron 2, according to Michel *et al.* (2001). This could not be confirmed in the European population of this study. With regard to the IL-4 GT dinucleotid repeat-polymorphism in intron 3 there was no difference shown between the investigated groups but strikingly, the genotype A3/A3 only exists in the group of AP-patients. An increased risk for AP could not be observed and no differences were observed for combined genotypes. The heterozygous genotypes of the investigated polymorphisms accumulate in both populations. This points to a possible linkage between the investigated polymorphisms, but there is no definite evidence due to the data obtained.

Since this study was a pilot study with a small population, further investigation in larger populations are necessary for more precise answers. A possible correlation with other types of periodontitis should be investigated in additional studies as well.

The data obtained are an important basis for complementary research:

1. the investigated alleles of the IL-4 GT dinucleotid repeat-polymorphism in intron 3 were detected for the first time in a European population;
2. the investigated alleles of the IL-4 C (-590)-T polymorphism and the IL-4 70bp repeat-polymorphism in intron 2 were detected for the first time in a population from Central America;
3. there seems to be an increased prevalence of periodontitis in Central American populations compared to populations from Central Europe.

9. Literaturverzeichnis

- Albandar, J.M., Buischi, Y.A., & Barbosa, M.F. (1991) Destructive forms of periodontal disease in adolescents. A 3-year longitudinal study. *J Periodontol* **62**, 370-376.
- Albandar, J.M., DeNardin, A.M., Adesanya, M.R., Winn, D.M., & Diehl, S.R. (2002) Associations of serum concentrations of IgG, IgA, IgM and interleukin-1beta with early-onset periodontitis classification and race. *J Clin Periodontol* **29**, 421-426.
- Almas, K., Bulman, J.S., & Newman, H.N. (1991) Assessment of periodontal status with CPITN and conventional periodontal indices. *J Clin Periodontol* **18**, 654-659.
- Armitage, G.C. (1996) Periodontal diseases: diagnosis. *Ann Periodontol* **1**, 37-215.
- Armitage, G.C. (1999) Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* **4**, 1-6.
- Balkwill, F.R. & Burke, F. (1989) The cytokine network. *Immunol Today* **9**, 299-304.
- Birkedal-Hansen, H. (1993) Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res* **28**, 500-510.
- Bonfil, J.J., Dillier, F.L., Mercier, P., Reviron, D., Foti, B., Sambuc, R., Brodeur, J.M., & Sedarat, C. (1999) A "case control" study on the role of HLA DR4 in severe periodontitis and rapidly progressive periodontitis. Identification of types and subtypes using molecular biology (PCR.SSO). *J Clin Periodontol* **26**, 77-84.
- Borish, L., Mascali, J.J., Klinnert, M., Leppert, M., & Rosenwasser, L.J. (1995) SSC polymorphisms in interleukin genes. *Hum Mol Genet* **4**, 974-
- Bottomly, K., Luqman, M., Greenbaum, L., Carding, S., West, J., Pasqualini, T., & Murphy, D.B. (1989) A monoclonal antibody to murine CD45R distinguishes CD4 T cell populations that produce different cytokines. *Eur J Immunol* **19**, 617-623.
- Brown, M.A. & Hural, J. (1997) Functions of IL-4 and control of its expression. *Crit Rev Immunol* **17**, 1-32.
- Cappelli, D.P., Ebersole, J.L., & Kornman, K.S. (1994) Early-onset periodontitis in Hispanic-American adolescents associated with *A. actinomycetemcomitans*. *Community Dent Oral Epidemiol* **22**, 116-121.
- Carswell, E.A., Old, L.J., Kassel, R.L., Green, S., Fiore, N., & Williamson, B. (1975) An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **72**, 3666-3670.
- Chomarat, P., Rybak, M.E., & Banchereau, J. (1998) Interleukin-4. **3rd**,

- Chou, H.T., Tsai, C.H., Chen, W.C., & Tsai, F.J. (2005) Lack of association of genetic polymorphisms in the interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4, and interleukin-10 genes with risk of rheumatic heart disease in Taiwan Chinese. *Int Heart J* **46**, 397-406.
- Ciancio, S.G., Hazen, S.P., & Cunat, J.J. (1969) Periodontal observations in twins. *J Periodontal Res* **4**, 42-45.
- Claffey, N. (1991) Decision making in periodontal therapy. The re-evaluation. *J Clin Periodontol* **18**, 384-389.
- Coffman, R.L., Chatelain, R., Leal, L.M., & Varkila, K. (1991) Leishmania major infection in mice: a model system for the study of CD4+ T-cell subset differentiation. *Res Immunol* **142**, 36-40.
- Corcoran, M.L., Stetler-Stevenson, W.G., Brown, P.D., & Wahl, L.M. (1992) Interleukin 4 inhibition of prostaglandin E2 synthesis blocks interstitial collagenase and 92-kDa type IV collagenase/gelatinase production by human monocytes. *J Biol Chem* **267**, 515-519.
- Corey, L.A., Nance, W.E., Hofstede, P., & Schenkein, H.A. (1993) Self-reported periodontal disease in a Virginia twin population. *J Periodontol* **64**, 1205-1208.
- Craig, R.G., Boylan, R., Yip, J., Bangboye, P., Koutsoukos, J., Mijares, D., Ferrer, J., Imam, M., Socransky, S.S., & Haffajee, A.D. (2001) Prevalence and risk indicators for destructive periodontal diseases in 3 urban American minority populations. *J Clin Periodontol* **28**, 524-535.
- Darveau, R.P., Tanner, A., & Page, R.C. (1997) The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000* **14**, 12-32.
- Dayer, J.M., Beutler, B., & Cerami, A. (1985) Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J Exp Med* **162**, 2163-2168.
- Deasy, M.J., Vogel, R.I., Macedo-Sobrinho, B., Gertzman, G., & Simon, B. (1980) Familial benign chronic neutropenia associated with periodontal disease. A case report. *J Periodontol* **51**, 206-210.
- Derkx, H.H.F., Bruin, K.F., & Jongeneel, C.V. (1995) Familial differences in endotoxin-induced TNF release in whole blood and peripheral blood mononuclear cells in vitro: relationship to TNF gene polymorphism. *J Endotox Res* **2**, 19-25.
- Diehl, S.R., Wang, Y., Brooks, C.N., Burmeister, J.A., Califano, J.V., Wang, S., & Schenkein, H.A. (1999) Linkage disequilibrium of interleukin-1 genetic polymorphisms with early-onset periodontitis. *J Periodontol* **70**, 418-430.
- Duff, G.W. (1994) Molecular genetics of cytokines: Cytokines in chronic inflammatory disease. **2nd**, 21-30.

- Durum, S.K., Schmidt, J.A., & Oppenheim, J.J. (1985) Interleukin 1: an immunological perspective. *Annu Rev Immunol* **3**, 263-287.
- Ebersole, J.L. (1990) Systemic humoral immune responses in periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* **1**, 283-331.
- Ehmke, B., Kress, W., Karch, H., Grimm, T., Klaiber, B., & Flemmig, T.F. (1999) Interleukin-1 haplotype and periodontal disease progression following therapy. *J Clin Periodontol* **26**, 810-813.
- Engebretson, S.P., Lamster, I.B., Herrera-Abreu, M., Celenti, R.S., Timms, J.M., Chaudhary, A.G., di Giovine, F.S., & Kornman, K.S. (1999) The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol* **70**, 567-573.
- Fenton, M.J., Buras, J.A., & Donnelly, R.P. (1992) IL-4 reciprocally regulates IL-1 and IL-1 receptor antagonist expression in human monocytes. *J Immunol* **149**, 1283-1288.
- Flemmig, T.F. (1999) Periodontitis. *Ann Periodontol* **4**, 32-38.
- Fujihashi, K., Beagley, K.W., Kono, Y., Aicher, W.K., Yamamoto, M., DiFabio, S., Xu-Amano, J., McGhee, J.R., & Kiyono, H. (1993) Gingival mononuclear cells from chronic inflammatory periodontal tissues produce interleukin (IL)-5 and IL-6 but not IL-2 and IL-4. *Am J Pathol* **142**, 1239-1250.
- Fultz, M.J., Barber, S.A., Dieffenbach, C.W., & Vogel, S.N. (1993) Induction of IFN-gamma in macrophages by lipopolysaccharide. *Int Immunol* **5**, 1383-1392.
- Gajewski, T.F., Joyce, J., & Fitch, F.W. (1989) Antiproliferative effect of IFN-gamma in immune regulation. III. Differential selection of TH1 and TH2 murine helper T lymphocyte clones using recombinant IL-2 and recombinant IFN-gamma. *J Immunol* **143**, 15-22.
- Galbraith, G.M., Hagan, C., Steed, R.B., Sanders, J.J., & Javed, T. (1997) Cytokine production by oral and peripheral blood neutrophils in adult periodontitis. *J Periodontol* **68**, 832-838.
- Galbraith, G.M., Steed, R.B., Sanders, J.J., & Pandey, J.P. (1998) Tumor necrosis factor alpha production by oral leukocytes: influence of tumor necrosis factor genotype. *J Periodontol* **69**, 428-433.
- Gemmell, E., Marshall, R.I., & Seymour, G.J. (1997) Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000* **14**, 112-143.
- Giannopoulou, C., Kamma, J.J., & Mombelli, A. (2003) Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol* **30**, 145-153.

- Gibbons, R., Martinez, O., Matli, M., Heinzl, F., Bernstein, M., & Warren, R. (1990) Recombinant IL-4 inhibits IL-6 synthesis by adherent peripheral blood cells in vitro. *Lymphokine Res* **9**, 283-293.
- Gmur, R. & Guggenheim, B. (1994) Interdental supragingival plaque--a natural habitat of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus*, and *Prevotella nigrescens*. *J Dent Res* **73**, 1421-1428.
- Gwinn, M.R., Sharma, A., & De Nardin, E. (1999) Single nucleotide polymorphisms of the N-formyl peptide receptor in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* **70**, 1194-1201.
- Gonzales, J.R., Kobayashi, T., Michel, J., Mann, M., Yoshie, H. & Meyle, J. (2004) Interleukin-4 gene polymorphisms in Japanese and Caucasian patients with aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* **31**, 384-389.
- Gonzales, J.R., Michel, J., Rodriguez, E. L., Herrmann, J. M., Bödeker, R. H. & Meyle, J. (2003) Comparison of interleukin-1 genotypes in two populations with aggressive periodontitis. *Eur J Oral Sci* **2003** **111**,395-399.
- Gonzales, J.R., Mann, M., Stelzig, J., Bödeker, R.H. & Meyle, J. (2007) Single-nucleotide polymorphisms in the IL-4 and IL-13 promoter region in aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* **34**, 473-479.
- Gyan, B.A., Goka, B., Cvetkovic, J.T., Kurtzhals, J.L., Adabayeri, V., Perlmann, H., Lefvert, A.K., Akanmori, B.D., & Troye-Blomberg, M. (2004) Allelic polymorphisms in the repeat and promoter regions of the interleukin-4 gene and malaria severity in Ghanaian children. *Clin Exp Immunol* **138**, 145-150.
- Haber, J. (1994) Smoking is a major risk factor for periodontitis. *Curr Opin Periodontol* 12-18.
- Haffajee, A.D. & Socransky, S.S. (1994) Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* **2000** **5**, 78-111.
- Haffajee, A.D., Socransky, S.S., Lindhe, J., Kent, R.L., Okamoto, H., & Yoneyama, T. (1991) Clinical risk indicators for periodontal attachment loss. *J Clin Periodontol* **18**, 117-125.
- Hart, P.H., Vitti, G.F., Burgess, D.R., Whitty, G.A., Piccoli, D.S., & Hamilton, J.A. (1989) Potential antiinflammatory effects of interleukin 4: suppression of human monocyte tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**, 3803-3807.
- Hart, T.C. (1996) Genetic risk factors for early-onset periodontitis. *J Periodontol* **67**, 355-366.
- Hart, T.C. & Kornman, K.S. (1997) Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* **2000** **14**, 202-215.

- Hassell, T.M. & Harris, E.L. (1995) Genetic influences in caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* **6**, 319-342.
- Hayashi, Y., Kobayashi, M., Kuwata, H., Atsumi, G., Deguchi, K., Feng, W., X, Kudo, I., & Hasegawa, K. (2000) Interferon-gamma and interleukin 4 inhibit interleukin 1beta-induced delayed prostaglandin E(2)generation through suppression of cyclooxygenase-2 expression in human fibroblasts. *Cytokine* **12**, 603-612.
- Hennig, B.J., Parkhill, J.M., Chapple, I.L., Heasman, P.A., & Taylor, J.J. (1999) Association of a vitamin D receptor gene polymorphism with localized early-onset periodontal diseases. *J Periodontol* **70**, 1032-1038.
- Hodge, P. & Michalowicz, B. (2001) Genetic predisposition to periodontitis in children and young adults. *Periodontol 2000* **26**, 113-134.
- Hodge, P.J., Riggio, M.P., & Kinane, D.F. (2001) Failure to detect an association with IL1 genotypes in European Caucasians with generalised early onset periodontitis. *J Clin Periodontol* **28**, 430-436.
- Holt, S.C. & Bramanti, T.E. (1991) Factors in virulence expression and their role in periodontal disease pathogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* **2**, 177-281.
- Honig, J., Rordorf-Adam, C., Siegmund, C., Wiedemann, W., & Erard, F. (1989) Increased interleukin-1 beta (IL-1 beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res* **24**, 362-367.
- Howard, M., Farrar, J., Hilfiker, M., Johnson, B., Takatsu, K., Hamaoka, T., & Paul, W.E. (1982) Identification of a T cell-derived b cell growth factor distinct from interleukin 2. *J Exp Med* **155**, 914-923.
- Howell, T.H. & Williams, R.C. (1993) Nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of periodontal disease progression. *Crit Rev Oral Biol Med* **4**, 177-196.
- Hyman, J.J. & Reid, B.C. (2003) Epidemiologic risk factors for periodontal attachment loss among adults in the United States. *J Clin Periodontol* **30**, 230-237.
- Irwin, C.R., Schor, S.L., & Ferguson, M.W. (1994) Effects of cytokines on gingival fibroblasts in vitro are modulated by the extracellular matrix. *J Periodontal Res* **29**, 309-317.
- Ishikawa, I., Nakashima, K., Koseki, T., Nagasawa, T., Watanabe, H., Arakawa, S., Nitta, H., & Nishihara, T. (1997) Induction of the immune response to periodontopathic bacteria and its role in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* **14**, 79-111.
- Kahnberg, K.E., Lindhe, J., & Hellden, L. (1976) Initial gingivitis induced by topical application of plaque extract. A histometric study in dogs with normal gingivae. *J Periodontal Res* **11**, 218-225.

Kaslick, R.S., West, T.L., & Chasens, A.I. (1980) Association between ABO blood groups, HL-A antigens and periodontal diseases in young adults: a follow-up study. *J Periodontol* **51**, 339-342.

Kawashima, T., Nogucchi, E., Arinami, T. *et al.* (1998) Linkage and association of an interleukin 4 gene polymorphism with atopic dermatitis in Japanese families. *J Med Genet* **35**, 502-504.

Kelso, A. (1990) Cytokines in infectious disease. *Aust Microbiol* **11**, 372-376.

Klein, W., Tromm, A., Griga, T. *et al.* (2001) Interleukin-4 and interleukin-4 receptor gene polymorphisms in inflammatory bowel diseases. *Genes Immun* **2**, 287-289.

Kornman, K.S. (1986) The role of supragingival plaque in the prevention and treatment of periodontal disease. *J Periodont Res* **21**,

Kornman, K.S., Crane, A., Wang, H.Y., di Giovine, F.S., Newman, M.G., Pirk, F.W., Wilson, T.G., Jr., Higginbottom, F.L., & Duff, G.W. (1997a) The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* **24**, 72-77.

Kornman, K.S., Knobelmann, C., & Wang, H.Y. (2000) Is periodontitis genetic? The answer may be Yes! *J Mass Dent Soc* **49**, 26-30.

Kornman, K.S., Newman, M.G., Moore, D.J., & Singer, R.E. (1994) The influence of supragingival plaque control on clinical and microbial outcomes following the use of antibiotics for the treatment of periodontitis. *J Periodontol* **65**, 848-854.

Kornman, K.S., Page, R.C., & Tonetti, M.S. (1997b) The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000* **14**, 33-53.

Kyle, R.A. & Linman, J.W. (1970) Gingivitis and chronic idiopathic neutropenia: report of two cases. *Mayo Clin Proc* **45**, 494-504.

Lacraz, S., Nicod, L., Galve-de Rochemonteix, B., Baumberger, C., Dayer, J.M., & Welgus, H.G. (1992) Suppression of metalloproteinase biosynthesis in human alveolar macrophages by interleukin-4. *J Clin Invest* **90**, 382-388.

Lang, N., Bartold, P.M., Cullinan, M., Jeffcoat, M., Mombelli, A., Murakami, S., Page, R., Papapanou, P.N., Tonetti, M., & Van Dyke, T. (1999) Consensus report: Aggressive Parodontitis. *Ann Periodontol* **4**, 53-

Lang, N.P., Tonetti, M.S., Suter, J., Sorrell, J., Duff, G.W., & Kornman, K.S. (2000) Effect of interleukin-1 gene polymorphisms on gingival inflammation assessed by bleeding on probing in a periodontal maintenance population. *J Periodontal Res* **35**, 102-107.

Lauener, R.P., Goyert, S.M., Geha, R.S., & Vercelli, D. (1990) Interleukin 4 down-regulates the expression of CD14 in normal human monocytes. *Eur J Immunol* **20**, 2375-2381.

- Lin, H.C., Su, B.H., Chang, J.S., Hsu, C.M., Tsai, C.H., & Tsai, F.J. (2005) Nonassociation of interleukin 4 intron 3 and 590 promoter polymorphisms with bronchopulmonary dysplasia for ventilated preterm infants. *Biol Neonate* **87**, 181-186.
- Lindhe, J., Hamp, S.E., & Loe, H. (1975) Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. A 4-year clinical, roentgenographical and histometrical study. *J Periodontol Res* **10**, 243-255.
- Lindhe, J., Ranney, R., Lamster, I., Charles, A., Chung, C.-P., Flemming, T., Kinane, D., Listgarten, M., Loe, H., Schoor, R., Seymour, G., & Somerman, S. (1999) Consensus report: Chronic Periodontitis. *Ann Periodontol* **4**, 38-
- Listgarten, M.A. (1988) The role of dental plaque in gingivitis and periodontitis. *J Clin Periodontol* **15**, 485-487.
- Listgarten, M.A. (1994) The structure of dental plaque. *Periodontol 2000* **5**, 52-65.
- Locksley, R.M., Heinzel, F.P., Holaday, B.J., Mutha, S.S., Reiner, S.L., & Sadick, M.D. (1991) Induction of Th1 and Th2 CD4+ subsets during murine *Leishmania major* infection. *Res Immunol* **142**, 28-32.
- Loe, H. & Brown, L.J. (1991) Early onset periodontitis in the United States of America. *J Periodontol* **62**, 608-616.
- Loe, H., Theilade, E., & Jøensen, S.-B. (1965) Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* **36**, 177-187.
- Lopez, N.J., Rios, V., Pareja, M.A., & Fernandez, O. (1991) Prevalence of juvenile periodontitis in Chile. *J Clin Periodontol* **18**, 529-533.
- Maeda, T., Sodeyama, T., Hara, K., & Takano, Y. (1994) Evidence for the existence of intraepithelial nerve endings in the junctional epithelium of rat molars: an immunohistochemical study using protein gene product 9.5 (PGP 9.5) antibody. *J Periodontol Res* **29**, 377-385.
- Mangan, D.F., Robertson, B., & Wahl, S.M. (1992) IL-4 enhances programmed cell death (apoptosis) in stimulated human monocytes. *J Immunol* **148**, 1812-1816.
- Manhart, S.S., Reinhardt, R.A., Payne, J.B., Seymour, G.J., Gemmell, E., Dyer, J.K., & Petro, T.M. (1994) Gingival cell IL-2 and IL-4 in early-onset periodontitis. *J Periodontol* **65**, 807-813.
- Mark, L.L., Haffajee, A.D., Socransky, S.S., Kent, R.L., Jr., Guerrero, D., Kornman, K., Newman, M., & Stashenko, P. (2000) Effect of the interleukin-1 genotype on monocyte IL-1beta expression in subjects with adult periodontitis. *J Periodontol Res* **35**, 172-177.
- McDevitt, M.J., Wang, H.Y., Knobelman, C., Newman, M.G., di Giovine, F.S., Timms, J., Duff, G.W., & Kornman, K.S. (2000) Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol* **71**, 156-163.

- McGuire, M.K. & Nunn, M.E. (1999) Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival. *J Periodontol* **70**, 49-56.
- McNabb, H., Mombelli, A., Gmur, R., Mathey-Dinc, S., & Lang, N.P. (1992) Periodontal pathogens in the shallow pockets of immigrants from developing countries. *Oral Microbiol Immunol* **7**, 267-272.
- Meikle, M.C., Atkinson, S.J., Ward, R.V., Murphy, G., & Reynolds, J.J. (1989) Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metalloproteinases. *J Periodontal Res* **24**, 207-213.
- Meyle, J. (1994) Leukocyte adhesion deficiency and prepubertal periodontitis. *Periodontol 2000* **6**, 26-36.
- Meyle, J. & Axmann-Krcmar, D. (1999) Regression coefficient analysis of neutrophil chemotaxis in periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* **14**, 127-135.
- Michalowicz, B.S., Aeppli, D., Virag, J.G., Klump, D.G., Hinrichs, J.E., Segal, N.L., Bouchard, T.J., Jr., & Pihlstrom, B.L. (1991a) Periodontal findings in adult twins. *J Periodontol* **62**, 293-299.
- Michalowicz, B.S., Aeppli, D.P., Kuba, R.K., Bereuter, J.E., Conry, J.P., Segal, N.L., Bouchard, T.J., Jr., & Pihlstrom, B.L. (1991b) A twin study of genetic variation in proportional radiographic alveolar bone height. *J Dent Res* **70**, 1431-1435.
- Michalowicz, B.S., Diehl, S.R., Gunsolley, J.C., Sparks, B.S., Brooks, C.N., Koertge, T.E., Califano, J.V., Burmeister, J.A., & Schenkein, H.A. (2000) Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *J Periodontol* **71**, 1699-1707.
- Michel, J., Gonzales, J.R., Wunderlich, D., Diete, A., Herrmann, J.M., & Meyle, J. (2001) Interleukin-4 polymorphisms in early onset periodontitis. *J Clin Periodontol* **28**, 483-488.
- Micheelis, W. & Scheffner, U. (2006) Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie. *Deutscher Zahnärztsverlag*.
- Miyazaki, H., Pilot, T., Leclercq, M.H., & Barmes, D.E. (1991) Profiles of periodontal conditions in adolescents measured by CPITN. *Int Dent J* **41**, 67-73.
- Modlin, R.L. & Nutman, T.B. (1993) Type 2 cytokines and negative immune regulation in human infections. *Curr Opin Immunol* **5**, 511-517.
- Moore, W.E. & Moore, L.V. (1994) The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol 2000* **5**, 66-77.
- Mosmann, T.R. & Coffman, R.L. (1989) TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* **7**, 145-173.

- Mosmann, T.R. & Sad, S. (1996) The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* **17**, 138-146.
- Mout, R., Willemze, R., & Landegent, J.E. (1991) Repeat polymorphisms in the interleukin-4 gene (IL4). *Nucleic Acids Res* **19**, 3763
- Mullis, K.B. & Faloona, F.A. (1987) Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymologie* **155**, 335-350.
- Noguchi, K., Shitashige, M., Watanabe, H., Murota, S., & Ishikawa, I. (1999) Interleukin-4 and interferon-gamma inhibit prostaglandin production by interleukin-1beta-stimulated human periodontal ligament fibroblasts. *Inflammation* **23**, 1-13.
- Noguchi, K., Shitashige, M., Yanai, M., Morita, I., Nishihara, T., Murota, S., & Ishikawa, I. (1996) Prostaglandin production via induction of cyclooxygenase-2 by human gingival fibroblasts stimulated with lipopolysaccharides. *Inflammation* **20**, 555-568.
- O'Leary, T.J., Drake, R.B., & Naylor, J.E. (1972) The plaque control record. *J Periodontol* **43**, 38
- Offenbacher, S. (1996) Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* **1**, 821-878.
- Offenbacher, S., Odle, B.M., & Van Dyke, T.E. (1986) The use of crevicular fluid prostaglandin E2 levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodontal Res* **21**, 101-112.
- Ohshima, M., Otsuka, K., & Suzuki, K. (1994) Interleukin-1 beta stimulates collagenase production by cultured human periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontal Res* **29**, 421-429.
- Orino, E., Sone, S., Nii, A., & Ogura, T. (1992) IL-4 up-regulates IL-1 receptor antagonist gene expression and its production in human blood monocytes. *J Immunol* **149**, 925-931.
- O'Garra, A. & Spits, H. (1993) The immunobiology of interleukin-4. *Res Immunol* **144**, 567-643.
- Page, R.C. (1991) The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res* **26**, 230-242.
- Page, R.C., Beatty, P., & Waldrop, T.C. (1987) Molecular basis for the functional abnormality in neutrophils from patients with generalized prepubertal periodontitis. *J Periodontal Res* **22**, 182-183.
- Page, R.C. & Kornman, K.S. (1997) The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000* **14**, 9-11.
- Page, R.C. & Schroeder, H.E. (1976) Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* **34**, 235-249.

- Page, R.C., Sims, T.J., Geissler, F., Altman, L.C., & Baab, D.A. (1984) Abnormal leukocyte motility in patients with early-onset periodontitis. *J Periodontal Res* **19**, 591-594.
- Papapanou, P.N. (1996) Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol* **1**, 1-36.
- Peleman, R., Wu, J., Fargeas, C., & Delespesse, G. (1989) Recombinant interleukin 4 suppresses the production of interferon gamma by human mononuclear cells. *J Exp Med* **170**, 1751-1756.
- Plagman, H.C. (1990) Praxis der Zahnheilkunde. Parodontologie. **2**,
- Porter, S.R., Luker, J., Scully, C., & Oakhill, A. (1994) Oral features of a family with benign familial neutropenia. *J Am Acad Dermatol* **30**, 877-880.
- Powrie, F. & Coffman, R.L. (1993) Cytokine regulation of T-cell function: potential for therapeutic intervention. *Immunol Today* **14**, 270-274.
- Prabhu, A., Michalowicz, B.S., & Mathur, A. (1996) Detection of local and systemic cytokines in adult periodontitis. *J Periodontol* **67**, 515-522.
- Richards, D. & Rutherford, R.B. (1988) The effects of interleukin 1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal-ligament and gingival fibroblast. *Arch Oral Biol* **33**, 237-243.
- Romagnani, S. (1992) Human TH1 and TH2 subsets: regulation of differentiation and role in protection and immunopathology. *Int Arch Allergy Immunol* **98**, 279-285.
- Romagnani, S. (1994) Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol* **12**, 227-257.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., & Erlich, H.A. (1988) Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* **239**, 487-491.
- Salvi, G.E., Brown, C.E., Fujihashi, K., Kiyono, H., Smith, F.W., Beck, J.D., & Offenbacher, S. (1998) Inflammatory mediators of the terminal dentition in adult and early onset periodontitis. *J Periodontal Res* **33**, 212-225.
- Salvi, G.E., Lawrence, H.P., Offenbacher, S., & Beck, J.D. (1997) Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* **14**, 173-201.
- Sanders, L.A., Rijkers, G.T., Tenbergen-Meekes, A.M., Voorhorst-Ogink, M.M., & Zegers, B.J. (1995) Immunoglobulin isotype-specific antibody responses to pneumococcal polysaccharide vaccine in patients with recurrent bacterial respiratory tract infections. *Pediatr Res* **37**, 812-819.
- Saxer, U.P. & Muhlemann, H.R. (1975) [Motivation and education]. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* **85**, 905-919.

Scarel-Caminaga, R.M., Trevilatto, P.C., Souza, A.P., Brito, R.B., Jr., Line, S.R. (2003) Investigation of IL4 gene polymorphism in individuals with different levels of chronic periodontitis in a Brazilian population. *J Clin Periodontol* **30**, 341-345.

Schenkein, H.A. (1988) The effect of periodontal proteolytic *Bacteroides* species on proteins of the human complement system. *J Periodontol Res* **23**, 187-192.

Schenkein, H.A., Gunsolley, J.C., Koertge, T.E., Schenkein, J.G., & Tew, J.G. (1995) Smoking and its effects on early-onset periodontitis. *J Am Dent Assoc* **126**, 1107-1113.

Schifferle, R.E., Chen, P.B., Davern, L.B., Aguirre, A., Genco, R.J., & Levine, M.J. (1993) Modification of experimental *Porphyromonas gingivalis* murine infection by immunization with a polysaccharide-protein conjugate. *Oral Microbiol Immunol* **8**, 266-271.

Schwartz, Z., Goultschin, J., Dean, D.D., & Boyan, B.D. (1997) Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontol 2000* **14**, 158-172.

Scott, P. & Kaufmann, S.H. (1991) The role of T-cell subsets and cytokines in the regulation of infection. *Immunol Today* **12**, 346-348.

Seymour, G.J. (1987) Possible mechanisms involved in the immunoregulation of chronic inflammatory periodontal disease. *J Dent Res* **66**, 2-9.

Seymour, G.J., Powell, R.N., & Davies, W.I. (1979) Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B-cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: an hypothesis. *J Clin Periodontol* **6**, 267-277.

Shapira, L., Van Dyke, T.E., & Hart, T.C. (1992) A localized absence of interleukin-4 triggers periodontal disease activity: a novel hypothesis. *Med Hypotheses* **39**, 319-322.

Sher, A., Gazzinelli, R.T., Oswald, I.P., Clerici, M., Kullberg, M., Pearce, E.J., Berzofsky, J.A., Mosmann, T.R., James, S.L., & Morse, H.C., III (1992) Role of T-cell derived cytokines in the downregulation of immune responses in parasitic and retroviral infection. *Immunol Rev* **127**, 183-204.

Shirodaria, S., Smith, J., McKay, I.J., Kennett, C.N., & Hughes, F.J. (2000) Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1alpha protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. *J Dent Res* **79**, 1864-1869.

Sjodin, B. & Matsson, L. (1994) Marginal bone loss in the primary dentition. A survey of 7-9-year-old children in Sweden. *J Clin Periodontol* **21**, 313-319.

Sjodin, B., Matsson, L., Unell, L., & Egelberg, J. (1993) Marginal bone loss in the primary dentition of patients with juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* **20**, 32-36.

- Smith, M.A., Braswell, L.D., Collins, J.G., Boyd, D.L., Jeffcoat, M.K., Reddy, M., Li, K.L., Wilensky, S., Vogel, R., Alfano, M., & . (1993) Changes in inflammatory mediators in experimental periodontitis in the rhesus monkey. *Infect Immun* **61**, 1453-1459.
- Socransky, S.S. & Haffajee, A.D. (1997) Microbiology of periodontal disease. **3**, 138-188.
- Socransky, S.S. & Haffajee, A.D. (1992) The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* **63**, 322-331.
- Sofaer, J.A. (1990) Genetic approaches in the study of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* **17**, 401-408.
- Stashenko, P., Fujiyoshi, P., Obernesser, M.S., Prostack, L., Haffajee, A.D., & Socransky, S.S. (1991) Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* **18**, 548-554.
- Stern, C. (1943) The Hardy–Weinberg law. *Science* **97**, 137-138.
- Sundqvist, G.K., Carlsson, J., Herrmann, B.F., Hofling, J.F., & Vaatainen, A. (1984) Degradation in vivo of the C3 protein of guinea-pig complement by a pathogenic strain of *Bacteroides gingivalis*. *Scand J Dent Res* **92**, 14-24.
- Swain, S.L. (1991) Regulation of the development of distinct subsets of CD4+ T cells. *Res Immunol* **142**, 14-18.
- te Velde, A.A., Huijbens, R.J., Heije, K., de Vries, J.E., & Figdor, C.G. (1990) Interleukin-4 (IL-4) inhibits secretion of IL-1 beta, tumor necrosis factor alpha, and IL-6 by human monocytes. *Blood* **76**, 1392-1397.
- Temeles, D.S., McGrath, H.E., Kittler, E.L., Shadduck, R.K., Kister, V.K., Crittenden, R.B., Turner, B.L., & Quesenberry, P.J. (1993) Cytokine expression from bone marrow derived macrophages. *Exp Hematol* **21**, 388-393.
- Theilade, J. & Attstrom, R. (1985) Distribution and ultrastructure of subgingival plaque in beagle dogs with gingival inflammation. *J Periodontal Res* **20**, 131-145.
- Tinoco, E.M., Beldi, M.I., Loureiro, C.A., Lana, M., Campedelli, F., Tinoco, N.M., Gjermo, P., & Preus, H.R. (1997) Localized juvenile periodontitis and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a Brazilian population. *Eur J Oral Sci* **105**, 9-14.
- Tokoro, Y., Yamamoto, T., & Hara, K. (1996) IL-1 beta mRNA as the predominant inflammatory cytokine transcript: correlation with inflammatory cell infiltration into human gingiva. *J Oral Pathol Med* **25**, 225-231.
- Tonetti, M.S. & Mombelli, A. (1999) Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol* **4**, 39-53.

Trikalinos, T.A., Salanti, G., Khoury, M.J. & Ioannidis, J.P. (2006) Impact of violations and deviations in Hardy-Weinberg equilibrium on postulated gene-disease associations. *Am J Epidemiol* **163**, 300-309.

Tsai, F.J., Chang, C.H., Chen, C.C., Hsia, T.C., Chen, H.Y., & Chen, W.C. (2005a) Interleukin-4 gene intron-3 polymorphism is associated with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *BJU Int* **95**, 432-435.

Tsai, F.J., Chou, I.C., Hsieh, Y.Y., Lee, C.C., Lin, C.C., & Tsai, C.H. (2002) Interleukin-4 intron 3 polymorphism is not related to susceptibility to febrile seizures. *Pediatr Neurol* **27**, 271-274.

Tsai, M.H., Chen, W.C., Tsai, C.H., Hang, L.W., & Tsai, F.J. (2005b) Interleukin-4 gene, but not the interleukin-1 beta gene polymorphism, is associated with oral cancer. *J Clin Lab Anal* **19**, 93-98.

Van Dyke, T.E., Schweinebraten, M., Cianciola, L.J., Offenbacher, S., & Genco, R.J. (1985) Neutrophil chemotaxis in families with localized juvenile periodontitis. *J Periodontal Res* **20**, 503-514.

Van Dyke, T.E. & Tohme, Z.N. (2000) Periodontal diagnosis: evaluation of current concepts and future needs. *J Int Acad Periodontol* **2**, 71-78.

Van Dyke, T.E., Wilson-Burrows, C., Offenbacher, S., & Henson, P. (1987) Association of an abnormality of neutrophil chemotaxis in human periodontal disease with a cell surface protein. *Infect Immun* **55**, 2262-2267.

Van Leeuwen, B.H., Martinson, M.E., Webb, G.C., & Young, I.G. (1989) Molecular organization of the cytokine gene cluster, involving the human IL-3, IL-4, IL-5, and GM-CSF genes, on human chromosome 5. *Blood* **73**, 1142-1148.

Vandenbroeck, K., Martino, G., Marrosu, M., Consiglio, A., Zaffaroni, M., Vaccargiu, S. *et al.* (1997) Occurrence and clinical relevance of an interleukin-4 gene polymorphism in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* **76**, 189-192.

Waldrop, T.C., Anderson, D.C., Hallmon, W.W., Schmalstieg, F.C., & Jacobs, R.L. (1987) Periodontal manifestations of the heritable Mac-1, LFA-1, deficiency syndrome. Clinical, histopathologic and molecular characteristics. *J Periodontol* **58**, 400-416.

Walley, A.J. & Cookson, W.O. (1996) Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for associations with asthma and atopy. *J Med Genet* **33**, 689-692.

Wilson, M.E., Bronson, P.M., & Hamilton, R.G. (1995) Immunoglobulin G2 antibodies promote neutrophil killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* **63**, 1070-1075.

Wilson, M.E. & Kalmar, J.R. (1996) Fc-gamma-RIIA (CD 32) - a potential marker defining susceptibility to localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* **67**, 323-331.

- Wright, S.D., Ramos, R.A., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J., & Mathison, J.C. (1990) CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* **249**, 1431-1433.
- Yamamoto, M., Fujihashi, K., Hiroi, T., McGhee, J.R., Van Dyke, T.E., & Kiyono, H. (1997) Molecular and cellular mechanisms for periodontal diseases: role of Th1 and Th2 type cytokines in induction of mucosal inflammation. *J Periodontal Res* **32**, 115-119.
- Yamamoto, M., Kawabata, K., Fujihashi, K., McGhee, J.R., Van Dyke, T.E., Bamberg, T.V., Hiroi, T., & Kiyono, H. (1996) Absence of exogenous interleukin-4-induced apoptosis of gingival macrophages may contribute to chronic inflammation in periodontal diseases. *Am J Pathol* **148**, 331-339.
- Yavuzylmaz, E., Yamalik, N., Bulut, S., Ozen, S., Ersoy, F., & Saatci, U. (1995) The gingival crevicular fluid interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha levels in patients with rapidly progressive periodontitis. *Aust Dent J* **40**, 46-49.
- Yokota, T., Arai, N., De Vries, J., Spits, H., Banchereau, J., Zlotnik, A., Rennick, D., Howard, M., Takebe, Y., Miyatake, S., & . (1988) Molecular biology of interleukin 4 and interleukin 5 genes and biology of their products that stimulate B cells, T cells and hemopoietic cells. *Immunol Rev* **102**, 137-187.
- Yokota, T., Otsuka, T., Mosmann, T., Banchereau, J., DeFrance, T., Blanchard, D., de Vries, J.E., Lee, F., & Arai, K. (1986) Isolation and characterization of a human interleukin cDNA clone, homologous to mouse B-cell stimulatory factor 1, that expresses B-cell- and T-cell-stimulating activities. *Proc Natl Acad Sci U S A* **83**, 5894-5898.
- Zurawski, G. & de Vries, J.E. (1994) Interleukin 13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunol Today* **15**, 19-26.

10. Liste der gebrauchten Abkürzungen

AP = aggressive Parodontitis

CD = Cluster of Differentiation

COX = Cyclooxygenase

CP = chronische Parodontitis

CPITN = Community Periodontal Index of Treatment Needs

DNA = Desoxyribonucleinsäure

dNTP = Desoxynucleosdtriphosphat

EDTA = Ethylendiamintetraessigsäure

EOP = Early-Onset-Parodontitis

Fc γ = Fc-gamma

IFN- γ = Interferon γ

HLA = menschliches Leukozytenantigene

Ig = Immunglobulin

IL = Interleukin

LAD = Leukozytenadhäsionsdefizit

LPS = Lipopolysaccharide

MMP = Matrixmetalloproteinasen

mRNA = messenger Ribonucleinsäure PCR = Polymerasekettenreaktion

OPG = Orthopantomogramm

PGE2 = Prostaglandin E2

R = Rezeptor

Ra = Rezeptorantagonist

TNF- α = Tumornekrosefaktor α

11. Anhang

Anhang 1a

Mittelamerikaner: Gruppe 0 = gesunde Probanden

ID = Identifikationsnummer

Geschlecht: 1 = männlich; 2 = weiblich

Alter in Jahren

PI = Plaqueindex in %

PBI = Papillenblutungsindex in %

BOP = Sondierungsblutung in %

MW ST = Mittelwert der Sondierungstiefen in mm

MW AL = Mittelwert des klinischen Attachmentlevels in mm

Gruppen	ID	Geschlecht	Alter	Zahnzahl	PI (%)	PBI (%)	BOP (%)	MW ST (mm)	MW AL (mm)
0	1	1	27	26	36	4,5	1	2,33	2,43
0	2	1	24	28	25,5	6	25	1,19	1,19
0	3	1	22	28	29	16	0	1,14	1,14
0	4	1	22	29	20	3,5	10	1,13	2,13
0	5	1	24	29	34	5	10	2,23	2,23
0	6	1	23	28	24	8	23	2,24	2,24
0	7	2	23	28	16	14	0	2,10	2,12
0	8	1	22	25	21	11	0	1,14	1,34
0	9	1	23	30	37,5	5	11	3,14	4,84
0	10	2	22	24	27	18	8	2,19	2,19
0	11	2	23	28	20,5	27,5	5	2,24	2,24
0	12	2	28	28	28,5	4	0	2,10	2,10
0	13	2	26	28	28	14,5	5	1,13	2,15
0	14	1	34	31	20	5	0	2,13	2,13

Anhang 1b**Mittelamerikaner: Gruppe 1 = AP-Patienten**ID = IdentifikationsnummerGeschlecht: 1 = männlich; 2 = weiblichAlter in JahrenPI = Plaqueindex in %PBI = Papillenblutungsindex in %BOP = Sondierungsblutung in %MW ST = Mittelwert der Sondierungstiefen in mmMW AL = Mittelwert des klinischen Attachmentlevels in mm

Gruppen	ID	Geschlecht	Alter	Zahnzahl	PI (%)	PBI (%)	BOP (%)	MW ST (mm)	MW AL (mm)
1	15	1	16	26	12,5	53	64	3,88	4,38
1	16	2	27	20	73	64	23	3,83	4,26
1	17	2	32	22	63	57	33	3,22	3,33
1	18	2	33	24	46	32	97	3,14	3,24
1	19	2	30	27	63	50	31	2,84	3,02
1	20	2	31	24	48	45	22	2,81	3,24
1	21	2	22	25	69	60	74	2,27	2,46
1	22	1	24	24	53	35	14,5	2,78	3,48
1	23	1	24	28	51	21	11	2,37	2,47
1	24	2	34	19	27	21	9	3,42	3,62
1	25	2	22	30	31	25	24	2,92	3,08
1	26	2	18	8	43	22	37	3,55	3,95
1	27	2	32	18	48	39	12	3,62	3,74
1	28	2	32	21	38	81	49	4,57	5,85
1	29	2	31	24	1	67	42	3,13	3,42
1	30	2	35	30	1	1	74	4,61	5,11

Anhang 1c**Nordeuropäer: Gruppe 0 = gesunde Probanden**ID = IdentifikationsnummerGeschlecht: 1 = männlich; 2 = weiblichAlter in JahrenPI = Plaqueindex in %PBI = Papillenblutungsindex in %BOP = Sondierungsblutung in %MW ST = Mittelwert der Sondierungstiefen in mmMW AL = Mittelwert des klinischen Attachmentlevels in mm

Gruppen	ID	Geschlecht	Alter	Zahnzahl	PI (%)	PBI (%)	BOP (%)	MW ST (mm)	MW AL (mm)
0	1	2	26	31	38	12	6	2,24	2,24
0	2	1	26	32	17	5	2	1,69	1,69
0	3	1	28	28	43	12	4	1,65	1,65
0	4	1	26	28	26	0	1	1,57	1,57
0	5	1	24	32	40	5	6	1,53	1,53
0	6	1	22	28	69	5	12	1,70	1,70
0	7	1	23	32	46	0	1	1,96	1,96
0	8	2	22	26	49	0	1	1,42	1,42
0	9	1	33	30	24	9	12	2,16	2,16
0	10	1	24	28	28,5	7	0	1,85	1,85
0	11	1	26	28	53,5	7	15,5	1,76	1,76
0	12	2	22	28	25	36	6	1,45	1,59
0	13	1	25	28	37	8	0	1,94	1,94
0	14	1	25	28	47	5	4	1,67	1,67
0	15	1	28	32	47	15	16	2,06	2,06
0	16	1	27	32	69,5	0	16	1,94	1,94
0	17	1	24	29	31	0	5	1,74	1,74
0	18	2	26	28	17	7	6	1,97	2,00
0	19	1	24	28	64	2	6	1,51	1,51
0	20	2	25	28	47	0	3	1,82	1,82
0	21	1	25	31	35	0	0	1,66	1,66
0	22	1	24	28	47	4	20	2,17	2,17

0	23	1	22	28	24	3,5	4	1,79	1,79
0	24	1	31	29	23	10	6	1,86	1,88
0	25	2	22	26	64	4	18	2,12	2,12
0	26	1	24	28	29	7	8	1,71	1,91
0	27	1	25	28	29	4	0	1,95	1,95
0	28	1	24	28	46	24,5	24,5	2,42	2,42
0	29	1	25	28	15	0	6	1,76	1,76
0	30	1	23	28	47,5	8	4	2,20	2,22
0	31	1	23	28	16	7	5	1,76	1,76
0	32	1	23	28	36	1	5	1,52	1,52
0	33	1	31	28	46	7	0	1,48	1,52

Anhang 1d**Nordeuropäer: Gruppe 1 = AP-Patienten**ID = IdentifikationsnummerGeschlecht: 1 = männlich; 2 = weiblichAlter in JahrenPI = Plaqueindex in %PBI = Papillenblutungsindex in %BOP = Sondierungsblutung in %MW ST = Mittelwert der Sondierungstiefen in mmMW AL = Mittelwert des klinischen Attachmentlevels in mm

Gruppen	ID	Geschlecht	Alter	Zahnzahl	PI (%)	PBI (%)	BOP (%)	MW ST (mm)	MW AL (mm)
1	34	2	20	31	80	31	29	4,33	4,81
1	35	2	34	27	65	41	71	3,98	3,98
1	36	1	35	28	66	35,7	98	5,66	5,79
1	37	2	35	28	100	25	68	3,30	3,30
1	38	2	22	28	12,5	5	61	3,84	3,92
1	39	2	32	26	73	11,5	35	2,58	2,66
1	40	1	25	31	14	42	16	2,83	2,99
1	41	1	34	31	50	11	59	3,23	3,32
1	42	2	23	31	100	38	10	2,83	2,83
1	43	2	22	32	8,5	0	20	2,58	2,59
1	44	2	33	28	23	17	20	2,70	2,84
1	45	2	18	28	61	0	8	2,21	2,21
1	46	1	34	26	100	1	1	6,75	8,49
1	47	1	20	28	21,5	33	33	1,51	1,70
1	48	2	24	25	75	4	33	2,78	2,79
1	49	2	27	28	63	21	83	4,23	4,48
1	50	2	38	20	100	56	54	4,97	4,97
1	51	2	21	28	100	50	59	3,29	3,29
1	52	2	29	30	12	4	84	3,42	3,42
1	53	1	34	27	56	48	68	3,83	3,83
1	54	2	44	20	23	19	52	4,05	4,87
1	55	2	32	30	62	15	20,5	3,13	3,13

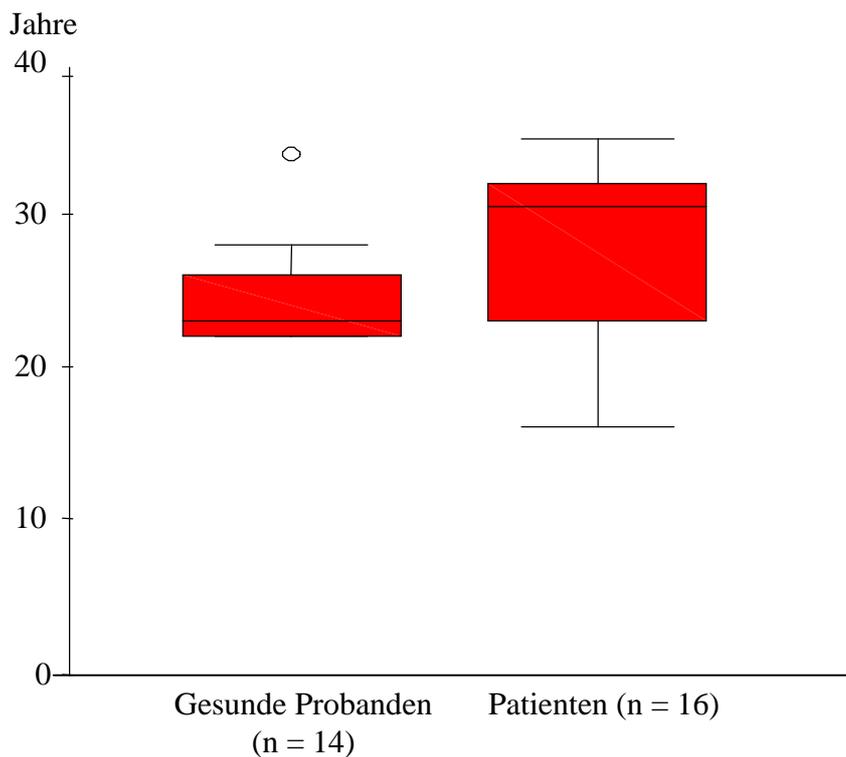
1	56	2	36	23	7	9	14	5,04	5,05
1	57	2	25	31	21	52	75	3,23	3,23
1	58	2	28	28	18	7	10	4,16	4,16
1	59	2	34	27	20,5	8	31	2,76	2,92
1	60	2	31	28	32	56	53	4,04	4,17
1	61	1	31	32	22	0	53	2,78	2,78
1	62	2	37	28	54,5	48	54	4,07	5,73
1	63	2	27	31	26	4	29	3,83	3,87
1	64	2	34	27	26	0	27	3,75	3,76
1	65	2	20	32	79	11	70	2,69	2,65
1	66	2	36	26	26	21	58	4,83	5,09
1	67	2	30	28	60	14	16	2,30	2,37

Anhang 1e

Gruppe	min	quartil 1	median	quartil 3	max	Mittel- wert	Standard -abw.
gesunde mittelamerikanische Probanden n = 14	22	22	23	26	34	24,5	3,345
mittelamerikanische Patienten n = 16	16	23	30,5	32	35	27	5,93
gesunde nordeuropäische Probanden n = 33	22	24	25	26	33	25	2,685
nordeuropäische Patienten n = 34	18	27	31	32	44	30	6,379

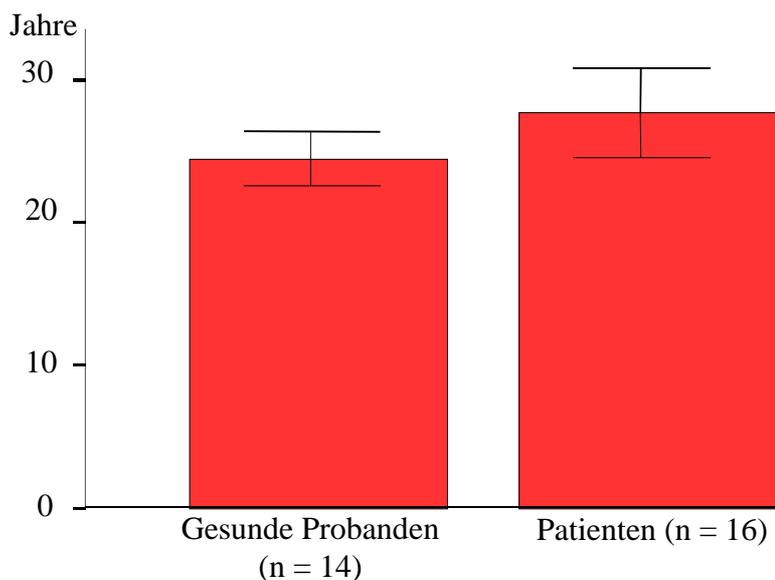
Alter der Gruppen (Werte in Jahren)

Statistische Verteilung des Alters der gesunden Probanden (n = 14; n = 33) und der Patienten (n = 16; n = 34) in Jahren. Angegeben sind jeweils Minimum (min), Maximum (max), Quartil 1 und 3 und der Median, Mittelwert und Standardabweichung.

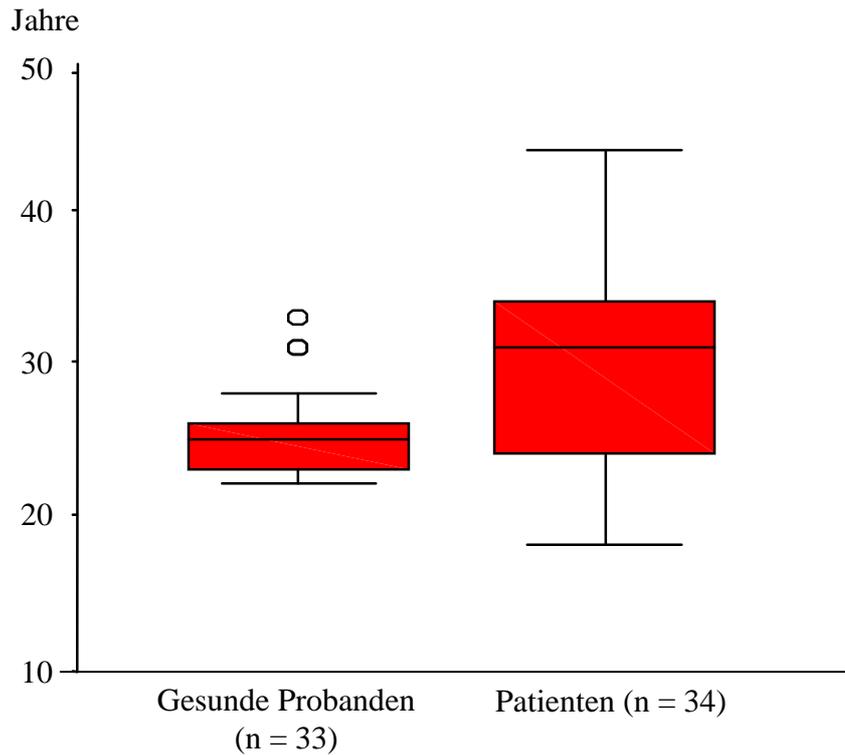


Alter der Gruppen der mittelamerikanischen Personen

Boxplot der Altersverteilung in der Gruppe der mittelamerikanischen Personen (gesunden Probanden $n = 14$; Patienten $n = 16$). Die untere Linie des Boxplots korrespondiert mit Quartil 1, die obere Linie mit Quartil 3 und die Linie im Boxplot markiert den Median. Die Balken zeigen das Minimum sowie das Maximum, jedoch nicht die Extremwerte. Diese sind durch Kreise markiert.

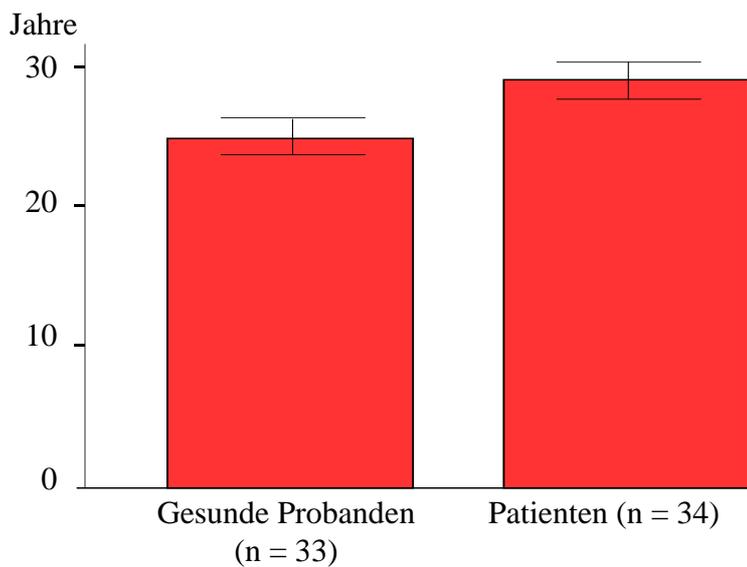


Mittelwerte des Alters in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen mit 95% Konfidenzintervall.



Alter der Gruppen der nordeuropäischen Personen

Boxplot der Altersverteilung in der Gruppe der nordeuropäischen Personen (gesunde Probanden n = 33; Patienten n = 34).



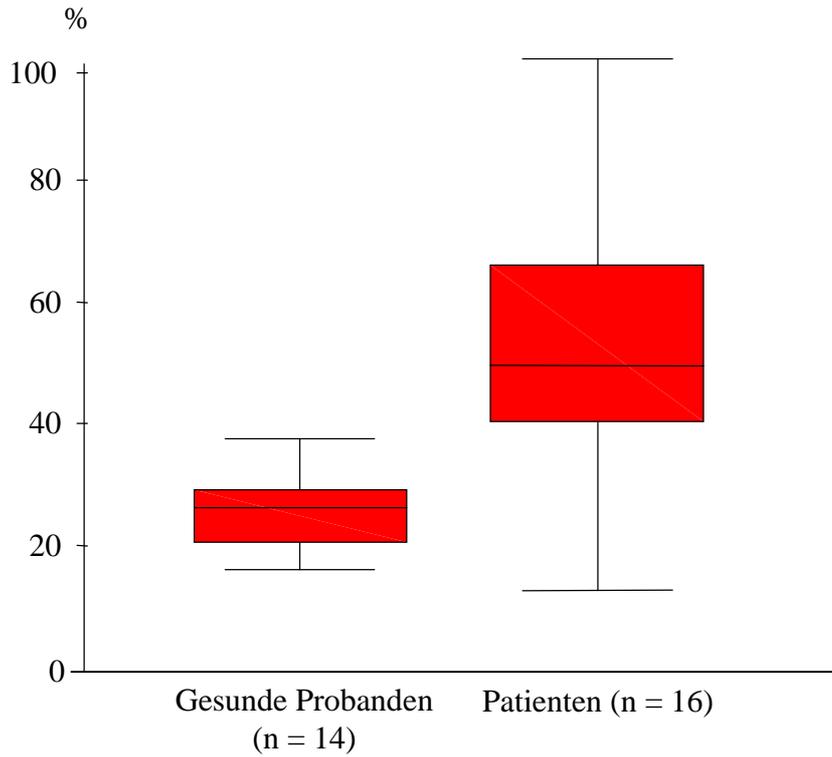
Mittelwerte des Alters in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen mit 95% Konfidenzintervall.

Anhang 1f

Gruppe	min	quartil 1	median	quartil 3	max	Mittel- wert	Standard- abw.
gesunde mittelamerikanische Probanden n = 14	0,16	0,205	0,263	0,29	0,375	0,26186	0,064875
mittelamerikanische Patienten n = 16	0,125	0,404	0,495	0,661	1	0,54081	0,237978
gesunde nordeuropäische Probanden n = 33	0,15	0,332	0,38	0,44	0,695	0,3867	0,152544
nordeuropäische Patienten n = 34	0,065	0,378	0,522	0,596	1	0,48765	0,311438

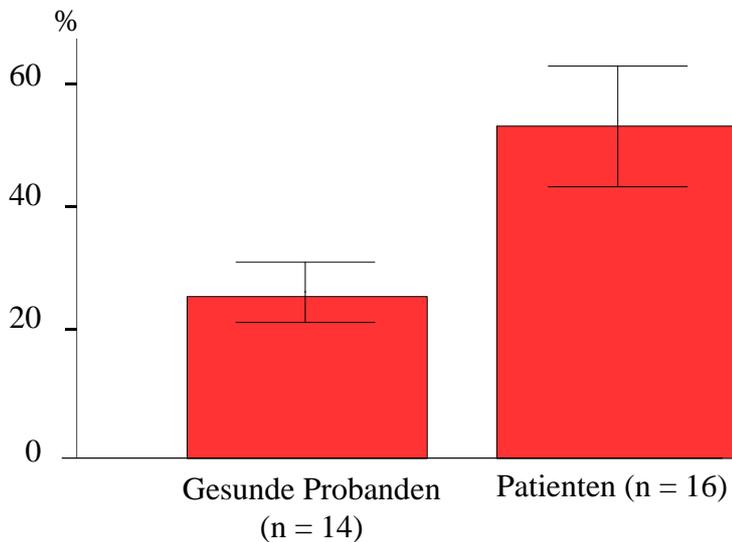
Plaquesindex in den Gruppen (Werte in 1/100)

Die Tabelle zeigt die statistische Verteilung des Plaquesindex der gesunden Probanden (n = 14; n = 33) und der Patienten (n = 16; n = 34) in Prozent. Angegeben sind jeweils Minimum (min), Maximum (max), Quartil 1 und 3 und der Median, Mittelwert und Standardabweichung.

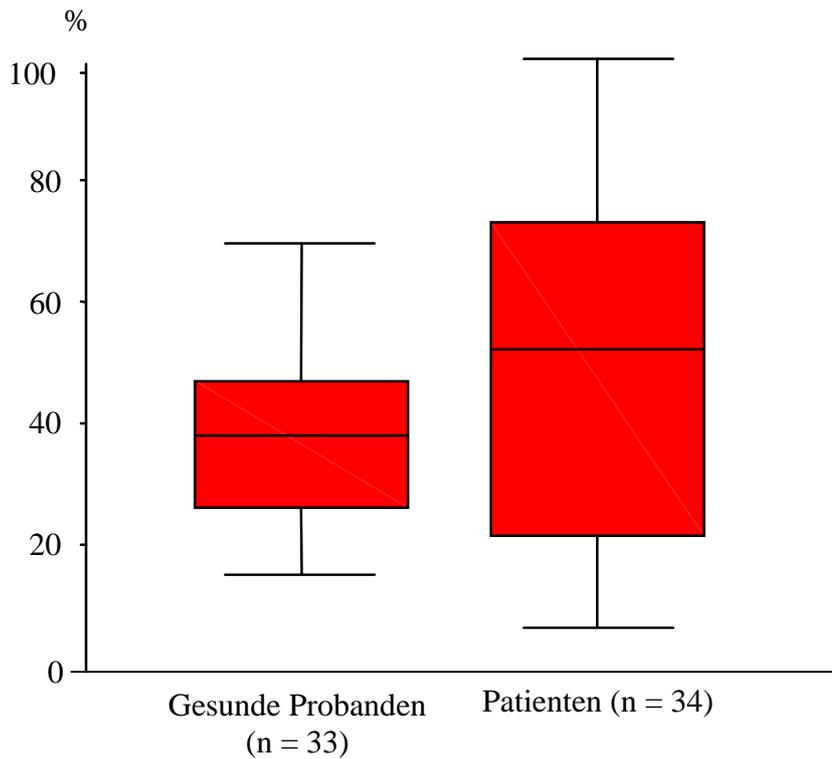


Plaquesindex in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen

Plaquesindex (PLI) der Gruppe der mittelamerikanischen Personen (gesunde Probanden n = 14; Patienten n = 16). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e.

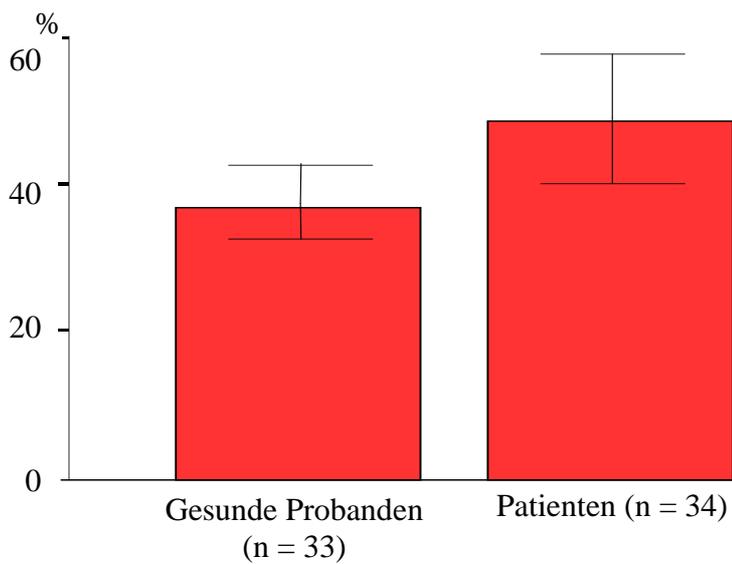


Mittelwerte des Plaquesindex in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen mit 95% Konfidenzintervall.



Plaquerindex in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen

Plaquerindex (PLI) der Gruppe der nordeuropäischen Personen (gesunde Probanden n = 33; Patienten n = 34). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e.



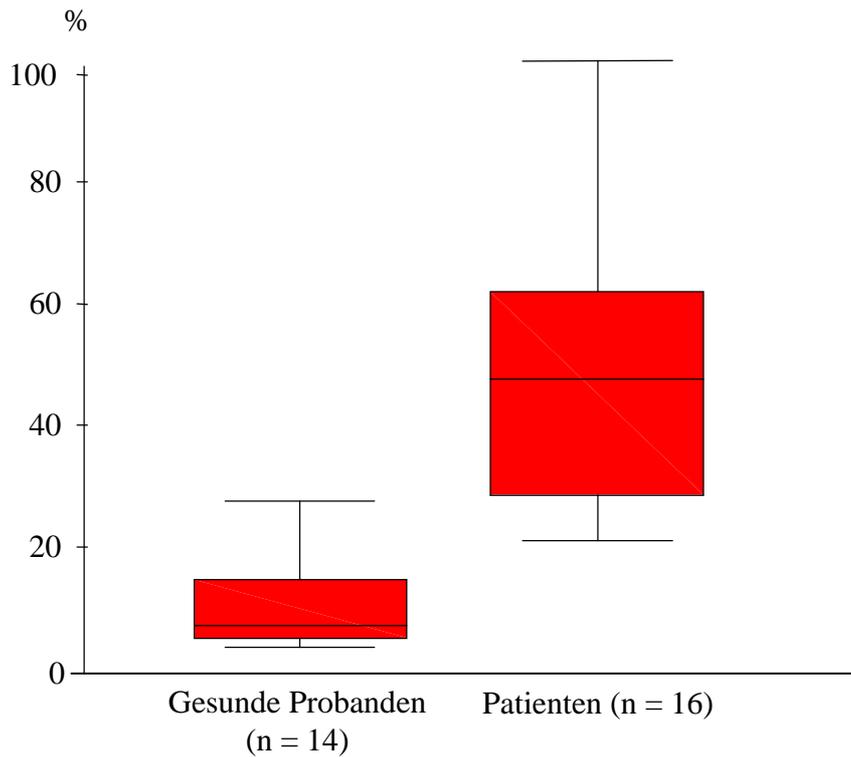
Mittelwerte des Plaquerindex in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen mit 95% Konfidenzintervall.

Anhang 1g

Gruppe	min	quartil 1	median	quartil 3	max	Mittel- wert	Standard- abw.
gesunde mittelamerikanische Probanden n = 14	0,035	0,05	0,07	0,145	0,275	0,10136	0,070321
mittelamerikanische Patienten n = 16	0,21	0,285	0,475	0,62	1	0,48275	0,228539
gesunde nordeuropäische Probanden n = 33	0	0,038	0,054	0,091	0,36	0,06506	0,074552
nordeuropäische Patienten n = 34	0	0,167	0,181	0,325	1	0,24591	0,226304

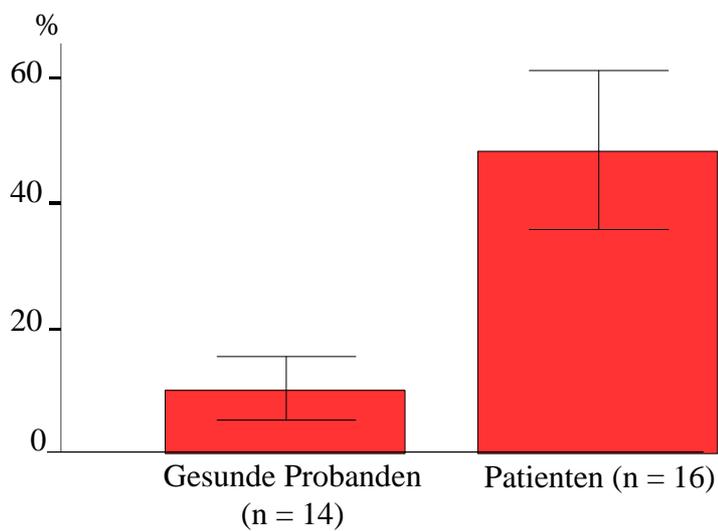
Papillenblutungsindex in den Gruppen (Werte in 1/100)

Die Tabelle zeigt die statistische Verteilung des Papillenblutungsindex der gesunden Probanden (n = 14; n = 33) und der Patienten (n = 16; n = 34) in Prozent. Angegeben sind jeweils Minimum (min), Maximum (max), Quartil 1 und 3 und der Median. Mittelwert und Standardabweichung.

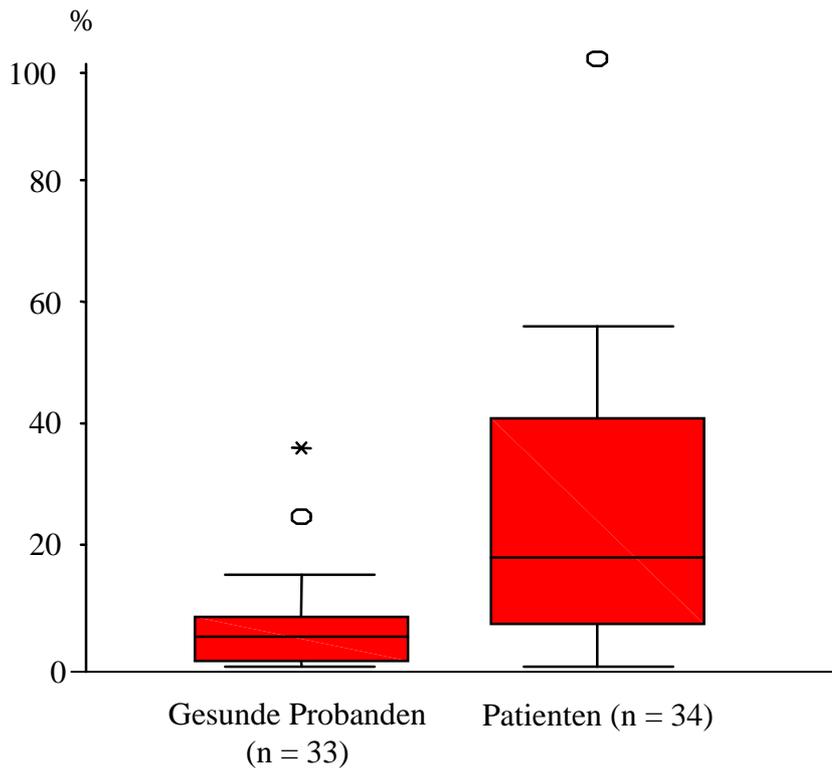


Papillenblutungsindex in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen

Papillenblutungsindex (PBI) der Gruppe der mittelamerikanischen Personen (gesunde Probanden n = 14; Patienten n = 16). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e.

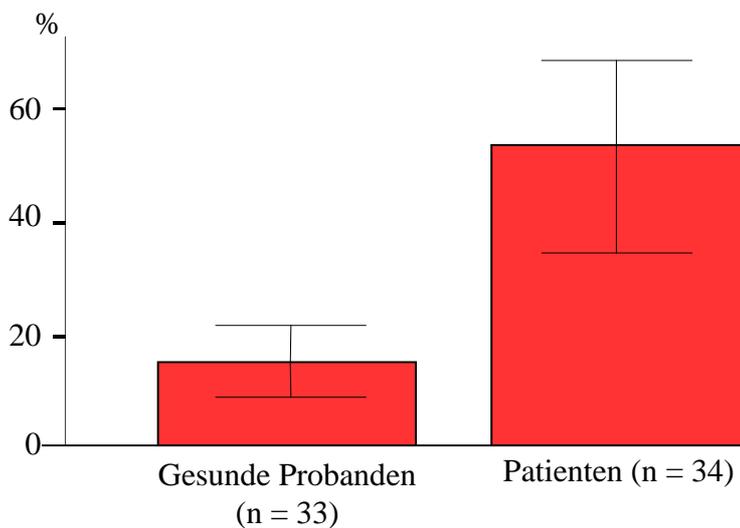


Mittelwert des Papillenblutungsindex der mittelamerikanischen Personen mit 95% Konfidenzintervall.



Papillenblutungsindex in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen

Papillenblutungsindex (PBI) der Gruppe der nordeuropäischen Personen (gesunde Probanden n = 33; Patienten n = 34). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e. Sternchen bezeichnen die Ausreißer.



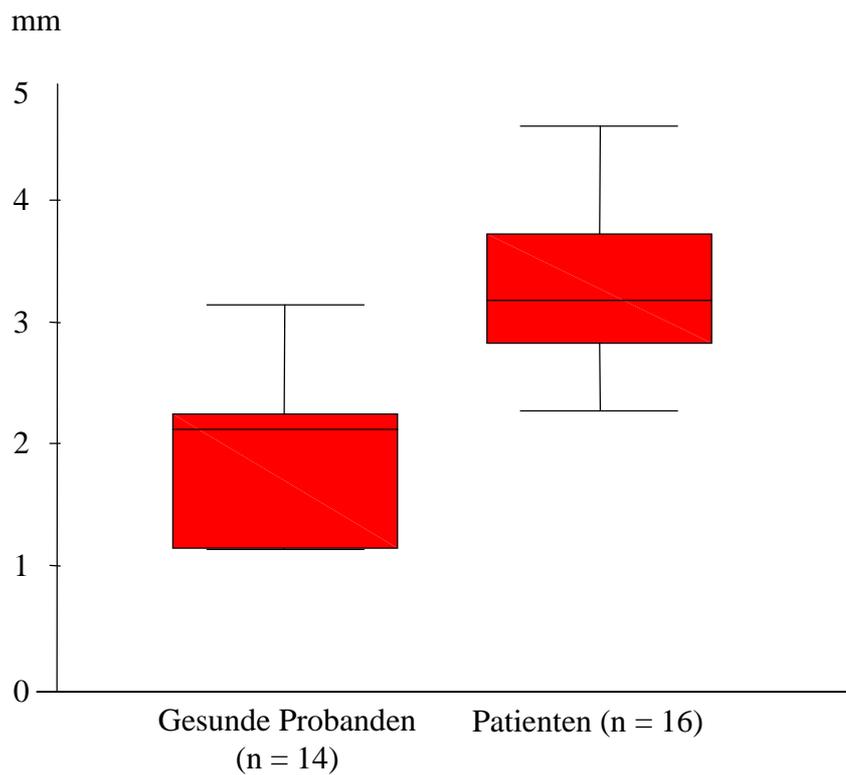
Mittelwert des Papillenblutungsindex der nordeuropäischen Personen mit 95% Konfidenzintervall.

Anhang 1h

Gruppe	Min	quartil 1	median	quartil 3	max	Mittel- wert	Standard- abw.
gesunde mittelamerikanische Probanden n = 14	1,13	1,14	2,115	2,24	3,14	1,8879	0,62773
mittelamerikanische Patienten n = 16	2,27	2,825	3,18	3,725	4,61	3,31	0,68202
gesunde nordeuropäische Probanden n = 33	1,42	1,729	1,76	1,907	2,42	1,8191	0,25252
nordeuropäische Patienten n = 34	1,51	3,202	3,36	3,946	6,75	3,5738	1,06537

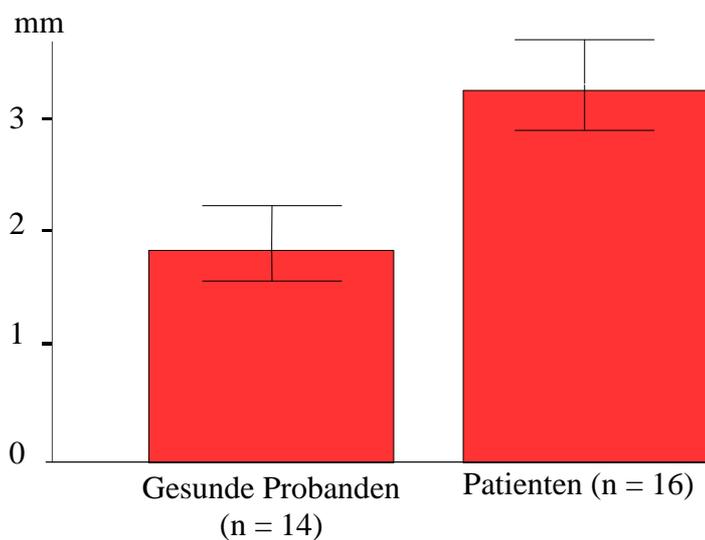
Mittelwert der Sondierungstiefen in den Gruppen (Werte in mm)

Die Tabelle zeigt die statistische Verteilung der Sondierungstiefen der gesunden Probanden (n = 14; n = 33) und der Patienten (n = 16; n = 34) in mm. Angegeben sind jeweils Minimum (min), Maximum (max), Quartil 1 und 3 und der Median, Mittelwert und Standardabweichung.

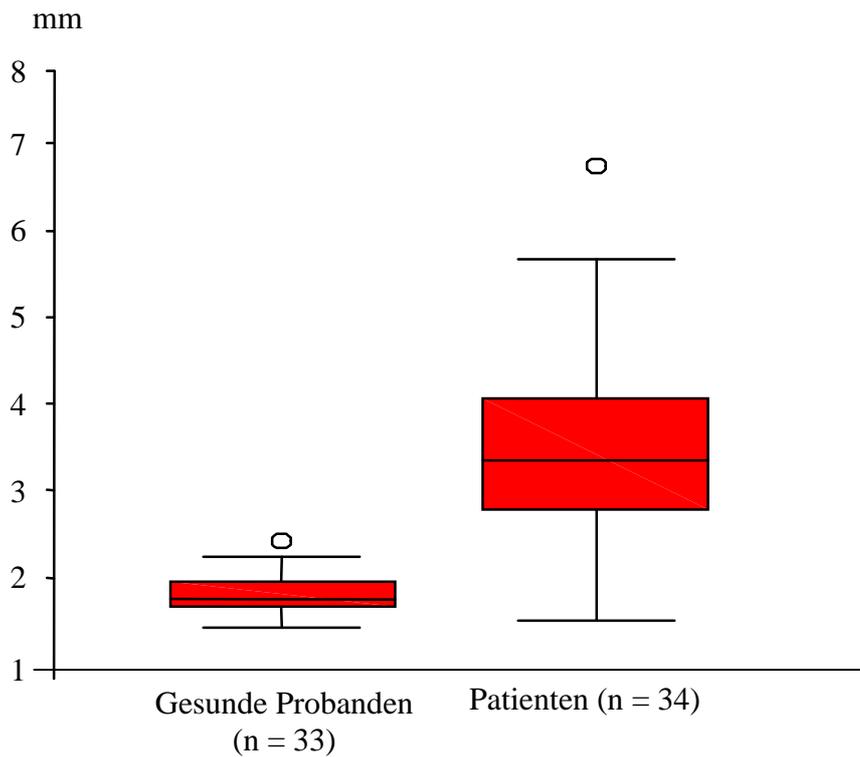


Sondierungstiefen in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen

Sondierungstiefen der Gruppe der mittelamerikanischen Personen (gesunde Probanden n = 14; Patienten n = 16). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e.

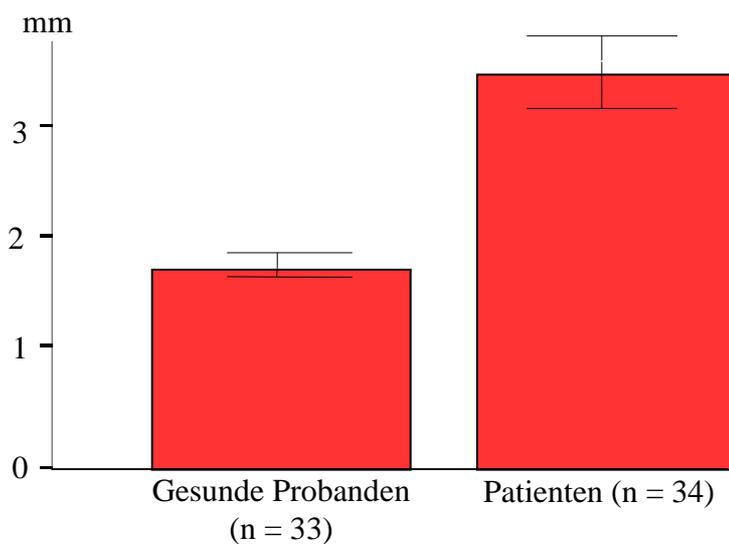


Mittelwert der Sondierungstiefen in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen mit 95% Konfidenzintervall.



Sondierungstiefen in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen

Sondierungstiefen der Gruppe der nordeuropäischen Personen (gesunde Probanden n = 33; Patienten n = 34). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e.



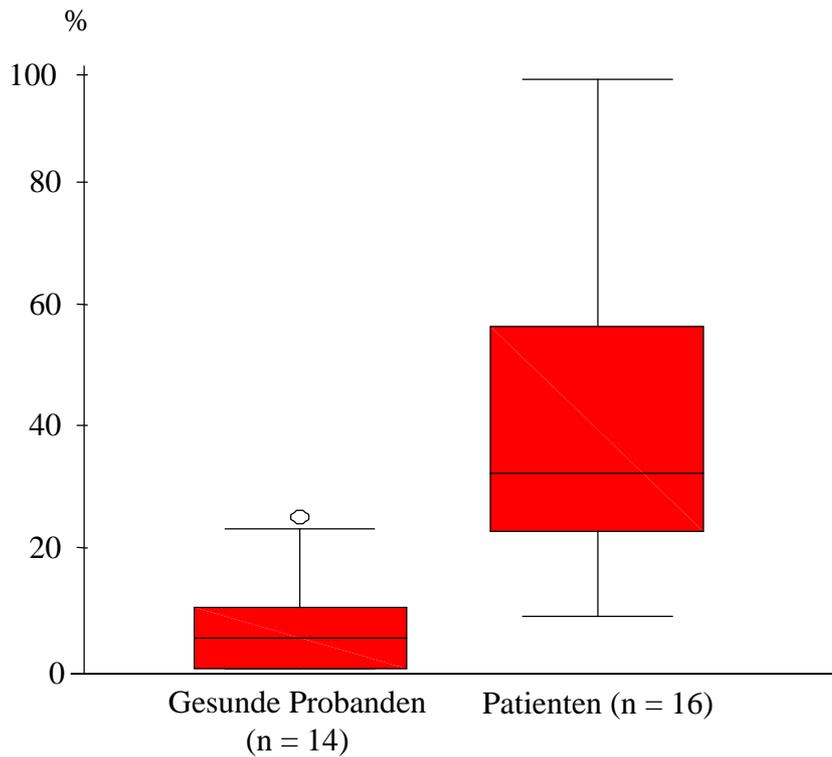
Mittelwert der Sondierungstiefen in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen mit 95% Konfidenzintervall.

Anhang 1i

Gruppe	min	quartil 1	median	quartil 3	max	Mittel- wert	Standard- abw.
gesunde mittelamerikanische Probanden n = 14	0	0	0,05	0,1	0,25	0,7007	0,083326
mittelamerikanische Patienten n = 16	0,087	0,227	0,321	0,564	0,97	0,39194	0,257805
gesunde nordeuropäische Probanden n = 33	0	0,045	0,054	0,09	0,245	0,0677	0,06424
nordeuropäische Patienten n = 34	0,083	0,37	0,523	0,553	1	0,46191	0,263311

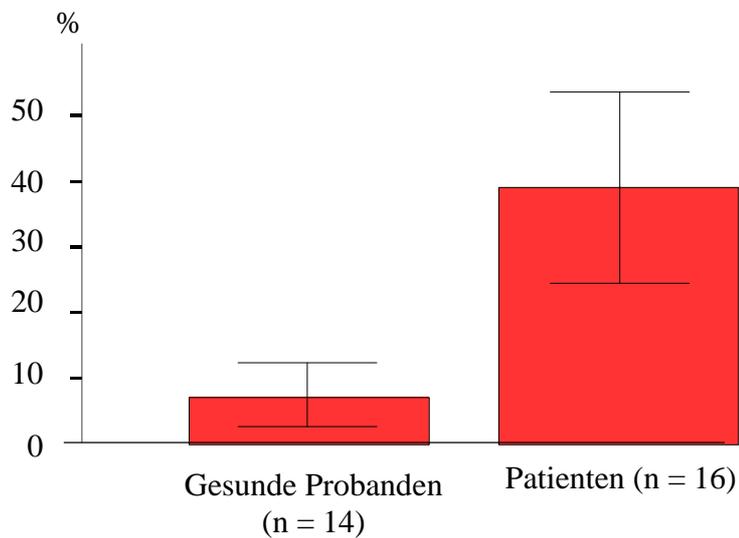
Sondierungsblutung in den Gruppen (Werte in 1/100)

Die Tabelle zeigt die statistische Verteilung der Sondierungsblutung der gesunden Probanden (n = 14; n = 33) und der Patienten (n = 16; n = 34) in Prozent. Angegeben sind jeweils Minimum (min), Maximum (max), Quartil 1 und 3 und der Median, Mittelwert und Standardabweichung.

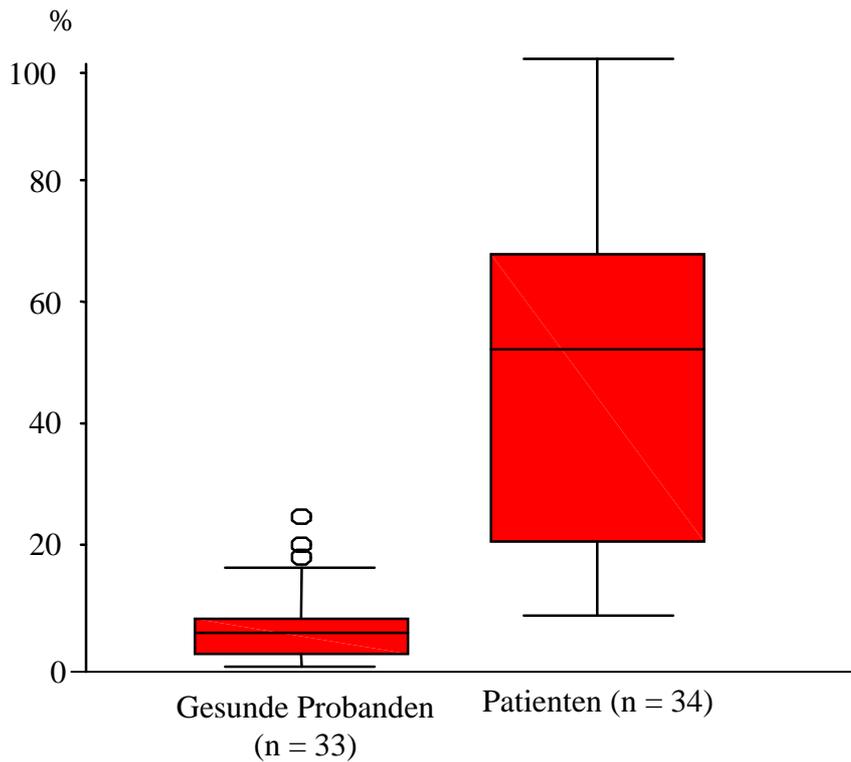


Sondierungsblutung in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen

Boxplot der Sondierungsblutung (BOP) der Gruppe der mittelamerikanischen Personen (gesunde Probanden n = 14; Patienten n = 16). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e.

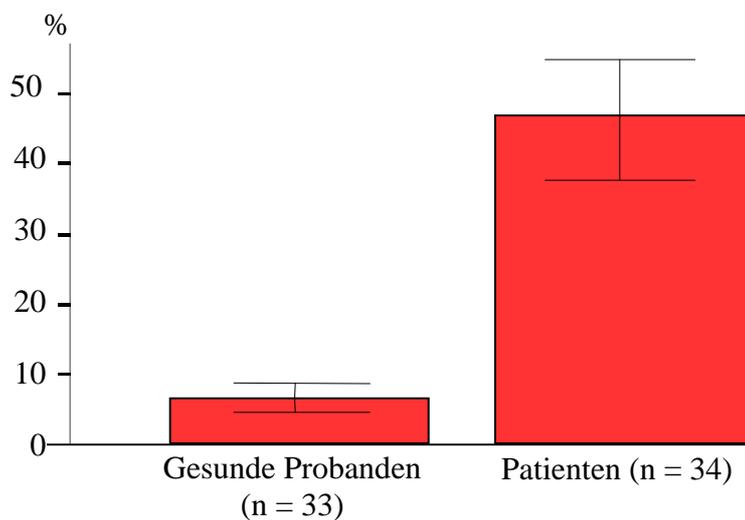


Mittelwert der Sondierungsblutung in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen mit 95% Konfidenzintervall



Sondierungsblutung in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen

Boxplot der Sondierungsblutung (BOP) der Gruppe der nordeuropäischen Personen (gesunde Probanden n = 33; Patienten n = 34). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e.



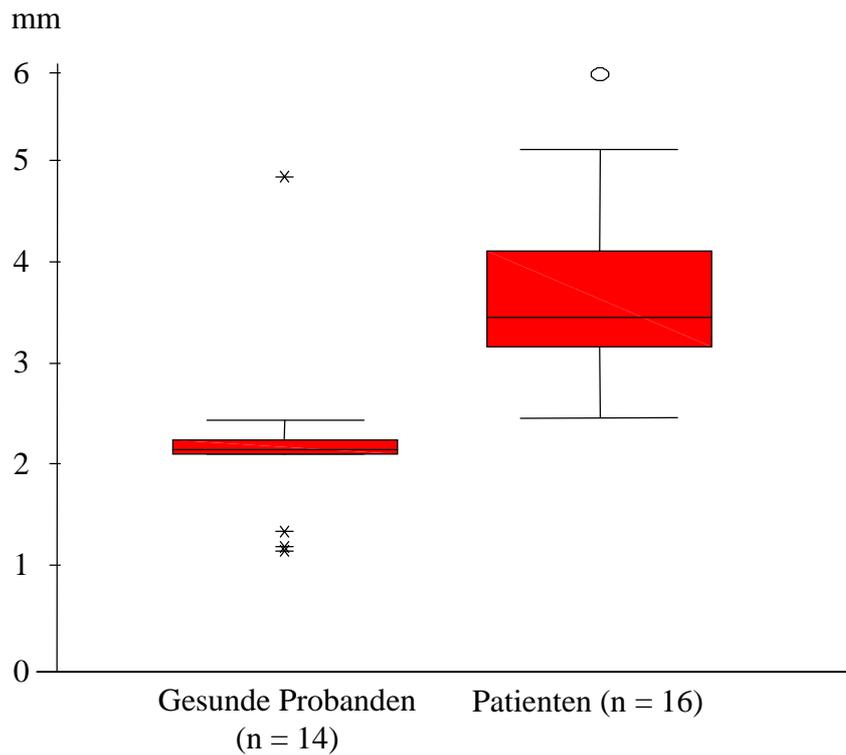
Mittelwert der Sondierungsblutung in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen mit 95% Konfidenzintervall

Anhang 1j

Gruppe	min	quartil 1	median	quartil 3	max	Mittel- wert	Standard- abw.
gesunde mittelamerikanische Probanden n = 14	1,140	2,100	2,140	2,240	4,840	2,1764	0,87402
mittelamerikanische Patienten n = 16	2,460	3,160	3,450	4,105	5,850	3,6656	0,89526
gesunde nordeuropäische Probanden n = 33	1,420	1,745	1,790	1,920	2,420	1,8327	0,24680
nordeuropäische Patienten n = 34	1,700	3,305	3,370	4,224	8,490	3,7644	1,31729

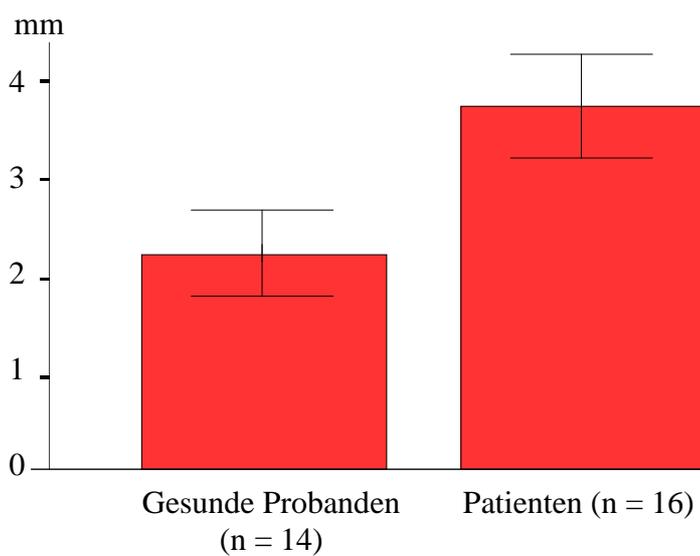
Mittelwert des klinischen Attachmentlevels in den Gruppen (Werte in mm)

Die Tabelle zeigt die statistische Verteilung des klinischen Attachmentlevels der gesunden Probanden (n = 14; n = 33) und der Patienten (n = 16; n = 34) in mm. Angegeben sind jeweils Minimum (min), Maximum (max), Quartil 1 und 3 und der Median, Mittelwert und Standardabweichung.

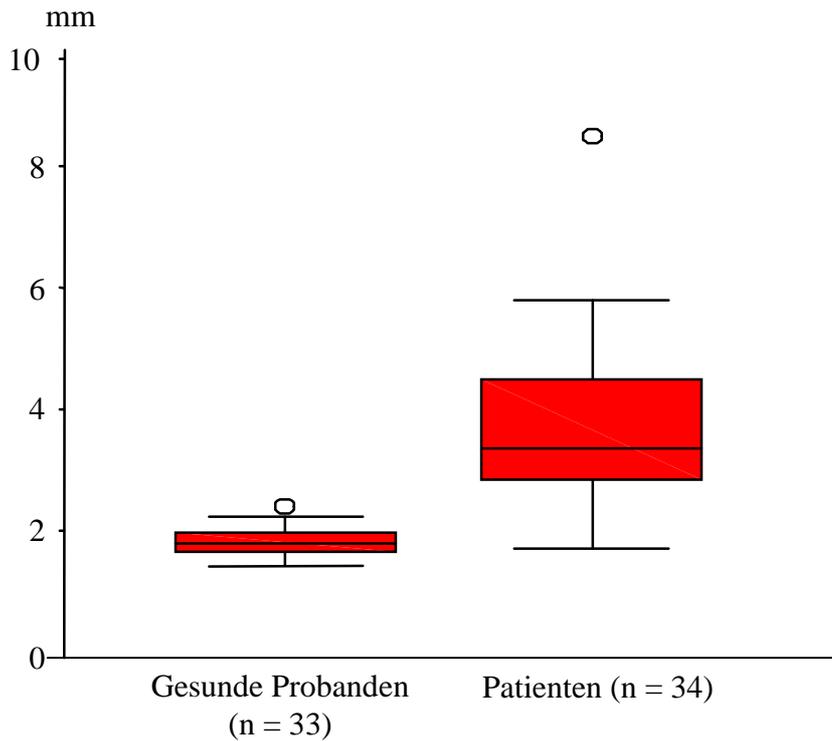


Klinischer Attachmentlevel in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen

Klinischen Attachmentlevels der Gruppe der mittelamerikanischen Personen (gesunde Probanden n = 14; Patienten n = 16). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e. Sternchen bezeichnen die Ausreißer.

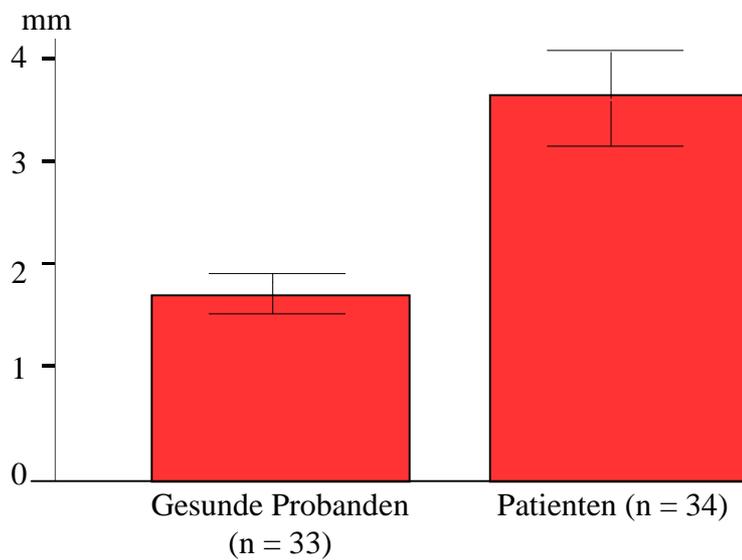


Mittelwert des Attachmentlevels in den beiden Gruppen der mittelamerikanischen Personen mit 95% Konfidenzintervall



Klinischer Attachmentlevel in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen

Klinischen Attachmentlevels der Gruppe der nordeuropäischen Personen (gesunde Probanden n = 33 Patienten n = 34). Einzelheiten der Boxplots Anhang 1e.



Mittelwert des Attachmentlevels in den beiden Gruppen der nordeuropäischen Personen mit 95% Konfidenzintervall.

Anhang 2a**Mittelamerikaner: Gruppe 0 = gesunde Probanden**ID = IdentifikationsnummerGeschlecht: 1 = männlich; 2 = weiblichIP = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp:

1,1 = B1,B1 (homozygot für das polymorphe Allel)

2,2 = B2,B2 (homozygot für das wild type Allel)

1,2 = B1,B2 (heterozygot)

PP = IL-4 C(-590)-T Polymorphismus – Genotyp:

1,1 = T,T (homozygot für das polymorphe Allel)

2,2 = C,C (homozygot für das wild type Allel)

2,1 = C,T (heterozygot)

Kombi = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp und IL-4 C(-590)-TPolymorphismus – Genotyp zusammen:

1 = IP – Genotyp B1,B1 4 = PP – Genotyp T,T

2 = IP – Genotyp B2,B2 5 = PP – Genotyp C,C

3 = IP – Genotyp B1,B2 6 = PP – Genotyp C,T

Gruppen	ID	Geschlecht	IP	PP	Kombi
0	1	1	2,2	1,2	2,6
0	2	1	2,2	1,2	2,6
0	3	1	1,1	1,1	1,4
0	4	1	1,2	1,2	3,6
0	5	1	1,2	1,2	3,6
0	6	1	1,1	1,1	1,4
0	7	2	2,2	1,2	2,6
0	8	1	1,2	1,2	3,6
0	9	1	2,2	1,2	2,6
0	10	2	1,2	1,2	3,6
0	11	2	2,2	1,2	2,6
0	12	2	2,2	1,2	2,6
0	13	2	1,1	1,1	1,4
0	14	1	1,2	1,2	3,6

Anhang 2b**Mittelamerikaner: Gruppe 1 = AP-Patienten**

ID = Identifikationsnummer

Geschlecht: 1 = männlich; 2 = weiblich

IP = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp:

1,1 = B1,B1 (homozygot für das polymorphe Allel)

2,2 = B2,B2 (homozygot für das wild type Allel)

1,2 = B1,B2 (heterozygot)

PP = IL-4 C(-590)-T Polymorphismus – Genotyp:

1,1 = T,T (homozygot für das polymorphe Allel)

2,2 = C,C (homozygot für das wild type Allel)

2,1 = C,T (heterozygot)

Kombi = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp und IL-4 C(-590)-TPolymorphismus – Genotyp zusammen:

1 = IP – Genotyp B1,B1 4 = PP – Genotyp T,T

2 = IP – Genotyp B2,B2 5 = PP – Genotyp C,C

3 = IP – Genotyp B1,B2 6 = PP – Genotyp C,T

Gruppen	ID	Geschlecht	IP	PP	Kombi
1	15	1	2,2	1,2	2,6
1	16	2	1,1	1,1	1,4
1	17	2	1,2	1,2	3,6
1	18	2	2,2	1,2	2,6
1	19	2	2,2	1,2	2,6
1	20	2	1,2	1,2	3,6
1	21	2	1,1	1,1	1,4
1	22	1	1,2	1,2	3,6
1	23	1	1,2	1,2	3,6
1	24	2	1,2	1,2	3,6
1	25	2	1,2	1,2	3,6
1	26	2	1,1	1,1	1,4
1	27	2	1,2	1,2	3,6
1	28	2	1,1	1,1	1,4
1	29	2	1,2	1,2	3,6
1	30	2	1,2	1,2	3,6

Anhang 3a**Nordeuropäer: Gruppe 0 = gesunde Probanden**ID = IdentifikationsnummerGeschlecht: 1 = männlich; 2 = weiblichIP = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp:

1,1 = B1,B1 (homozygot für das polymorphe Allel)

2,2 = B2,B2 (homozygot für das wild type Allel)

1,2 = B1,B2 (heterozygot)

PP = IL-4 C(-590)-T Polymorphismus – Genotyp:

1,1 = T,T (homozygot für das polymorphe Allel)

2,2 = C,C (homozygot für das wild type Allel)

2,1 = C,T (heterozygot)

Kombi = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp und IL-4 C(-590)-TPolymorphismus – Genotyp zusammen:

1 = IP – Genotyp B1,B1 4 = PP – Genotyp T,T

2 = IP – Genotyp B2,B2 5 = PP – Genotyp C,C

3 = IP – Genotyp B1,B2 6 = PP – Genotyp C,T

I3P = IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 – Genotyp:

2,2 = A2,A2 (homozygot für ein polymorphes Allel)

3,3 = A3,A3 (homozygot für ein polymorphes Allel)

1,1 = A1,A1 (homozygot für das wild type Allel)

1,2 = A1,A2 (heterozygot)

1,3 = A1,A3 (heterozygot)

2,3 = A2,A3 (heterozygot)

Kombi1 = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp und IL-4 GTDinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 – Genotyp zusammen:

1 = IP – Genotyp B1,B1 4 = I3P – Genotyp A2,A2

2 = IP – Genotyp B2,B2 5 = I3P – Genotyp A3,A3

3 = IP – Genotyp B1,B2 6 = I3P – Genotyp A1,A1

7 = I3P – Genotyp heterozygot (A1,A2; A1,A3; A2,A3)

Kombi2 = IL-4 C(-590)-T Polymorphismus – Genotyp und IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 – Genotyp zusammen:

1 = PP – Genotyp T,T 4 = I3P – Genotyp A2,A2

2 = PP – Genotyp C,C 5 = I3P – Genotyp A3,A3

3 = PP – Genotyp C,T 6 = I3P – Genotyp A1,A1

7 = I3P – Genotyp heterozygot (A1,A2; A1,A3; A2,A3)

Gruppen	ID	Geschlecht	IP	PP	Kombi	I3P	Kombi1	Kombi2
0	1	2	2,2	2,2	2,5	1,1	2,6	2,6
0	2	1	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
0	3	1	2,2	2,2	2,5	2,2	2,4	2,4
0	4	1	2,2	2,2	2,5	2,2	2,4	2,4
0	5	1	2,2	2,2	2,5	1,1	2,6	2,6
0	6	1	2,2	2,2	2,5	1,1	2,6	2,6
0	7	1	2,2	2,2	2,5	2,2	2,4	2,4
0	8	2	2,2	2,2	2,5	1,1	2,6	2,6
0	9	1	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
0	10	1	1,2	2,2	3,5	1,1	3,6	2,6
0	11	1	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
0	12	2	1,2	2,2	3,5	2,2	3,4	2,4
0	13	1	2,2	2,2	2,5	2,2	2,4	2,4
0	14	1	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
0	15	1	1,2	2,1	3,6	1,3	3,7	3,7
0	16	1	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
0	17	1	2,2	2,1	2,6	1,1	2,6	3,6
0	18	2	1,2	2,1	3,6	2,2	3,4	3,4
0	19	1	1,2	2,1	3,6	1,2	3,7	3,7
0	20	2	1,2	2,1	3,6	1,3	3,7	3,7
0	21	1	2,2	2,1	2,6	1,1	2,6	3,6
0	22	1	2,2	2,1	2,6	1,1	2,6	3,6
0	23	1	2,2	1,1	2,4	1,1	2,6	1,6
0	24	1	2,2	2,1	2,6	1,1	2,6	3,6
0	25	2	2,2	1,1	2,4	1,1	2,6	1,6
0	26	1	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
0	27	1	1,1	1,1	1,4	2,2	1,4	1,4
0	28	1	1,2	1,1	3,4	1,2	3,7	1,7
0	29	1	1,2	1,1	3,4	2,2	3,4	1,4
0	30	1	1,2	1,1	3,4	2,2	3,4	1,4
0	31	1	1,2	1,1	3,4	2,2	3,4	1,4
0	32	1	1,2	2,1	3,6	2,2	3,4	3,4
0	33	1	2,2	2,2	2,5	1,1	2,6	2,6

Anhang 3b**Nordeuropäer: Gruppe 1 = AP-Patienten**ID = IdentifikationsnummerGeschlecht: 1 = männlich; 2 = weiblichIP = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp:

1,1 = B1,B1 (homozygot für das polymorphe Allel)

2,2 = B2,B2 (homozygot für das wild type Allel)

1,2 = B1,B2 (heterozygot)

PP = IL-4 C(-590)-T Polymorphismus – Genotyp:

1,1 = T,T (homozygot für das polymorphe Allel)

2,2 = C,C (homozygot für das wild type Allel)

2,1 = C,T (heterozygot)

Kombi = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp und IL-4 C(-590)-TPolymorphismus – Genotyp zusammen:

1 = IP – Genotyp B1,B1 4 = PP – Genotyp T,T

2 = IP – Genotyp B2,B2 5 = PP – Genotyp C,C

3 = IP – Genotyp B1,B2 6 = PP – Genotyp C,T

I3P = IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 – Genotyp:

2,2 = A2,A2 (homozygot für ein polymorphes Allel)

3,3 = A3,A3 (homozygot für ein polymorphes Allel)

1,1 = A1,A1 (homozygot für das wild type Allel)

1,2 = A1,A2 (heterozygot)

1,3 = A1,A3 (heterozygot)

2,3 = A2,A3 (heterozygot)

Kombi1 = IL-4 70bp Repeat-Polymorphismus in Intron 2 – Genotyp und IL-4 GTDinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 – Genotyp zusammen:

1 = IP – Genotyp B1,B1 4 = I3P – Genotyp A2,A2

2 = IP – Genotyp B2,B2 5 = I3P – Genotyp A3,A3

3 = IP – Genotyp B1,B2 6 = I3P – Genotyp A1,A1

7 = I3P – Genotyp heterozygot (A1,A2; A1,A3; A2,A3)

Kombi2 = IL-4 C(-590)-T Polymorphismus – Genotyp und IL-4 GT Dinucleotid Repeat-Polymorphismus in Intron 3 – Genotyp zusammen:

1 = PP – Genotyp T,T 4 = I3P – Genotyp A2,A2

2 = PP – Genotyp C,C 5 = I3P – Genotyp A3,A3

3 = PP – Genotyp C,T 6 = I3P – Genotyp A1,A1

7 = I3P – Genotyp heterozygot (A1,A2; A1,A3; A2,A3)

Gruppen	ID	Geschlecht	IP	PP	Kombi	I3P	Kombi1	Kombi2
1	34	2	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	35	2	2,2	2,2	2,5	2,2	2,4	2,4
1	36	1	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	37	2	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	38	2	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	39	2	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	40	1	2,2	2,2	2,5	1,1	2,6	2,6
1	41	1	1,1	1,1	1,4	2,3	1,7	1,7
1	42	2	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	43	2	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	44	2	1,1	1,1	1,4	3,3	1,5	1,5
1	45	2	2,2	2,2	2,5	1,1	2,6	2,6
1	46	1	1,1	1,1	1,4	3,3	1,5	1,5
1	47	1	1,1	1,1	1,4	3,3	1,5	1,5
1	48	2	2,2	2,2	2,5	1,1	2,6	2,6
1	49	2	1,2	1,1	3,4	1,1	3,6	1,6
1	50	2	1,2	2,1	3,6	2,2	3,4	3,4
1	51	2	1,2	2,1	3,6	1,1	3,6	3,6
1	52	2	1,2	1,1	3,4	1,1	3,6	1,6
1	53	1	1,2	2,1	3,6	2,2	3,4	3,4
1	54	2	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	55	2	2,2	1,1	2,4	1,1	2,6	1,6
1	56	2	1,2	1,1	3,4	3,3	3,5	1,5
1	57	2	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	58	2	2,2	2,1	2,6	1,1	2,6	3,6
1	59	2	1,2	2,1	3,6	1,2	3,7	3,7
1	60	2	2,2	2,2	2,5	1,1	2,6	2,6
1	61	1	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	62	2	1,2	2,1	3,6	2,3	3,7	3,7
1	63	2	2,2	2,2	2,5	2,2	2,4	2,4
1	64	2	2,2	2,2	2,5	2,2	2,4	2,4
1	65	2	2,2	2,1	2,6	2,2	2,4	3,4
1	66	2	1,1	2,2	1,5	2,2	1,4	2,4
1	67	2	1,2	2,1	3,6	1,3	3,7	3,7

Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde des Klinikums
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Poliklinik für Parodontologie
Direktor: Prof. Dr. J. Meyle

Name, Vorname: _____

Geb.-Datum: _____

Grund Ihres Besuches: _____

Telefon Nr. privat: _____ dienstlich: _____

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient!

Sie suchen heute unsere Abteilung auf. Wir hoffen, Ihnen helfen zu können und bitten Sie deshalb, unseren Fragebogen sorgfältig auszufüllen.

Ihre Angaben werden absolut vertraulich behandelt (ärztliche Schweigepflicht!).

Viele Erkrankungen können Auswirkungen auf die zahnärztliche Behandlung haben. Hierzu gehören auch ansteckende Krankheiten wie z.B. die Leberentzündung (Hepatitis), Tuberkulose, Geschlechtskrankheiten oder HIV / AIDS. Um Ihre Mitpatienten und uns nicht zu gefährden, informieren Sie uns bitte sofort, wir treffen dann entsprechende Schutzmaßnahmen.

Sollten Sie Schwierigkeiten mit der Beantwortung einzelner Fragen haben, helfen wir Ihnen gerne.

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit!

Angaben über den allgemeinen Gesundheitszustand

Sind Sie zur Zeit in ärztlicher Behandlung? Wenn ja, weshalb?

Nehmen Sie zur Zeit irgendwelche Medikamente? Wenn ja, welche?

Leiden Sie an Allergien (z.B. Heuschnupfen, Hautausschlag nach Medikamenteneinnahme, etc)? Allergiepaß?

Wurden in den letzten 2 Jahren Röntgenaufnahmen angefertigt, oder Bestrahlungen durchgeführt? Wenn ja, welcher Art und durch wen? Röntgenpaß?

Leiden Sie an einer der folgenden Erkrankungen?

Falls ja, bitte markieren!

- | | |
|---|---|
| <input type="radio"/> hoher Blutdruck | <input type="radio"/> niedriger Blutdruck |
| <input type="radio"/> Herzleiden? Herzpaß | <input type="radio"/> Nierenleiden |
| <input type="radio"/> Lungenerkrankungen | <input type="radio"/> Nervenerkrankung |
| <input type="radio"/> Zuckerkrankheit | <input type="radio"/> Osteoporose |
| <input type="radio"/> Schilddrüsenkrankheit | <input type="radio"/> rheumat. Arthritis |
| <input type="radio"/> Anfallsleiden (z.B. Epilepsie) | <input type="radio"/> HIV / AIDS |
| <input type="radio"/> Lebererkrankungen | |
| <input type="radio"/> Leukämien (andere Blutzystemerkrankungen) | |
| <input type="radio"/> Infektionskrankheiten (Tuberkulose, Geschlechtskrankheiten) | |
- Haben Sie bei Verletzungen oder nach zahnärztlichen Behandlungen schon stärkere Blutungen beobachtet?
- Sonstige Erkrankungen? _____

- Für Patientinnen: Besteht zur Zeit eine Schwangerschaft?
 ja nein
Wenn ja, in welchem Monat? _____
- Nehmen Sie zur Zeit Kontrazeptiva („Pille“) oder andere Hormonpräparate?

- Rauchen Sie?
Wenn ja, wieviele Zigaretten täglich? _____
Seit wann? 5 Jahre 5-10 Jahre 10-15 Jahre länger

Ich verpflichte mich, Änderungen, die sich im Laufe der Behandlung ergeben, dem behandelnden Arzt mitzuteilen!

Gießen,

Datum_____
Unterschrift

Fragen zur Zahngesundheit! Bitte kurz angeben!

- Haben Sie Schmerzen an Zähnen oder Zahnfleisch?
Wenn ja, seit wann? _____
- Leiden Sie an Zahnfleischbluten?
Wenn ja, seit wann? _____
- Haben Sie eine Lockerung Ihrer Zähne festgestellt?
Wenn ja, seit wann? _____
- Haben Sie einen Zahn durch Lockerung verloren?
- Knirschen oder pressen Sie mit den Zähnen?
- Hatten Sie jemals einen Abszeß oder sonstige Infektionen im Zahn-, Mund- oder Kieferbereich?
- Wurden in den letzten 5 Jahren Zahnfleischbehandlungen durchgeführt?
Wenn ja, durch wen?

- Gehen Sie regelmäßig zum Zahnarzt? Wie oft pro Jahr?

- Wie oft reinigen Sie Ihre Zähne pro Tag?
 1x tägl. 2x tägl. 3x tägl. nach jeder Mahlzeit

Welche Hilfsmittel verwenden Sie zur Zahnreinigung?

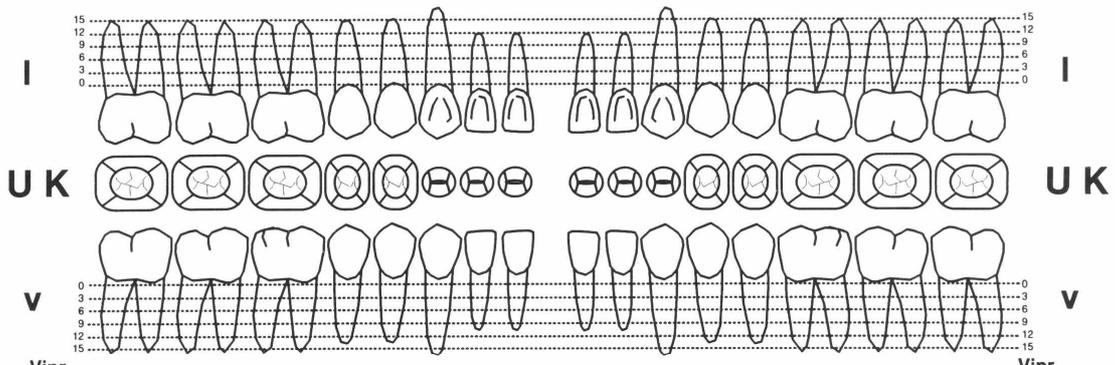
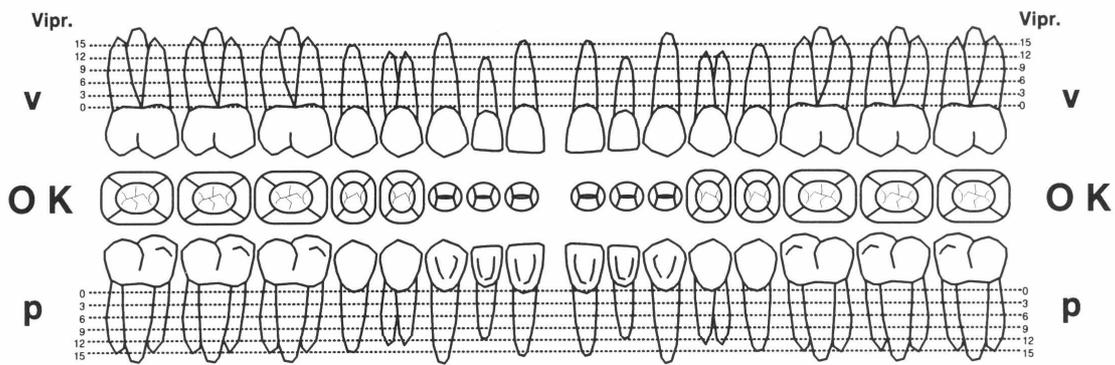
Bitte ankreuzen!

- | | immer | gelegentlich | nie |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <input type="radio"/> Zahnbürste | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| <input type="radio"/> Elektrische Zahnbürste | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| <input type="radio"/> Munddusche | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| <input type="radio"/> Zahncreme | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| <input type="radio"/> Zahnseide | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| <input type="radio"/> Interdentalbürste | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| <input type="radio"/> Zahnhölzchen | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| <input type="radio"/> Mundwasser / Spülung | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| <input type="radio"/> Sonstiges: _____ | | | |

PARODONTALSTATUS

Name :	Vorname :	Geb.dat.:
---------------	------------------	------------------

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	
Diagn.																	Diagn.
Progn.																	Progn.
akut																	akut
Belag																	Belag
Gingiva																	Gingiva
Lock.																	Lock.



Lock.																	Lock.
Gingiva																	Gingiva
akut																	akut
Belag																	Belag
Progn.																	Progn.
Diagn.																	Diagn.
	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	

Weitere Befunde : _____

Zentrum
für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
am Klinikum der Justus-Liebig-Universität
Abteilung Parodontologie
Leiter: Prof. Dr. J. Meyle
Schlangenzahl 14
D-35392 Gießen
Tel.: 0641/99-46192
Fax: 0641/99-46189

Einverständniserklärung

Hiermit erkläre ich meine Bereitschaft zur Blutentnahme zu rein wissenschaftlichen Untersuchungen im Rahmen der parodontologischen Behandlung. Ich wurde darüber informiert, daß meine zu diesem Zwecke gespeicherten Daten unter Berücksichtigung des geltenden Datenschutzes der Geheimhaltung unterliegen. Mir ist bekannt, daß ich diese Einwilligung jederzeit widerrufen kann.

Gießen, den _____

(Unterschrift der Patientin/des Patienten)

Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündliche Auskünfte beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Lebenslauf

Personalien:

Name: Andrea Kothe
Geburtsdatum: 13.09.1973
Geburtsort: Gelsenkirchen

Schulbildung:

1979 - 1983: Grundschule an der Georgstrasse
1983 - 1992: Schalker Gymnasium
Juni 1992: Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife

Beruflicher Werdegang:

01.09.1992 - 31.12.1992: Praktikantin im Knappschafts Krankenhaus
Bergmannsheil Buer
01.01.1993 - 02.06.1993: Freiwilliges soziales Jahr
01.06.1993 - WS 1996/97: Studium der Humanmedizin an der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster
SS 1997: Studium der Chemie an der Westfälischen Wilhelms-
Universität Münster
WS 1997/98 - WS 2001/02: Studium der Zahnmedizin an der Justus-Liebig-
Universität Giessen
17.06.1998 Naturwissenschaftliche Vorprüfung
15.09.1999 Zahnärztliche Vorprüfung
17.06.2002 Zahnärztliche Prüfung
21.06.2002: Erteilung der Approbation als Zahnärztin
01.08.2002 - 14.11.2002: Vorbereitungsassistentin (Schwangerschaftsvertretung)
in der Kieferorthopädischen-Praxis Dr. Wesemann / Dr.
Wüsten, Wetzlar

- 15.11.2002 - 17.02.2006: wissenschaftliche Mitarbeiterin (Zahnärztin) in der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik des Zentrums für ZMK der Justus-Liebig-Universität Giessen
- 01.03.2006 - 31.10.2007: Assistenz Zahnärztin in der Praxisgemeinschaft Dr. Hoffmann, Dr. Meierhofer, Dr. Grau und Einhoff in Düsseldorf
- seit 19.11.2007: Niedergelassen in der Ärztegemeinschaft Dr. Zech und Partner in Bonn

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich recht herzlich bedanken bei:

meinem Doktorvater

Prof. Dr. med. dent. Jörg Meyle

für die Überlassung des Themas und die fachliche Beratung,

Dr. Jörg Michel

für die Einführung in die Genetik und die ständige unermüdliche Betreuung meiner
experimentellen Arbeit,

Dr. med. dent. José Roberto Gonzales

für die fachliche Beratung während der Erarbeitung meiner Ergebnisse,

Dr. med. S.E. Gröger

für die unbürokratische und freundliche Betreuung bei der ergänzenden
experimentellen Arbeit,

PD Dr. med. Dagmar Nolte

für die spontane, unbürokratische, sehr freundliche und äußerst hilfreiche
Unterstützung bei fachlichen Fragen

Dr. R.-H. Boedeker

für die Beratung und Hilfe bei der Auswertung des statistischen Materials,

Diplom-Biologen Helge Hudel

für sein großes Verständnis und die freundliche, schnelle Unterstützung und
Beratung bei der Auswertung des statistischen Materials,

meinem Ehemann Philipp Heugel

für sein Interesse, seine Unterstützung und die andauernde Hilfsbereitschaft in allen
Lebenslagen,

meiner Familie

für die Ermöglichung meines Werdegangs und die tatkräftige Unterstützung zu jeder
Zeit.