

**Analyse von Polymorphismen der Interleukine 1, -4, -13 und des Fcγ-Rezeptors IIa bei Patienten mit aggressiver Parodontitis und einer Gruppe von parodontitisresistenten Probanden**

**Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin  
des Fachbereiches Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

**vorgelegt von Rathe, Florian  
aus Wetzlar in Hessen**

**Gießen 2007**

**Aus dem Zentrum für Zahn- Mund- und Kieferheilkunde  
Poliklinik für Parodontologie  
(Direktor: Prof. Dr. J. Meyle)  
Universitätsklinikum Gießen-Marburg GmbH, Standort Gießen**

**Gutachter: Professor Dr. J. Meyle**

**Gutachter: Professor Dr. S. Jepsen**

**Tag der Disputation: 23.04.2007**

1.0 Einleitung.....	1
2.0 Wissenschaftlicher Hintergrund .....	3
2.1 Klassifikation der Parodontitis .....	3
2.2 Pathogenese der Parodontitis .....	6
2.3 Der Einfluss der Zytokine IL-1, IL-4, IL13 und des Fcy Rezeptors II a auf die Pathogenese der Parodontitis .....	11
2.4 Einflüsse von Nukleotidpolymorphismen auf die Pathogenese der Parodontitis ....	18
2.5 Der Einfluss des Alters auf die Pathogenese der Parodontitis .....	23
2.6 Parodontitisresistente Individuen.....	27
3.0 Ziel der Studie .....	31
4.0 Material und Methoden.....	32
4.1 Studienprotokoll.....	32
4.2 Klinische und radiologische Untersuchungsmethoden .....	32
4.2.1 Eingangsuntersuchung.....	32
4.2.2 Röntgenanalyse.....	33
4.3 Studienpopulation.....	35
4.3.1 Patientenaufklärung.....	35
4.3.2 Ausscheiden aus der Studie .....	35
4.4 Gruppeneinteilung .....	36
4.4.1 Ein- und Ausschlusskriterien .....	36
4.4.1.1 Einschlusskriterien.....	36
4.4.1.2 Ausschlusskriterien.....	37
4.5 Laborparameter .....	38
4.5.1 Entnahme von Blut .....	38
4.5.2 Extraktion der DNA aus Blutzellen.....	38
4.6 PCR.....	39
4.6.1 PCR zur Bestimmung des Interleukin.1 $\alpha$ Polymorphismus .....	40
4.6.2 PCR zur Bestimmung des Interleukin 1 $\beta$ Polymorphismus .....	40
4.6.3 PCR zur Bestimmung des Interleukin 4 Polymorphismus.....	41
4.6.4 PCR zur Bestimmung des Interleukin 4 Polymorphismus.....	42
4.6.5 PCR zur Bestimmung des Interleukin 13 Polymorphismus.....	43
4.6.6 PCR zur Bestimmung des Interleukin 13 Polymorphismus.....	44
4.6.7 PCR zur Bestimmung des FcyRIIa-Polymorphismus (A $\rightarrow$ G an Stelle 131, was zu einem Wechsel der Aminosäuren Histidin zu Arginin im Protein führt) ...	44

4.7 Gelelektrophorese der PCR-Produkte .....	47
4.8 DNA Präzipitation .....	48
4.9 Restriktionsverdau.....	48
4.9.1 Restriktionsverdau IL-1 $\alpha$ (G $\rightarrow$ T an Stelle +4845).....	49
4.9.2 Restriktionsverdau IL-1 $\beta$ (C $\rightarrow$ T an Stelle +3954) .....	49
4.9.3 Restriktionsverdau IL- 4 (C $\rightarrow$ T an Stelle -590) in der Promotorregion ..	49
4.9.4 Restriktionsverdau IL-13 (G $\rightarrow$ A an Stelle +2044 in Exon 4).....	50
4.9.5 Restriktionsverdau IL-13 (C $\rightarrow$ T an Stelle -1112 in der Promotorregion) .....	50
4.10 Gelelektrophorese der Restriktionsprodukte .....	50
4.11 Statistische Auswertung .....	52
5.0 Ergebnisse.....	54
5.1 Grafische Darstellung der klinischen Parameter .....	55
5.1.1 Alter der Gruppen .....	55
5.1.2 Anzahl der Zähne in den Gruppen.....	56
5.1.3 Plaqueindizes der Gruppen .....	57
5.1.4 Papillenblutungsindizes der Gruppen .....	58
5.1.5 Sondierungsblutung in den Gruppen .....	59
5.1.6 Sondierungstiefen in den Gruppen .....	60
5.1.7 Attachmentlevel in den Gruppen .....	61
5.1.8 Klinische Daten der einzelnen Gruppen .....	64
5.2 Fotodokumentation.....	65
5.3 Grafische Darstellung der Genotyp- und Allelverteilungen .....	69
5.4 Genotyp - Profile .....	79
6.0 Diskussion .....	85
7.0 Zusammenfassung .....	93
8.0 Summary .....	95
9.0 Literaturverzeichnis .....	97
10.0 Anhang .....	114

## 1.0 Einleitung

Die Parodontitis ist eine multifaktorielle entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, die durch spezifische Mikroorganismen in der subgingivalen Plaque verursacht wird. Die Pathogenese der Parodontitis ist durch ein komplexes Zusammenspiel zwischen den die Erkrankung verursachenden Keimen und der Immunabwehr des Patienten gekennzeichnet. Die Effektivität der individuellen Immunabwehr beeinflusst das Ausmaß der parodontalen Destruktion.

Es ist bekannt, dass es Einflussfaktoren gibt, die die Entzündungsreaktion modifizieren und somit den Patienten für den Übergang von einer Gingivitis zur Parodontitis und für eine schwere und progrediente Form der Parodontitis prädisponieren. Zu diesen Risikofaktoren gehören Rauchen (Hyman & Reid 2003), Stress (Van Dyke & Sheilesh 2005) und systemische Erkrankungen, wie Diabetes mellitus (Southerland et al. 2006) und HIV (Alpagot et al. 2004).

Michalowicz et al. (1991) gelang es, in verschiedenen Zwillingsstudien eindeutig die Beteiligung genetischer Faktoren an der Pathogenese der chronischen Parodontitis und besonders an der Vielfalt der klinischen Symptome nachzuweisen.

Die aggressive Form der Parodontitis kann von der häufiger vorkommenden chronischen Form durch das Alter des Patienten bei Krankheitsbeginn, Verteilung bzw. Art der Läsionen, Infektion mit spezifischen Mikroorganismen sowie dem Missverhältnis zwischen Plaquemenge und dem Schweregrad der parodontalen Destruktion zum Alter unterschieden werden (Armitage 1999). Außerdem gibt es Evidenz, dass genetische Faktoren zu einer Anfälligkeit gegenüber der aggressiven Form der Parodontitis führen können, wobei die Rolle der Genetik in der Pathogenese der Parodontitis noch immer nicht eindeutig geklärt ist (Kinane et al. 1999, Diehl et al. 1999).

Die genetischen Faktoren, die für diese Erkrankung prädisponieren, modifizieren die Immunabwehrmechanismen, wodurch das pathogenetische Potential der Plaquebakterien bei diesen Patienten erhöht wird. Einige Studien konnten zeigen, dass diese Erkrankung familiär gehäuft auftritt (Van Dyke et al. 1985, Page et al. 1984). Wilson & Kalmar (1996) stellten die Hypothese auf, dass Polymorphismen des FcγRezeptor-IIa auf der Oberfläche von Phagozyten zu einer verminderten Phagozytoseaktivität von opsonierten Antigenen durch phagozytotische Zellen und somit zu einem schweren Verlauf der Parodontitis führen.

Kornman et al. (1997) zeigten in ihrer Studie, dass ein spezifischer Polymorphismus der IL-1  $\alpha$  und  $\beta$  Gene bei Nichtrauchern mit einer schweren Form der chronischen Parodontitis assoziiert ist.

Parkhill et al. (2000) konnten einen Zusammenhang zwischen dem nicht-polymorphen Allel des IL-1 $\beta$  und der aggressiven Parodontitis feststellen, wohingegen Hodge et al. (2001) dieses Ergebnis nicht bestätigen konnten.

Ein IL-4 Polymorphismus konnte jedoch von Michel et al. (2001) mit der aggressiven Parodontitis in Zusammenhang gebracht werden.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde der Einfluss der IL-1 $\alpha$  (G  $\rightarrow$  T an Stelle +4845), IL-1 $\beta$  (C  $\rightarrow$  T an Stelle +3954), IL-4 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -590 in der Promotorregion), IL-4 (Wiederholungspolymorphismus von 70 Basenpaaren in Intron 2), IL-13 (G  $\rightarrow$  A an Stelle +2044 in Exon 4), IL-13 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -1112 in der Promotorregion) und Fc $\gamma$ RIIa (A  $\rightarrow$  G an Stelle 131) Polymorphismen auf die aggressive Parodontitis untersucht. Dafür wurden 35 Patienten mit aggressiver Parodontitis (zwischen 18 und 35 Jahren), 22 parodontitisresistente Probanden höheren Alters (älter als 55 Jahre) und 29 jüngere (zwischen 18 und 25 Jahren) parodontal gesunde Probanden mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion auf die Polymorphismen der oben aufgeführten Zytokine und Rezeptoren untersucht. Von besonderem Interesse war dabei die Frage, wie sich die Polymorphismen auf die drei verschiedenen Untersuchungsgruppen verteilen.

## 2.0 Wissenschaftlicher Hintergrund

### 2.1 Klassifikation der Parodontitis

Die heutige Klassifikation der Parodontitis wurde 1999 auf einem internationalen Workshop zu diesem Thema festgelegt (Tab. 1). Bis dahin galt das 1989 auf dem World Workshop in Clinical Periodontics erstellte Klassifikationssystem (American Academy of Periodontology 1989).

Tabelle 1: Gegenüberstellung der alten und neuen Klassifikation

Klassifikation von 1989	Klassifikation von 1999
<b>A. Gingivale Erkrankungen</b> 1. Entzündliche Formen 2. Hyperplastische Formen	<b>A. Gingivale Erkrankung</b> 1. Plaqueinduzierte gingivale Erkrankung 2. Nicht plaqueinduzierte gingivale Erkrankung
<b>B. Adulte Parodontitis</b>	<b>B. Chronische Parodontitis</b> 1. Lokalisiert 2. Generalisiert
<b>C. Früh beginnende Parodontitis</b> 1. Präpubertäre Parodontitis 2. Lokalisierte juvenile Parodontitis 3. Schnell fortschreitende Parodontitis	<b>C. Aggressive Parodontitis</b> 1. Lokalisiert 2. Generalisiert
<b>D. Refraktäre Parodontitis</b>	<b>D. Keine Kategorie</b>
<b>E. Gingivoparodontale Manifestationen systemischer Erkrankungen</b> 1. Stoffwechselerkrankungen 2. Funktionsstörung o. Chemotaxisdefekt von neutrophilen Granulozyten und Monozyten 3. Hämatologische Erkrankungen 4. Systemische Erkrankungen mit dermatologischem Bezug 5. Gingivoparodontale Manifestation viraler Erkrankungen 6. Gingivoparodontale Teilaspekte bei genetisch bedingten Syndromen	<b>E. Parodontitis als Manifestation systemischer Erkrankungen</b> 1. In Verbindung mit hämatologischen Erkrankungen 2. In Verbindung mit genetischen Erkrankungen 3. Nicht anderweitig spezifiziert

<b>F. Keine eigene Kategorie</b>	<b>F. Nekrotisierende parodontale Erkrankung</b> <b>1. Nekrotisierende ulzerierende Gingivitis</b> <b>2. Nekrotisierende ulzerierende Parodontitis</b>
<b>G. Keine Kategorie</b>	<b>G. Abszesse des Parodontiums</b> <b>1. Gingivale Abszesse</b> <b>2. Parodontale Abszesse</b> <b>3. Perikoronale Abszesse</b>
<b>H. Keine Kategorie</b>	<b>H. Parodontitis assoziiert mit endodontalen Läsionen</b> <b>1. Kombinierte parodontal-endodontale Läsionen</b>
<b>I. Traumatogene Formen</b> <b>1. Verletzung der Gingiva</b> <b>2. Desmodontales Trauma</b>  <b>J. Involutive Formen</b> <b>1. Parodontale Rezessionen</b> <b>2. Alveolaratrophie</b>	<b>I. Erworbene oder angeborene Deformitäten</b> <b>1. Lokalisierte zahnabhängige Faktoren, die modifizierend o. prädisponierend auf plaque-induzierte Gingivitiden/Parodontiden wirken</b> <b>2. Mukogingivale Deform. der zahnlosen Kieferabschnitte</b> <b>3. Okklusales Trauma</b>

Das alte Klassifikationssystem weist verschiedene Defizite auf, so zum Beispiel Überschneidungen zwischen Krankheitskategorien und das Fehlen eindeutiger Klassifikationskriterien. Darüber hinaus wurden in der alten Klassifikation Alter und Krankheitsprogression als Klassifikationskriterien herangezogen.

In der Klassifikation von 1989 waren die gingivalen Läsionen nicht aufgeführt, dem wurde durch eine detaillierte Klassifikation der gingivalen Erkrankungen in die Gruppen der Plaque-induzierten und nicht Plaque-induzierten Gingivitiden, Abhilfe geschaffen (Armitage 1999).

Außerdem wurde die Erkrankungsform der adulten Parodontitis in ihrer Bezeichnung durch den Ausdruck der chronischen Parodontitis ersetzt, da epidemiologische Daten und klinische Erfahrung zeigen, dass diese Erkrankungsform nicht nur bei Erwachsenen, sondern auch bei Kindern und Jugendlichen auftreten kann

(Papapanou 1996). Die Teilnehmer des internationalen Workshops einigten sich jedoch hauptsächlich deshalb auf diesen Ausdruck, da er den Charakter dieser Erkrankungsform, die traditionell als langsam voranschreitend beschrieben wird (Brown & Loe 1993), am zutreffendsten widerspiegelt.

Die chronische Parodontitis ist eine bakteriell bedingte Erkrankung des Zahnhalteapparates. Die Pathogenese wird durch Rauchen (Hyman & Reid 2003), Stress (Van Dyke & Sheilsh 2005) und systemische Erkrankungen, wie Diabetes mellitus (Southerland et al. 2006) und HIV (Alpagot et al. 2004) negativ beeinflusst. Je nach Anzahl der erkrankten Stellen unterscheidet man die lokalisierte- von der generalisierten Form. Wie oben bereits dargestellt verlaufen Attachmentverlust und Knochendestruktion in den meisten Fällen langsam und können nur durch eine adäquate Therapie aufgehalten werden (Lindhe 1999).

Die Bezeichnung „Early-Onset-Periodontitis“ (EOP) wurde in der Klassifikation von 1989 als ein Sammelbegriff für eine Reihe verschiedener destruktiver Parodontalerkrankungen (präpubertäre, juvenile und schnell voranschreitende Parodontitis) junger Patienten benutzt (Armitage 1999). Man einigte sich 1999 auf die Bezeichnung aggressive Parodontitis (Tonetti 1999). Die aggressive Parodontitis zeichnet sich durch einen schnell voranschreitenden Attachmentverlust in Kombination mit einer rasch voranschreitenden Knochendestruktion aus, wobei der Patient, abgesehen von seiner parodontalen Erkrankung, systemisch gesund ist. Außerdem zeigt die aggressive Parodontitis eine familiäre Häufung (Marazita et al. 1994) und der Krankheitsbeginn tritt bis zum 35. Lebensjahr auf. Die Plaquemenge korreliert nicht mit dem Schweregrad der parodontalen Destruktion, wobei in der subgingivalen Plaque verstärkt *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.), weniger häufig *Porphyromonas gingivalis* (P.g.) nachzuweisen sind. Um die Diagnose der aggressiven Parodontitis zu stellen, müssen nicht alle oben aufgeführten Kriterien erfüllt sein. Die Diagnose kann auch auf klinischen, radiologischen oder anamnestischen Daten beruhen (Armitage 1999). Weiterhin unterscheidet man auch hier die lokalisierte von der generalisierten Form der aggressiven Parodontitis, wobei die lokalisierte Form meist in der Pubertät beginnt und auf die Inzisivi und die ersten Molaren begrenzt ist. Bei der generalisierten Form sind mehrere, mindestens jedoch 2 Zähne außer der Inzisivi und der ersten Molaren befallen (Lang 1999).

Nach der Klassifikation von 1989 gab es eine eigenständige Diagnose der refraktären Parodontitis. Wegen der Vielzahl an klinischen oder therapeutischen Bedingungen, unter welchen eine effektive Therapie fehlschlägt und wegen der Tatsache, dass therapieresistente Erkrankungen in allen Formen der Parodontitis vorkommen, beschlossen die Teilnehmer des Workshops von 1999 die refraktäre Parodontitis als eigenständige Erkrankung nicht mehr zu akzeptieren (Armitage 1999).

Die vorliegende Studie unterliegt der Klassifikation von 1999, die in den Quellentexten verwendete alte Nomenklatur wurde in die heute gültige Klassifikation überführt.

## 2.2 Pathogenese der Parodontitis

Die Parodontitis ist definitionsgemäß eine entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, die meist aus einer Gingivitis hervorgeht.

Der entscheidend bestimmende Faktor für das Ausmaß der parodontalen Destruktion ist die Wirtsantwort auf die Herausforderung durch die Plaque mit ihrem mehr oder weniger großen Potential an parodontopathogenen Keimen (Seymour 1991). Die wichtigsten dieser hauptsächlich gramnegativen, anaeroben Mikroorganismen sind *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.), *Prophyromonas gingivalis* (P.g.), *Tannerella forsythensis* (T.f.), *Prevotella intermedia* (P.i.) und *Fusobacterium nucleatum* (F.n.) (Haffajee et al. 1994). Wolff et al. (1993) beschrieben eine lineare Beziehung zwischen der Anzahl von *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* und der Taschentiefe. Die Anwesenheit von *T. forsythensis* und *P. gingivalis* in einer parodontalen Tasche steigert das Risiko von Knochenresorptionen um das 2,5fache (Grossi et al. 1995), Rauchen wiederum steigert das Risiko einer *T. forsythensis* Infektion um das 2,3fache (Zambon et al. 1996).

Die subgingivale Mikroflora enthält Enzyme und Endotoxine gramnegativer Bakterien. Bei den Enzymen handelt es sich unter anderem um Proteasen, Kollagenasen und Hyaluronidasen (Slots 1979), die mit den Lipopolysacchariden (LPS) zu einer direkten Schädigung der Wirtszellen des Parodontiums führen (Slots 1979). Durch die Schädigung der Wirtszellen kommt es zur Aktivierung der angeborenen Immunabwehr, durch Antigenkontakt von Makrophagen zur Aktivierung des Komplementsystems, sowie zur Antigenpräsentation und T-Zellproliferation.

Die Aktivierung der Komplementfaktoren führt zur Bildung von Steuersubstanzen für die lokale Entzündungsreaktion. Faktoren, die bei der Aktivierung der 3. Komponente, C3, abgeschieden werden, induzieren eine erhöhte Gefäßpermeabilität und verstärken die Phagozytoseaktivität der neutrophilen Granulozyten und Phagozyten (Frank et al. 1991). Diese chemotaktische Reaktion veranlasst neutrophile Granulozyten und Monozyten aus dem Gefäßsystem in das benachbarte Bindegewebe auszutreten, durch Saum- und Sulkusepithel in den Sulkus zu wandern, wo sie einen Leukozytenwall zwischen Epithel und Plaque errichten (Zambon et al. 1996). Neutrophile Granulozyten und Makrophagen stellen die erste schnell einsetzende aber unspezifische Abwehr bei der parodontalen Entzündung dar.

Gelingt es der Wirtsabwehr unverzüglich ausreichend schützende Antikörper in ausreichender Menge hervorzubringen und die ins Gewebe eindringenden Antigene zu beseitigen, verläuft die Entzündung oberflächlich und eine Gewebedestruktion kann verhindert werden (Seymour 1991).

Die Parodontitis entwickelt fast immer aus einer Gingivitis, jedoch nicht aus jeder Gingivitis entwickelt sich zwangsläufig eine Parodontitis (Saxe et al. 1967). Bei einer Gingivitis ist der Lymphozytentiter nur minimal erhöht oder entspricht dem Serumniveau (Kabashima et al. 1991), wobei vornehmlich T-Lymphozyten im Infiltrat gefunden werden. Der Übergang von einer Gingivitis zur Parodontitis entspricht dem Übergang von einer T-Zell dominierten Läsion zu einer B-Zell dominierten Läsion (Page & Schröder 1976). Plombas et al. (2002) konnten zeigen, dass in der Sulkusflüssigkeit von Patienten mit fortgeschrittener Parodontitis ein erhöhter Level an spezifischen Antikörpern nachweisbar ist. Bei initialer Parodontitis hingegen konnte kein oder nur minimal erhöhter Antikörpertiter nachgewiesen werden (Tanner et al. 2000).

Es werden bei T-Lymphozyten Subpopulationen gefunden, die sich phänotypisch und funktionell voneinander unterscheiden. Als T-Lymphozyt jedoch besitzen sie alle eine gemeinsame Oberflächenstruktur, die als CD3 (CD = Cluster of Differentiation) bezeichnet und serologisch nachgewiesen werden kann (Ikede & Coulie 1997). Dieses und die anderen, für die jeweilige T-Zell-Subpopulation charakteristischen Oberflächenantigene (Marker), sind in folgender Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 2: Oberflächenmarker der T-Lymphozyten

Funktion der Zelle	CD3	CD4	CD8
TH-Zellen	+	+	-
Cytotoxische T-Zellen/ Suppressor T-Zellen	+	-	+

Als Oberflächenmarker lassen sich zuerst CD4- und CD8-Antigene zusammen auf einer Zelle nachweisen, die unreifen T-Lymphozyten sind diesbezüglich doppelpositiv.

Schon früh, während der Phase der Antigenpräsentation und T-Zell Proliferation, differenzieren sich zwei verschiedene Formen von T-Helferzellen (TH1 und TH2 Zellen) aus TH-Vorläuferzellen. TH1 und TH2 Zellen setzen verschiedene Arten von Zytokinen frei. TH1- Zellen sezernieren IL-2, IFN- $\gamma$  und aktivieren so die angeborene, monozytische und proinflammatorische Immunreaktion, TH2-Zellen exprimieren IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10, was zu einer Immunantwort des adaptiven Immunsystems führt (Offenbacher et al. 1996). Welche der beiden TH-Zellgruppen stimuliert werden und was die Voraussetzung für eine TH1- oder TH2- Zellreaktion ist, konnte bisher noch nicht genau nachgewiesen werden. Einige Autoren vermuten, dass die biochemische Struktur des Antigens und dessen Konzentration dabei eine entscheidende Rolle spielen (Offenbacher et al. 1994, Berglundh & Lindhe 2002).

Es sind jedoch nicht nur die bakteriellen Antigene für die Stimulation einer der beiden CD4-T- Zellgruppen verantwortlich, sondern auch die von TH1- und TH2- Zellen freigesetzten Zytokine selbst wirken aktivierend oder hemmend auf eine der beiden Gruppen. Zum Beispiel bewirkt IFN- $\gamma$ , dass sich TH-Vorläuferzellen zu TH1-Zellen differenzieren (Gajewski et al. 1989) und IL-4 unterstützt die Differenzierung von TH-Vorläuferzellen in TH2- Zellen (Swain 1991).

Nach Stimulation von TH1- Zellen kommt es zur Freisetzung von IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  beeinträchtigt die Funktion der TH2- Zellen und verhindert somit die Differenzierung von B-Lymphozyten in Immunglobulin produzierende Plasmazellen (Gemmell et al. 2002).

Diese Immunreaktion, die eine klonale Expansion von TH1- Zellen fördert, induziert eine lokalisierte Freisetzung von IFN- $\gamma$  und dadurch eine entzündliche Makrophagenreaktion (Page 1991).

Makrophagen sind wichtige Effektorzellen der angeborenen Immunabwehr im Gewebe, die, ausgelöst durch den Kontakt mit bakteriellen Lipopolysacchariden (LPS), eine Vielzahl von Zytokinen freisetzen, darunter unter anderem Interleukin  $1\alpha$  und  $\beta$  (IL- $1\alpha/\beta$ ) (Stashenko & Obernesser 1991), Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Salvi et al. 1997), Interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) (Page 1991), sowie Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) (Offenbacher et al. 1994).

IL- $1\beta$  ist ein pluripotentes Zytokin, das während einer Entzündungsreaktion Einfluss auf andere Mediatoren hat und viele biologische Abläufe steuert. IL- $1\beta$  aktiviert u.a. bei Monozyten und Fibroblasten eine verstärkte Freisetzung von PGE<sub>2</sub> und Matrixmetalloproteasen (MMP) (Birkedal-Hansen 1993), steigert die Kollagenaseproduktion von Fibroblasten und hemmt ihre Kollagensynthese (Stashenko & Jandinski 1991). Weiter wirkt IL- $1\beta$  aktivierend auf Osteoklasten und führt somit zur Knochendestruktion (Stashenko et al. 1987).

PGE<sub>2</sub> ist ein Metabolit der Arachidonsäure, es wirkt vasodilatierend und permeabilitätssteigernd, was zu Rötung und Ödemen führt. Darüber hinaus wird es von Makrophagen und besonders gingivalen Fibroblasten nach Stimulation mit bakteriellen Lipopolysacchariden und IL- $1\beta$  freigesetzt (Kamagata et al. 1989). PGE<sub>2</sub> stimuliert bei Monozyten die Freisetzung von MMP, aktiviert den Abbau von Bindegewebe und die osteoklastische Knochenresorption und ist somit für den Attachmentverlust verantwortlich (Birkedal-Hansen 1993).

PGE<sub>2</sub>, IL- $1\beta$  und TNF- $\alpha$  stimulieren die Freisetzung von MMP bei Makrophagen und Fibroblasten. Die MMP werden zu den metabolischen Endprodukten einer Entzündung gezählt, die in der Lage sind, die extrazelluläre Matrix systematisch abzubauen (Birkedal-Hansen 1993). Damit schaffen sie Platz für das sich apikal ausbreitende Entzündungsinfiltrat, der mikrobielle Biofilm kann sich somit ebenfalls apikal ausbreiten. Der Schweregrad der Parodontitis steht in der Beziehung zum Ausmaß der Entzündungsreaktion, repräsentiert durch die Produktion von PGE<sub>2</sub>, IL- $1\beta$  und TNF- $\alpha$  (Shapira et al. 1994).

Bei einer TH2-Zellaktivierung werden die Zytokine IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10 sezerniert, welche die Differenzierung von B-Lymphozyten zu Antikörper produzierenden

den Plasmazellen induzieren sowie eine entzündliche Makrophagenaktivierung unterdrücken. Die von den Plasmazellen freigesetzten Immunglobuline schützen den Wirt unter anderem durch Hemmung der bakteriellen Adhärenz, Inaktivierung der bakteriellen Toxine und Opsonierung der Antigene (Offenbacher et al. 1994). Gemell et al. (2002) vermuten, dass die Dominanz von TH1- oder TH2- Zellen und das jeweilig freigesetzte Zytokinprofil in der parodontalen Läsion entscheidend einerseits für die Bildung schützender Antikörper, andererseits für das Ausmaß der gewebezerstörenden progressiven Entzündungsreaktion und somit für den Verlauf der Erkrankung sind.

Zusammenfassend kann man bei der Parodontitis vom komplexen Zusammenspiel aus einer Vielzahl mikrobieller Virulenzfaktoren und der Immunabwehr des Patienten sprechen. Die Plaquebakterien und besonders die parodontalen Pathogene sind ursächlich für die Entzündungsreaktion des Parodontiums und somit für die Initiation der Parodontitis verantwortlich. Der Zeitpunkt des Krankheitsbeginns, das klinische Erscheinungsbild, der Schweregrad der Erkrankung und ihre Progression sind von der Immunabwehr auf die bakterielle Infektion abhängig. Bei der Parodontitis handelt es sich um eine multifaktorielle Erkrankung, so gibt es Faktoren, die die Immunabwehr modifizieren und somit den Patienten für eine schwere und progrediente Form der Parodontitis prädisponieren.

Zu diesen Einflussfaktoren gehören Rauchen, Stress (Zambon et al. 1996, Horning et al. 1992) und systemische Erkrankungen, wie z.B. Diabetes mellitus und HIV (Hayden & Buckley 1989). Genetische Einflussfaktoren (Michalowicz 1993, Michalowicz 1994), wie genetisch bedingte Leukozytendefekte und genetisch beeinträchtigte Phagozytoseaktivität der neutrophilen Granulozyten, werden seit Beginn der 90er Jahren intensiv erforscht. Einige Autoren (Eklund & Burt 1994, Burt 1992) werten auch das Alter als Risikofaktor für die parodontale Erkrankung. All diese Faktoren erhöhen das Risiko an Parodontitis zu erkranken und erschweren eine erfolgreiche Therapie.

### **2.3 Der Einfluss der Zytokine IL-1, IL-4, IL13 und des Fc $\gamma$ Rezeptors II a auf die Pathogenese der Parodontitis**

Zytokine spielen eine wichtige Rolle bei der parodontalen Entzündung und Destruktion. Zytokine sind Proteine mit einem niedrigen Molekulargewicht, die die immunoinflammatorischen Reaktionen der Parodontitis beeinflussen. Die Wirkungsweise einzelner Zytokine in der Pathogenese der Parodontitis ist oft schwer zu definieren, da sich die Zytokine in einem komplexen Netzwerk gegenseitig beeinflussen und regulieren. Zytokine sind im Pikomolarbereich wirksam, indem sie an spezifische Rezeptoren der Zielzellen binden. Sie wirken additiv, synergistisch oder antagonistisch und stimulieren oder hemmen gegenseitig ihre Synthese und die Expression ihrer Rezeptoren. Zytokine haben sehr vielfältige Effekte und können sich in ihren biologischen Aktivitäten auch beträchtlich überschneiden (Balkwill & Burke 1989). Das Zytokinprofil im Parodontium bestimmt die Entzündungs- und Antikörperreaktion der parodontalen Erkrankung (Gemmell & Seymour 1998). Es sind drei IL-1 Gene bekannt. Diese befinden sich auf dem langen Arm des Chromosoms 2 in der Region (q13-q21), welche mehr als 430 Kilobasen umfasst (Nicklin et al. 1994). Zwei dieser Gene kodieren für pro-inflammatorische Proteine (IL-1A und IL-1B welche IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  produzieren), während das dritte Gen (IL1RN) für ein ähnliches Protein kodiert, was an IL-1 Rezeptoren bindet aber als Rezeptorantagonist fungiert (IL-1ra) da es nicht zu einer Signaltransduktion kommt.

IL-1 ist ein pluripotentes Zytokin und kann von den meisten kernhaltigen Zellen sezerniert werden, hauptsächlich wird es jedoch von Makrophagen/Monozyten gebildet. IL-1 erhöht lokal die Bildung von Adhäsionsmolekülen auf Fibroblasten, endothelialen Zellen und den Zellen des Immunsystems, wie zum Beispiel Lymphozyten und Monozyten. Diese Adhäsionsmoleküle veranlassen Immunzellen sich an die Gefäßwand anzuheften und durch diese, dem chemotaktischen Reiz folgend, in das entzündete Gewebe auszutreten (Takahashi et al. 1994). Außerdem werden durch IL-1 Rezeptoren gebildet, welche die Lymphozyten und Makrophagen dazu befähigen sich direkt an das Bindegewebe zu heften und somit zu ortsansässigen Zellen des entzündlichen Infiltrates zu werden (Hayashi et al. 1994). Aktivierte Keratinozyten in der entzündeten parodontalen Tasche und antigenpräsentierende Langerhanszellen sezernieren IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  (Hillmann et

al. 1995). Makrophagen innerhalb des entzündeten parodontalen Gewebes setzen hauptsächlich IL-1 $\beta$  frei (Jandinski et al. 1991).

Bei Zähnen, die kieferorthopädisch bewegt werden, konnte ein gesteigerter Titer von IL-1 $\beta$  und PGE<sub>2</sub> in der Sulkusflüssigkeit (GSF) nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu den Zähnen, die nicht bewegt wurden, war der Level von IL-1 $\beta$  und PGE<sub>2</sub> im GSF am ersten und zweiten Tag nach Behandlungsbeginn erhöht, was für den knochenresorptiven Effekt der beiden Mediatoren spricht (Grieve et al. 1994).

Jandinski et al. (1991) wiesen in einer Studie einen erhöhten IL-1 $\beta$  Level im parodontalen Gewebe von Patienten nach, die an einer Parodontitis litten. Des Weiteren konnte nachgewiesen werden, dass der höchste IL-1 $\beta$  Level im Gewebe von den Patienten auftrat, die eine aktive Parodontitis aufzeigten. Bei besagten Patienten war der IL-1 $\beta$  Level im Vergleich zu denen mit einer inaktiven Parodontitis und gesunden Probanden signifikant höher (Stashenko & Obernesser 1991). Matsuki et al. (1991) bestätigten den zellulären Ursprung der IL-1 Aktivität, sie fanden heraus, dass hauptsächlich ortständige Makrophagen für die hohen Titer an IL-1 $\beta$  Proteinen und IL-1 $\beta$  mRNA verantwortlich sind. Auch konnte ein Zusammenhang von Parodontitis und erhöhtem IL-1 $\beta$  Level in der GSF nachgewiesen werden (Preiss & Meyle 1994). IL-1Ra ist ebenfalls in der GSF gefunden worden, dessen Rolle in der Pathogenese ist jedoch noch unklar (Kabashima et al. 1991).

Der GSF- IL-1 $\beta$  Level erhöht sich beim Affen während der Progression einer Ligatur induzierten Parodontitis (Smith et al. 1993). Die Erhöhung des GSF- IL-1 $\beta$  Levels beim Rhesusaffen tritt nach einer relativ kurzen Zeit auf, ist während des ersten Monats unverändert, erreicht nach dem zweiten Monat den 3fachen Wert und kehrt nach drei Monaten zum Ausgangslevel zurück. Der Autor dieser Studie vermutet, dass der IL-1 Level sich innerhalb des Gewebes aufgrund kurzer Phasen aktiver Krankheitsprogression kurzfristig erhöht und danach zu seinem Ausgangswert zurückkehrt. Feldner et al. (1994) sehen darin die Erklärung für die mangelnde Korrelation zwischen dem histologischen Ausmaß an Kollagenzerstörung und der Anzahl von IL-1 $\beta$  positiven Zellen innerhalb des gingivalen Biopsates. Die Behandlung der Parodontitis durch scaling und root planing vermindert den GSF- IL-1 $\beta$  Level signifikant (Hou et al. 1995).

Das IL-4 ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 20 Kilodalton, das in der entzündeten Gingiva in erster Linie von TH2-Zellen, Mastzellen und Basophilen produziert wird (Holt & Bramanti 1991).

Van Leeuwen et al. (1989) lokalisierten das IL-4 Gen, bestehend aus vier Exons und drei Introns, auf dem menschlichen Chromosom 5 (5q23.3 – 31.2).

Der Einfluss des IL-4 auf die Parodontitis ist sehr vielgestaltig und in besonderem Maße entzündungshemmend. IL-4 ist ein multifunktionelles Zytokin, das sich viele biologische Eigenschaften mit IL-10 teilt. IL-4 interagiert mit verschiedenen Zellen, so z.B. mit T-Zellen, B-Zellen, Monozyten und Fibroblasten. IL-4 ist ein potenter Aktivator der B-Zellen. Durch IL-4 werden antigenspezifische B-Zellen stimuliert sich in antikörperproduzierende Plasmazellen zu differenzieren (Fujihashi et al. 1993).

Parodontale Läsionen sind durch die Akkumulation von aktivierten Makrophagen, die Entzündungsmediatoren in die Umgebung freisetzen, gekennzeichnet (Page et al. 1978). IL-4 ist ein wichtiges Zytokin für die Regulation von Monozyten und Makrophagen im lokalen Entzündungsgebiet. Es vermindert bei diesen Zellen nach deren Stimulation mit bakteriellen Lipopolysacchariden die Freisetzung der proinflammatorischen und gewebezerstörenden Mediatoren IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , PGE $_2$  sowie die Freisetzung von Matrixmetalloproteinasen und Kollagenasen (Hart 1989). Das IL-4 kann Makrophagen aktivieren, wodurch ihre Fähigkeit der Antigenpräsentation gesteigert wird (Howard 1982), außerdem verstärkt IL-4 die Produktion des IL-1 Ra bei Makrophagen und reduziert somit die gewebedestruierende Wirkung des IL-1 $\beta$  (Orino et al. 1992). Weiterhin verursacht IL-4 bei Makrophagen den programmierten Zelltod (Apoptose) und reduziert somit ihre Zahl im Entzündungsgebiet, wodurch es die Freisetzung gewebedestruierender und entzündungsfördernder Zytokine herabsetzt (Mangan et al. 1992).

LPS/LBP-Komplexe [LPS bildet mit einem Plasma Protein (Lipopolysaccharid Bindungs Protein, LBP) einen LPS/LBP-Komplex], welche an den CD14 Oberflächenrezeptor von Makrophagen binden, stimuliert deren Expression auf der Makrophagenoberfläche. Durch das Binden der LPS/LBP-Komplexe an den CD14 Rezeptoren werden die Makrophagen zur Ausschüttung von IL-1, TNF $\alpha$  und PGE $_2$  angeregt (Wright et al. 1990). IL-4 ist in der Lage, die Expression des CD14-Oberflächenrezeptors bei diesen Zellen in erheblichem Maße einzuschränken, wodurch die Aktivierbarkeit der Monozyten und Makrophagen durch bakterielle Lipopoly-

saccharide und die daraus resultierende Freisetzung proinflammatorischer und katabolischer Zytokine reguliert wird (Lauener et al. 1990).

Der Theorie von Shapira et al. (1992) zufolge kommt es durch eine zu niedrige Konzentration von IL-4 im Serum zu einer ungehemmten Expression von CD14 Rezeptoren auf den Makrophagenoberflächen, an die immer mehr LPS/LBP-Komplexe binden. Somit kommt es zu einer unphysiologisch starken Ausschleusung von TNF $\alpha$ , PGE $_2$  und IL-1. IL-1 $\beta$ , in ausreichend hoher Konzentration, stimuliert wiederum gingivale Fibroblasten zur Sekretion von TNF $\alpha$  und PGE $_2$ .

TNF $\alpha$ , PGE $_2$  und IL-1 zeigen eine hohe Aktivität bei der Resorption von Alveolar-knochen, wodurch es nach Shapira et al. (1992) zu parodontalen Destruktionen kommt.

Die genomische Struktur von IL-13 umfasst eine Sequenz von ca. 4.5 Kilobasen, bestehend aus vier Exons und drei Introns. IL-13 ist auf Chromosom 5q31 codiert und teilt sich eine wichtige Intron-Exon Struktur mit granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), IL-4 und IL-5 (McKenzie et al. 1993). Es besteht eine Sequenzhomologie zwischen den IL-13 und IL-4 Proteinen, wodurch auch ihre vielen biologischen Gemeinsamkeiten zu erklären wären (McKenzie et al. 1993a).

IL-13 wird von aktivierten T-Zellen produziert, wobei sowohl CD4 $^+$  als auch CD8 $^+$  T-Zellen antigenspezifisch oder durch polyklonale Stimuli zur Synthese von IL-13 in der Lage sind (McKenzie et al. 1993, Minty et al. 1993). Bei den CD4 $^+$  T-Zellen sind selbst TH-Vorläuferzellen zur Produktion des Zytokins im Stande.

Ein signifikanter Anstieg des IL-13mRNA Levels ist bereits eine Stunde nach T-Zell Aktivierung zu verzeichnen, wohingegen die IL-13 Proteinproduktion erst nach zwei Stunden beginnt. Der Höhepunkt der IL-13mRNA Produktion liegt im Schnitt bei zwei Stunden nach T-Zell Aktivierung, beträchtliche mRNA Level sind auch noch 72 Stunden nach Aktivierung messbar (Fujihashi et al. 1996). IL-4 mRNA hingegen wird später produziert und tritt nur kurzzeitig auf, so sind 24 Stunden nach T-Zell Aktivierung nur noch minimale Level an IL-4 mRNA nachweisbar (Yssel et al. 1992).

Wang et al. (2000) konnten keine Veränderung der mRNA Expression von IL-13 feststellen, nachdem eine Exposition epithelialer Zellen mit *Campylobacter rectus* stattgefunden hatte. Roberts et al. (1997) fanden ebenfalls keine Erhöhung der IL-13 mRNA Expression von Makrophagen bei Patienten mit chronischer Parodonti-

tis. Nakajima et al. (1999) konnten zeigen, dass T-Zellen nach Stimulation durch *Porphyromonas gingivalis* eine gesteigerte mRNA Expression für IFN- $\gamma$  und IL-13 aufweisen. Die mRNA Synthese für IL-4 und IL-10 nahm im gleichen Versuch ab. Die Autoren nehmen deshalb an, dass mit *P. gingivalis* stimulierte T-Zellen vorzugsweise IFN- $\gamma$  und IL-13 produzieren, unabhängig von der Erkrankung oder *P. gingivalis* Status.

IL-13 hat einen großen Einfluss auf Monozyten bezüglich ihrer Morphologie, Oberflächenantigen-Expression, antikörperabhängigen zellulären Zytotoxizität (ADCC) und ihrer Zytokin Synthese (Minty et al. 1993, De Waal Malefyt et al. 1993). Werden Monozytenkulturen IL-13 ausgesetzt, aggregieren die Monozyten und haften stark an ihrem Substrat. Außerdem ist IL-13 in der Lage, das Überleben von Monozytenkulturen zu verlängern (McKenzie et al. 1993). Zusammen mit IL-4 erhöht IL-13 die Expression von verschiedenen Mitgliedern der Integrin-Proteinfamilie, zum Beispiel CD11, CD18 und CD29. IL-13 erhöht außerdem antigenabhängig die Expression des Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) Klasse II, CD13 und CD23, wohingegen die Expression von CD64 (Fc $\gamma$ RI), CD32 (Fc $\gamma$ RII), CD16 (Fc $\gamma$ RIII) und CD14 gehemmt wird (De Waal Malefyt et al. 1993).

Monozyten, die durch LPS oder proinflammatorische Zytokine stimuliert wurden, werden ebenfalls durch IL-13 inhibiert, indem die IL-1Ra Synthese gesteigert wird (De Waal Malefyt et al. 1993). Weiterhin wird durch IL-13, wenn auch nur geringfügig, die Produktion der Zytokine IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  gehemmt. Ähnliche Ergebnisse werden von de Waal Malefyt et al. (1995) über IL-4 und IL-10 berichtet.

Die physiologischen Konsequenzen dieser Effekte von IL-13 sind noch unklar, es ist aber möglich, dass IL-13 ähnlich wie IL-4 die Proliferation von TH1-Zellen durch die Suppression von monozytisch produziertem IL-12 hemmt (Hsieh et al. 1993). Obwohl IL-13 und IL-4 in ähnlicher Art und Weise auf Monozyten einwirken, haben diese Effekte weder einen additiven noch einen synergistischen Charakter (Smith et al. 1993).

IL-13 steigert die antigenpräsentierenden Eigenschaften von Monozyten (Kelly-Welch et al. 2003), T-Zellen und T-Zell Klone zeigen durch Antigenpräsentation von Monozyten, die mit IL-13 behandelt wurden, eine erhöhte Proliferationsbereitschaft (Kelly-Welch et al. 2003).

Sowohl IL-4 als auch IL-13 erhöhen die Proliferationsbereitschaft von B-Zellen, IL-4 ist jedoch generell potenter als IL-13 (McKenzie et al. 1993).

Abschließend kann man zusammenfassen, dass IL-13, wie IL-4, die zytotoxischen und inflammatorischen Eigenschaften von Monozyten hemmt. IL-13 erhöht die Kapazität von Makrophagen Antigene zu präsentieren, was darauf hinweist, dass IL-13 nicht alle Funktionen der Makrophagen hemmt.

Trotz ausführlichen Literaturstudiums war es mir nicht möglich einen direkten Einfluss von IL-13 auf die Parodontitis aufzuweisen. So kann man aus den dargestellten Zusammenhängen einen Einfluss erkennen, er lässt sich jedoch nicht anhand evidenzbasierender Literatur belegen.

Phagozytische Zellen spielen bei dem Schutz des Parodontiums vor Gram-negativen Keimen, wie zum Beispiel *A. actinomycetemcomitans* eine wichtige Rolle. Der Prozess der Phagozytose und der intrazellulären Lyse dieser Bakterien hängt stark von der Anwesenheit des Immunglobulins G ab (Barker & Wilson 1989).

IgG2 ist eine Untergruppe der Immunglobuline G, die von B-Zellen produziert werden und die dominierende Antikörperklasse im Plasma darstellen. Sie opsonieren antigentragende Zellen, so dass diese von phagozytierenden Zellen erkannt und eliminiert werden können. Hauptsächlich der Isotyp IgG2 wird bei verschiedensten bakteriellen Infektionen, unter anderem auch bei der parodontalen Infektion, exprimiert und stellt somit einen wichtigen Teil der humoralen Immunabwehr dar (Colombo et al. 1998).

Eine heterogene Gruppe von Rezeptoren, die an die Fc Region der Immunglobuline bindet, stellt ein wichtiges Bindeglied zwischen der humoralen und der zellulären Immunabwehr dar. Die Rezeptoren dieser Gruppe sind für alle Ig Isotypen spezifisch, werden auf einer Vielzahl von Zellen exprimiert und besitzen viele wichtige Funktionen.

Rezeptoren für IgG (FcγR), eine Subklasse der größeren Gruppe von Fc Rezeptoren, gehören zur Ig-Genfamilie (van de Winkel & Capel 1993). Sie vermitteln die Phagozytose der Bakterien, die durch spezifische IgG Antikörper opsoniert wurden. Es sind drei Hauptklassen der Fcγ Rezeptoren bekannt, die sich in Bezug auf ihre Masse, ihre zelluläre Verteilung und ihre Affinität für IgG Antikörper unterscheiden (van de Winkel & Capel 1993). Dies sind FcγRI (CD64), FcγRII (CD32)

und FcγRIII (CD16), deren Gene auf dem langen Arm des Chromosoms 1 (1q21-24) lokalisiert sind (van de Winkel & Capel 1993).

FcγRII (CD32) wird auf diversen Zelltypen exprimiert, wie zum Beispiel Monozyten und polymorphkernige Granulozyten. Es konnte gezeigt werden, dass der Rezeptortyp einige Isoformen besitzt sowie genetisch definierte Polymorphismen, welche starken Einfluss auf die Bindungsaffinität des FcγRII von Monozyten und Neutrophile auf IgG2-Komplexe besitzen (van de Winkel & Capel 1993).

Der Fcγ-Rezeptor II ist ein Glykoprotein mit einer Masse von 40 kDa, hat eine hohe Affinität zu IgG2 und bindet nachweislich nur an Immunglobulinkomplexe (van de Winkel et al. 1989). Es konnten sechs Isoformen (FcγRIIa1, a2; FcγRIIb1, b2, b3; und FcγRIIc) identifiziert werden, die alle auf verschiedenen Genen (FcγRIIA, B und C) kodiert sind (Qiu et al. 1990).

Neutrophile exprimieren fünf- bis zehnmal mehr FcγRIII als FcγRII pro Zelle (Huizinga et al. 1989). Trotz des zahlenmäßigen Überschusses von FcγRIII hat FcγRII bei der Initiation von Phagozytose und anschließender Lyse von Antigen-Antikörperkomplexen eine Schlüsselposition (Huizinga et al. 1989). Stimulation des FcγRII führt zu einer Freisetzung von Kalzium, wobei die Rolle des Kalziums noch unklar ist. Es wird jedoch angenommen, dass die lokale Kalziumkonzentration für die Phagozytose von Bedeutung ist (Young et al. 1984). Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass IL-4 die Expression aller FcγR Klassen hemmt (Te Velde et al. 1990). IFN-γ erhöht die FcγRII vermittelte Zytotoxizität, ohne dabei die Rezeptorexpression zu beeinflussen (Fanger et al. 1989). Den gleichen Effekt haben proteolytische Enzyme auf den Rezeptor, in Bezug auf seine Affinität zu IgG und die biologische Aktivität (van de Winkel et al. 1989). FcγRII ist außerdem in der Lage die Erzeugung von Superoxiden zu initiieren (Crocket-Torabi & Fantone 1990).

Studien über die Interaktionen von FcγR und Immunkomplexen haben ergeben, dass es zu einer Freisetzung verschiedenster löslicher Mediatoren kommt. Zu diesen gehören vor allem Entzündungsmediatoren, wie zum Beispiel Leukotriene (Rouzer et al. 1980) und Prostaglandine (Rouzer et al. 1980), sowie verschiedene Zytokine (IFN-γ, IL-1, IL-6 und TNF-α) (Debets et al. 1990). Eine weitere sehr wichtige Funktion des FcγRII ist die Regulierung der B-Zellaktivierung durch Membranimmunoglobuline, durch das von ihm vermittelte Signal wird sowohl die Proliferation als auch die Ig-Produktion inhibiert (Klaus et al. 1987).

## 2.4 Einflüsse von Nukleotidpolymorphismen auf die Pathogenese der Parodontitis

Die Ergebnisse von Zwillingsstudien (Michalowicz 1994) und klinischen Untersuchungen, die sich mit der familiären Häufung der aggressiven Parodontitis beschäftigen (Boughman et al. 1990, Marazita et al. 1994), zusammen mit den genetisch bedingten Krankheiten und Syndromen, in denen die Parodontitis ein Hauptkrankheitsmerkmal darstellt, zeigen, dass die Genetik mit der Pathogenese der Parodontitis in engem Zusammenhang steht (Meyle & Gonzales 2001).

Die genetische Information von Menschen ist zu 99,9% identisch, da es sich um eine Spezies handelt, nur 0,1% des genetischen Materials unterscheidet uns voneinander. In diesem relativ kleinen Bereich des menschlichen Genoms muss auch die Anfälligkeit oder Resistenz einiger Individuen für oder gegen bestimmte Krankheiten kodiert sein (Stephens et al. 1998).

Aldred & Bartold et al. (1998) gehen davon aus, dass hauptsächlich viele kleine polymorphe Gene mit einem kleinen aber signifikanten Einfluss auf die Pathogenese der Parodontitis zu dem gesamten Erkrankungsrisiko beitragen.

Einzelne Nukleotidpolymorphismen sind Gegenstand zahlreicher Untersuchungen in der Medizin. Unter Polymorphismus versteht man eine Region auf dem Genom, das zwischen Individuen einer Population variiert (Löffler 1999).

Diese treten als Unregelmäßigkeiten einzelner Basenpaare durch das Wegfallen oder Hinzufügen (Mutation) von Basenpaaren auf (Charles et al. 2002). Die Variabilität an einem Genlocus bezeichnet man als einen genetischen Polymorphismus, wenn die Varianten mit einer Häufigkeit von über 1% vorkommen (Kwok & Gu 1999). Diese Nukleotidpolymorphismen werden häufig untersucht, da sie die häufigsten genetischen Marker innerhalb des menschlichen Genoms sind, und da ihre Mutationsrate von Generation zu Generation sehr gering ist (Sachidanandam et al. 2001). Die Autoren identifizierten 1,42 Millionen Polymorphismen des menschlichen Genoms.

Tabelle 3: Interleukin- und Fcy- Polymorphismen, die mit der Parodontitis in Verbindung gebracht werden konnten.

Polymorphismus	Studien	Ergebnisse
IL-1 $\alpha$ C(-889)-T	Kornman et al. 1997	mit chronischer Parodontitis assoziiert (bei Kaukasiern)
IL-1 $\beta$ C(+3953)-T	Kornman et al. 1997	mit chronischer Parodontitis assoziiert (bei Kaukasiern)
IL-2 T(-330)G	Scarel-Caminaga 2002	steht mit chronischer Parodontitis in Verbindung (bei Brasilianern)
IL-4 C(-590)-T (VNTR) Intron 2	Michel et al. 2001	steht mit aggressiver Parodontitis in Verbindung (bei Kaukasiern)
IL-6 G(-174)C	Trevilatto et al. 2003	steht mit chronischer Parodontitis in Verbindung (bei Kaukasiern)
IL-10 G(-1087)A	Berglundh et al. 2003	steht mit chronischer Parodontitis in Verbindung (bei Kaukasiern)
FcyRIIa A(-131)G	Wilson & Kalmar 1996	mit aggressiver Parodontitis assoziiert (Hypothese)
FcyRIIIa G(-559)T	Meisel et al. 2001	mit chronischer Parodontitis assoziiert (bei Kaukasiern)

Der Polymorphismus des IL-1B Gens an Stelle +3953 wird für eine bis zu 4fach höhere Produktion von IL-1 $\beta$  verantwortlich gemacht (Kornman et al. 1997). Sie berichten über einen spezifischen Genotypen des polymorphen IL-1 Genclusters, der bei Nichtrauchern mit dem Schweregrad der chronischen Parodontitis vergesellschaftet ist und Patienten mit profunder Parodontitis von solchen mit milderen Formen dieser Krankheit unterscheidet. Die Assoziation zwischen dem IL-1 Polymorphismus (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) und dem Schweregrad der chronischen Parodontitis gilt seither als anerkannt und wurde in vielen Untersuchungen bestätigt (Galbraith et al. 1999, McDevitt et al. 2000).

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass Raucher, die Träger des von Kornman et al. (1997) beschriebenen Polymorphismus sind, ein dosisabhängig höheres Risiko besitzen an einer Parodontitis zu erkranken als Nichtraucher des gleichen Genotyps. (Meisel et al. 2002, 2004). Papapanou et al. (2001) gelang es nicht, ge-

sunde Probanden und Patienten mit chronischer Parodontitis alleine auf Grund ihres Genotyps zu unterscheiden. Der IL-1 Polymorphismus (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) korrelierte jedoch innerhalb der Patienten mit dem Schweregrad der Erkrankung und der Antikörperreaktion auf die subgingivale Mikroflora. Bei Parodontitis-Patienten, die Träger des kombinierten IL-1 Polymorphismus (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) waren, konnte ein häufigeres Vorkommen der „roten“ und „orangenen“ Komplexe mit ihren pathogenen Keimen gezeigt werden (Socransky et al. 2000).

Lang et al. (2000) untersuchten den Effekt des IL-1 Polymorphismus (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) auf die Sulkussondierungsblutung (BOP) bei Parodontitis-Patienten in der Erhaltungstherapie. Sie fanden heraus, dass IL-1 Genotyp negative Patienten ein bis zu 50% niedrigeres Risiko besitzen, bei gleicher Mundhygiene, einen erhöhten BOP zu entwickeln.

Es konnte somit gezeigt werden, dass der IL-1 Polymorphismus (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) keinen essentiellen Risikofaktor zur Krankheitsentstehung darstellt, wohl aber in Bezug auf die Krankheitsprogression bei bestehender Erkrankung, im Sinne einer hyperinflammatorischen Immunreaktion.

Diese Assoziation versuchte man nun auch auf die aggressive Parodontitis zu übertragen, wobei die Studien hier keine eindeutigen Ergebnisse zeigen. So konnte in manchen Studien keine Assoziation zwischen der aggressiven Parodontitis und den IL-1 Polymorphismen (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T bzw. IL-1 $\alpha$  G(+4845)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) bei Kaukasiern hergestellt werden (Hodge et al. 2001, Gonzales et al. 2003). In zwei anderen Studien wiederum gelang es einen Zusammenhang zwischen der aggressiven Parodontitis und dem nicht-polymorphen Genotyp (homozygoter Zustand) des IL-1 $\alpha$  (C(-889)-T) und des IL-1 $\beta$  (C(+3954)-T) herzustellen (Parkhill et al. 2000, Diehl et al. 1999).

Wie groß ist jedoch der Einfluss der IL-1 Polymorphismen (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) auf die Behandlung?

Cattabriga et al. (2001) verglichen in einer retrospektiven Studie die Reaktion von Patienten auf eine Parodontitistherapie über einen Zeitraum von 10 Jahre in Abhängigkeit von ihrem IL-1 Genotyp. Sie fanden keinen Unterschied, weder in Bezug auf die Therapieergebnisse noch in Bezug auf Rezidive in der Erhaltungstherapie. Jedoch konnten sie bei einigen wenigen Patienten feststellen, dass Patienten mit initial geringem Knochenverlust, die Träger der nicht-polymorphen Allele (IL-1 $\alpha$  C(-

889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) waren, besser auf die Therapie reagierten als die Träger der polymorphen Allele (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T), bei initial starkem Knochenverlust entstand eine genau umgekehrte Situation. Patienten mit polymorphen Genotypen für IL-1  $\alpha$  und  $\beta$  (IL-1 $\alpha$  C(+4845)-T und IL-1 $\beta$  C(+3954)-T) sollten jedoch wegen ihrer Neigung zu Rezidiven engmaschiger nachkontrolliert werden (Lang et al. 2000). Bei mukogingivalen Eingriffen zur Deckung von Resektionen mit Bindegewebstransplantaten können keine Unterschiede zwischen Patienten mit polymorphen und nicht-polymorphen Genotypen des IL-1 $\alpha$  und  $\beta$  (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) festgestellt werden, wobei Patienten mit nicht-polymorphen Genotyp häufiger vollständige Wurzeldeckungen zeigen als Patienten mit polymorphen Genotyp (Caffesse et al. 2002).

Die IL-1 Polymorphismen (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) haben auf die klinischen und radiologischen Einjahresergebnisse nach GTR-Therapie keinen Einfluss (Christgau et al. 2003), jedoch auf die Langzeitergebnisse. So konnte anhand von 40 Patienten vier Jahre postoperativ gezeigt werden, dass Patienten mit polymorphen Genotyp für IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3954)-T im Vergleich zu Patienten mit nicht-polymorphen Genotyp 50% des innerhalb des ersten Jahres nach der Operation gewonnenen Attachments verlieren (De Sanctis et al. 2000).

Auf die Prognose von osseointegrativen Implantaten haben die IL-1 Polymorphismen (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) bei Nichtrauchern keinen Einfluss (Rogers et al. 2002), wobei Träger des polymorphen Allels, die rauchen, ein signifikant höheres Risiko besitzen Komplikationen während der funktionellen Phase zu entwickeln (Gruica et al. 2004).

Ein weiterer Polymorphismus, der Gegenstand weniger Assoziationsstudien war, ist der des IL-4-Gens. Kang et al. (2003) versuchten, genauso wie Scarel-Caminaga et al. (2003), den IL-4 Polymorphismus an der Stelle -590 (C-T) mit der chronischen Parodontitis zu assoziieren, mit dem Unterschied, dass Kang et al. (2003) ihre Untersuchungen an einer koreanischen, Scarel-Caminaga et al. (2003) an einer brasilianischen Population durchführten. Beide Studien kamen jedoch zu dem Ergebnis, dass der IL-4 Polymorphismus (C(-590)-T) nicht zu der Anfälligkeit von Individuen für die chronische Parodontitis beiträgt.

Die IL-4 Polymorphismen (C(-590)-T und VNTR in Intron 2) konnten jedoch von Michel et al. (2001) mit der aggressiven Parodontitis assoziiert werden. 27,8% der Patienten mit aggressiver Parodontitis waren positiv für den Intron- und Promotor

Polymorphismus des IL-4 Gens, keiner der gesunden Probanden und der Patienten mit chronischer Parodontitis trug diesen Marker. Außerdem war der IL-4 Level der Genotyp positiven Patienten unterhalb der Nachweisgrenze und damit signifikant verschieden im Vergleich zur Gruppe der gesunden Kontrollen, was der Hypothese nach Shapira et al. (1992) entspricht.

In einer weiteren Studie von Gonzales et al. (2004) konnte gezeigt werden, dass kaukasische Patienten mit aggressiver Parodontitis viel häufiger Träger des polymorphen Allels in Intron 2 sind als gesunde Probanden.

Der Fcγ Rezeptor IIa ist der am weitest verbreitete der drei Klassen der Fcγ-Rezeptoren (Van de Winkel & Capel 1993).

Der FcγRIIa-131H/R Polymorphismus (Histidin, H oder Arginin, R) an der Position 131 resultiert aus einem einfachen Tausch der Nukleotide G zu A (Warmerdam et al. 1990).

Bredius et al. (1993) und Sanders et al. (1995) konnten zeigen, dass IgG2 Antikörper in Verbindung mit Phagozyten, die den FcγRIIa H/H131 exprimieren, einen signifikanten Beitrag zur Phagozytose von Antigenen leisten.

Die Position 131 ist wichtig für die Bindung an humanes IgG2. FcγRIIa-R/R131 bindet mit einer geringen Affinität an IgG2, wohingegen FcγRIIa-H/H131 mit hoher Affinität an IgG2 bindet (Warmerdam et al. 1991).

Wilson & Kalmar (1996) beschrieben in ihrer Hypothese den Einfluss der Fcγ Allotypen auf die Phagozytose von *A. actinomycetemcomitans* (A.a.). Sie fanden eine minimale Phagozytoserate bei beiden Allotypen (H/H131 und R/R131) nach Ausschaltung aller Opsonine (Komplementsystem und Antikörper).

Ohne Ausschaltung des Komplementsystems (jedoch mit Ausschaltung der IgG2-Antikörper) war die Phagozytoserate zwar signifikant höher, jedoch ergab sich auch hier kein Unterschied zwischen den beiden Allotypen. Dies Ergebnis kam nicht überraschend, sind bei der komplementvermittelten Phagozytose doch die Komplementrezeptoren vom Typ 1 und 3 (CR1 und CR3) wichtiger als die Fcγ-Rezeptoren.

Als *A. actinomycetemcomitans* mit IgG2 inkubiert wurde (ohne Komplementsystem), waren die Phagozytoseraten von Allotyp H/H131 um das Dreifache höher als die des R/R131.

Leino et al. (1994) konnten zeigen, dass Neutrophile von Patienten mit aggressiver Parodontitis Fcγ-Rezeptoren in normaler Zahl (vergleichbar mit der Zahl von

gesunden Probanden) exprimieren; auf Grund des Versuchsaufbaus war es Leino et al. (1994) nicht möglich zwischen den H/H131 und R/R131 Genotypen zu unterscheiden.

Demnach wäre der R/R131 Genotyp mit einem erhöhten Risiko für entzündliche Erkrankungen vergesellschaftet und könnte zu einem vielversprechenden Marker für die aggressive Parodontitis werden.

Ebenso konnte der Fcγ-Rezeptor-IIIb-NA2 (Allel 2 des Fcγ-Rezeptors IIIb) bei Japanern mit einem höheren Erkrankungsrisiko an aggressiver Parodontitis in Verbindung gebracht werden (Kobayashi et al. 2000), wohingegen der Fcγ-Rezeptor-IIIb-NA1 (Allel 1 des Fcγ-Rezeptors IIIb) mit einer Resistenz gegen Parodontitis verbunden werden konnte (Sugita et al. 2001).

## **2.5 Der Einfluss des Alters auf die Pathogenese der Parodontitis**

Ein Risikoindikator für parodontale Erkrankungen ist das Altern, wobei hier eher das biologische als das chronologische Alter von Bedeutung ist.

Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass sich das parodontale Erscheinungsbild mit zunehmendem Alter (Schurch et al. 1988, Locker & Leake 1993, Grossi et al. 1994) auch bei systemisch gesunden Patienten (Ship & Wolff 1988) verschlechtert. Das heißt, dass die Gingivitisprävalenz bei älteren Individuen abnimmt, die Häufigkeit von mittleren bis tiefen Taschen jedoch zunimmt (Burt et al. 1985). In zwei weiteren Studien beschrieben Lindhe et al. (1989), dass der parodontale Attachmentverlust bei älteren Individuen eine schnellere Progression zeigte als bei jüngeren Patienten.

Es bleibt die Frage, ob die parodontale Erkrankung altersbedingt oder altersabhängig ist. Mit anderen Worten: Ist die parodontale Erkrankung unweigerlich mit dem Altern verbunden, oder steigt lediglich das Risiko an einer Parodontitis zu erkranken?

Abdellatif & Burt (1987) zeigten, dass orale Hygiene stärker mit parodontalen Destruktionen in Verbindung gebracht werden konnte als das Alter, was für eine Altersabhängigkeit der Erkrankung sprechen würde.

Andererseits zeigten Papapanou et al. (1988), dass eine geringe Knochenhöhe bei individueller Betrachtung von Geschlecht, Zahl der Zähne, Kiefer, mesiale oder distale Flächen und Wurzeltyp altersbedingt ist. In einer anderen Studie von Pa-

papanou et al. (1991), in der Probanden, die keinen, bzw. minimalen Attachmentverlust aufwiesen (best group), mit den restlichen Probanden (all group) verglichen wurden, kam zu folgendem Ergebnis:

Der Attachmentverlust stieg im Alter, in beiden, der „best group“ wie auch der „all group“, wobei der Attachmentverlust der „best group“ signifikant geringer war als der der „all group“, was den gleichen Schluss wie bei Papapanou et al. (1988) zulassen würde.

Doch wie verändert sich das Immunsystem im Alter, und können durch diese Veränderungen die oben beschriebenen Tatsachen erklärt werden?

Die Schwierigkeit bei Studien über das Altern des Immunsystems ist die Abgrenzung der Veränderungen durch altersbedingte Krankheiten und denen des physiologischen Alterns. Lighthart et al. (1984, 1990) erstellten eine Liste von Ausschlusskriterien für Probanden von Untersuchungen über das physiologische Altern des Immunsystems, welche sie senior Protokoll nannten. Nach diesem Protokoll dürfen nur gesunde, junge und/oder alte Probanden für solche Studien herangezogen werden, um Verfälschungen der Ergebnisse durch chronische Erkrankungen vorzubeugen. Interessanterweise war Parodontitis kein Ausschlusskriterium.

Das Immunsystem unterliegt einer ständigen Entwicklung von der Geburt an bis zum Tode (Franceschi & Cossarizza 1995), wobei das Alter keinen solch großen Einfluss auf das Immunsystem hat, wie es früher angenommen wurde (Franceschi et al. 1995).

Die Entwicklung des Thymus ist die wohl größte altersbedingte Veränderung des Immunsystems. Die Schrumpfung beginnt ab der Pubertät, während deren der Thymus seine größte Ausdehnung besitzt, und endet in einer 90prozentigen Verkleinerung mit dem 70. Lebensjahr (Tosi et al. 1982). Obwohl sich der größte Teil des Thymus während des Lebens zurückbildet, (Steinmann 1984) verbleiben funktionsfähige Reste des Thymus mehr als 100 Jahre im menschlichen Körper (Hartwig & Steinmann 1994). Studien zeigen, dass undifferenzierte CD4+ und CD8+ T-Zellen (CD45RA+) in hundertjährigen Menschen (Cossarizza et al. 1996) nachweisbar sind, was darauf schließen lässt, dass der Thymus ein Leben lang in der Lage ist undifferenzierte Thymozyten zu exprimieren (Adihzadeh et al. 1996).

Die größte altersbedingte Veränderung besteht also im T-Lymphozytensystem. Die Anzahl der T-Zellen im Blut ist bei älteren Menschen leicht vermindert (Lighthart

et al. 1985). Änderungen der Membranlipidzusammensetzung bei älteren Individuen konnten mit einer Verminderung der T-Zell Proliferationsrate in Zusammenhang gebracht werden (Huber et al. 1991). Außerdem konnte bei älteren Personen eine Verminderung der IL-2 Produktion als auch eine supprimierte Expression von IL-2 Rezeptoren (IL-2R) beobachtet werden (Chopra et al. 1989, Fulop et al. 1991). Diese Tatsache könnte der Grund für die supprimierte Proliferationsrate von Thymozyten sein, da sowohl IL-2 als auch sein Rezeptor (IL-2R) den Wechsel von der G<sub>0</sub>- in die G<sub>1</sub>- und anschließend in die S-Phase initiieren (Kim et al. 1992).

Während der ersten 40-50 Lebensjahre vollzieht sich ein dramatischer Wandel in der CD4<sup>+</sup> T-Zellpopulation. Von 95-99% aller undifferenzierten T-Zellen (CD3<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>) zum Zeitpunkt der Geburt differenzieren sich mehr als 50% (zu Gedächtniszellen oder aktivierten Zellen) bis zum 30.-40. Lebensjahr (Cossarizza et al. 1996). Dieser altersabhängige Wandel in der T-Zellpopulation tritt in beiden, der CD4<sup>+</sup> T-Zellgruppe wie auch der CD8<sup>+</sup> T-Zellgruppe auf, jedoch ist das Ausmaß bei den einzelnen Gruppen unterschiedlich (Cossarizza et al. 1996). Der Wandel von der zahlenmäßigen Dominanz der undifferenzierten T-Zellen zu den Gedächtniszellen könnte eine Erklärung für die schlechtere Immunantwort älterer Menschen auf zum Beispiel neue Grippeviren sein (Powers & Belshe 1993).

Zusammenfassend lässt sich bis hierher darstellen, dass durch die verminderte Proliferationsfähigkeit der T-Zellen sowohl die zelluläre, als auch die humorale Immunabwehr bei älteren Menschen eingeschränkt ist.

Die Änderung der T-Zellantwort kann auf die mit ihr in Interaktion tretenden Zytokine zurückgeführt werden (Kurashima et al. 1995). Wie oben bereits ausgeführt, ist die IL-2 und IL-2R Synthese durch T-Zellen von älteren Individuen geringer als die von jüngeren Individuen (Frasca et al. 1994, Nagel et al. 1989).

Frasca et al. (1994) berichteten über verminderte Proliferationsraten von Lymphozyten sowie supprimierte Syntheseraten von IL-2, IL-4 und löslichem IL-2R von mononuclearen Zellen des Blutes älterer Menschen. Die Zugabe von IL-2 zu kultivierten T-Zellen führt zu einer verstärkten Zellproliferation, was darauf schließen lässt, dass der verminderte IL-2 Level der proliferationslimitierende Faktor ist (Frasca et al. 1994).

Die Tatsache, dass der IL-6 Titer selbst bei gesunden älteren Personen ansteigt (Wei et al. 1992), lassen Ershler et al. (1994) auf eine unkontrollierte Expression

des IL-6 Gens schließen. IL-6 ist ein proinflammatorisches Zytokin, das bei gesunden jungen Menschen nicht im Serum vorhanden ist und als Typ 2 Zytokin die B-Zellproliferation sowie die Synthese der akuten Phasen Proteine stimuliert (Daynes et al. 1993, Wei et al. 1992). IL-6 könnte also für die erhöhten Level der akuten Phasen Proteine von gesunden älteren Personen verantwortlich sein (Post & Carter 1991, Ross & Frengley 1992), genauso wie für die Hypergammaglobulinämie (Lyngby & Kroll 1971) und die benignen B-Zellproliferationsstörungen, welche bei älteren Menschen häufiger vorkommen (Ligthart et al. 1990). Es wurde außerdem darüber berichtet, dass es bei älteren Männern zu einer erhöhten Produktion des Zytokins IL-8 durch LPS-stimulierte Granulozyten kommt. Dies führt zu einer verstärkten Infiltration inflammatorischer Zellen in Gewebe, in denen es zur Akkumulation gramnegativer Bakterien gekommen ist (Clark & Peterson 1994).

Die Anzahl von B-Zellen im Blut nimmt im Laufe des Lebens ab (Ligthart et al. 1989), über die Situation bei den Immunglobulinen gibt es unterschiedliche Angaben. Lyngby & Kroll (1971) kamen zu dem Ergebnis, dass sich der Antikörpertiter im Alter erhöht, Challacombe et al. (1993) konnten dieses Ergebnis nicht bestätigen. Die Proliferationsrate der B-Zellen alter Menschen war nach Stimulation durch das Staphylokokkenprotein A oder durch den gesamten Erreger (*Staphylokokkus aureus*) geringer als die von jungen Probanden (Whisler et al. 1996, Whisler et al. 1990). Die B-Zellreaktion ist nach Exposition mit Pneumokokkenenerregern bei älteren Menschen qualitativ wie auch quantitativ vermindert (Konradsen 1995).

Generell wird die Funktion der Monozyten und Makrophagen nicht durch das Alter beeinflusst (Brouwer & Knook 1983, Nielsen et al. 1984). Der Einfluss des Alters auf die Zytokinsynthese dieser Zellen ist noch unklar (Chen et al. 1993). Die IL-1 Produktion durch Monozyten war bei kranken wie auch bei gesunden älteren Individuen mal vermindert (Goldberg et al. 1991, Nafziger et al. 1993) oder erhöht (Fagiolo et al. 1993).

Die bei Gruppen von sowohl gesunden als auch kranken älteren Menschen (65-75 Jahre) untersuchten Parameter zeigten in einer Reihe von Studien keine Evidenz dafür, dass der altersbedingte Wandel des Immunsystems mit der Parodontitis in Zusammenhang gebracht werden kann (McArthur et al. 1995, 1996, Wheeler et al. 1994).

Der oben beschriebene Wandel des Immunsystems in Bezug auf die Anzahl von T- und B-Zellen im Blut konnte bei parodontal kranken und gesunden älteren Personen festgestellt werden (McArthur et al. 1996). Ältere Individuen mit Parodontitis hatten, im Vergleich zur Gruppe von jüngeren kranken Individuen, einen höheren Level von spezifischen Antikörpern gegen *Porphyromonas gingivalis* im Serum. Bei jungen und alten parodontal gesunden Probanden waren diese Antikörper jedoch nicht nachweisbar (McArthur et al. 1995).

Es konnte außerdem nachgewiesen werden, dass erhöhte Immunglobulinlevel gegen *P. gingivalis* den besten Indikator für zukünftigen Knochenverlust bei älteren Patienten darstellt (Wheeler et al. 1994). Diese Tatsache zeigt, dass es auch bei älteren Individuen mit altersbedingtem Wandel des Immunsystems zu einer Reaktion der Immunabwehr auf die bakterielle Besiedlung der Zahnoberfläche kommt. Zudem konnten keine Unterschiede bezüglich der Quantität und Qualität der subgingivalen Plaque von erkrankten und gesunden Stellen älterer Individuen im Vergleich zu jungen Patienten mit Parodontitis aufgewiesen werden (Wheeler et al. 1994).

Abschliessend kann festgehalten werden: Mit dem altersbedingten Wandel des Immunsystems kann die Frage nach der altersabhängigen bzw. altersbedingten Parodontitis nicht geklärt werden.

## 2.6 Parodontitisresistente Individuen

Die Resistenz ist eine ererbte Unempfänglichkeit des Organismus (sog. natürliche Immunität) für eine Infektion mit pathogenen Mikroorganismen bzw. Schutz vor der Wirkung mikrobieller Stoffwechselprodukte (v.a. Endo- u. Exotoxinen) oder Giften. Die biologischen Grundlagen der Resistenz sind nur unvollständig bekannt. Es gibt Resistenz-Unterschiede der Arten (Bsp.: Gonokokken nur menschenpathogen), der Rassen (Bsp.: Scharlach nur bei Weishäutigen) und der Individuen (Bsp.: Konstitution, Alter, Umweltschäden). Die Resistenz nimmt durch Kälteschäden (Erkältung), Nährschäden (Unterernährung, Vitaminmangel), Stoffwechselstörung (Diabetes) sowie körperliche und seelische Überanstrengung ab. Sie kann aber auch durch natürliche und ausgeglichene Lebensweise, richtige Ernährung und Abhärtung gefördert werden (Pschyrembel 2002).

Viele Punkte der oben genannten allgemeinen Definition der Resistenz treffen auch auf die Parodontitis zu. So konnte gezeigt werden, dass es Unterschiede in Bezug auf die Parodontitis Prävalenz bei Patienten mit Diabetes mellitus (Hayden & Buckley 1989), Stress (Horning et al. 1992) sowie rassenspezifische Unterschiede (Borell et al. 2002) gibt.

Nach der obigen Definition ist die Resistenz gegenüber einer Erkrankung nicht einfach nur vorhanden oder nichtvorhanden, ein Mensch kann seine Resistenz einschränken oder fördern. Doch wann kann ein Mensch als parodontitisresistent eingestuft werden? Wie viel Förderung ist zulässig um noch als parodontitisresistent zu gelten, bzw. ist ein starker Raucher mit schlechter Mundhygiene und nur sehr geringem Attachmentverlust vielleicht resistenter als ein Nichtraucher mit optimaler Mundhygiene und keinem Attachmentverlust? Es gibt nur wenig Literatur zu diesem Thema und die biologischen Grundlagen sind, wie in der Medizin, kaum bekannt.

Als einer der ersten beschäftigten sich Wiedemann et al. (1979) mit dieser Problematik und führten an 62 parodontal gesunden Probanden zwischen 20 und 29 Jahren eine experimentelle Gingivitis durch. 25 Probanden (Gruppe 1) erreichten den gewünschten Schweregrad der Gingivitis bereits nach einer zweiwöchigen Phase ohne Mundhygiene. 29 Probanden erreichten ihn nach drei Wochen (Gruppe 2) und 8 Probanden erreichten den gewünschten Schweregrad innerhalb der vorgegebenen Zeit nicht (Gruppe 3). Wiedemann et al. (1979) stufte Gruppe 3 als parodontitisresistent, Gruppe 2 als bedingt resistent und Gruppe 1 als parodontal insuffizient ein. Es wurden keine Angaben über eventuelle Risikofaktoren gemacht.

Von individuellen Unterschieden in Bezug auf die Krankheitsprogression konnte in Langzeitstudien berichtet werden, die sowohl an behandelten als auch unbehandelten Patienten durchgeführt wurden. In einer Langzeitstudie über 15 Jahre an Teeplantagenarbeitern auf Sri Lanka, die keinen Zugang zu zahnmedizinischen Einrichtungen und eine schlechte Mundhygiene hatten, wurde von großen Unterschieden in dem individuellen Risiko (Anfälligkeit) für eine Parodontitisprogression untersucht. Während 81% der Teeplantagenarbeiter eine moderate Progression zeigten konnte bei 11% keinerlei Krankheitsprogression festgestellt werden, was unter diesen Bedingungen mit einer Parodontitisresistenz gleichzusetzen ist. Bei

8% dieser Population konnte eine schnelle Krankheitsprogression mit starken parodontalen Destruktionen beobachtet werden (Löe et al. 1986).

Sugita et al. (2001) sind der Meinung, dass parodontitisresistente Probanden zuverlässiger in einer Population von älteren Individuen gefunden werden können, da die Wahrscheinlichkeit größer ist, dass ältere Menschen bereits ihre Neigung zur parodontalen Destruktion entfaltet hätten. Sie definierten die Einschlusskriterien für die Gruppe der parodontitisresistenten Probanden wie folgt: Die Probanden mussten älter als 70 Jahre sein und mindestens 20 eigene Zähne besitzen. Der Attachmentlevel wurde an sechs Stellen pro Zahn gemessen und es durften maximal 5% der Stellen einen Attachmentverlust von mehr als 4mm aufweisen.

In allen weiteren Studien (Africa et al. 1985, Goteinert & Goldman 1984, Heasman et al. 1998, Johnson et al. 1997, Payne et al. 1993, Winkel et al. 1987) liegt das Alter der parodontitisresistenten Gruppen im Mittel zwischen 20 und 58 Jahren, in Bezug auf die in den Einschlusskriterien angegebene Mindestbezahnung liegen die Werte mit 16, 18 oder 20 verbliebenen Zähnen enger beieinander. Bei der Studie, die eine Mindestbezahnung von 16 Zähnen verlangte, mussten jedoch mindestens zwei 1. oder 2. Molaren in der Restbezahnung vorhanden sein (Heasman et al. 1998).

Einheitlich war in allen Studien, dass als parodontitisresistent nur der gelten konnte, dem kein Zahn aus parodontologischen Gründen extrahiert wurde, der keinen Attachmentverlust sowie keine Anhaltspunkte einer regelmäßigen Interdentalhygiene bzw. eine Gingivitis aufweisen konnte. Ausserdem mussten die Probanden systemisch gesund sein und durften keine Medikamente einnehmen, die die Immunabwehr beeinflussen. Heasman et al. (1998) waren die einzigen, die zwischen Rauchern, ehemaligen Rauchern und Nichtrauchern differenzierten, wobei sich die 20 parodontitisresistenten Probanden aus 19 Nichtrauchern und einem ehemaligen Raucher zusammensetzten. Die Studien von Sugita et al. (2001) und Goteiner & Goldman (1984) beschäftigten sich als einzige mit genetischen Faktoren in Zusammenhang mit einer Resistenz gegen Parodontitis.

Goteiner & Goldman (1984) schlossen, auf Grund des signifikant häufigeren Vorkommens in der Gruppe der Parodontitisresistenten, dass die Haupthistokompatibilitätskomplexe (HLA) B5 und A28 zu einer effektiveren Immunabwehr mit effektiverer Elimination der mit der Parodontitis assoziierten Keime führt.

Sugita et al. (2001) sind der Meinung, dass die Resistenz gegenüber der Parodontitis durch genetische Komponenten, die einen Einfluss auf das Immunsystem haben, erklärt werden könne. In ihrer Untersuchung konnten sie einen bestimmten Polymorphismus des FcγRezeptorsIIIb mit der oben beschriebenen parodontitisresistenten Gruppe assoziieren.

Die hier aufgeführte Evidenz ist Grundlage für die Ein- und Ausschlusskriterien der vorliegenden Studie, deshalb wurden die Untersuchungen, bei denen die Gruppe der parodontitisresistenten Probanden nicht eindeutig beschrieben war, hier ausser acht gelassen.

### 3.0 Ziel der Studie

Ziel der Studie war, genetische Risikofaktoren [ Polymorphismen der Interleukine: IL-1 $\alpha$  (G  $\rightarrow$  T an Stelle +4845), IL-1 $\beta$  (C  $\rightarrow$  T an Stelle +3954), IL-4 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -590 in der Promotorregion), IL-4 (VNTR in Intron 2), IL-13 (G  $\rightarrow$  A an Stelle +2044 in Exon 4), IL-13 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -1112 in der Promotorregion) und Fc $\gamma$ RIIa (A  $\rightarrow$  G an Stelle 131)] bei einer Gruppe von älteren Individuen, die keine klinischen Zeichen einer Parodontitis (kein Attachmentverlust) aufwiesen, zu untersuchen. Diese Gruppe wurde mit einer Gruppe von jungen, gesunden Individuen und einer Gruppe von Patienten mit aggressiver Parodontitis verglichen.

## **4.0 Material und Methoden**

### **4.1 Studienprotokoll**

Vor Beginn der Untersuchung wurde ein umfassendes Studienprotokoll erstellt. Darin wurden anhand vergleichbarer internationaler Studien das Thema und das Ziel der Untersuchung beschrieben. In dem Studienprotokoll erfolgte die Definition der Gruppen, desweiteren wurde die Zuordnung der Patienten entsprechend ihrer klinischen und radiologischen Befunde zu den einzelnen Gruppen festgelegt. Die Ein- und Ausschlusskriterien der Studie, alle labortechnischen Parameter, sowie die statistische Datenanalyse wurden definiert und der experimentelle Ablauf beschrieben.

### **4.2 Klinische und radiologische Untersuchungsmethoden**

#### **4.2.1 Eingangsuntersuchung**

Die Zuordnung der an der Studie beteiligten Patienten und Probanden zu den einzelnen Untersuchungsgruppen erfolgte nach eingehender klinischer und röntgenologischer Untersuchung.

Die Anamnese konnte mit Hilfe eines speziellen Vordruckes (siehe Anhang) erhoben werden, im Vordergrund standen hier Fragen nach Risikofaktoren in Zusammenhang mit der Parodontitis, zum Beispiel Rauchen oder Diabetes mellitus, sowie Fragen zur allgemeinen Gesundheit und eventuellen Medikationen.

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

Der Parodontalstatus (siehe Anhang) wurde mit Hilfe einer PCPUNC 15 Sonde erhoben, gemessen an 6 Stellen pro Zahn, wobei die Sondierungstiefe, der Gingivalrand, BOP und das Attachmentlevel dokumentiert wurden. Außerdem konnte in dem gleichen Befund Karies- und Füllungsbefund sowie prothetische Versorgung festgehalten werden.

Um eindeutige Messergebnisse zu garantieren wurden die Befunde jedes Patienten vom gleichen Behandler erhoben.

#### **4.2.2 Röntgenanalyse**

Für Messungen des Alveolarknochenniveaus wurden nur aktuelle Röntgenbilder benutzt, entweder kompletter Mundfilmstatus oder OPMG von guter Qualität, die nicht älter als 6 Monate sein durften. Sofern neue Röntgenbilder angefertigt werden mussten, wurden diese immer von demselben OPMG Gerät aufgenommen. Bei der Gruppe von jungen, gesunden Individuen (J) wurden keine Röntgenbilder angefertigt, da hier keine medizinische Indikation bestand. Bei den anderen beiden Gruppen (AP und O) wurde die Röntgenanalyse folgendermaßen durchgeführt:

Es wurde der Abstand der interproximalen Verbindungslinie der Schmelzzementgrenzen benachbarter Zähne zur Knochenkante gemessen und als Verhältnis zur gesamten Wurzellänge in Prozent ausgedrückt (siehe nachfolgende Abbildung).

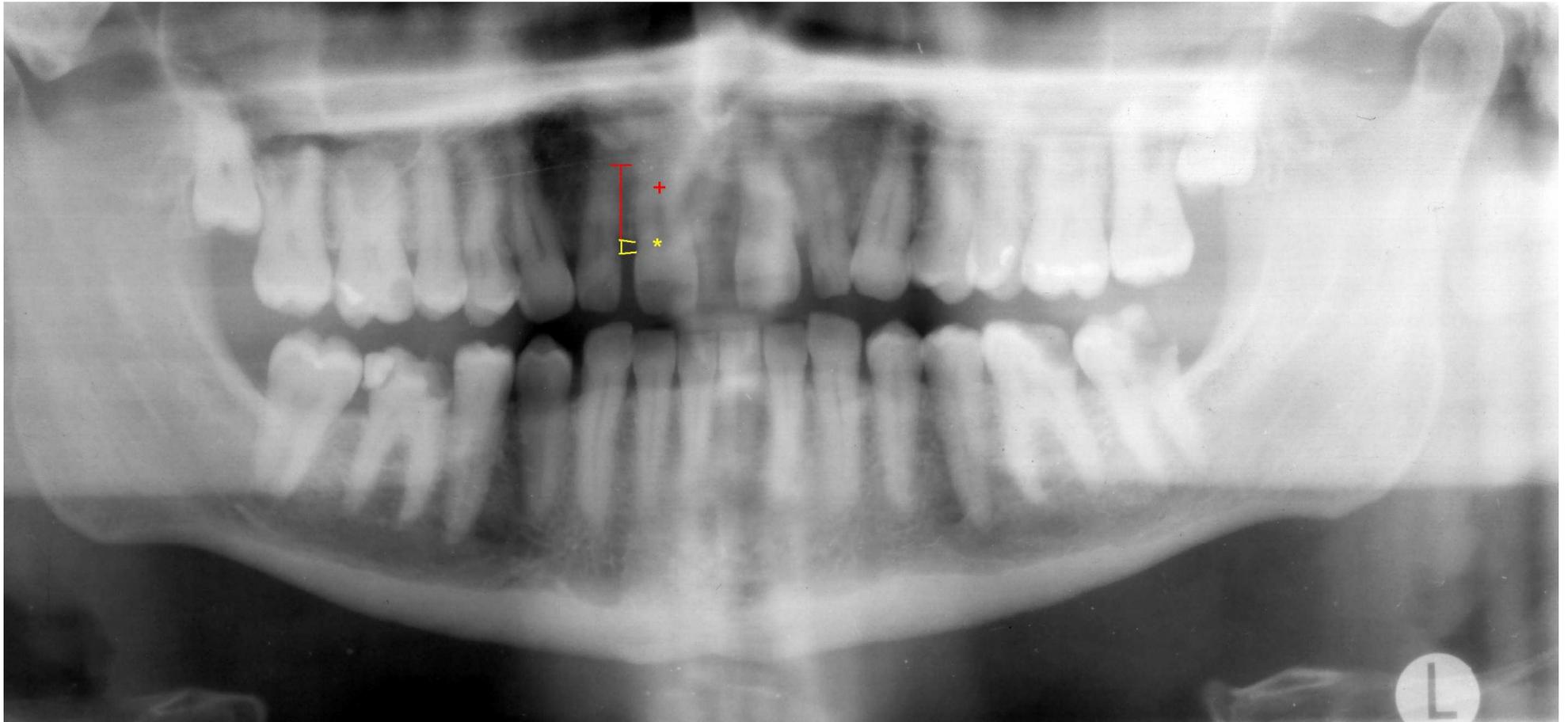


Abb. 1: OPG eines parodontitisresistenten Probanden

+ : Abstand Knochenkante bis Wurzelspitze

\* : Abstand Schmelzzementgrenze bis Knochenkante

### **4.3 Studienpopulation**

Die Studie wurde konform der Ethikrichtlinien der Helsinki-Kommission durchgeführt und von der Ethikkommission der des Universitätsklinikums Gießen-Marburg GmbH genehmigt (92/02). Die Patienten, die an einer aggressiven Parodontitis leiden (AP,  $n=35$ ) wurden ausschließlich aus dem Patientengut der Poliklinik für Parodontologie der JLU Gießen rekrutiert. Für die Gruppe von gesunden Individuen jünger als 30 Jahre (J,  $n=29$ ) stellten sich Studenten der Zahnmedizin zur Verfügung. Die Gruppe der gesunden, älteren Individuen ( $\geq 55$  Jahre, O) wurde durch Kooperationen mit der konservierenden-, prothetischen und chirurgischen Abteilung (siehe Anhang) sowie mit verschiedenen Praxen (siehe Anhang) zusammengestellt. Es wurde darum gebeten die klinischen Befunde vom Doktoranden selbst erheben zu dürfen.

Von den kooperierenden Zahnärzten und den oben genannten Abteilungen wurden insgesamt 416 Probanden für die Studie zur Verfügung gestellt, die die Einschlusskriterien nach Meinung der kooperierenden Kollegen erfüllten. Es erfolgte eine Vorauswahl anhand von Röntgenbildern nach oben beschriebener Röntgenanalyse. 86 Probanden erfüllten die Einschlusskriterien der Röntgenanalyse, 7 Probanden waren nicht bereit an der Studie teilzunehmen, weitere 5 Probanden mussten aus anamnestischen Gründen von der Studie ausgeschlossen werden. 74 Probanden wurden klinisch untersucht, wobei lediglich 22 die weiter unten beschriebenen Einschlusskriterien erfüllten.

#### **4.3.1 Patientenaufklärung**

Die Patienten, die an dieser Studie teilnahmen, wurden vor Untersuchung und Blutentnahme über den Inhalt der Studie informiert. Nach Aufklärung gaben sie eine schriftliche Einverständniserklärung ab, dass sie zur Probenentnahme zu rein wissenschaftlichen Untersuchungen bereit sind. (siehe Anhang)

#### **4.3.2 Ausscheiden aus der Studie**

Patienten, die ihre Einverständniserklärung zur Probenentnahme widerrufen, scheiden aus der Studie aus.

## 4.4 Gruppeneinteilung

Gruppe AP: Junge Patienten, die an einer aggressiven Parodontitis leiden

Gruppe J: Junge Probanden ohne Attachmentverlust

Gruppe O: Alte Probanden ohne Attachmentverlust

Die Patienten wurden entsprechend der Auswahlkriterien ausgewählt. Es wurde eine Eingangsuntersuchung durchgeführt, danach Blut- und Serumproben entnommen und bis zur experimentellen Untersuchung gelagert.

Die Probenentnahme erfolgte nach Aufklärung und Einverständniserklärung des Patienten.

### 4.4.1 Ein- und Ausschlusskriterien

#### 4.4.1.1 Einschlusskriterien

(Es kommen für alle Gruppen nur Kaukasier in Frage)

Einschlusskriterien der Gruppe AP:

Patienten beiderlei Geschlechts ( $\leq 35$  Jahre) mit dem folgenden klinischen Befund:

- Sondierungstiefe (ST)  $> 5$ mm (ST gemessen an 6 Stellen pro Zahn)
- Attachmentverlust (ALV)  $> 6$  mm
- Lokalisierte oder generalisierte Alveolarknochenverlust  $\geq 50\%$  von der Schmelz-Zement-Grenze (im OPG an mindestens 4-7 Stellen im Bereich der Seiten-und/oder Frontzähnen)

Einschlusskriterien der Gruppe J:

Probanden beiderlei Geschlechts ( $\leq 30$  Jahre) mit dem folgenden klinischen Befund:

- Sondierungstiefe :  $\leq 4$ mm (ST, gemessen an 6 Stellen pro Zahn)
- Kein Attachmentverlust (= Attachmentlevel  $> 3$ mm)
- Anzahl der Zähne:  $\geq 20$

Einschlusskriterien der Gruppe O:

Probanden beiderlei Geschlechts ( $\geq 55$  Jahre) mit dem folgenden klinischen Befund:

- Sondierungstiefen  $\leq 4$ mm (ST, gemessen an 6 Stellen pro Zahn)
- kein Attachmentverlust (= Attachmentlevel  $> 3$ mm)
- Anzahl der Zähne:  $\geq 20$
- kein Alveolarknochenverlust, d.h. keine Knochenresorption der Crista alveolaris  $> 15\%$  im Röntgenbild

Die Einschlusskriterien der Gruppe O erlaubten Patienten mit schlechter Mundhygiene oder Compliance, Raucher inklusive, die aber keine Zeichen einer Parodontitis aufzeigten.

In Gruppe AP gab es drei Patienten, die älter als 35 Jahre waren, sie zeigten jedoch eindeutige Symptome der aggressiven Parodontitis, der Krankheitsbeginn lag bereits vor dem 35. Lebensjahr.

#### **4.4.1.2 Ausschlusskriterien**

Aus der Studie ausgeschlossen wurden Patienten mit folgenden Allgemein- oder systemischen Erkrankungen:

Diabetes mellitus, Autoimmunerkrankungen wie rheumatische Arthritis, systemischer Lupus Erythematoses und Sjögren-Syndrom,

Patienten, die in den letzten 8 Wochen vor Probenentnahme eine Antibiose bekommen, oder die Immunsuppressiva einnahmen und Patienten erkrankt an Hepatitis oder HIV.

## **4.5 Laborparameter**

### **4.5.1 Entnahme von Blut**

Aus der Armvene wurde Blut in herkömmlicher Weise entnommen. Die dafür vorgesehenen Röhrchen waren mit weißem Deckel für die Serumgewinnung, mit einem roten Deckel für die EDTA- Blutgewinnung und mit violetter Deckel für die Blutsenkungsgeschwindigkeit gekennzeichnet.

Die Röhrchen sollten vollständig gefüllt werden, damit das Mischungsverhältnis mit den Antikoagulationen eingehalten wurde. Die Lagerung der Proben erfolgte bei  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### **4.5.2 Extraktion der DNA aus Blutzellen**

Die Extraktion der DNA aus den Blutzellen erfolgt mit Hilfe des Insta Gene Whole Blood Kit der Firma Bio-Rad (BioRad-Laboratories, München).

- Das bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagerte Blut wird aufgetaut
- In einem 1,5 ml Tube werden 50  $\mu\text{l}$  Blut mit 1ml des Lysis-Puffer versetzt, der die Blutzellen lysiert und bei geschlossenem Tube unter gelegentlichem Schütteln vermischt
- Die Zellyse läuft 8 min bei Raumtemperatur ab.
- Der Reaktionsansatz wird 1 min bei 10.000 – 12.000 rpm zentrifugiert, wodurch sich auf dem Boden des Tubes ein Pellet absetzt.
- Abpipettieren des Flüssigkeitsüberstandes über dem Pellet, ohne dieses zu zerstören
- Zugabe von 500  $\mu\text{l}$  des Lysis-Puffers zu dem Pellet, um die DNA von den übrigen Blutbestandteilen zu befreien
- 10 sec vortexen
- 1min bei 10.000 – 12.000 rpm zentrifugieren und so viel wie möglich von dem Überstand abpipettieren, ohne das Pellet zu zerstören.

- Wiederholung des vorangegangenen Schrittes (Waschvorgang)
- Zugabe von 200 µl der Instagene Matrix zu dem Pellet, die die DNA stabilisiert, so dass sie gelagert werden kann.
- Inkubation 8 min bei 70°C
- 10 sec vortexen
- 4 min in 95°C Wasserbad
- falls die DNA nicht sofort für die PCR verwendet wird, Lagerung bei –20°C
- sobald die DNA für die PCR eingesetzt werden soll, 10 sec vortexen, 1 min zentrifugieren bei 10.000 – 12.000 rpm
- von dem Überstand werden 5 – 10 µl DNA in der PCR verwendet
- Lagerung der extrahierten DNA bei +4°C

### 4.6 PCR

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) wurde von Mullis et al. (1986) erstmals beschrieben. Ein DNA-Abschnitt wird mit Hilfe einer DNA-Polymerase in einem geeigneten Puffersystem in Gegenwart von Nukleotiden wiederholt repliziert.

Der zu amplifizierende DNA-Abschnitt wird von entsprechenden Primersequenzen begrenzt. Bei der Reaktion erfolgt ein zyklischer Temperaturwechsel.

Jeder Zyklus besteht aus folgenden Teilschritten:

- Denaturierung der doppelsträngigen DNA bei 93 – 100°C
- Anlagerung der Primer an die DNA–Einzelstränge bei 37 – 65 °C (Annealing)
- Verlängerung der Primer durch Anlagerung der Desoxynukleosidtriphosphate (dNTP), so dass es unter Mitwirkung einer hitzestabilen DNA-Polymerase zur Synthese des komplementären DNA-Stranges kommt (Extension).

Alle drei Schritte bilden einen PCR-Zyklus, der mindestens zwanzig mal wiederholt wird. Auf diese Art und Weise wird der gewünschte DNA-Abschnitt vervielfacht, so dass er nachgewiesen werden kann.

#### 4.6.1 PCR zur Bestimmung des Interleukin.1 $\alpha$ Polymorphismus (G $\rightarrow$ T an Stelle +4845)

Primer: A: 5` - ATG GTT TTA GAA ATC ATC AAG CCT AGG GCA -3`

B: 5` - AAT GAA AGG AGG GGA GGA TGA CAG AAA TGT -3`

Zu 5  $\mu$ l DNA werden hinzugefügt:

- 10  $\mu$ l 10x Reaktionspuffer (Qiagen)
- 2  $\mu$ l dNTPs 0,2  $\mu$ M (dNTP mixture dATP, dGTP, dCTP und dTTP) (Boehringer Mannheim GmbH)
- 1  $\mu$ l Primer A 0,2  $\mu$ M
- 1  $\mu$ l Primer B 0,2  $\mu$ M
- 5  $\mu$ l Magnesiumchlorid 25mM (Qiagen)
- 0,5  $\mu$ l Hotstart Taq DNA Polymerase 5U/ $\mu$ l (Qiagen)
- 75,5  $\mu$ l steriles Wasser, so dass sich ein Gesamtvolumen von 100  $\mu$ l PCR Ansatz ergibt

Die PCR erfolgt in einem Mastercycler<sup>®</sup> Gradient der Firma Eppendorf/ Netheler/ Hinz, Hamburg, Deutschland.

PCR-Temperaturverlauf:

- Initiale Denaturierung 95°C 15 min
  - Denaturierung 94°C 1min
  - Annealing 62°C 1min
  - Elongation 72°C 1 min
  - finale Elongation 72°C 10 min
- } 35 Zyklen

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

#### 4.6.2 PCR zur Bestimmung des Interleukin 1 $\beta$ Polymorphismus (C $\rightarrow$ T an Stelle +3954)

Primer: A: 5` - CTC AGG TGT CCT CGA AGA AAT CAA A -3`

B: 5` - GCT TTT TTG CTG TGA GTC CCG -3`

Zu 5 µl DNA werden hinzugefügt:

- 10 µl 10x Reaktionspuffer (Qiagen)
- 2 µl dNTPs 0,2 µM (dNTP mixture dATP, dGTP, dCTP und dTTP) (Boehringer Mannheim GmbH)
- 2 µl Primer A 0,2 µM
- 2 µl Primer B 0,2 µM
- 10 µl Magnesiumchlorid 25mM (Qiagen)
- 0,5 µl Hotstart Taq DNA Polymerase 5U/µl (Qiagen)
- 68,5 µl steriles Wasser, so dass sich ein Gesamtvolumen von 100 µl PCR Ansatz ergibt

Die PCR erfolgt in einem Mastercycler<sup>®</sup> Gradient der Firma Eppendorf/ Netheler/ Hinz, Hamburg, Deutschland.

PCR-Temperaturverlauf:

- Initiale Denaturierung 94°C 2 min
  - Denaturierung 94°C 1min
  - Annealing 65°C 1min
  - Elongation 72°C 1 min
  - finale Elongation 72°C 7 min
- } 40 Zyklen

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

#### **4.6.3 PCR zur Bestimmung des Interleukin 4 Polymorphismus (C → T an Stelle -590) in der Promotorregion**

Primer: A: 5` - ACT AGG CCT CAC CTG ATA CG -3`

B: 5` - GTT GTA ATG CAG TCC TCC TG -3`

Zu 10 µl DNA werden hinzugefügt:

- 10 µl 10x Reaktionspuffer (Qiagen)
- 2 µl dNTPs 0,2 µM (dNTP mixture dATP, dGTP, dCTP und dTTP) (Boehringer Mannheim GmbH)
- 2 µl Primer A 0,2 µM
- 2 µl Primer B 0,2 µM

- 5 µl Magnesiumchlorid 25mM (Qiagen)
- 0,5 µl Hotstart Taq DNA Polymerase 5U/µl (Qiagen)
- 68,5 µl steriles Wasser, so dass sich ein Gesamtvolumen von 100 µl PCR Ansatz ergibt

Die PCR erfolgt in einem Mastercycler<sup>®</sup> Gradient der Firma Eppendorf/ Netheler/ Hinz, Hamburg, Deutschland.

PCR-Temperaturverlauf:

- Initiale Denaturierung 95°C 15 min
  - Denaturierung 95°C 1min
  - Annealing 57°C 1min
  - Elongation 72°C 1 min
  - finale Elongation 72°C 10 min
- } 40 Zyklen

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

#### **4.6.4 PCR zur Bestimmung des Interleukin 4 Polymorphismus (Wiederholungspolymorphismus von 70 Basenpaaren in Intron 2)**

Primer: A: 5`- TAG GCT GAA AGG GGG AAA CG -3`

B: 5`- CTG TTC ACC TCA ACT GCT CC -3`

Zu 5µl DNA werden hinzugefügt:

- 10µl 10 x Reaktionspuffer (Qiagen)
- 2µl dNtPs 0,2µM (dNTP Mix dATP, dGTP, dCTP und dTTP) (Boehringer Mannheim GmbH)
- 2µl Primer A 0,2µM
- 2µl Primer B 0,2µM
- 5µl Magnesiumchlorid 25 mM (Qiagen)
- 0,5µl Hotstart Taq DNA Polymerase 5U/µl (Qiagen)
- 76µl steriles Wasser, so dass sich ein Gesamtvolumen von 100µl PCR Ansatz ergibt

Die PCR erfolgt in einem Mastercycler<sup>®</sup> Gradient der Firma Eppendorf/ Netheler/ Hinz, Hamburg, Deutschland.

PCR-Temperaturverlauf:

- Initiale Denaturierung 95°C 15 min
  - Denaturierung 95°C 1 min
  - Annealing 55°C 1 min
  - Elongation 72°C 1 min
  - final Elongation 72°C 10 min
- } 40 Zyklen

Die PCR-Produkte werden bei -20°C gelagert.

#### 4.6.5 PCR zur Bestimmung des Interleukin 13 Polymorphismus (G → A an Stelle +2044 in Exon 4)

Primer :     A: 5´-CTTCCGTGAGGACTGAATGAGACGGTC-3´

              B: 5´-GCAAATAATGATGCTTTTCGAAGTTTCAGTGGA-3´

Die PCR wird mit einem Volumen von 15 µl, das 24 ng genomische DNA enthält, durchgeführt. Dazu werden weiterhin 10mmol/l Tris – HCL ( pH 8,3), 50 mmol/l Potassiumchlorid , 1,5 mmol/l MgCl<sub>2</sub> , 200 µmol/l von jedem dNTP, 30ng jedes Primers und 0,6 unit Taq Polymerase (Sigma Chemical, St. Louis, Mo) benötigt.

Die PCR erfolgt in einem Mastercycler<sup>®</sup> Gradient der Firma Eppendorf/ Netheler/ Hinz, Hamburg, Deutschland.

PCR-Temperaturverlauf:

- Initiale Denaturierung 94°C 2 min
  - Denaturierung 94°C 40 sec
  - Annealing 55°C 40 sec
  - Elongation 74°C 50 sec
  - final Elongation 72°C 10 min
- } 33 Zyklen

Die PCR-Produkte werden bei -20°C gelagert.

#### 4.6.6 PCR zur Bestimmung des Interleukin 13 Polymorphismus (C → T an Stelle -1112 in der Promotorregion)

Primer :     A: 5´-GGAATCCAGCATGCCTTGTGAGG -3´  
              B: 5´-GTCGCCTTTTCCTGCTCTTCCCGC -3´

Die PCR wird mit einem Volumen von 25µl, das 40 ng genomische DNA enthält, durchgeführt. Dazu werden weiterhin 10mmol/l Tris – HCl (pH 8,3), 50 mmol/l Kaliumchlorid, 1,5 mmol/l MgCl<sub>2</sub> , 200 µmol/l von jedem dNTP, 50 ng jedes Primers und 1 unit Taq Polymerase (Sigma Chemical, St. Louis, Mo) benötigt.

Die PCR erfolgt in einem Mastercycler® Gradient der Firma Eppendorf/ Netheler/ Hinz, Hamburg, Deutschland.

PCR-Temperaturverlauf:

- Initiale Denaturierung 94°C 2 min
  - Denaturierung 94°C 40 sec
  - Annealing 54°C 40 sec
  - Elongation 74°C 50 sec
  - final Elongation 72°C 10 min
- } 33 Zyklen

Die PCR-Produkte werden bei -20°C gelagert

#### 4.6.7 PCR zur Bestimmung des FcyRIIa-Polymorphismus (A→ G an Stelle 131, was zu einem Wechsel der Aminosäuren Histidin zu Arginin im Protein führt)

Folgende Bestandteile werden für das Reaktionsgemisch verwendet:

- PCR-Puffer bestehend aus MgCl<sub>2</sub>
- dNTPs: dATP, dGTP, dCTP, dTTP
- Taq Polymerase
- Isolierte, genomische DNA

Primer:

- H131-spezifischer Sense-Primer (5´-ATCCCAGAAATTCTCCCA-3´) von der 2.extrazellulären Domäne oder 0,5 µM R131-spezifischer Sense-Primer (5´-ATCCCAGAAATTCTCCCG-3´)
- Gewöhnlicher Antisense-Primer (5´-CAATTTTGCTGCTATGGGC-3´) von einem Gebiet des downstream-Introns, wo die Sequenzen für FcγRIIA, FcγRIIB und FcγRIIC abweichen.

Zur internen Kontrolle werden folgende Primer verwendet:

- Humaner Wachstumshormon (HGH)-I Primer (5´-CAGTGCCTTCCCAACCATTCCCTTA-3´) und HGH-II Primer (5´-ATCCACTCACGGATTTCTGTTGTGTTTC-3´)

Ansetzen der Primer:

Die Primer liegen jeweils in einer Konzentrationen 0,1 nmol/µl (= 0,1mM) vor.

Die Primer sollen in einer Stammkonzentration von 5 µM verwendet werden. Dazu werden von jedem Primer zehn Aliquots á 10 µl abgenommen. Der Rest und jeweils acht dieser Aliquots werden wieder eingefroren. Jeweils ein Aliquot wird 1:20 in aqua dest. verdünnt. 25 µl davon werden anschließend in dem Master-Mix eingesetzt, der Rest wird eingefroren.

Master-Mix (für 10 Ansätze):

PCR buffer 10x mit 15 mM MgCl <sub>2</sub>	25 µl
Primer 131H-LR (5 µM)	
bzw. Primer 131R-HR (5 µM)	25 µl
Primer HR/LR rev. (5 µM)	25 µl
Primer HGH I (1,25 µM)	25 µl
Primer HGH II (1,25 µM)	25 µl
dnTPs (10 mM eines jeden)	5 µl
Taq Polymerase (5U/µl)	1 µl
aqua dest.	94 µl
Gesamtvolumen	225 µl

Den Master-Mix aufteilen auf 10 Aliquots à 22,5 µl und je 2,5 µl DNA (mit 40 µg/ml) zugeben.

Die PCR erfolgt in einem Mastercycler<sup>®</sup> Gradient der Firma Eppendorf/ Netheler/ Hinz, Hamburg, Deutschland.

PCR-Temperaturverlauf:

- Initiale Denaturierung 95°C 5 min
  - Denaturierung 95°C 30 sec
  - Annealing 57°C 60 sec
  - Elongation 72°C 30 sec
  - Denaturierung 95°C 30 sec
  - Annealing 54°C 60 sec
  - Elongation 72°C 30 sec
  - final Elongation 72°C 5 min
- 11 Zyklen
- 23 Zyklen

Die PCR-Produkte werden bei -20°C gelagert

#### 4.7 Gelelektrophorese der PCR-Produkte

- 1g Agarose (Sigma-Aldrich Chemier GmbH) werden mit 50 ml 1x TAE-Puffer (BioRad) (50x TAE: 40 mM Tris, 20 mM Essigsäure, 1mM EDTA, pH 8,3) versetzt, was ein 2%iges Agarosegel ergibt
- Ethidiumbromidkonzentration im Argarosegel: 0,5µg/ml
- Ethidiumbromidkonzentration im 1xTAE-Puffer: 0,2µg/ml  
(0,015g Ethidiumbromid/1,5 ml, Fluka BioChemica, Neu-Ulm, Deutschland)
- Gel aufkochen
- Flüssiges Gel blasenfrei in das Elektrophoresegerät eingiessen und erstarren lassen
- Erkaltes Gel mit 1xTAE-Puffer bedecken
- Geltaschenformer aus dem Gel entfernen, dann 20µl des PCR Produktes mit 1µl des Ladepuffers (40% Ficoll, 0,05% Bromphenolblau, 0,05% Xylencyanol) versetzen und in die Geltasche füllen
- 4µl des DNA-Längenstandart VIII (Boehringer Mannheim GmbH) in die äußerste Geltasche applizieren
- Elektrophorese starten: 30 min 50 Volt  
30 min 100 Volt

Das Gel wird unter UV Licht ausgewertet und fotografiert.

IL-4 (Wiederholungspolymorphismus von 70 Basenpaaren in Intron 2):

Bei der Untersuchung des Wiederholungspolymorphismus von 70 Basenpaaren in Intron 2 des IL-4 Gens war im Agarosegel entweder eine 183 Basenpaar starke Bande sichtbar, die Allel 1 entspricht, oder eine 253 Basenpaar starke Bande, die Allel 2 entspricht. Allel 1 trägt den Polymorphismus.

FcyRIIa (A → G an Stelle 131):

Der FcyRIIa-H131-spezifischer Sense-Primer (Nucleotid A) und der FcyRIIa-R131-spezifischer Sense-Primer (Nucleotid G) ergeben eine 253 Basenpaar starke Bande, der zur internen Kontrolle benutzte HGH-1 Primer ergibt eine 439 Basenpaar starke Bande.

Erscheint bei FcyRIIa-R131 nur die Kontrollbande von 439 Basenpaaren und bei FcyRIIa-H131 sowohl die Kontrollbande als auch die Bande bei 253 Basenpaaren, so liegt ein Genotyp A/A vor. Erscheint die Bande 253 nur bei FcyRIIa-R131 so liegt ein Genotyp G/G vor, wenn bei beiden Nucleotiden die 253 Basenpaarbande erscheint, so liegt ein Genotyp A/G vor.

### 4.8 DNA Präzipitation

Vor dem Restriktionsverdau der IL-1 $\alpha$  (G  $\rightarrow$  T an Stelle +4845), IL-1 $\beta$  (C  $\rightarrow$  T an Stelle +3954), IL-4 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -590 in der Promotorregion), IL-13 (G  $\rightarrow$  A an Stelle +2044 in Exon 4) und IL-13 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -1112 in der Promotorregion) Polymorphismen, erfolgt eine Aufreinigung des PCR-Produktes mit Hilfe des QIAquick PCR purification kit der Firma Qiagen. Dabei wird die doppel- oder einsträngige DNA (100 bp – 10kb) von Primern, Nucleotiden, Polymerasen und Salzen befreit.

- Zu 80 $\mu$ l des PCR-Produktes werden 400 $\mu$ l des Puffers PB zugegeben, der im PCR-Produkt Primer, Nucleotide, Polymerasen und Salze bindet
- Dieses wird in eine QIAquick-Präzipitationssäule pipettiert und bei 13.000 rpm zentrifugiert
- Für den Waschvorgang werden 750 $\mu$ l des Puffers PE in die QIAquick-Säule appliziert und 1 min bei 13.000 rpm zentrifugiert
- Danach wird 1 min bei maximaler Geschwindigkeit (14.000 rpm) zentrifugiert
- 30 $\mu$ l des Elution-Puffer werden in die QIAquick-Säule appliziert und 1min zentrifugiert, um die DNA aus der Membran der Präzipitationssäule herauszuwaschen
- Die aufgereinigte DNA wird bei -20°C bis zum Restriktionsverdau gelagert

### 4.9 Restriktionsverdau

Zur Untersuchung der IL-1 $\alpha$  (G  $\rightarrow$  T an Stelle +4845), IL-1 $\beta$  (C  $\rightarrow$  T an Stelle +3954), IL-4 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -590 in der Promotorregion), IL-13 (G  $\rightarrow$  A an Stelle +2044 in Exon 4) und IL-13 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -1112 in der Promotorregion) Polymorphismen findet nach der Aufreinigung des PCR-Produktes der Restriktionsver-

dau desselben statt, wobei das Restriktionsenzym das PCR-Produkt in Position des polymorphen Markers schneidet.

#### **4.9.1 Restriktionsverdau IL-1 $\alpha$ (G $\rightarrow$ T an Stelle +4845)**

Zu 24 $\mu$ l der aufgereinigten DNA werden hinzugefügt:

- 4 $\mu$ l 10x NEBpuffer4 (BioLabs)
- 2 $\mu$ l Enzym Fnu4HI (BioLabs)
- 6 $\mu$ l steriles Wasser, so dass sich ein Gesamtvolumen von 36 $\mu$ l Restriktionsansatz ergibt.

Der Restriktionsverdau erfolgt 6 Stunden bei 37°C. Die Restriktionsprodukte werden bei –20°C gelagert.

#### **4.9.2 Restriktionsverdau IL-1 $\beta$ (C $\rightarrow$ T an Stelle +3954)**

Zu 28 $\mu$ l der aufgereinigten DNA werden hinzugefügt:

- 4 $\mu$ l 10x NEBpuffer4 (BioLabs)
- 0,4 $\mu$ l BSA 10mg/ml (BioLabs)
- 2 $\mu$ l Enzym Taq 1I (BioLabs)
- 5,6 $\mu$ l steriles Wasser, so dass sich ein Gesamtvolumen von 40 $\mu$ l Restriktionsansatz ergibt.

Der Restriktionsverdau erfolgt 6 Stunden bei 65°C. Die Restriktionsprodukte werden bei –20°C gelagert.

#### **4.9.3 Restriktionsverdau IL-4 (C $\rightarrow$ T an Stelle -590) in der Promotorregion**

Zu 20 $\mu$ l der aufgereinigten DNA werden hinzugefügt:

- 3 $\mu$ l 10x NEBpuffer4 (BioLabs)
- 0,3 $\mu$ l BSA 10mg/ml (BioLabs)
- 3 $\mu$ l Enzym BsmFI 2U/ $\mu$ l (BioLabs)
- 3,7 $\mu$ l steriles Wasser, so dass sich ein Gesamtvolumen von 30 $\mu$ l Restriktionsansatz ergibt.

Der Restriktionsverdau erfolgt 6 Stunden bei 37°C. Die Restriktionsprodukte werden bei –20°C gelagert.

#### **4.9.4 Restriktionsverdau IL-13 (G → A an Stelle +2044 in Exon 4)**

Zu 28µl der aufgereinigten DNA werden hinzugefügt:

- 4µl 10x NEBpuffer4 (BioLabs)
- 0,4µl BSA 10mg/ml (BioLabs)
- 1µl Enzym NLa4 2U/µl (BioLabs)
- 6,6µl steriles Wasser, so dass sich ein Gesamtvolumen von 40µl Restriktionsansatz ergibt.

Der Restriktionsverdau erfolgt 8 Stunden bei 37°C. Die Restriktionsprodukte werden bei –20°C gelagert.

#### **4.9.5 Restriktionsverdau IL-13 (C → T an Stelle –1112 in der Promotorregion)**

Zu 28µl der aufgereinigten DNA werden hinzugefügt:

- 4µl 10x NEBpuffer2 (BioLabs)
- 1µl Enzym BSTU1 2U/µl (BioLabs)
- 7µl steriles Wasser, so dass sich ein Gesamtvolumen von 40µl Restriktionsansatz ergibt.

Der Restriktionsverdau erfolgt 8 Stunden bei 37°C. Die Restriktionsprodukte werden bei –20°C gelagert.

### **4.10 Gelelektrophorese der Restriktionsprodukte**

Die Gelelektrophorese der Restriktionsprodukte erfolgt in der MetaPhor<sup>®</sup> Agarose der Firma Biozym.

2,1 g MetaPhor<sup>®</sup> Agarose (Biozym) werden mit 70 ml 0,5x TBE-Puffer (10x TBE: 900 mM Tris, 900 mM Borsäure, 20mM EDTA, pH 7,8) versetzt, so dass man 70 ml eines 3%igen MetaPhor<sup>®</sup> Agarose Gels enthält.

Ethidiumbromidkonzentration im Puffer:	0,2µg/ml
Ethidiumbromidkonzentration im Gel:	0,5µg/ml

30µl des Restriktionsverdauansatzes werden mit einem 5x Ladepuffer (40% Ficoll, 0,05% Bromphenolblau, 0,05% Xylencyanol) versetzt und in jeweils eine Geltasche appliziert. Die äußerste Geltasche wird mit 4µl DNA-Längenstandard VIII (Boehringer, Mannheim) beschickt.

Elektrophorese:	3 min 30 V
	4 Std 100 mA

Das Gelbild wird unter UV-Licht ausgewertet und fotografiert.

IL-1 $\alpha$  (G  $\rightarrow$  T an Stelle +4845):

Liegt der G-T Polymorphismus in beiden Allelen vor, so erscheint eine Bande von 153 Basenpaaren (Genotyp T/T), liegt der Polymorphismus jedoch in keinem der beiden Allele vor, so erscheint eine Bande bei 124 und eine bei 29 Basenpaaren (Genotyp G/G). Liegt ein G-Nucleotid und ein T- Nucleotid vor (Genotyp G/T), erscheinen alle drei Banden.

IL-1 $\beta$  (C  $\rightarrow$  T an Stelle +3954):

Liegt der C-T Polymorphismus in beiden Allelen vor, so erscheint eine Bande von 182 Basenpaaren (Genotyp T/T), liegt der Polymorphismus jedoch in keinem der beiden Allele vor, so erscheint eine Bande bei 97 und eine bei 85 Basenpaaren (Genotyp C/C). Liegt ein C- Nucleotid und ein T- Nucleotid vor (Genotyp C/T), erscheinen alle drei Banden.

IL-4 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -590) in der Promotorregion:

Liegt der C-T Polymorphismus in beiden Allelen vor, so erscheint eine Bande von 252 Basenpaaren (Genotyp T/T), liegt der Polymorphismus jedoch in keinem der beiden Allele vor, so erscheint eine Bande bei 192 und eine bei 60 Basenpaaren (Genotyp C/C). Liegt ein C- Nucleotid und ein T- Nucleotid vor (Genotyp C/T), erscheinen alle drei Banden.

IL-13 (G → A an Stelle +2044 in Exon 4):

Liegt der G-A Polymorphismus in beiden Allelen vor, so erscheint eine Bande von 210 Basenpaaren (Genotyp A/A), liegt der Polymorphismus jedoch in keinem der beiden Allele vor, so erscheint eine Bande bei 178 Basenpaaren (Genotyp G/G). Liegt ein A- Nucleotid und ein G- Nucleotid vor (Genotyp A/G), erscheinen alle zwei Banden.

IL-13 (C → T an Stelle –1112 in der Promotorregion):

Liegt der C-T Polymorphismus in beiden Allelen vor, so erscheint eine Bande von 247 Basenpaaren (Genotyp T/T), liegt der Polymorphismus jedoch in keinem der beiden Allele vor, so erscheint eine Bande bei 224 Basenpaaren (Genotyp C/C). Liegt ein C- Nucleotid und ein T- Nucleotid vor (Genotyp C/T), erscheinen alle zwei Banden.

#### **4.11 Statistische Auswertung**

Ziel der Studie war, genetische Risikofaktoren [IL-1 $\alpha$  (G → T an Stelle +4845), IL-1 $\beta$  (C → T an Stelle +3954), IL-4 (C → T an Stelle -590 in der Promotorregion), IL-4 (VNTR in Intron 2), IL-13 (G → A an Stelle +2044 in Exon 4), IL-13 (C → T an Stelle –1112 in der Promotorregion) und Fc $\gamma$ RIIa (A → G an Stelle 131)] bei einer Gruppe von älteren Individuen, die keine klinischen Zeichen einer Parodontitis (kein Attachmentverlust) aufweisen, zu untersuchen. Diese Gruppe sollte mit einer Gruppe von jungen, gesunden Individuen und einer Gruppe von Patienten, die an einer aggressiven Parodontitis leiden, verglichen werden.

Die Verteilung und die Häufigkeit der Polymorphismen bei den einzelnen Untersuchungsgruppen lassen für die untersuchte Population Rückschlüsse zu, ob diese Polymorphismen mit einer Anfälligkeit gegenüber der Parodontitis oder mit einer Resistenz gegen diese Erkrankung assoziiert werden können.

Die Analyse der Daten erfolgte als explorative Datenanalyse.

Mit Hilfe einer Kontingenztafelanalyse wurde zunächst einzeln für jeden genetischen Faktor Häufigkeiten berechnet, die das unterschiedliche Auftreten innerhalb der Gruppen aufzeigen sollten. Anschließend wurde das Profil als solches be-

trachtet und mit Hilfe einer Häufigkeitenanalyse die Verteilung zwischen den Gruppen verglichen. Die Häufigkeiten der Genotypen und die Verteilung der Genotypen in den verschiedenen Gruppen wurden anschliessend im Programm Excel (Excel für Microsoft Windows, Version 98) erfasst und grafisch ausgewertet.

Zur Beschreibung der klinischen Situation von Patienten und Probanden wurden die ST, die SB und der AL von der Schmelz-Zement-Grenze, gemessen jeweils an 6 Stellen pro Zahn, sowie PI und PBI, gemessen jeweils an 4 Stellen pro Zahn, untersucht.

Da die Ergebnisse nicht der Normalverteilung folgen, wurden diese durch den Medianwert als Lageparameter, das erste und dritte Quartil als Streuungsmaße und Minimum und Maximum der Einzelwerte beschrieben.

Dabei wurden auch die Werte dargestellt, die zwischen 1,5 und 3 der Boxenlängen von den oberen bzw. unteren Boxenkanten entfernt lagen („Extreme“ sind mit „o“ gekennzeichnet). Werte, die mehr als 3 Boxenlängen von den oberen bzw. unteren Boxenkanten entfernt waren, wurden als „Ausreißer“ in den Grafiken mit „\*“ gekennzeichnet. Die ausgewerteten klinischen Parameter wurden getrennt für die Probanden, Patienten mit Gruppe AP, Gruppe J und Gruppe O tabellarisch und grafisch (Boxplots) dargestellt. Die Erstellung der Boxplots wurde mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS (SPSS für Microsoft Windows, Version 9.0) vorgenommen.

## 5.0 Ergebnisse

Im ersten Teil dieses Kapitels werden die Ergebnisse der deskriptiven Datenanalyse bezüglich der Altersstruktur, der Plaque- und Papillenblutungsindizes, der Sondierungsblutung, der Sondierungstiefen, des Attachmentlevel und der Anzahl der Zähne sowohl tabellarisch als auch grafisch dargestellt. Die Verteilung der Raucher und Nichtraucher, sowie der Geschlechter ist anhand von Balkendiagrammen grafisch dargestellt. Es werden weiterhin die Genotyphäufigkeiten und deren Verteilung sowie die Verteilung der Allele beschrieben. Die Kriterien des Hardy-Weinberg Equilibriums werden von allen Genotypen mit Ausnahme des IL-13 C(-1112)-T Genotyps erfüllt. Abschliessend erfolgen die Beschreibung der Genotyp-Profile sowie die grafische Darstellung der Häufigkeit ihres Vorkommens innerhalb der Gruppen als auch aller Gruppen zusammen.

Alle erhobenen klinischen Werte und die Ergebnisse der Polymorphismen werden zwischen der Gruppe AP (Individuen mit aggressiver Parodontitis), der Gruppe J (junge, parodontal gesunde Individuen) und der Gruppe O (alte, parodontal gesunde Individuen) verglichen.

Im zweiten Teil des Kapitels werden die Fotos der Gelelektrophoresen vorgestellt.

## 5.1 Grafische Darstellung der klinischen Parameter

### 5.1.1 Alter der Gruppen

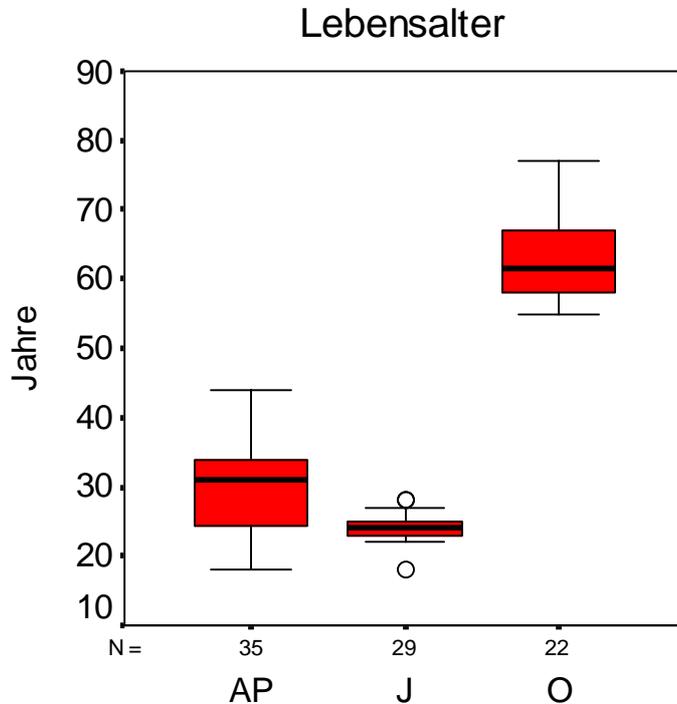


Abb. 2: Alter der verschiedenen Gruppen

Tabelle 4: Auswertung des Alters der einzelnen Gruppen in Jahren

Gruppen	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum
AP	18,0	24,0	31,0	34,0	44,0
J	18,0	23,0	24,0	25,0	28,0
O	55,0	58,0	61,5	67,0	77,0

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Wie in den Einschlusskriterien beschrieben, ist nun sichtbar, dass die Teilnehmer der Gruppe O mindestens 55 Jahre, die der Gruppe AP nicht älter als 44 Jahre und die der Gruppe J nicht älter als 28 Jahre alt waren.

Der Medianwert der Gruppe AP liegt mit 31,0 Jahren nur wenig über dem der Gruppe J mit 24,0 Jahren. Dagegen sind die Individuen der Gruppe O deutlich älter. Der Medianwert liegt hier bei 61,5 Jahren.

### 5.1.2 Anzahl der Zähne in den Gruppen

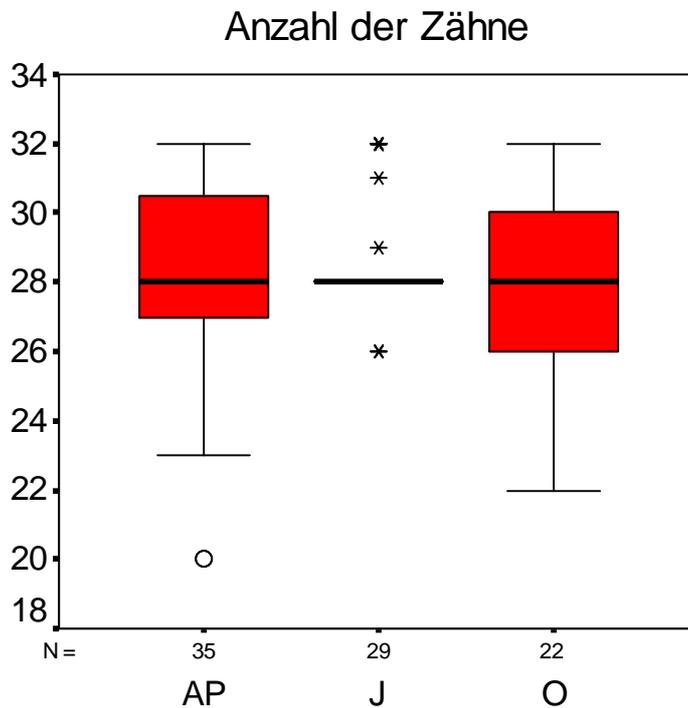


Abb. 3: Anzahl der Zähne in den verschiedenen Gruppen

Tabelle 5: Auswertung der Bezahlung der einzelnen Gruppen

Gruppen	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum
AP	20,0	27,0	28,0	31,0	32,0
J	26,0	28,0	28,0	28,5	32,0
O	22,0	26,0	28,0	30,0	32,0

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden, O: Alte parodontal gesunde Probanden

Die Werte dieser Tabelle liegen alle sehr dicht zusammen, wobei der Minimumwert von Gruppe O die Einschlusskriterien in Bezug auf die Restbezahlung widerspiegelt.

### 5.1.3 Plaqueindizes der Gruppen

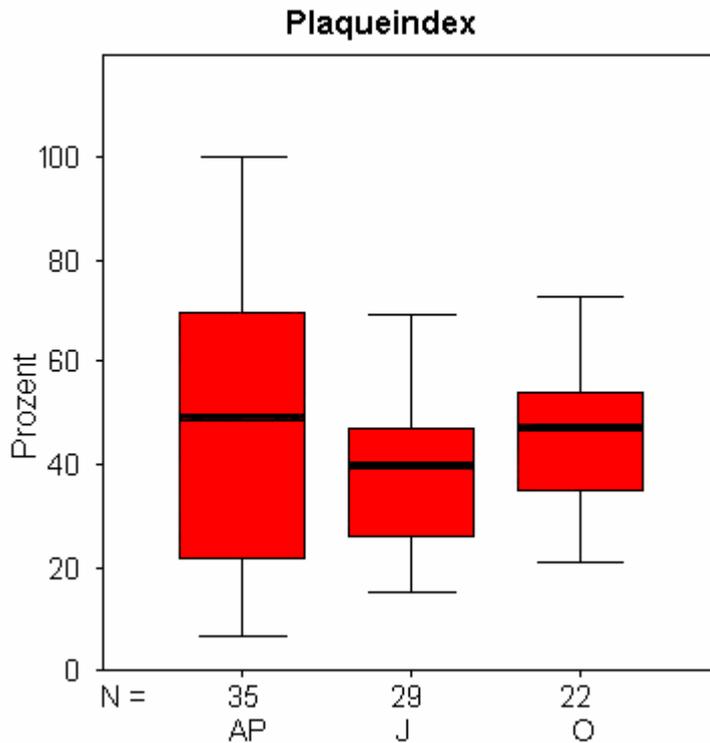


Abb. 4: Plaqueindizes der verschiedenen Gruppen

Tabelle 6: Auswertung der Plaqueindizes der einzelnen Gruppen in Prozent

Gruppen	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum
AP	6,5	21,5	50,0	73,0	100,0
J	15,0	26,0	40,0	47,3	69,5
O	21,0	35,0	47,0	54,0	73,0

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden, O: Alte parodontal gesunde Probanden

Die Plaqueindizes der Gruppe J liegen mit einem Medianwert von 40,0 % und einem Maximalwert von 69,5 % deutlich unter denen der anderen beiden Gruppen. Während die Werte des 1. Quartils und des Minimums der Gruppe AP deutlich unter denen der Gruppe O befinden, liegt Gruppe O im Medianwert mit 47% um 3 Prozentpunkte unter Gruppe AP. Im 3. Quartil und im Maximum wiederum liegt Gruppe O sehr deutlich unter der Gruppe AP.

### 5.1.4 Papillenblutungsindizes der Gruppen

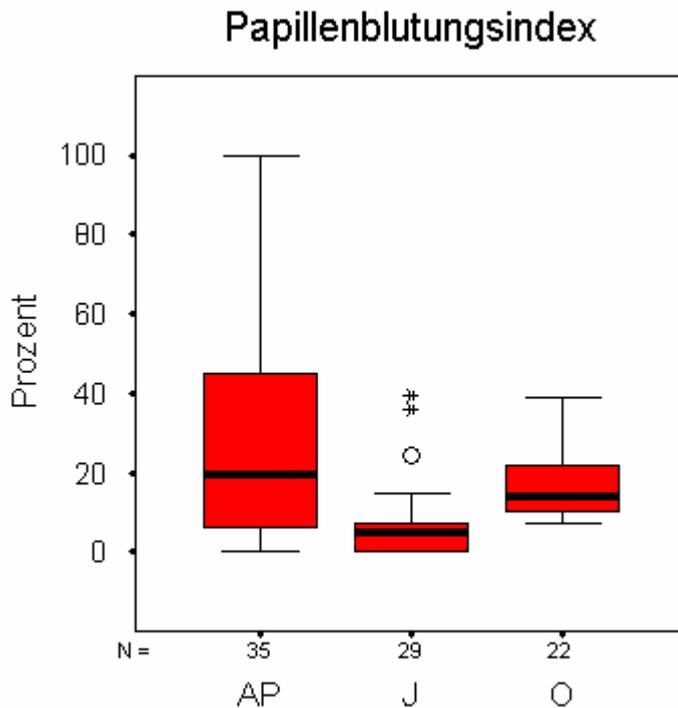


Abb. 5: Papillenblutungsindizes der verschiedenen Gruppen

Tabelle 7: Auswertung der Papillenblutungsindizes der einzelnen Gruppen in Prozent

Gruppen	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum
AP	0,0	5,0	19,2	47,8	100,0
J	0,0	0,0	5,0	7,0	39,3
O	7,0	10,0	14,0	22,0	39,0

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Die Maximumwerte der Gruppen J und O liegen mit 39,3% bzw. 39,0% sehr nahe aneinander, wobei Gruppe J in allen anderen Werten deutlich unter denen der Gruppe O liegt. Desweiteren liegt der Medianwert der Gruppe J eindeutig unter den Werten der anderen beiden Gruppen. Gruppe AP hat im Minimum und im 1. Quartil ähnlich niedrige Werte wie Gruppe J, im 3. Quartil und im Maximum liegen die Werte jedoch deutlich über denen der anderen beiden Gruppen.

### 5.1.5 Sondierungsblutung in den Gruppen

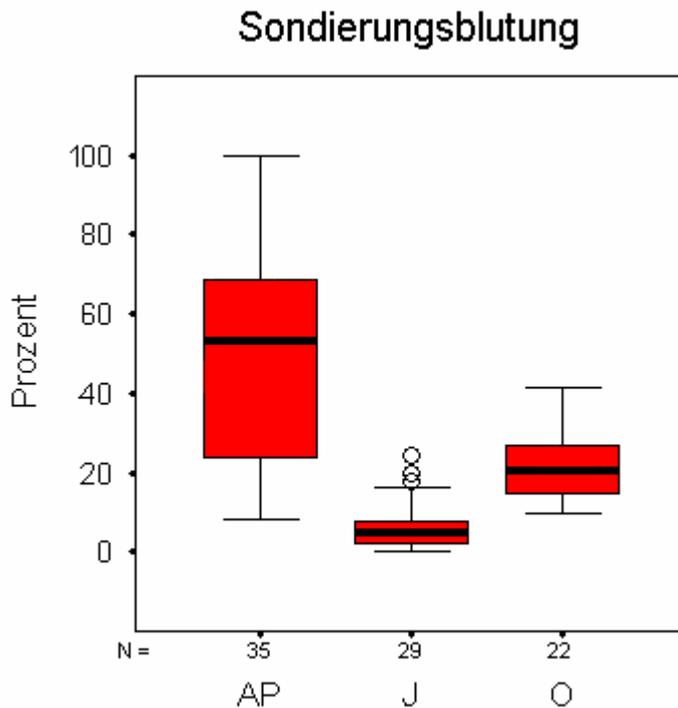


Abb. 6: Sondierungsblutungsindizes der verschiedenen Gruppen

Tabelle 8: Auswertung der Sondierungsblutungsindizes der einzelnen Gruppen in Prozent

Gruppen	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum
AP	8,3	20,5	53,0	69,7	100,0
J	0,0	1,7	5,2	9,8	24,5
O	9,6	14,7	20,0	26,8	41,2

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
 O: Alte parodontal gesunde Probanden

Es ist deutlich zu erkennen, dass Gruppe J diejenige Gruppe ist, welche am wenigsten Sondierungsblutung aufweist. Gruppe O liegt zwar bei dem Minimumwert über, bei allen anderen Werten aber weit unter denen der Gruppe AP. Gruppe AP weist wie erwartet die meisten Sondierungsblutungen auf.

### 5.1.6 Sondierungstiefen in den Gruppen

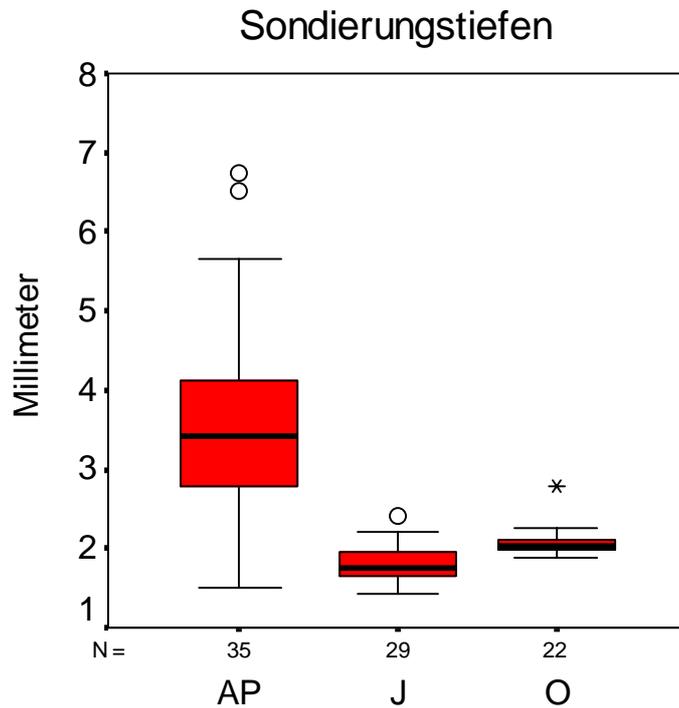


Abb. 7: Sondierungstiefen der verschiedenen Gruppen

Tabelle 9: Auswertung der Sondierungstiefen der einzelnen Gruppen in Millimetern

Gruppen	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum
AP	1,514	2,780	3,420	4,160	6,753
J	1,420	1,660	1,760	1,950	2,420
O	1,880	1,990	2,040	2,120	2,790

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Die Werte von Gruppe J und O liegen in allen Bereichen nicht mehr als 0,4 mm auseinander. Gruppe AP liegt mit einem Median von 3,4 mm und einem Maximum von 6,8 mm sehr deutlich über den Werten von Gruppe J und O mit 1,8 und 2,0 mm bzw. 2,4 und 2,8 mm

### 5.1.7 Attachmentlevel in den Gruppen

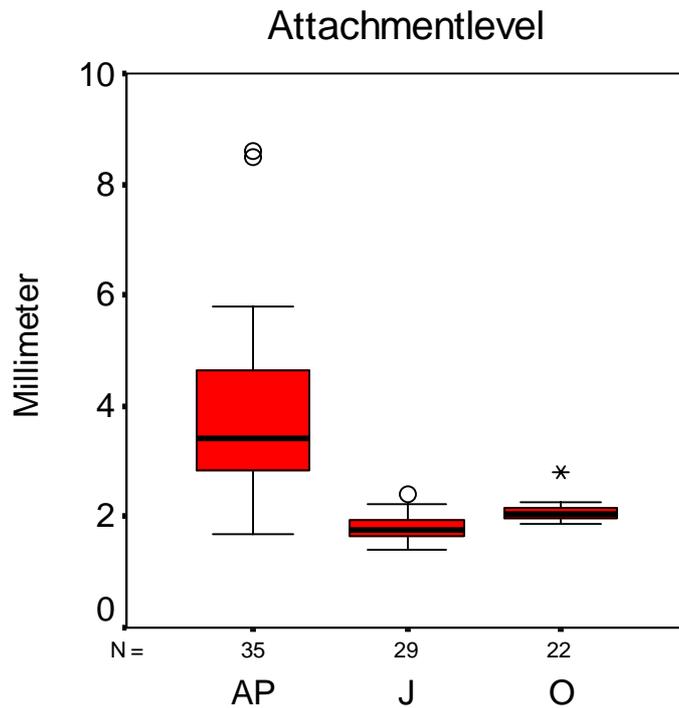


Abb. 8: Attachmentlevel der verschiedenen Gruppen

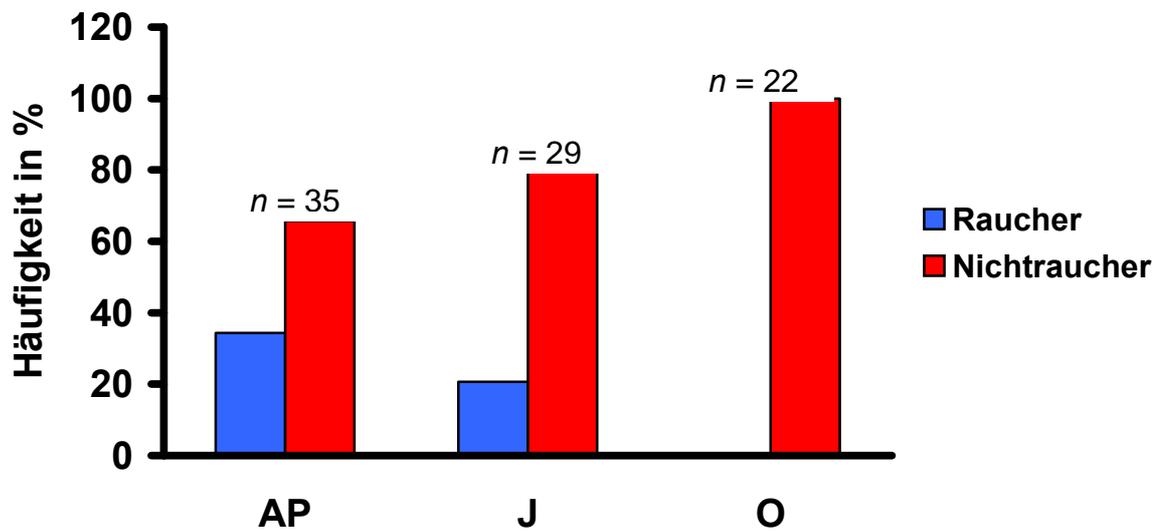
Tabelle 10: Auswertung des Attachmentlevels der einzelnen Gruppen in Millimetern

Gruppen	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum
AP	1,701	2,828	3,420	4,813	8,580
J	1,420	1,660	1,760	1,950	2,420
O	1,880	1,990	2,045	2,150	2,840

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden, O: Alte parodontal gesunde Probanden

Wie schon bei den Sondierungstiefen liegen die Werte der Gruppen J und O sehr nah beieinander. Gruppe AP liegt mit einem Median von 3,4 mm und einem Maximum von 8,6 mm deutlich über den Werten der anderen Gruppen.

## Raucherhäufigkeit

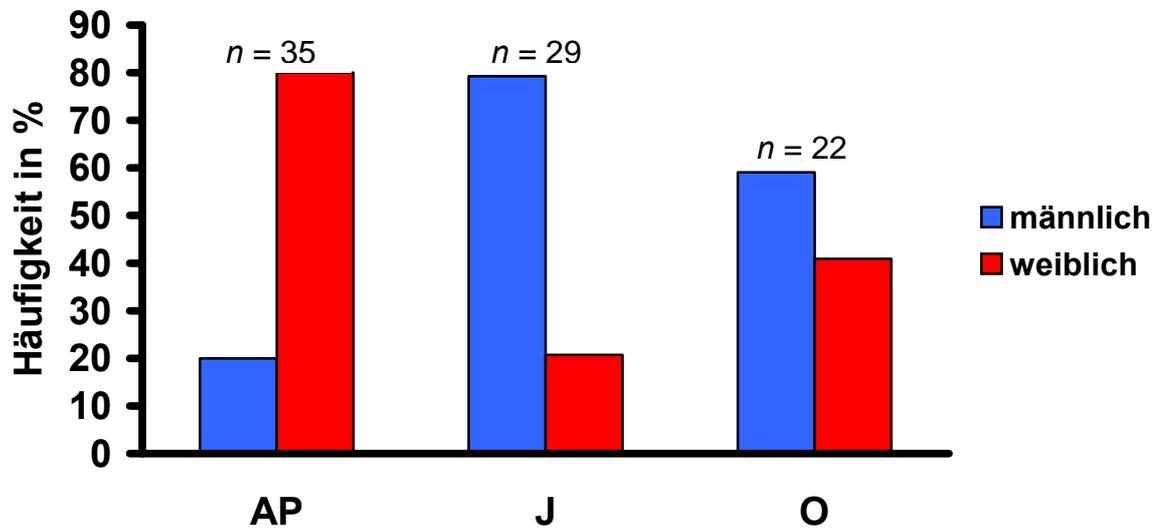


AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Abb. 9: Häufigkeit von Rauchern und Nichtrauchern der einzelnen Gruppen in Prozent

Es ist deutlich zu erkennen, dass es in den Gruppen J und O im Vergleich zu der Gruppe der Individuen mit aggressiver Parodontitis eindeutig mehr Nichtraucher als Raucher gibt. Hier ist besonders auffällig, dass es in der Gruppe der alten, parodontal gesunden Individuen gar keine Raucher gibt.

## Geschlechterverteilung



AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden, O: Alte parodontal gesunde Probanden

Abb. 10: Verteilung der Geschlechter in den einzelnen Gruppen in Prozent

In diesem Diagramm ist zu beobachten, dass in den Gruppen J (79,3%) und O (59,1%) die männlichen Individuen im Vergleich zur Gruppe AP (20%) sehr stark vertreten sind. Bei der Gruppe AP sind die weiblichen Individuen mit 80% sehr häufig vertreten.

### 5.1.8 Klinische Daten der einzelnen Gruppen

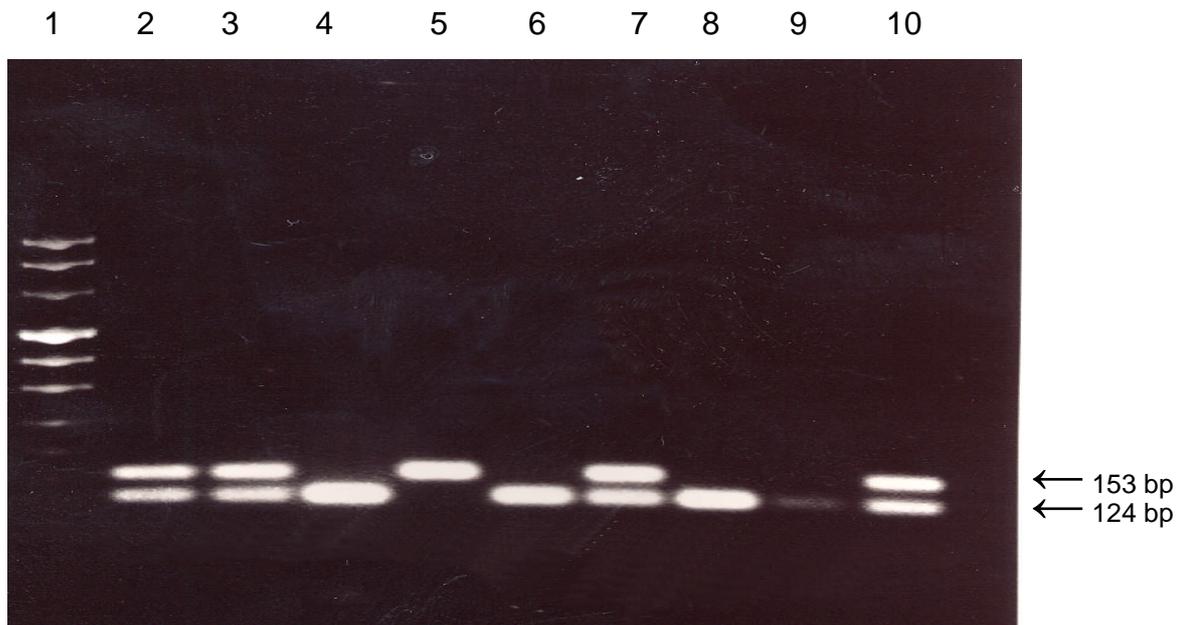
	Gruppe AP MW ± SA n = 35	Gruppe J MW ± SA n = 29	Gruppe O MW ± SA n = 22
<b>Kronen</b>	5,55 ± 12,16	1,5 ± 1	4,5 ± 3,13
<b>Füllungen</b>	6,19 ± 3,75	5,48 ± 3,8	7,64 ± 4,88
<b>Brücken</b>	1,38 ± 0,74	1 ± 0	1,57 ± 0,94

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

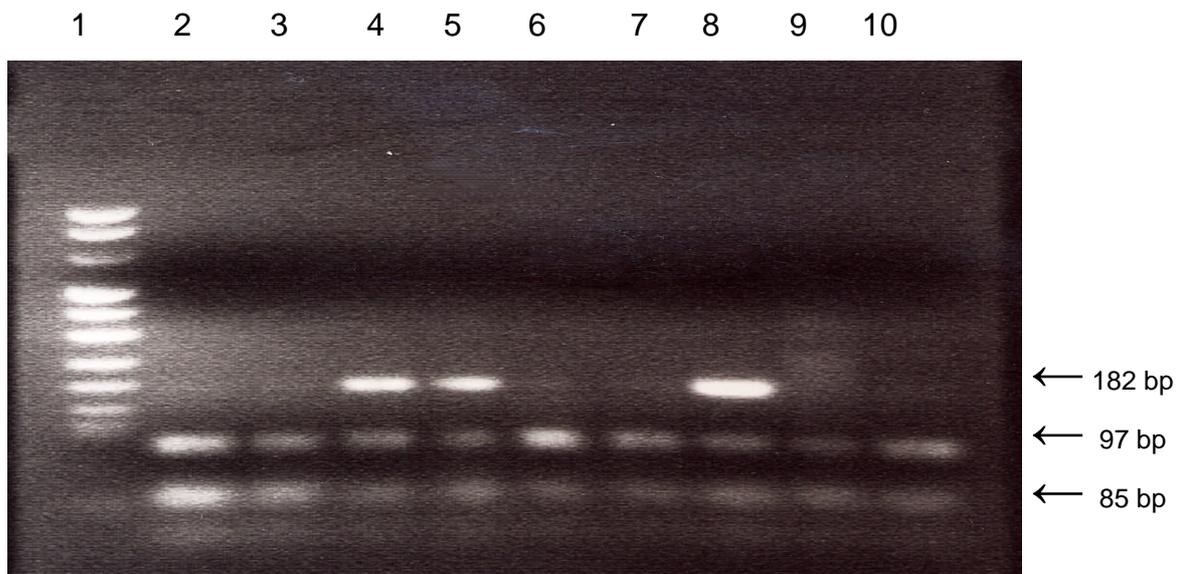
Tabelle 11: Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SA)

Die Mittelwerte für die Ergebnisse der klinischen Befunde (Kronen, Füllungen und Brücken) zeigen niedrigere Werte bei Gruppe J als bei den anderen Gruppen. Dabei liegen die Werte der Gruppe AP (mit Ausnahme der Kronen) nur knapp unter denen der Gruppe O.

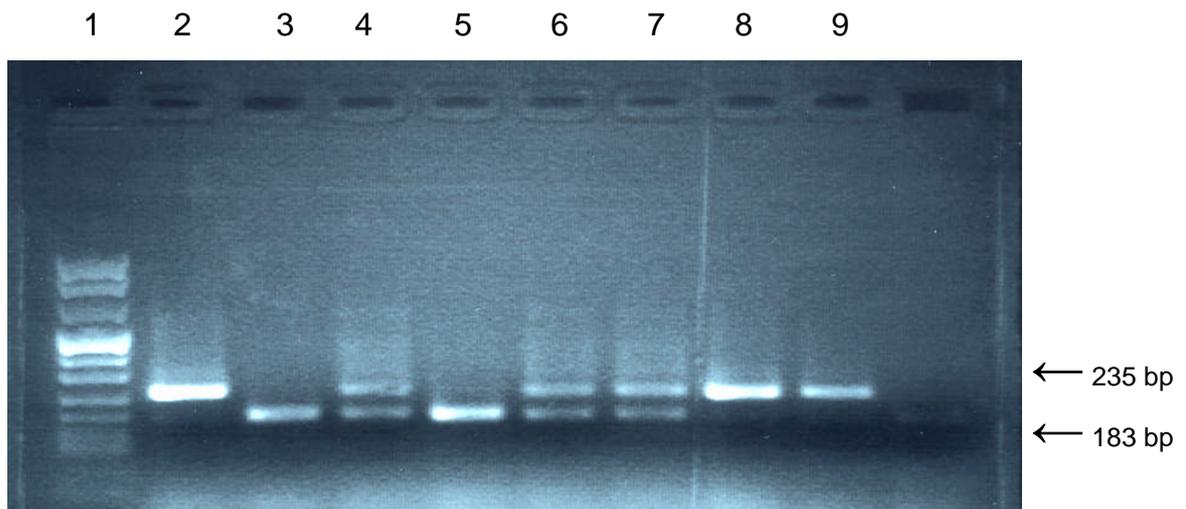
## 5.2 Fotodokumentation



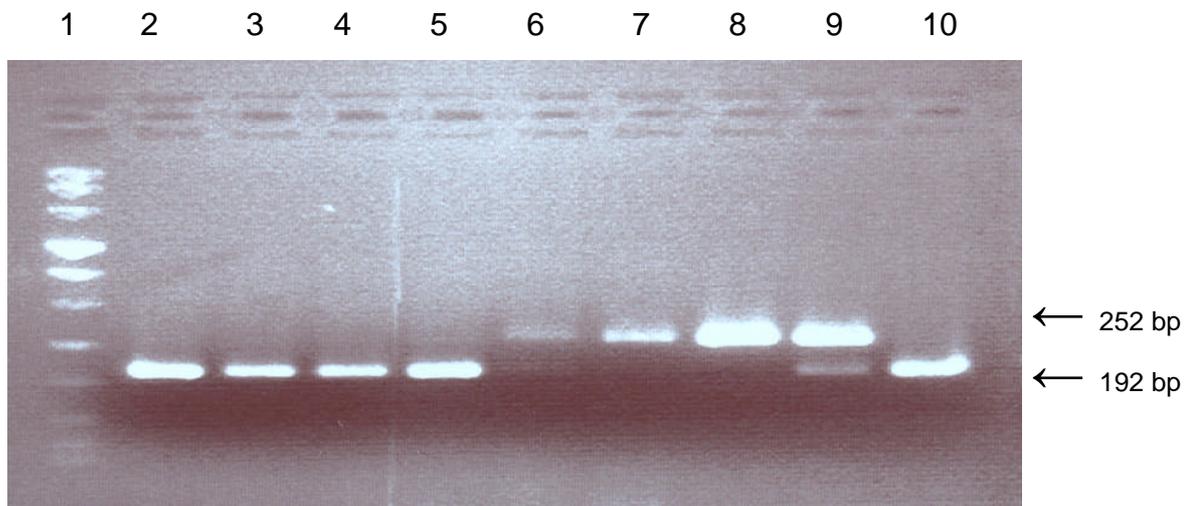
Analyse des +4845 (G→T) IL-1 $\alpha$  Polymorphismus. Bande 1: Molekulargewichtsmarker, Bande 4, 6, 8 und 9 zeigen den nichtpolymorphen Genotyp G/G, Bande 5 zeigt den polymorphen Genotyp T/T, Bande 2, 3, 7 und 10 zeigen den Genotyp G/T. Unter diesen elektrophoretischen Bedingungen war die Bande für 29 bp nicht sichtbar.



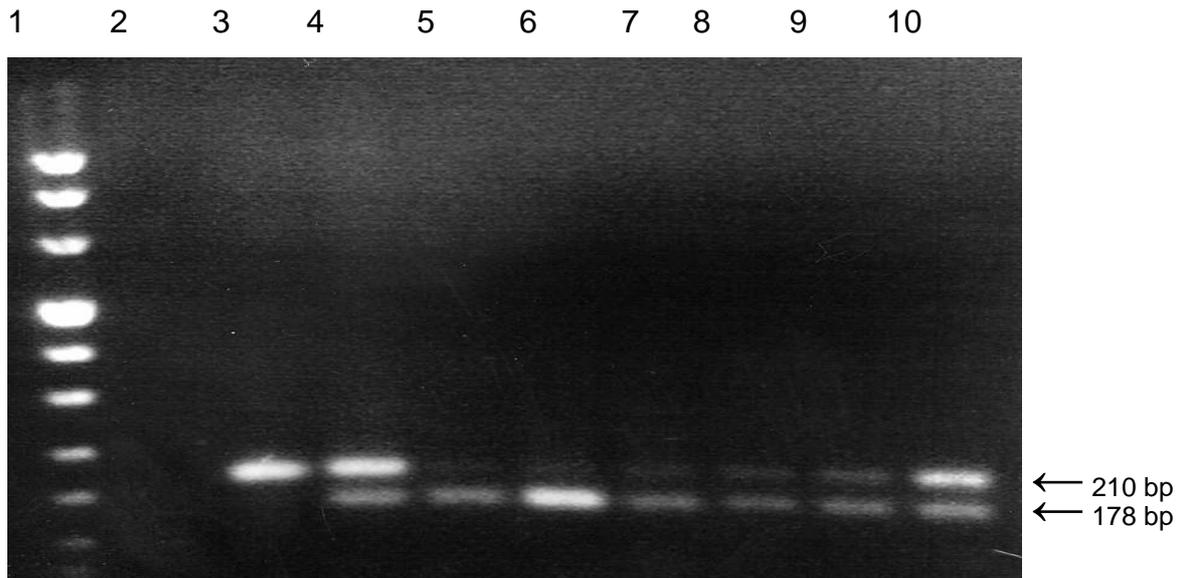
Analyse des +3954 (C→T) IL-1 $\beta$  Polymorphismus. Bande 1: Molekulargewichtsmarker, Bande 2, 3, 6, 7, 9 und 10 zeigen den nichtpolymorphen Genotyp C/C, Bande 4, 5 und 8 zeigen den Genotyp C/T.



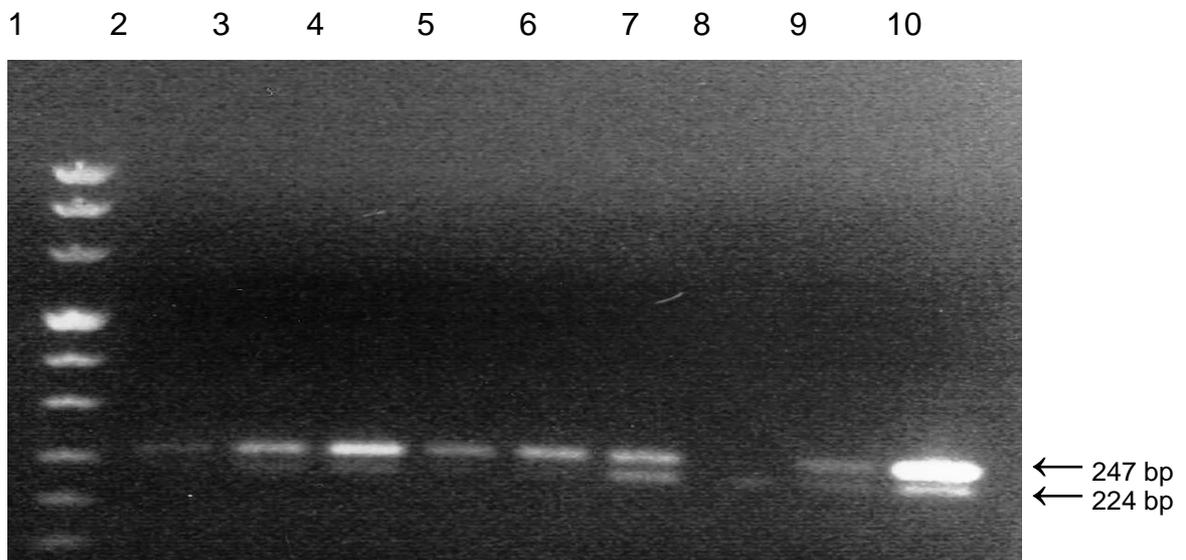
Analyse des 70 bp Wiederholungspolymorphismus des IL-4 Gens in Intron 2. Bande 1: Molekulargewichtsmarker, Bande 2, 8 und 9 weisen 2 mal das nichtpolymorphe Allel 2 auf. Bande 3 und 5 weisen 2 mal das polymorphe Allel 1 auf, Bande 4, 6 und 7 zeigen je ein polymorphes und ein nichtpolymorphes Allel.



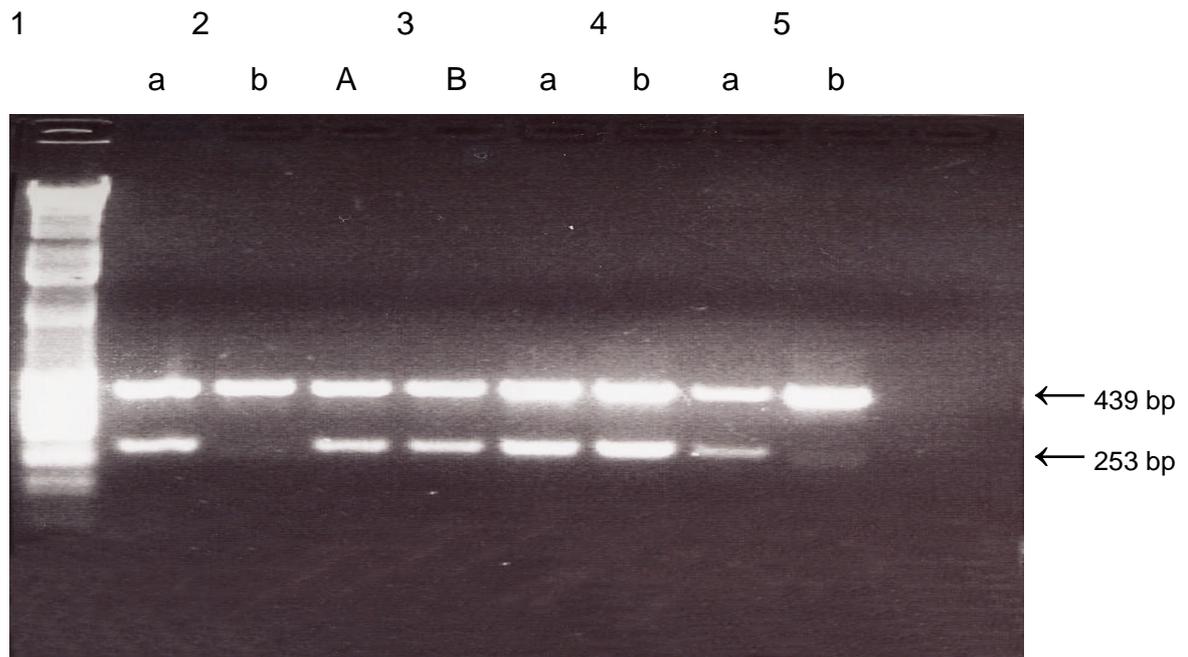
Analyse des -590 (C→T) IL-4 Promotorpolymorphismus. Bande 1: Molekulargewichtsmarker, Bande 2-5 und 10 zeigen den nichtpolymorphen Genotyp C/C, Bande 6, 7 und 8 zeigen den polymorphen Genotyp T/T, Bande 9 zeigt den Genotyp C/T. Unter diesen elektrophoretischen Bedingungen war die Bande für 60 bp nicht sichtbar.



Analyse des IL-13 Exonpolymorphismus (G→A) an Stelle +2044.  
Bande 1: Molekulargewichtsmarker, Bande 3 weist den polymorphen Genotyp A/A auf. Bande 5 und 6 zeigen den nichtpolymorphen Genotyp G/G, Bande 4, 7, 8, 9 und 10 zeigen den Genotyp G/A.

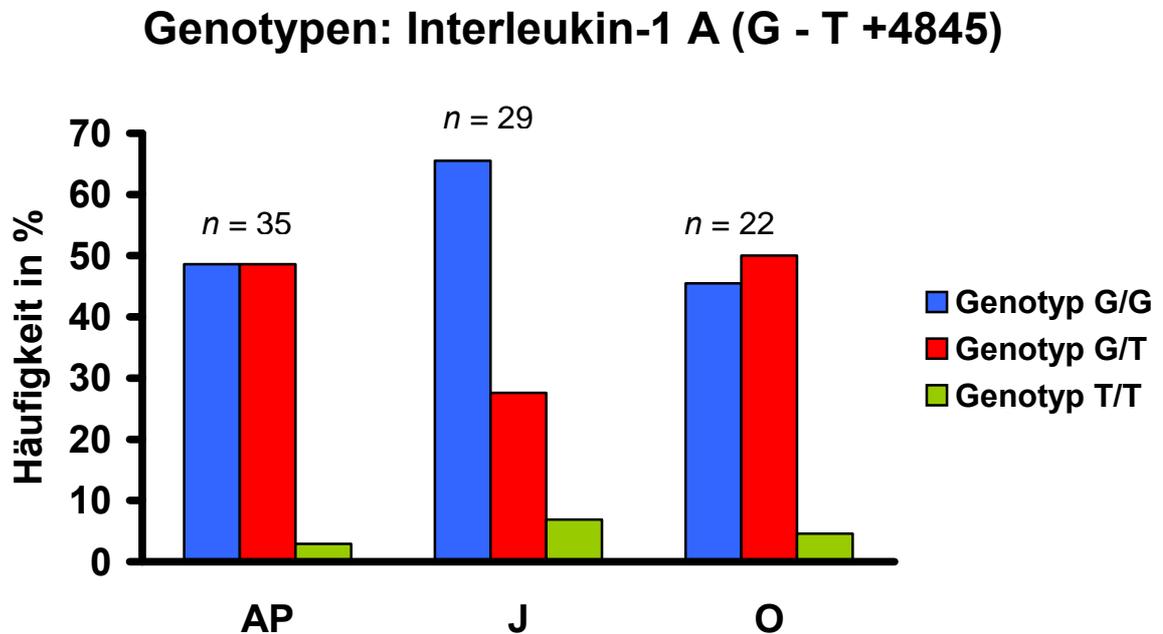


Analyse des IL-13 Promotorpolymorphismus (C→T) an Stelle -1112.  
Bande 1: Molekulargewichtsmarker, Bande 2, 3, 5 und 6 weisen den polymorphen Genotyp T/T auf. Bande 4, 7, 8 und 10 zeigen den Genotyp C/T.



Analyse des FcγRIIa Genotyps. FcγRIIa-R131 (Nukleotid G) entspricht jeweils Reihe a, FcγRIIa-H131 (Nukleotid A) entspricht jeweils Reihe b. Bande 1: Molekulargewichtsmarker; Reihen 2 und 5 zeigen den Genotyp G/G, d.h. FcγRIIa R/R131; Reihen 3 und 4 weisen den Genotyp G/A, d.h. den FcγRIIa H/R131 auf.

### 5.3 Grafische Darstellung der Genotyp- und Allelverteilungen



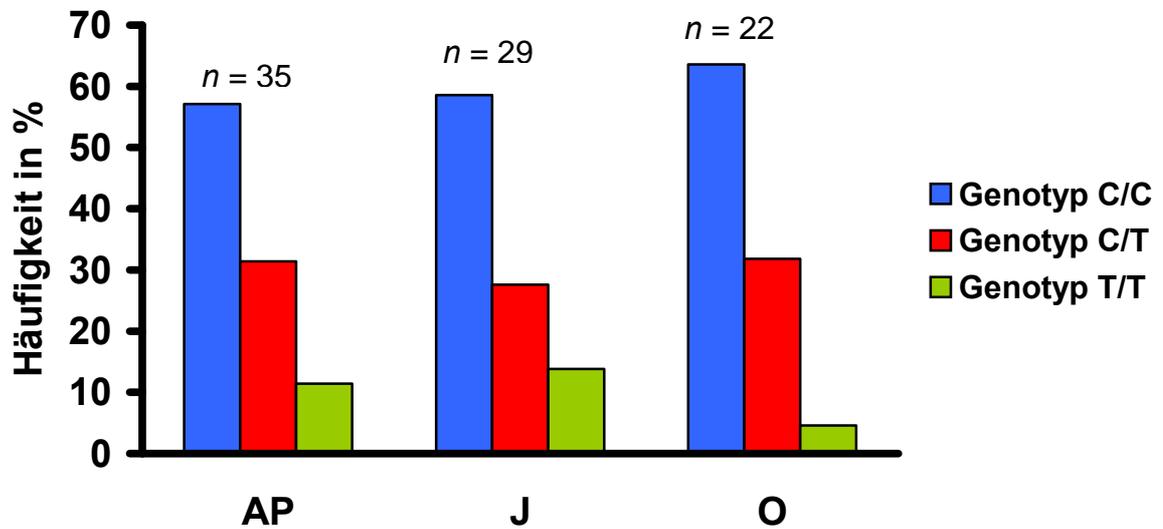
AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Abb. 11: Verteilung der Genotypen des IL-1 $\alpha$  Gens der einzelnen Gruppen in Prozent

T ist das polymorphe Allel an Position +4845.

Es ist deutlich zu erkennen, dass sich Gruppe J mit 65,5% für Genotyp G/G, 27,6% für Genotyp G/T und 6,9% für Genotyp T/T klar von den anderen beiden Gruppen abhebt.

## Genotypen: Interleukin-1 B (C - T +3954)



AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Abb. 12: Verteilung der Genotypen des IL-1 $\beta$  Gens der einzelnen Gruppen in Prozent

T ist das polymorphe Allel an Position +3954.

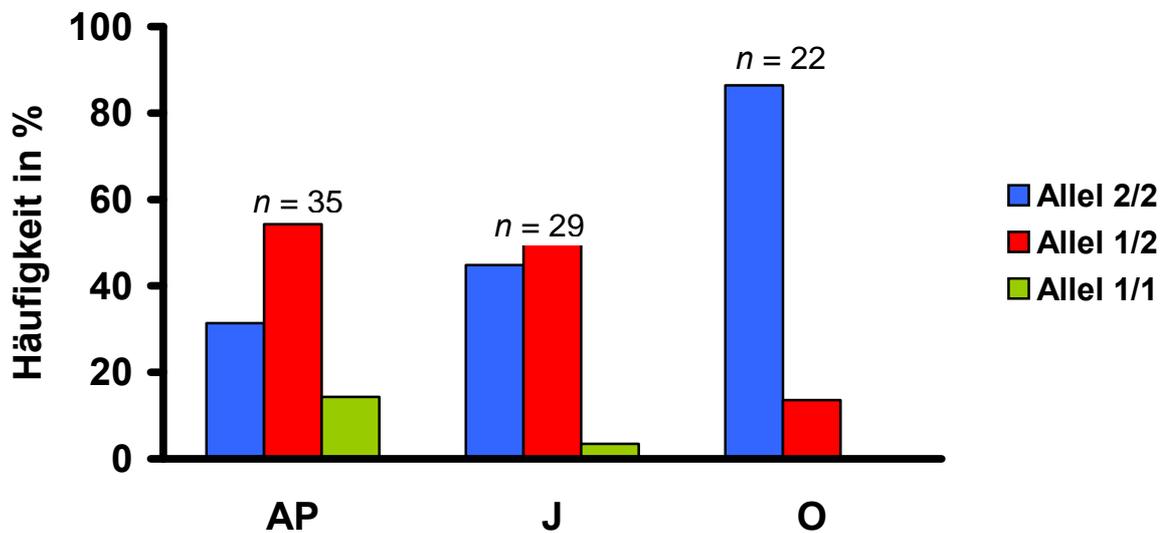
Hier zeigt sich eine sehr ausgeglichene Verteilung der Genotypen, die Häufigkeiten der einzelnen Gruppen liegen nie weiter als 8,4 Prozentpunkte auseinander.

Genotypen von IL-1	Gruppe AP <i>n</i> = 35	Gruppe J <i>n</i> = 29	Gruppe O <i>n</i> = 22
<b>+4845 G → T</b>			
G/G	17 (48,6 %)	19 (65,5 %)	10 (45,5 %)
G/T	17 (48,6 %)	8 (27,6 %)	11 (50,0 %)
T/T	1 (2,9 %)	2 (6,9 %)	1 (4,6 %)
<b>+3953 C → T</b>			
C/C	20 (57,1 %)	17 (58,6 %)	15 (63,6 %)
C/T	11 (31,4 %)	8 (27,6 %)	7 (31,8 %)
T/T	4 (11,4 %)	4 (13,0 %)	1 (4,6 %)

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Tabelle 12: Vergleich der IL-1  $\alpha$  und IL-1  $\beta$  Genotypen in den verschiedenen Gruppen

## Genotypen: Interleukin-4 Intron2 WP



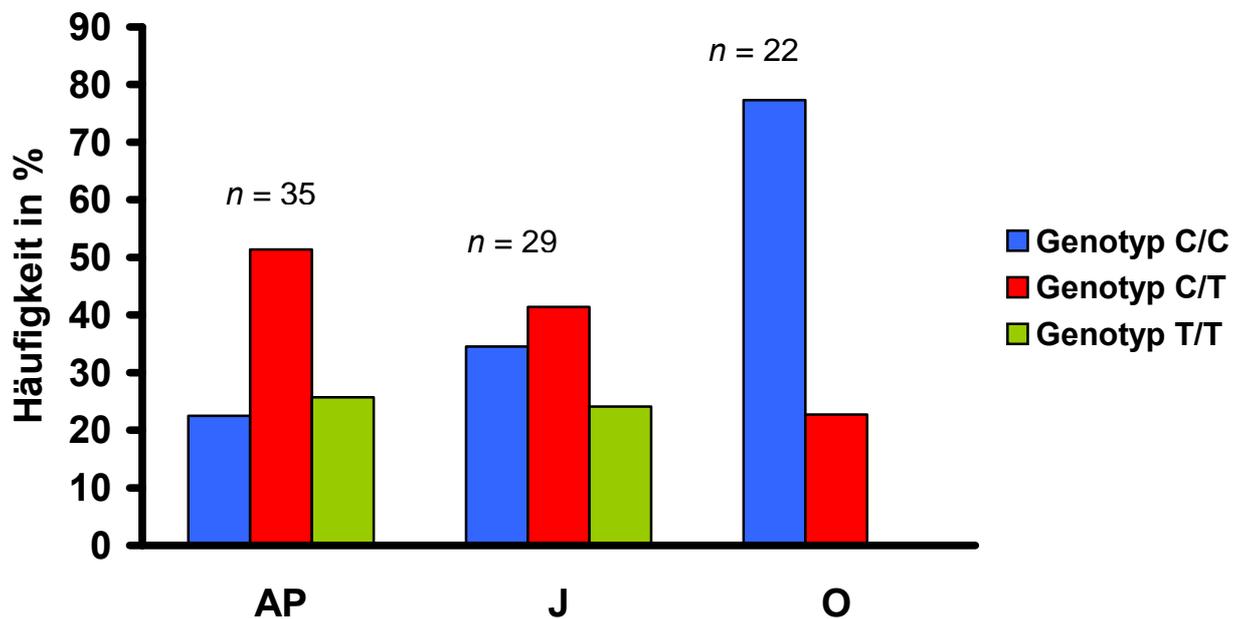
AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden, O: Alte parodontal gesunde Probanden

Abb. 13: Verteilung der Genotypen des IL-4 Intron 2 (VNTR) der einzelnen Gruppen in Prozent

Allel1 ist das polymorphe Allel mit einem Wiederholungspolymorphismus von 70 Basenpaaren.

Hier ist klar zu erkennen, dass bei den gesunden Individuen der Gruppen J und O die polymorphen Allele nur in sehr begrenzter Zahl (Gruppe J mit 3,5%) bzw. gar nicht auftreten (Gruppe O mit 0%). Außerdem ist sehr auffällig, dass bei Gruppe O der Genotyp 2/2 mit 86,4% stark gehäuft auftritt.

## Genotypen: Interleukin-4 Promotor (C - T -590)



AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Abb. 14: Verteilung der Genotypen des IL-4 (C→T an Stelle -590 in der Promotor-region) der einzelnen Gruppen in Prozent

T ist das polymorphe Allel an Position -590.

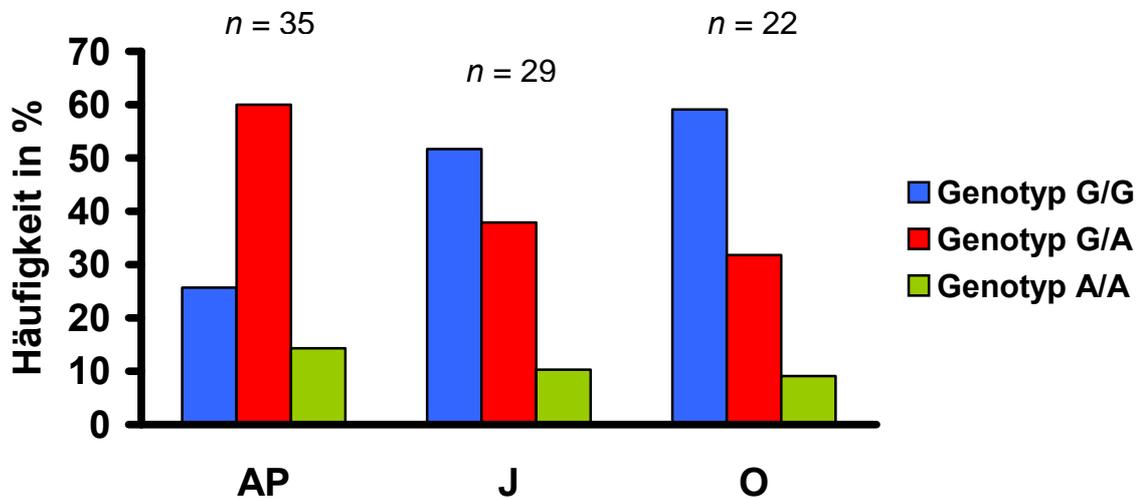
Es ist auffallend, dass bei Gruppe O, wie auch bei IL-4 Intron, kein Genotyp T/T auftritt und sie sich wieder stark von den Werten der beiden anderen Gruppen abhebt. Diesmal ist jedoch kein nennenswerter Unterschied zwischen Gruppen AP und J zu erkennen.

Genotypen von IL-4	Gruppe AP <i>n</i> = 35	Gruppe J <i>N</i> = 29	Gruppe O <i>n</i> = 22
<b>Intron 2</b>			
<b>2/2</b>	11 (31,4 %)	13 (44,8 %)	19 (86,4 %)
<b>2/1</b>	19 (54,3 %)	15 (51,7 %)	3 (13,6 %)
<b>1/1</b>	5 (14,3 %)	1 (3,5 %)	0
<b>-590 C → T</b>			
<b>C/C</b>	8 (22,5 %)	10 (34,5 %)	17 (77,3 %)
<b>C/T</b>	18 (51,4 %)	12 (41,4 %)	5 (22,7 %)
<b>T/T</b>	9 (25,7 %)	7 (24,1 %)	0

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Tabelle 13: Vergleich der Genotypen des IL-4 Gens in den verschiedenen Gruppen

### Genotypen: Interleukin-13 Exon 4 (G - A +2044)

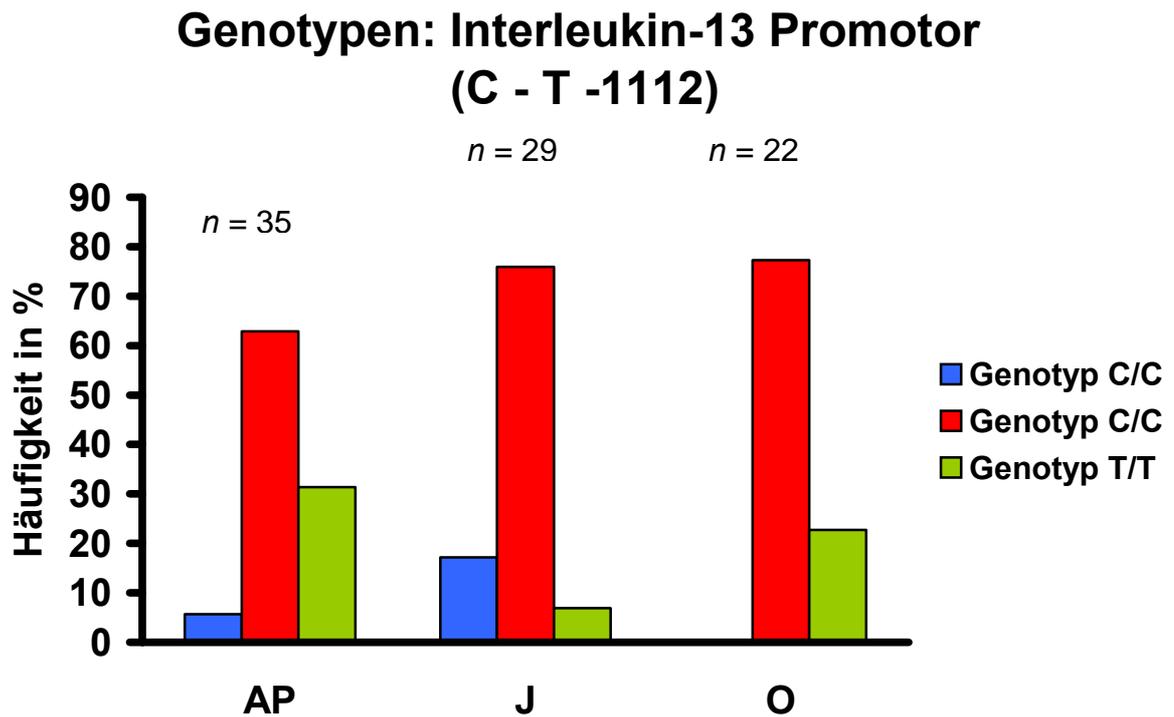


AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Abb. 15: Verteilung der Genotypen des IL-13 (G →A an Stelle +2044 in Exon 4) der einzelnen Gruppen in Prozent

A ist das polymorphe Allel an Position +2044.

Hier ist die Tendenz zu beobachten, dass bei den Gruppen der gesunden Individuen der Genotyp G/G, im Vergleich zu der Gruppe der kranken Individuen (Gruppe AP), sehr häufig auftritt. Gleichzeitig ist zu sehen, dass bei den gesunden (Gruppe J und O) das polymorphe Allel (A/A) im Gegensatz zu Gruppe AP weniger häufig auftritt.



AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Abb. 16: Verteilung der Genotypen des IL-13 (C →T an Stelle -1112 in der Promotorregion) der einzelnen Gruppen in Prozent

T ist das polymorphe Allel an Position –1112.

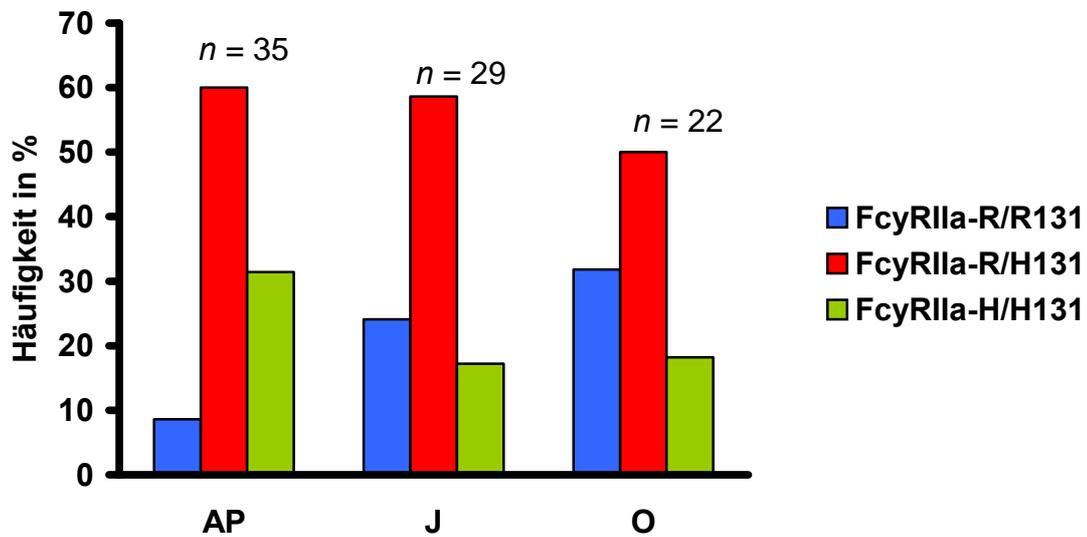
Es zeigt sich, dass die Häufigkeit für Genotyp T/T bei der Gruppe AP mit 31,4% und Gruppe O mit 22,7% höher liegt als bei Gruppe J mit 6,9%. Des weiteren ist zu beobachten, dass der Genotyp C/C bei Gruppe AP (5,7%) und Gruppe O (0%) im Vergleich zur Gruppe J (17,2%) weniger häufig vorkommt.

Genotypen von IL-13	Gruppe AP <i>n</i> = 35	Gruppe J <i>n</i> = 29	Gruppe O <i>n</i> = 22
<b>+2044 G → A</b>			
G/G	9 (25,7 %)	15 (51,7 %)	13 (59,1 %)
G/A	21 (60,0 %)	11 (37,9 %)	7 (31,8 %)
A/A	5 (14,3 %)	3 (10,3 %)	2 (9,1 %)
<b>-1112 C → T</b>			
C/C	2 (5,7 %)	5 (17,2 %)	0
C/T	22 (62,9 %)	22 (75,9 %)	17 (77,3 %)
T/T	11 (31,4 %)	2 (6,9 %)	5 (22,7 %)

AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden,  
O: Alte parodontal gesunde Probanden

Tabelle 14: Vergleich der Genotypen des IL-13 Gens in den verschiedenen Gruppen

## Genotypen: FcyRIIa



AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis, J: Junge, parodontal gesunde Probanden, O: Alte parodontal gesunde Probanden

Abb. 17: Verteilung der Genotypen des FcyRIIa Gens der einzelnen Gruppen in Prozent

Hier ist die Tendenz zu beobachten, dass der FcyRIIa-H/H131 Genotyp bei den Gruppen der gesunden Individuen mit 24,1% für Gruppe J und 31,8% für Gruppe O häufiger vorkommt als bei Gruppe AP mit 8,6%. Bei der Gruppe der Individuen mit aggressiver Parodontitis hingegen zeigt sich, dass der FcyRIIa-R/R131 Genotyp mit 31,4% deutlich öfter vorkommt als bei Gruppe J (17,2%) und Gruppe O (18,2%).

Genotypen von FcyRIIa	Gruppe AP n = 35	Gruppe J n = 29	Gruppe O n = 22
R/R131	3 (8,6 %)	7 (24,1 %)	7 (31,8 %)
R/H131	21 (60,0 %)	17 (58,6 %)	11 (50,0 %)
H/H131	11 (31,4 %)	5 (17,3 %)	4 (18,2 %)

Tabelle 15: Vergleich der Genotypen des FcyRIIa Gens in den verschiedenen Gruppen

## 5.4 Genotyp - Profile

Im Folgenden werden die Genotyp-Profile der einzelnen Patienten und Probanden dargestellt. Der Aufbau des Profils wird anhand eines Beispiels beschrieben.

3	2	1	1	2	2	3
Million	Hunderttausend	Zehntausender	Tausender	Hunderter	Zehner	Einer

Einer: Fcγ-RezeptorIIa  
 Zehner: IL-13 (C→T an der Stelle -1112 in der Promotorregion)  
 Hunderter: IL-13 (G→A an Stelle +2044 in Exon 4)  
 Tausender: IL-1 β (C→T an Stelle +3954)  
 Zehntausender: IL-1 α (G→T an Stelle +4845)  
 Hunderttausender: IL-4 (VNTR von 70 BP in Intron 2)  
 Million: IL-4 (C→T an Stelle -590 in der Promotorregion)

Wobei hier die Ziffern 1 – 3 an der jeweiligen Stelle (Einer, Zehner, Hunderter usw.) den Genotyp des Interleukins oder Rezeptors angeben.

- 1: nichtpolymorphisches Allel/nichtpolymorphisches Allel
- 2: nichtpolymorphisches Allel/polymorphisches Allel
- 3: polymorphisches Allel/polymorphisches Allel

Je größer die Zahl, bzw. je mehr Dreien in einem Profil vorkommen, desto mehr polymorphische Allele trägt dieser Patient oder Proband. Hier ist auffällig, dass in der Gruppe O in einem Profil höchstens 2 mal die Ziffer 3 vorkommt.

Abbildung 18 zeigt die Profile der Gruppe AP

Abbildung 19 zeigt die Profile der Gruppe J

Abbildung 20 zeigt die Profile der Gruppe O

An der y-Achse ist die Häufigkeit der einzelnen Profile abgetragen, mit der sie innerhalb der jeweiligen Gruppe vorgekommen sind.

Abbildung 21 zeigt die Häufigkeit der einzelnen Profile aller Gruppen. Auffällig ist die große Heterogenität der Profile, lediglich das Profil 2211222 kam herausragend oft vor.

### Profile der Patienten mit aggressiver Parodontitis

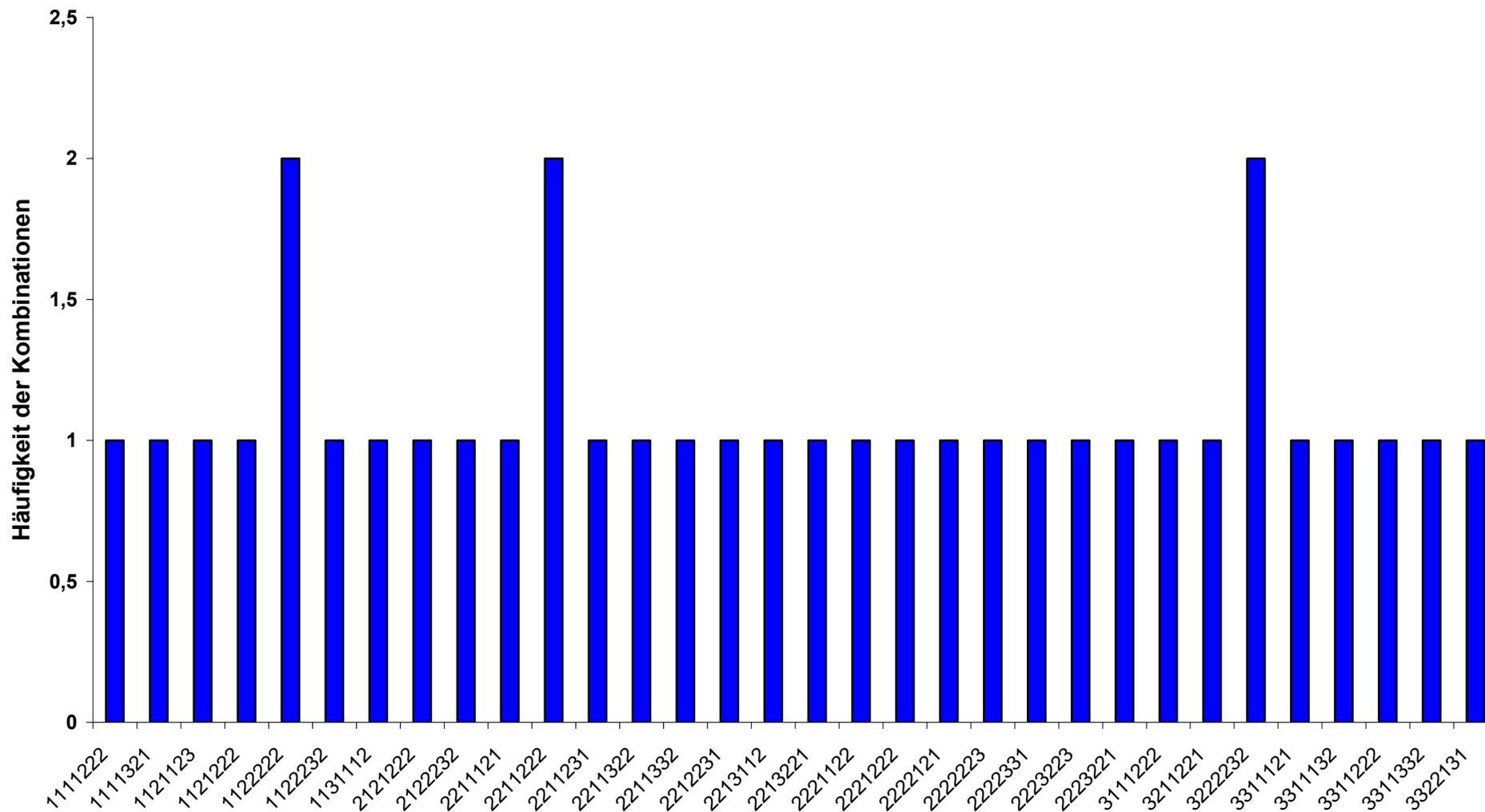


Abbildung 18

### Profile der jungen, parodontal gesunden Probanden

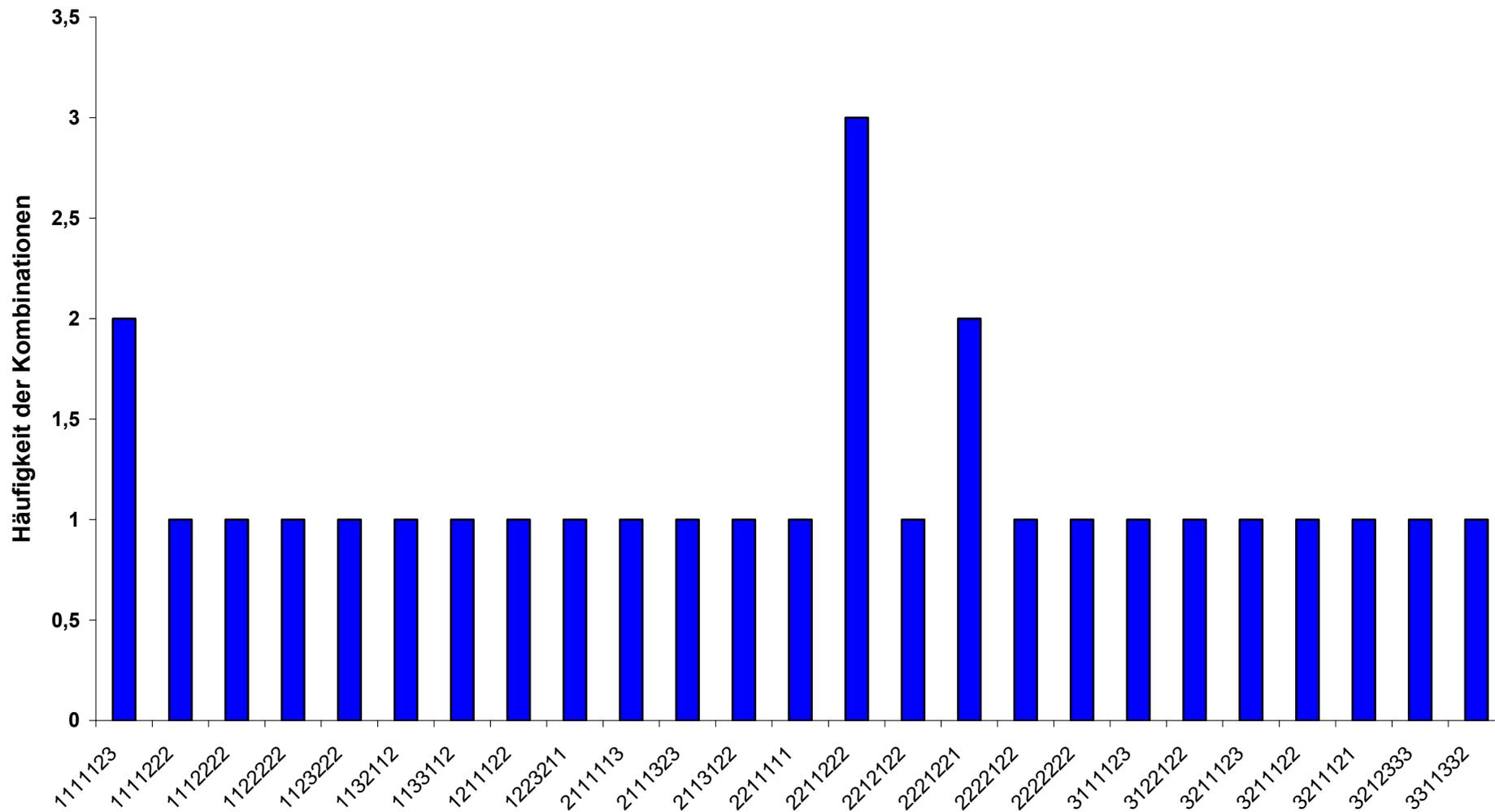


Abbildung 19

### Profile der parodontitisresistenten Probanden

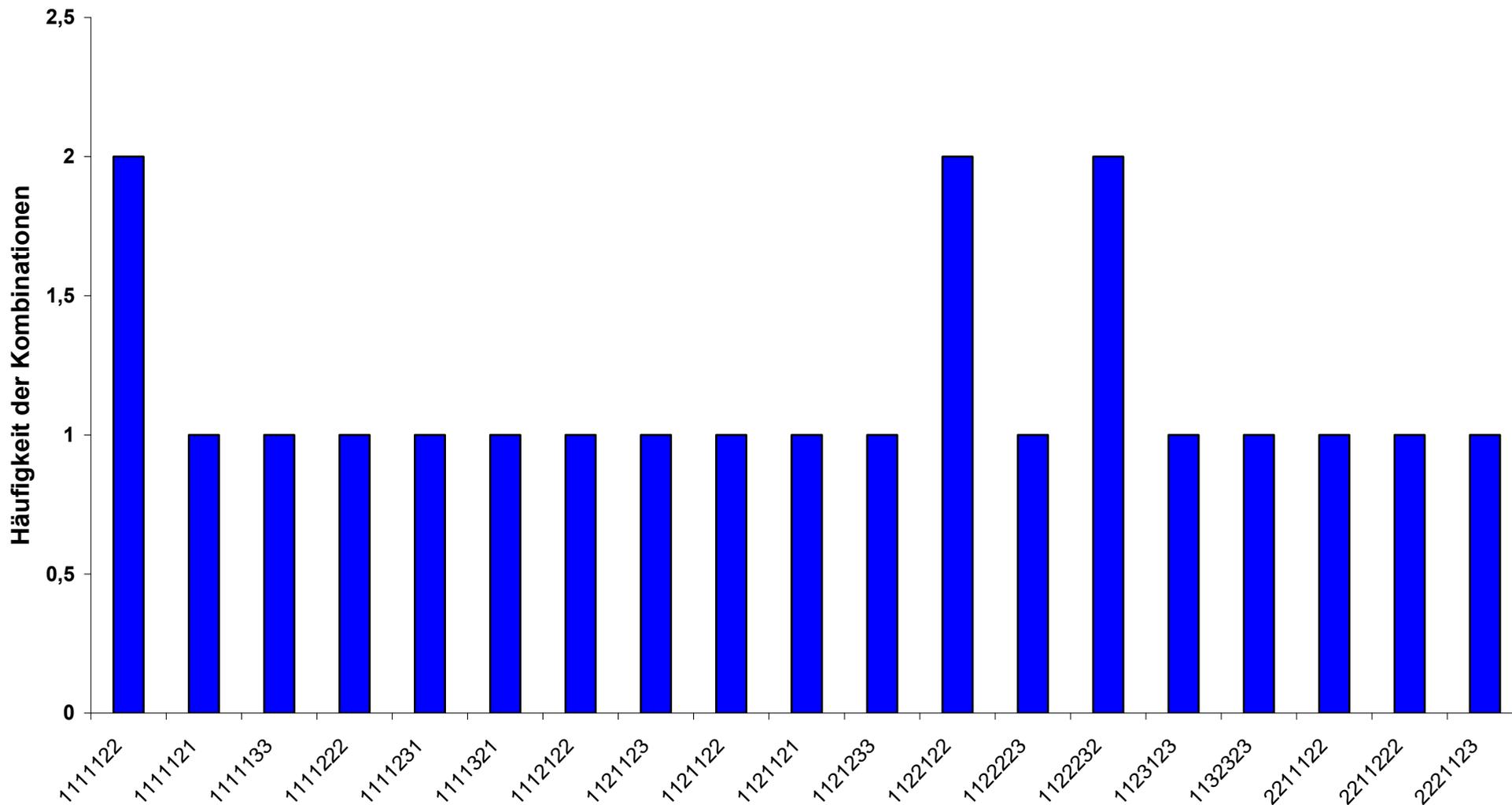
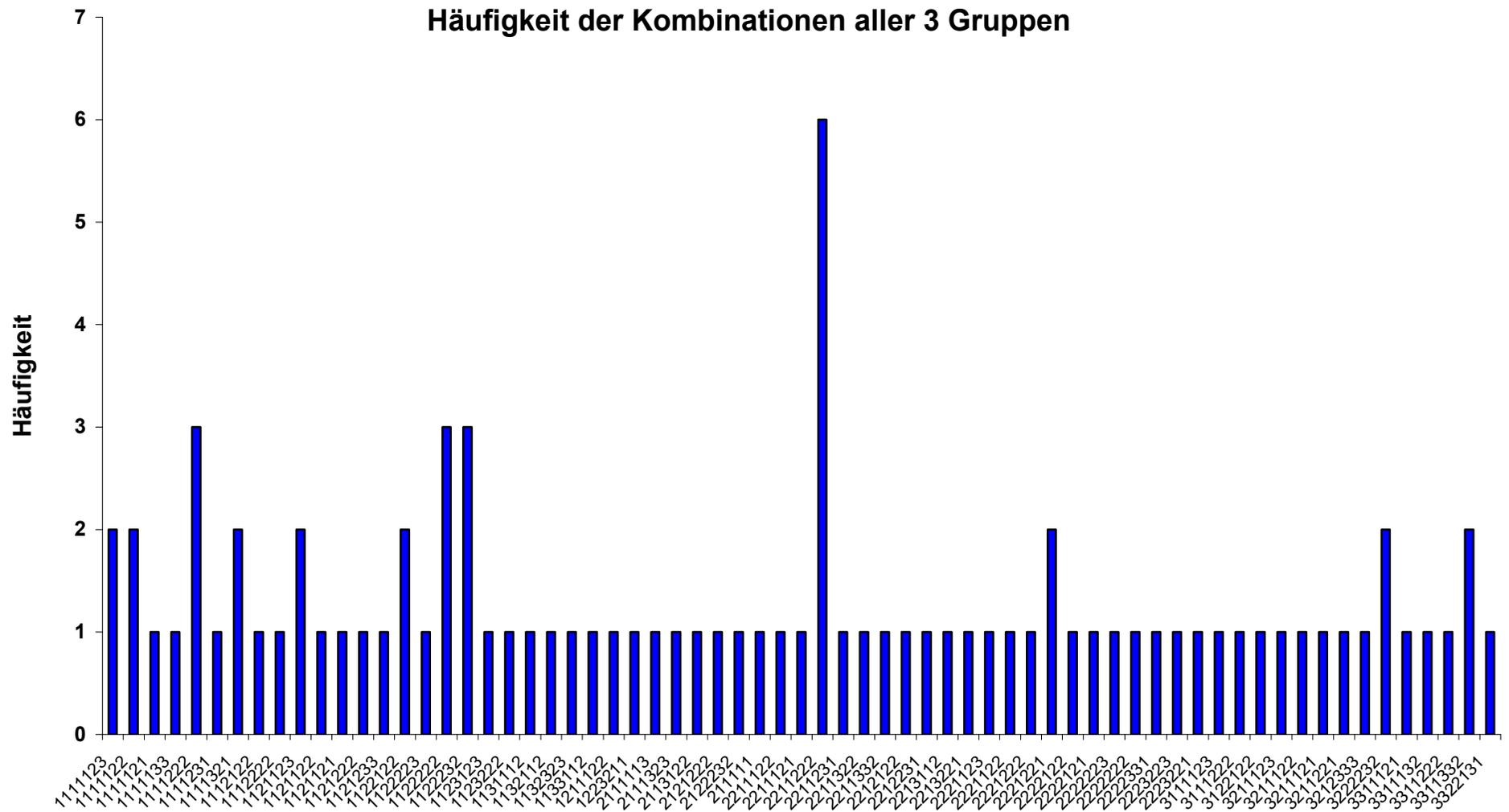


Abbildung 20



## 6.0 Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung wurden genetische Risikofaktoren [Polymorphismen der Interleukine: IL-1 $\alpha$  (G  $\rightarrow$  T an Stelle +4845), IL-1 $\beta$  (C  $\rightarrow$  T an Stelle +3954), IL-4 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -590 in der Promotorregion), IL-4 (VNTR in Intron 2), IL-13 (G  $\rightarrow$  A an Stelle +2044 in Exon 4), IL-13 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -1112 in der Promotorregion) und Fc $\gamma$  Rezeptors IIa (A  $\rightarrow$  G an Stelle 131)] in einer Gruppe von älteren Individuen (älter als 55 Jahre), die keine klinischen Zeichen einer Parodontitis (kein Attachmentverlust) aufwiesen, untersucht. Diese Gruppe wurde mit einer Gruppe von jungen, gesunden Individuen (jünger als 30 Jahre) und einer Gruppe von Patienten mit aggressiver Parodontitis (nicht älter als 35 Jahre) verglichen.

Die klinischen Parameter zeigen, dass sich die Gruppe der parodontitisresistenten Probanden und die Patienten mit aggressiver Parodontitis in Bezug auf die Versorgung mit Kronen, Füllungen und Brücken nicht unterscheiden, d.h. Reizfaktoren wie Kronen- und Füllungsrän­der traten bei diesen beiden Gruppen ähnlich häufig auf.

Vergleicht man den Papillenblutungsindex der Gruppen, wird deutlich, dass die Gingivitisprävalenz in der Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis am größten und in der Gruppe der jungen, gesunden Probanden am geringsten war. Bei der parodontitisresistenten Gruppe wies die überwiegende Anzahl eine Gingivitis auf. Der Plaqueindex unterscheidet sich zwischen der Gruppe der jungen, gesunden und den Parodontitisresistenten jedoch nicht derart, wie es bei dem Papillenblutungsindex der Fall ist, was vermutlich damit zusammenhängt, dass die älteren parodontitisresistenten Probanden zum Untersuchungstermin eine besonders gründliche Mundhygiene betrieben. Die Geschlechterverteilung in den einzelnen Gruppen lässt für die vorliegende Arbeit schließen, dass Frauen eher eine aggressive Parodontitis entwickeln als Männer, was mit den Ergebnissen von Saxby (1984) und Cortelli et al. (2002) übereinstimmt.

Die übrigen klinischen Parameter spiegeln die Einschlusskriterien wider, was eine Diskussion unnötig macht.

Es konnte gezeigt werden, dass die IL-1 Polymorphismen (IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T) keinen essentiellen Risikofaktor zur Krankheitsentstehung darstellt, wohl aber in Bezug auf die Krankheitsprogression bei bestehender Erkan-

kung im Sinne einer hyperinflammatorischen Immunreaktion. So konnten Kornman et al. (1997) einen gemeinsam vorkommenden Polymorphismus des IL-1 $\alpha$  C(-889)-T und IL-1 $\beta$  C(+3953)-T mit dem Schweregrad der chronischen Parodontitis bei Nichtrauchern assoziieren.

Hodge et al. (2001) untersuchten die von Kornman et al. (1997) beschriebenen IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  Polymorphismen bei Patienten mit generalisierter aggressiver Parodontitis, die nicht miteinander verwandt waren. Sie fanden keine Unterschiede zwischen Patienten und gesunden Kontrollen.

In einer Literaturübersicht einer Konsensuskonferenz kamen Loos et al. (2005) zu dem Schluss, dass Polymorphismen des IL-1 Gens mit der chronischen Parodontitis assoziiert sein könnten, wenngleich die Aussagekraft der Studien schwach ist und andere Risikofaktoren der Parodontitis nicht berücksichtigt wurden.

In der vorliegenden Studie wurden der IL-1A +4845 Polymorphismus, der mit dem -889 Locus in Linkage Disequilibrium steht, sowie der IL-1B +3954 Polymorphismus untersucht. Betrachtet man die Verteilung der Häufigkeiten der IL-1A +4845 und IL-1B +3954 Polymorphismen zwischen den einzelnen Gruppen, so lässt sich kein eindeutiges Verteilungsmuster feststellen, was die Ergebnisse von Gonzales et al. (2003) und Hodge et al. (2001) bestätigt.

Die IL-4 Polymorphismen (C(-590)-T und VNTR in Intron2) gehören bisher zu den noch wenig untersuchten Polymorphismen, die möglicherweise einen Einfluss auf die Parodontitis haben. Michel et al. (2001) brachten die IL-4 C(-590)-T und VNTR in Intron2 Polymorphismen mit der aggressiven Parodontitis in engen Zusammenhang. 27,8% der Patienten mit aggressiver Parodontitis waren Träger der polymorphen IL-4 (C(-590)-T und VNTR in Intron2) Allele, keiner der gesunden Kontrollprobanden oder auch der Patienten mit chronischer Parodontitis wiesen diese Allele auf. In einer weiteren Studie von Gonzales et al. (2004) konnte gezeigt werden, dass Patienten mit aggressiver Parodontitis viel häufiger Träger des polymorphen Allels in Intron 2 sind, als gesunde Probanden.

Vergleicht man in der vorliegenden Studie die Häufigkeiten der polymorphen Allele von IL-4 (C(-590)-T und VNTR in Intron2) zwischen der Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis und der Gruppe der jungen, gesunden Probanden, so kann man feststellen, dass hier ein eindeutiger Trend nur in Bezug auf den IL-4 VNTR Intron2 Polymorphismus zu erkennen ist. Die Patienten mit aggressiver Pa-

Parodontitis weisen mit 14,3% eindeutig häufiger den IL-4 (VNTR Intron2) Polymorphismus auf als die jungen, gesunden Probanden mit 3,5%.

Vergleicht man nun aber die Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis mit der Gruppe der Parodontitisresistenten, so lässt sich feststellen, dass weder der IL-4 VNTR Intron2 noch der C(-590)-T Promotorpolymorphismus in der Gruppe der parodontitisresistenten Probanden vorhanden sind.

Stellt man jetzt auch noch die Häufigkeit des kombinierten polymorphen Genotyps (homozygoter Zustand der polymorphen Allele beider Polymorphismen, C(-590)-T und VNTR Intron2), wie von Michel et al. (2001) beschrieben, gegenüber, so wird ein eindeutiger Trend zwischen den verschiedenen Gruppen sichtbar (Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis: 14,3%,  $n=5$ ; Gruppe der jungen, gesunden Probanden: 3,4%,  $n=1$ ; Gruppe der parodontitisresistenten Probanden: 0%,  $n=0$ ). Die Unterschiede sind bei den kombinierten nicht-polymorphen Genotypen (homozygoter Zustand der nicht-polymorphen Allele beider Polymorphismen, C(-590)-T und VNTR Intron2) zwischen der Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis mit 22,9% und der Gruppe der jungen, gesunden Probanden mit 27,9% nicht mehr ganz so eindeutig, was auf eine höhere Spezifität als Sensitivität schließen lässt. Das Vorliegen des kombinierten nicht-polymorphen C(-590)-T und VNTR Intron2 Genotyps könnte für diese Studienpopulation mit einer Resistenz (Gruppe der parodontitisresistenten Probanden: 77,3%) gegenüber der aggressiven Parodontitis assoziiert sein; das Vorliegen des kombiniert polymorphen C(-590)-T und VNTR Intron2 Genotyps könnte entsprechend für ein höheres Risiko an einer aggressiven Parodontitis zu erkranken (Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis: 14,3%) interpretiert werden.

Der Einfluss der IL-13 Polymorphismen G(+2044)-A in Exon 4 und C(-1112)-T in der Promotorregion auf die Parodontitis ist bisher ebenfalls nur wenig erforscht. Auch in der Medizin wurde dieser Polymorphismus noch nicht ausführlich untersucht, er konnte aber mit einem erhöhten Serum-IgE Level in Verbindung gebracht werden. So untersuchten Graves et al. (2000) sieben IL-13 Polymorphismen bei Kindern mit Asthma. Sie fanden heraus, dass speziell der IL-13 G(+2044)-A Polymorphismus, sowie der IL-13 C(-1112)-T Polymorphismus mit einem erhöhten Serum-IgE Level assoziiert sind.

Yamazaki et al. (1997) untersuchten die mRNA Level von Interferon- $\gamma$ , IL-4, IL-10, IL-12 und IL-13 in der Gingiva und in Monozyten bei Patienten mit chronischer Pa-

rodontitis. Sie fanden höhere IL-13 mRNA Level in den Monozyten als im gingivalen Gewebe, wenngleich die Ergebnisse nicht eindeutig waren. In einer weiteren Studie konnten im chronisch entzündeten parodontalen Gewebe hauptsächlich Th2 Zytokine, d.h. IL-6, IL-10 und IL-13 gefunden werden (Yamamoto et al. 1997). Huang et al. (2003), die die Th1/Th2 Zytokin- und die Androgenrezeptorexpression in medikamenteninduzierter Gingivahyperplasie untersuchten, zeigten, dass Androgenrezeptoren, Interferon- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-10 und IL-13 in Kernen von Entzündungszellen des gingivalen Gewebes vermehrt exprimiert werden.

Gonzales et al. (2003) fanden Hinweise, dass der IL-13 C(-1112)-T Polymorphismus der Promotorregion mit der aggressiven Parodontitis bei Kaukasiern assoziiert sein könnte.

Die vorliegende Studie lässt für den IL-13 G(+2044)-A Polymorphismus in Exon 4 leichte Tendenzen erkennen, so liegt der polymorphe Genotyp (A/A) mit 14,3% für die Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis eindeutig häufiger vor als bei den gesunden Probanden mit 10,3% (Gruppe der jungen, gesunden Probanden), bzw. 9,1% (Gruppe der parodontitisresistenten Probanden).

Bei dem nicht-polymorphen Genotyp (G/G) ist mit 25,7% für die Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis, 51,7% für die Gruppe der jungen, gesunden Probanden und 59,1% für die Gruppe der parodontitisresistenten Probanden ein genau gegenläufiger Trend zu beobachten. Auch hier könnte sich für diese Studienpopulation auf Grund der Genotypverteilung schließen lassen, dass der nicht-polymorphe Genotyp (homozygoter Zustand) mit einer Resistenz, der polymorphe Genotyp (homozygoter Zustand) jedoch mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko vergesellschaftet ist.

Bei dem IL-13 C(-1112)-T Polymorphismus tritt eine Besonderheit auf: Der polymorphe Genotyp kommt mit 31,4% für die Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis und 22,7% für die parodontitisresistente Gruppe deutlich häufiger vor als bei der Gruppe der jungen, gesunden Probanden mit 6,9%. Der nicht-polymorphe Genotyp tritt bei den Kranken (Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis: 5,7%) weniger häufig auf als bei den jungen, gesunden Probanden (17,2%); bei den parodontitisresistenten Probanden hingegen kommt dieser Genotyp gar nicht vor.

Der Polymorphismus des Fc $\gamma$ -Rezeptor IIa A(+131)-G konnte bei Japanern und Afro-Amerikanern weder mit der Parodontitis noch mit deren Schweregrad assozii-

iert werden (Kobayashi et al. 1997, 2000, 2001, Fu et al. 2002). Es existieren nur vier Studien über den Fcγ-Rezeptor IIa A(+131)-G Polymorphismus bei Kaukasiern (Colombo et al. 1998, Meisel et al. 2001, Yamamoto et al. 2004, Loos et al. 2003). Colombo et al. 1998 und Meisel et al. 2001 konnten keinen Zusammenhang zwischen dem Fcγ-Rezeptor IIa A(+131)-G Polymorphismus und der Parodontitis herstellen. Yamamoto et al. 2004 und Loos et al. 2003 konnten eine Assoziation zwischen dem nicht-polymorphen Allel (FcγRIIa H/H131 Genotyp) und der chronischen Parodontitis (Yamamoto et al. 2004), bzw. der aggressiven Parodontitis (Loos et al. 2003) feststellen. Dies steht im Widerspruch zu der Hypothese von Wilson & Kalmar (1996). Sie beschrieben den FcγRIIa H/H131 Genotyp als low risk Faktor und den FcγRIIa R/R131 als high risk Faktor für die aggressive Parodontitis. Der FcγRIIa H/R131 Genotyp wurde von ihnen als intermediate risk Faktor eingestuft. Sie basierten ihre Hypothese auf der Tatsache, dass in in vitro Versuchen neutrophile Granulozyten mit dem FcγRIIa H/H131 Genotyp effektiver mit IgG2 opsonierten Bakterien phagozytieren als neutrophile Granulozyten mit dem FcγRIIa R/R131 Genotyp.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stützen die Ergebnisse der Studien von Loos et al. (2003). Da bei der Gruppe von Patienten mit aggressiver Parodontitis der Genotyp H/H131 (31,4%) im Verhältnis zum Genotyp R/R131 (8,6%) häufiger vertreten ist, kann man darauf schließen, dass der Genotyp H/H131 für eine Anfälligkeit gegenüber der aggressiven Parodontitis verantwortlich sein könnte. Umgekehrt ist der Genotyp R/R131 mit 31,8% häufig und der Genotyp H/H131 mit 18,2% selten in der Gruppe der parodontitisresistenten Probanden aufgetreten, so könnte man für diese Studienpopulation den Schluss ziehen, dass der Genotyp R/R131 mit einer Resistenz gegen die aggressive Parodontitis vergesellschaftet ist, obwohl dieser Genotyp mit einer verminderten Phagozytoserate von opsonierten Bakterien einher geht. Eine mögliche Erklärung wäre die destruirende Rolle von neutrophilen Granulozyten, die 90% der immunkompetenten Zellen des entzündlichen Infiltrates in der parodontalen Läsion ausmachen (Saito et al. 1987). Obwohl neutrophilen Granulozyten eine schützende Rolle in der Pathogenese der Parodontitis zugesprochen wird (Miyasaki 1991), konnte gezeigt werden, dass die nach Kontakt mit bakteriellen Produkten freigesetzten Substanzen zu einer Schädigung parodontaler Zellen führen (Deguchi et al. 1990, Sugiyama et al. 1992, Smedly et al. 1986). Dies würde auch die Beobachtung von Loos et al. (2003) er-

klären, der bei Patienten mit dem H/H131 Genotyp einen größeren Knochenverlust ausmachen konnte als bei Trägern der R/H131 und R/R131 Genotypen.

Es wurde bisher in keiner anderen Studie ein Profil der Genotypen für jeden einzelnen Probanden erstellt, was die Diskussion der Ergebnisse dieses Teils der vorliegenden Studie erschwert.

Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich in ihren Profilen beträchtlich, die nicht-polymorphen Allele (homozygoter Zustand, in den Graphiken als 1 gekennzeichnet) kommen in der Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis mit einer Häufigkeit von nur 28,6% vor. In der Gruppe der jungen, gesunden Probanden schon mit einer Häufigkeit von 42,4% und in der Gruppe der parodontitisresistenten Probanden mit 53,3%. Die Situation ist bei den polymorphen Allelen (homozygoter Zustand, in den Graphiken als 3 gekennzeichnet) genau umgekehrt. Hier kommt dieser Genotyp mit 18,7% in der Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis recht häufig, bei der Gruppe der jungen, gesunden Probanden mit 11,8% schon etwas weniger häufig und mit 8,4% bei der parodontitisresistenten Gruppe sehr selten vor. Die polymorphen/ nicht-polymorphen Allele (heterozygoter Zustand, in den Graphiken als 2 gekennzeichnet) zeigen von der Gruppe der Patienten bis zu der Gruppe der parodontitisresistenten Probanden eine kontinuierliche Abnahme in der Häufigkeit (Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis: 52,7%; Gruppe der jungen, gesunden Probanden: 45,8% und Gruppe der parodontitisresistenten Probanden: 38,3%).

Betrachtet man nun die Häufigkeiten innerhalb der einzelnen Profile, so fällt auf, dass in der parodontitisresistenten Gruppe die polymorphen Allele (homozygoter Zustand, in den Graphiken als 3 gekennzeichnet) nur dreimal innerhalb eines Profils vorkommt. Bei den Gruppen der Patienten und den jungen, gesunden Probanden kommt dieser Genotyp viermal in einem Profil vor. Die nicht-polymorphen Allele (homozygoter Zustand, in den Graphiken als 1 gekennzeichnet) kommt in der Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis und in der Gruppe der jungen, gesunden Probanden in einem Profil jeweils fünf mal, in der Gruppe der parodontitisresistenten Probanden sechs mal vor.

Diese Daten zeigen, dass die Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis im Durchschnitt eindeutig mehr polymorphe als nicht-polymorphe Allele im Vergleich zu den beiden Gruppen mit gesunden Probanden besitzt. Der Unterschied im Genotypprofil zwischen krank und gesund wird im Vergleich zwischen Patien-

ten mit aggressiver Parodontitis und den parodontitisresistenten Probanden deutlicher als zwischen Patienten und den jungen, gesunden Probanden. Wobei hier angemerkt werden muss, dass das nicht-polymorphe Allel des FcγRIIIa (A (+131)-G) mit einer Anfälligkeit gegenüber der aggressiven Parodontitis in Zusammenhang gebracht wurde.

Wenn man sich nun die Kombinationen der Genotypprofile vor Augen führt, wird man eine große Heterogenität der Profile feststellen. So gibt es bei 86 Patienten und Probanden 67 verschiedene Profile, auffällig ist hier das häufige Vorkommen des Profils: 2211222 (siehe Seite 77).

Die Anzahl der hier untersuchten Interleukine und Rezeptoren ist, verglichen mit der Vielfalt im Körper vorkommender Interleukine, Rezeptoren und Mediatoren, die ebenfalls einen Einfluss auf die Pathogenese der Parodontitis haben könnten, sehr gering. Da es sich hier nicht um einzelne, unabhängige Faktoren, sondern um sich gegenseitig beeinflussende Substanzen handelt, wird, bei der großen Heterogenität die Komplexität der genetischen Beeinflussung der Parodontitis erst deutlich.

Den genetischen Beitrag zu weit verbreiteten, komplexen Erkrankungen wie der Parodontitis herauszufinden hat sich als sehr schwierig erwiesen. Man geht davon aus, dass mehrere genetische Loci miteinander interagieren und so eine zugrundeliegende Anfälligkeit eines Individuums für die Parodontitis schaffen. Zusammen mit hinzukommenden Umweltfaktoren und dem bakteriellen Reiz entsteht die parodontale Destruktion (Hart & Kinane 2003). Mögliche, für die Anfälligkeit modifizierende, Gene oder Genloci werden versucht über Assoziationsstudien mit der Parodontitis in Verbindung zu bringen bzw. zu assoziieren.

Es gibt zwei übliche Methoden von Assoziationsanalysen für genetische Studien, die population-based und die family-based Methode (Hodge et al. 1993). Die population-based Methode, nach der die vorliegende Studie durchgeführt wurde, bedient sich eines case-control designs, bei welchem die Häufigkeit bestimmter Markerallele zwischen kranken Individuen (cases) und gesunden Probanden (controls) verglichen wird.

Wenn eine Assoziation gefunden wurde, sind mehrere Interpretationen möglich. Als erstes könnte das assoziierte Allel der einzige krankheitsverursachende Grund sein, zum zweiten könnte das assoziierte Allel in linkage disequilibrium mit dem tatsächlich krankheitsverursachenden Locus stehen, zum dritten könnte die Asso-

ziation von der Populationsauswahl abhängen und zum vierten könnte die Assoziation ein statistischer Artefakt sein (Hart & Kinane 2003).

Bei der vorliegenden Studie wurde aus diesen Gründen eine rein explorative Analyse durchgeführt. Alle Ergebnisse und Schlussfolgerungen haben allein für die getestete Population Aussagekraft. Um die Schlussfolgerungen auf grössere Populationen zu übertragen sind weitere Untersuchungen mit grösseren Kollektiven notwendig.

## 7.0 Zusammenfassung

Die Parodontitis ist eine Infektion des Zahnhalteapparates, die zu einer komplexen Beziehung zwischen oralen Bakterien und der Immunantwort des Wirts führt und häufig durch Verhaltensfaktoren beeinflusst wird. Zytokine sind Schlüsselfaktoren, die den entzündlichen Prozess bei der Parodontitis steuern.

Ergebnisse von Zwillingsstudien und klinische Untersuchungen, die sich mit der familiären Häufung der aggressiven Parodontitis beschäftigten, zusammen mit den genetisch bedingten Syndromen und Krankheiten, in denen die Parodontitis ein Hauptkrankheitsmerkmal darstellt, zeigen, dass genetische Faktoren eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Parodontitis spielen. So haben Untersuchungen gezeigt, dass die Stärke der Zytokinexpression durch genetische Polymorphismen reguliert wird, und dass diese Variation einen Einfluss auf das Fortschreiten der Erkrankung hat.

Ziel der vorliegenden Studie war, genetische Risikofaktoren [Polymorphismen der Interleukine: IL-1 $\alpha$  (G  $\rightarrow$  T an Stelle +4845), IL-1 $\beta$  (C  $\rightarrow$  T an Stelle +3954), IL-4 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -590 in der Promotorregion), IL-4 (VNTR in Intron 2), IL-13 (G  $\rightarrow$  A an Stelle +2044 in Exon 4), IL-13 (C  $\rightarrow$  T an Stelle -1112 in der Promotorregion) und Fc $\gamma$  Rezeptors IIa (A  $\rightarrow$  G an Stelle 131)] bei einer Gruppe von älteren Individuen, die keine klinischen Zeichen einer Parodontitis (keinen Attachmentverlust,  $n=22$ ) aufwiesen, zu untersuchen. Diese Gruppe wurde mit einer Gruppe von jungen, gesunden Individuen ( $n=29$ ) und einer Gruppe von Patienten ( $n=35$ ), die an einer aggressiven Parodontitis litten, verglichen.

Betrachtet man die Verteilung der Häufigkeiten der IL-1A +4845 und IL-1B +3954 Polymorphismen zwischen den einzelnen Gruppen, so lässt sich kein eindeutiges Verteilungsmuster feststellen, was die Ergebnisse von Gonzales et al. (2003) und Hodge et al. (2001) bestätigt.

Vergleicht man den kombinierten Polymorphismus (homozygoter Zustand der polymorphen Allele beider Polymorphismen, C(-590)T und VNTR Intron2) des IL-4, so wird ein eindeutiger Trend zwischen den verschiedenen Gruppen sichtbar (Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis: 14,3%,  $n=5$ ; Gruppe der jungen, gesunden Probanden: 3,4%,  $n=1$ ; Gruppe der parodontitisresistenten Probanden: 0%,  $n=0$ ). Die Unterschiede sind bei dem kombinierten nicht-polymorphen Genotyp (homozygoter Zustand der nicht-polymorphen Allele beider Poly-

morphismen, C(-590)-T und VNTR Intron2) zwischen der Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis mit 22,9% und der Gruppe der jungen, gesunden Probanden mit 27,9% nicht mehr ganz so eindeutig, was auf eine höhere Spezifität als Sensitivität schließen lässt. Das Vorliegen des kombinierten nichtpolymorphen Genotyps könnte in dieser Population mit einer Resistenz (Gruppe der parodontitisresistenten Probanden: 77,3%); das Vorliegen des kombinierten polymorphen Genotyps (homozygoter Zustand der polymorphen Allele beider Polymorphismen) könnte mit einer Anfälligkeit (Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis: 14,3%) gegenüber der aggressiven Parodontitis interpretiert werden. Für den IL-13 Exonpolymorphismus sind klare Tendenzen erkennbar, so liegt der nicht-polymorphe Genotyp (homozygoter Zustand der nicht-polymorphen Allele) bei den gesunden Probanden mit 51,7% (Gruppe der jungen, gesunden Probanden) bzw. 59,1% (Gruppe der parodontitisresistenten Probanden) eindeutig häufiger vor als bei den Patienten mit 25,7% (Patienten mit aggressiver Parodontitis). Bei dem polymorphen Genotyp (homozygoter Zustand der polymorphen Allele) ist für die Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis mit 14,3%, für die Gruppe der jungen, gesunden Probanden mit 10,3% und für die parodontitisresistente Gruppe mit 9,1% ein genau gegenläufiger Trend zu beobachten. Auch hier könnte bei dieser Studienpopulation auf Grund der Genotypverteilungen darauf geschlossen werden, dass der nicht-polymorphe Genotyp mit einer Resistenz, der polymorphe Genotyp mit einem erhöhten Krankheitsrisiko verbunden ist.

Die Ergebnisse lassen bei der Population dieser Arbeit darauf schließen, dass der Genotyp H/H131 des Fcγ-Rezeptor IIa mit der aggressiven Parodontitis vergesellschaftet ist, da er mit 31,4% sehr häufig in der Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis vorkommt, wohingegen der Genotyp R/R131 mit 8,6% äusserst selten in dieser Gruppe auftritt.

Die Daten der Genotypprofile zeigen, dass die Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis im Durchschnitt mehr polymorphe als nicht-polymorphe Allele im Vergleich zu den beiden Gruppen mit gesunden Probanden besitzt. Der Unterschied im Genotypprofil zwischen krank und gesund wird im Vergleich zwischen Patienten mit aggressiver Parodontitis und den parodontitisresistenten Probanden am deutlichsten.

## 8.0 Summary

Periodontitis is an infectious disease caused by a complex interplay between oral bacteria and the immune system. Cytokines are key factors regulating the inflammatory process of periodontitis.

Results of twin, clinical and familial aggregation studies of aggressive periodontitis, as well as genetic syndroms in which periodontitis is the main disease characteristic, have demonstrated that genetic factors play a fundamental role in the etiology of aggressive periodontitis. Research has shown that genetic polymorphisms can be crucial for the amount of cytokine expression which in turn can be a prerequisite for periodontal breakdown.

The aim of the present study was to determine genetic risk factors [Polymorphisms of the following genes: IL-1 $\alpha$  (G  $\rightarrow$  T at position +4845), IL-1 $\beta$  (C  $\rightarrow$  T at position +3954), IL-4 (C  $\rightarrow$  T at position -590 in the promoter region), IL-4 (VNTR in intron 2), IL-13 (G  $\rightarrow$  A at position +2044 in exon 4), IL-13 (C  $\rightarrow$  T at position -1112 in the promoter region) and Fc $\gamma$  receptor IIa (A  $\rightarrow$  G at position 131)] in a group of healthy older subjects ( $\geq$  55 y), without any signs of periodontal disease (no attachment loss). This group was compared with a group of young, healthy subjects and a group of young subjects suffering from aggressive periodontitis ( $\leq$  35 y).

With regard to the distribution of the IL-1 $\alpha$  G(+4845)-T and IL-1 $\beta$  C(+3954)-T polymorphisms in the groups, the results of the present investigation corroborate the findings of Gonzales et al. (2003) and Hodge et al. (2001) who failed to show an association between these IL-1 polymorphisms and aggressive periodontitis.

Regarding the two IL-4 polymorphisms analysed (C(-590)-T and the VNTR in intron 2), the distribution of the mutant alleles of both polymorphisms was different between the groups (aggressive periodontitis group: 14.3%,  $n=5$ ; group of young, healthy subjects: 3.4%,  $n=1$ ; group of periodontitis resistant subjects: 0%,  $n=0$ ). The distribution of the wild type alleles of both IL-4 polymorphisms in the group of aggressive periodontitis patients (22.9%) and the group of young, healthy subjects (27.9%) was similar, suggesting a higher specificity than sensitivity.

Within the limits of the present study, it might be suggested that the combination of the wild type alleles of the IL-4 C(-590)-T and the IL-4 VNTR in intron 2 polymorphisms may be associated with a resistance to periodontal destruction (periodontitis resistant group: 77.3%), whereas the combination of the mutant alleles in both IL-4 polymorphisms may be associated with susceptibility to aggressive periodontitis (aggressive periodontitis group: 14.3%).

With regard to the frequencies of the IL-13 G(+2044)-A polymorphism between groups, there was a tendency of a different distribution. The genotype containing the wild type allele occurred in the groups of healthy subjects (51.7% in young, healthy subjects and 59.1% in periodontitis resistant subjects) far more frequent than in patients with aggressive periodontitis (25.7%). Contrary frequencies could be detected for the genotype with the mutant allele (aggressive periodontitis patients 14.3%, young, healthy subjects 10.3% and periodontitis resistant subjects 9.1%). These results lead to the suggestion that the IL-13 wild type allele may be associated with resistance, and that the mutant allele may be associated with susceptibility to aggressive periodontitis.

The results of the present study further indicate that the H/H 131 genotype of the Fcγ-RIIa is in association with aggressive periodontitis. This genotype occurred considerable frequent (31.4%) in aggressive periodontitis patients, whereas the R/R131 genotype occurred relatively rare (8.6%) in this group.

Finally, the data of the genotype profiles showed that the aggressive periodontitis patients on average harboured more often the mutant than the wild type alleles, in comparison with the healthy control groups. This difference in genotype profile is more obvious if the group of healthy subjects resistant to periodontitis is compared with the group of patients suffering from aggressive periodontitis.

## 9.0 Literaturverzeichnis

**Abdellatif HM & Burt BA:** An epidemiological investigation into the relative importance of age and oral hygiene status as determinants of periodontitis. *J Dent Res* (1987); **66**: 13-18.

**Adihzadeh M, Mariani E, Bartoloni C, Beckman I, Pawelec G:** Lifespans of T-lymphocytes. *Mech Ageing Dev* (1996); **91**: 145-154.

**Africa CW, Parker JR, Reddy J:** Bacteriological studies of subgingival plaque in a periodontitis-resistant population. *J Periodontal Res* (1985); **20**: 1-7.

**Aldred MJ & Bartold PM:** Genetic disorders of the gingivae and periodontium. *Periodontol 2000* (1998); **18**: 7-20.

**Alpagot T, Duzgunes N, Wolff LF, Lec A:** Risk factors for periodontitis in HIV-patients. *J Periodontal Res* (2004); **39**: 149-157.

**American Academy of Periodontology:** Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics. Chicago: *The American Academy of Periodontology* (1989); I/23-I/24.

**Armitage GC:** Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol* (1999); **4**: 1-6.

**Baker PJ & Wilson ME:** The role of antibody, complement and neutrophils in host defence against *A. actinomycetemcomitans*. *Immunol Invest* (1989); **18**: 187-209.

**Balkwill FR & Burke F:** The cytokine network. *Immunol Today* (1989); **10**(9): 299-304.

**Berglundh T, Donati M, Mahn-Zorii M, Hanson LA:** Association of the -1087 IL-10 gene polymorphism with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *J Clin Periodontol* (2003); **30**: 249-254.

**Berglundh T & Lindhe J:** Some cytokine profiles of T-helper cells in lesions of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol* (2002); Aug **29** (8): 705-709.

**Birkedal-Hansen H:** Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res* (1993); **28**: 500-510.

**Borell LN, Burt BA, Gillespie BW, Lynch J, Neighbors H:** Periodontitis in the United States: beyond black and white. *J Public Health Dent* (2002); **62**(2): 92-101.

**Boughman J, Astemborski J, Blitzer M:** Early onset periodontal disease: a genetics perspective. *Crit Rev. Oral Biol Med* (1990); **1**: 89-99.

**Bredius RG, de Vries CE, Troelstra A:** Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* and *Haemophilus influenzae* type b opsonized with polyclonal human

IgG1 and IgG2 antibodies. Functional hFcyRIIa polymorphism to IgG2. *J Immunol* (1993); **151**: 1463-1472.

**Brouwer A & Knook DL**: The reticuloendothelial system and aging: a review. *Mech Ageing Dev* (1983); **21**: 205-228.

**Brown LJ & Loe H**: Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontol 2000* (1993); **2**: 57-71.

**Burt BA, Ismail AL, Eklund SA**: Periodontal disease, tooth loss, and oral hygiene among older Americans. *Community Dent Oral Epidemiol* (1985); **13**: 93-96.

**Burt BA**: Epidemiology of dental diseases in the elderly. *Clinics Geriatr Med* (1992); **8**: 447-460.

**Caffesse RG, De La Rosa RM, De La Rosa GM, Weltman R**: Effect of interleukin-1 gene polymorphism in a periodontally healthy Hispanic population treated with mucogingival surgery. *J Clin Periodontol* (2002); **29**: 177-181.

**Cattabriga M, Rotundo R, Muzzi L, Niere M, Verrocchi G, Cairo F, Prato GP**: Retrospective Evaluation of the Influence of the Interleukin-1 Genotype on Radiographic Bone Level in Treated Periodontal Patients Over 10 Years. *J Periodontol* (2001); **72**: 767-773.

**Challacombe SJ, Percival RS, Marsh PD**: Age related changes in immunoglobulin isotypes in whole and parotid saliva and serum in healthy individuals. *Oral Microbiol Immunol* (1993); **10**: 202-207.

**Charles AJ, Travers P, Walport M, Slomchik M**: Immunologie. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin 2002.

**Chen Y, Ramsey MA, Bradley SF**: Differential monokine production by macrophages from aged mice stimulated with various microorganisms. *Ageing Immunol Infect Dis* (1993); **4**: 155-167.

**Chopra RK, Holbrook NJ, Powers DC, McCoy MT, Adler WH, Nagel JE**: IL-2, IL-2 receptor and IFN- $\gamma$  synthesis and mRNA expression in phorbol myristate acetate and calcium ionophore A23187-stimulated T-cell from elderly humans. *Clin Immunol Immunopathol.* (1989); **53**: 297-308.

**Christgau M, Aslanidis C, Felden A, Hiller KA, Schmitz G, Schmalz G**: Influence of interleukin-1 gene polymorphism on periodontal regeneration in intrabony defects. *J Periodont Res* (2003); **38**: 20-27.

**Clark JA & Peterson TC**: Cytokine production and aging: overproduction of IL-8 in elderly males in response to lipopolysaccharide. *Mech Ageing Dev* (1994); **77**: 127-139.

**Colombo AP, Eftimiadi C, Haffajee AD, Cugini MA, Socransky SS:** Serum IgG2 level, Gm(23) allotype and Fc $\gamma$ RIIa and Fc $\gamma$ RIIIb receptors in refractory periodontal disease. *J Clin Periodontol* (1998); **25**: 465-474.

**Cortelli JR, Cortelli SC, Pallos D, Jorge AO:** Prevalence of aggressive periodontitis in adolescents and young adults from Vale do Paraiba. *Pesqui Odontol Bras* (2002); **16**: 163-168.

**Cossarizza A, Ortolani C, Monti D, Castellani G, Londei M, Franceschi C:** CD45 isoforms expression on CD4+ and CD8+ T-cells throughout life, from newborns to centenarians: implications for T-cell memory. *Mech Ageing Dev* (1996); **86**: 173-195.

**Crocket-Torabi E & Fantone JC:** Soluble and insoluble immune complexes activate human neutrophil NADPH oxidase by distinct Fc $\gamma$  receptor-specific mechanisms. *J Immunol* (1990); **145**: 3026.

**Daynes RA, Arameo BA, Ehler WB, Li GZ, Ryn SY:** Altered regulation of IL-6 production with normal aging. *J Immunol* (1993); **150**: 5219-5230.

**Debets JMH, Van de Winkel JGJ, Ceuppens JL, Buurman WA:** Cross-linking of both Fc $\gamma$ RI and Fc $\gamma$ RII induces secretion of tumor necrosis factor by human monocytes, requiring high affinity Fc-Fc $\gamma$ R interactions. *J Immunol* (1990); **144**: 1304.

**Deguchi S, Hori T, Creamer H, Gabler W:** Neutrophil-mediated damage to human periodontal ligament derived fibroblasts. *J Periodontal Res* (1990); **25**: 293-299.

**De Sanctis M & Zucchelli G:** Interleukin-1 gene polymorphisms and long-term stability following guided tissue regeneration therapy. *J Periodontol* (2000); **71**: 606-613.

**De Waal Malefyt R, Figdor CG, Huijbens R, Mohan-Peterson S, Bennett B, Culpepper J, Dang W, Zurawski G, de Vries JE:** Effect of IL-13 on phenotype, cytokine production, and cytotoxic function of human monocytes. *J Immunol* (1993); **151**: 6370.

**De Waal Malefyt R, Abrams JS, Zurawski SM, Lecron JC, Mohan-Peterson S, Sanjanwala B, Bennett B, Silver J, de Vries JE, Yssel H:** Differential regulation of IL-13 and IL-4 production by human CD8+ and CD4+ Th0, Th1 and Th2 T cell clones and EBV-transformed B cells. *Int Immunol* (1995); **7**: 1405-1416.

**Diehl SR, Wang Y, Brooks CN, Burmeister JA, Wang JV, Schenkein HA:** Linkage disequilibrium of interleukin-1 genetic polymorphisms with early-onset periodontitis. *J Periodontol* (1999); **70**: 418-430.

**Eklund SA & Burt BA:** Risk factors for total tooth loss in the United States: Longitudinal analysis of national data. *J Public Health Dent* (1994); **54**: 5-14.

- Ershler WB, Sun WH, Blinkley N:** The role of IL-6 in certain age-related diseases. *Drugs Aging* (1994); **5**: 358-365.
- Fagiolo U, Cossarizza C, Scala E, Paganelli R:** Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people. *Eur J Immunol* (1993); **23**: 2375-2378.
- Fanger MW, Shen L, Graziano RF, Guyre PM:** Cytotoxicity mediated by human Fc receptor for IgG. *Immunol Today* (1989); **10**: 92.
- Feldner BD, Reinhardt RA, Garbin CP:** Histological evaluation of IL-1 beta and collagen in gingival tissue from untreated adult periodontitis. *J Periodontol Res* (1994); **29**: 54-61.
- Franceschi C & Cossarizza A:** Introduction: the reshaping of the immune system with age. *Int Rev Immunol* (1995); **12**: 1-4.
- Franceschi C, Monti D, Sansoni P, Cossarizza A:** The immunology of exceptional individuals: the lesson of centenarians. *Immunol Today* (1995); **16**: 12-16.
- Frank MM & Fries LF:** The role of complement in inflammation and phagocytosis. *Immunol Today* (1991); **12**: 322-326.
- Frasca D, Guidi L, Bartoloni C, Tricerri A, Vangeli M, Antico L, Doria G:** Age-related modulation of cytokine production, IL-2R expression and function in a population of healthy subjects (22 to 97 years). *Aging Immunol Infect Dis* (1994); **5**:3-12.
- Fu Y, Korostoff JM, Fine DH & Wilson ME:** Fc gamma receptor genes as risk markers for localized aggressive periodontitis in African-Americans. *J Periodontol* (2002); **73**: 517-523.
- Fujihashi K, Kono Y, Beagley KW, Yamamoto M, McGhee JR, Mestecky J, Kiyono H:** Cytokines and periodontal disease: immunopathological role of interleukins for B cell responses in chronic inflamed gingival tissues. *J Periodontol* (1993); **64** (5 Suppl): 400-406.
- Fujihashi K, Yamamoto M, Bamberg TV, Kimono H:** Selected TH1 and TH2 cytokine mRNA expression by CD4+ T-cells isolated from inflamed human gingival tissues. *Clin Exp Immunol* (1996); **103**(3): 422-428.
- Fulop T, Utsuyama M, Hirokawa K:** Determination of IL-2 receptor number on Con A stimulated human lymphocytes with ageing. *J Clin Lab Immunol* (1991); **34**: 31-36.
- Galbraith GMP, Hendley TM, Sanders JJ, Palesch YJ, Pandey PD:** Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. *J Clin Periodontol* (1999); **26**:705-709.

- Gajewski TF, Joyce J, Fitch FW:** 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* (1989); **143** (1): 15-22.
- Gemmell E & Seymour GJ:** Cytokine profiles of cells extracted from humans with periodontal diseases. *J Dent Res* (1998); **77**:16-26.
- Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ:** Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. *Crit Rev Oral Biol Med* (2002); **13**(1): 17-34.
- Goldberg TH, Baker DG, Schumacher HR:** IL-1 and the immunology of aging. *Aging Immunol Infect Dis* (1991); **3**: 81-89.
- Gonzales JR, Michel J, Rodriguez EL, Herrmann JM, Bödeker RH, Meyle J:** Comparison of interleukin-1 genotypes in two populations with aggressive periodontitis. *Eur J Oral Sci* (2003); **111**: 395-399.
- Gonzales JR, Stelzig J, Michel J, Meyle J:** Interleukin-13 polymorphism in patients with aggressive periodontitis. *J Dent Res* (2003); **82** (Spec Iss B).
- Gonzales JR, Kobayashi T, Michel J, Mann M, Yoshie H, Meyle J:** Interleukin-4 gene polymorphisms in Japanese and Caucasian patients with aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* (2004); **31**: 384-389.
- Goteiner D & Goldman MJ:** Human lymphocyte antigen haplotype and resistance to periodontitis. *J Periodontol* (1984); **55**: 155-158.
- Graves PE, Kabesch M, Halonen M, Holberg JC, Baldini M, Fritzsich C, Weiland SK, Erickson RP, von Mutius E, Martinez FD:** A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children. *J Allergy Clin Immunol* (2000); **105**: 506-513.
- Grieve WG, Johnson GK, Moore RN:** PGE and IL-1 beta levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* (1994); **105**: 369-374.
- Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW:** Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol* (1994); **65**: 260-267.
- Grossi SG, Genco RC, Machtei EE:** Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol* (1995); **66**: 23-29.
- Gruica B, Wang HY, Lang NP, Buser D:** Impact of IL-1 genotype and smoking status on the prognosis of osseointegrated implants. *Clin Oral Impl Res* (2004); **15**: 393.
- Haffajee AD & Socransky SS:** Microbial etiological agents of destructive periodontal disease. *Periodontol 2000* (1994); **5**: 78-111.

**Hart PH:** Potential antiinflammatory effects of interleukin 4: suppression of human monocyte TNF alpha, IL-1 and PGE<sub>2</sub>. *Proc Natl Acad Sci USA* (1989); **86**(10): 3803-3807.

**Hart TC & Kinane DF:** Genes and Gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* (2003); **14**(6): 430-449.

**Hartwig M & Steinmann G:** On a casual mechanism of chronic thymic involution in man. *Mech Aging Dev* (1994); **75**: 151-156.

**Hayashi J, Salto, Ishikawa I:** Effects of cytokines and periodontopathic bacteria on the leukocyte function-associated antigen intercellular adhesion molecule 1 pathway in gingival fibroblasts in adult periodontitis. *Infect Immun* (1994); **62**: 5205-5212.

**Hayden P & Buckley LA:** Diabetes mellitus and periodontal disease in an Irish population. *J Periodontol* (1989); **24**: 298-302.

**Heasman PA, Lauffart BL, Preshaw PM:** Crevicular fluid prostaglandin E2 levels in periodontitis-resistant and periodontitis-susceptible adults. *J Clin Periodontol* (1998); **25**: 1003-1007.

**Hillmann G, Hillmann B, Geurtsen W:** Immunohistological determination of IL-1 beta in inflamed human gingival epithelium. *Arch Oral Biol* (1995); **40**: 353-359.

**Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF:** Failure to detect an association with IL-1 genotypes in European Caucasians with generalised early onset periodontitis. *J Clin Periodontol* (2001); **5**: 430-436.

**Hodge SE:** Linkage analysis versus association analysis: distinguishing between two models that explain disease-marker associations. *Am J Hum Genet* (1993); **53**: 367-384.

**Holt SC & Bramanti TE:** Factors in virulence expression and their role in periodontal disease pathogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* (1991); **2**: 177-281.

**Horning GM, Hatch CL, Cohen ME:** Risk indicators and risk markers in a military treatment population. *J Periodontol* (1992); **63**: 297-302.

**Hou LT, Liu CM, Rossomando EF:** Crevicular IL-1 beta in moderate and severe periodontitis patients and effect of phase I periodontal treatment. *J Clin Periodontol* (1995); **22**: 162-167.

**Howard M:** Identification of a T cell-derived b cell growth factor distinct from IL-2. *J Exp Med* (1982); **155**(3): 914-923.

**Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CA, Wolf SF:** Development of Th-1 CD 4+ T-cells through IL-12 produced by Listeria- induced macrophages. *Science* (1993); **260**: 547-549.

**Huang WT, Lu HK, Chou HH, Kuo MYO:** Immunohistochemical analysis of Th1/Th2 cytokine profiles and androgen receptor expression in the pathogenesis of nifedipine-induced overgrowth. *J Periodont Res* (2003); **38**: 422-247.

**Huber LA, Yu QB, Jurgen G, Buhler E, Gey KF:** Correlation of lymphocyte lipid composition membrane microviscosity and mitogen response in the aged. *Eur J Immunol* (1991); **21**: 2761-2765.

**Huizinga TW, van Kemenade F, Koenderman L:** The 40-kDa FcγRII on human neutrophils is essential for the IgG-induced respiratory burst and IgG-induced phagocytosis. *J Immunol* (1989); **142**: 2365-2369.

**Hyman JJ & Reid BC:** Epidemiologic risk factors for periodontal attachment loss among adults in the United States. *J Clin Periodontol* (2003); **3**: 230-237.

**Ikede H & Coulie PG:** [Human NK inhibitory and activating receptors that bind to human leukocyte antigens (HLA) regulate NK cells and T cells]. *Taupaku-shitsu Kakusan Kos* (1997) Nov **42** (15): 2510-2521.

**Jandinski JJ, Stashenko P, Feder LS:** Localisation of IL-1 beta in human periodontal tissue. *J Periodontol* (1991); **62**: 36-43.

**Johnson TC, Reinhardt RA, Payne JB, Dyer JK, Patil KD:** Experimental gingivitis in periodontitis-susceptible subjects. *J Clin Periodontol* (1997); **24**: 618-625.

**Kabashima H, Maeda K, Iribe H:** An interleukin-1 inhibitor in gingival crevicular fluid of patients with chronic inflammatory periodontal disease. *Infect Immun* (1991); **59**: 4271-4274.

**Kamagata Y, Miyasaka N, Inoue H, Hashimoto J, Iida K:** Study of cytokine production in inflamed gingival tissue in periodontitis. *Nippon Shishubyo Gakkaikai Kaishi* (1989); Sep. **31** (3):843-848.

**Kang BY, Choi YK, Choi WH, Kim KT, Choi SS, Kim K, Ha NJ:** Two polymorphisms of interleukin-4 gene in Korean adult periodontitis. *Arch Pharm Res* (2003); **26**(6): 482-486.

**Kelly-Welch AE, Hanson EM, Boothby MR, Keegan AD:** Interleukin-4 and interleukin-13 signaling connections maps. *Science* (2003); Jun **300**(5625): 1527-8.

**Kim YH, Proust JJ, Buchholz MJ, Chrest FJ, Nordin AA:** Expression of the murine homologue of the cell cycle control protein p34 in T-lymphocytes. *J Immunol* (1992); **149**: 17-23.

**Kinane DF, Hodge P, Eskdale J, Ellis R, Gallagher G:** Analysis of genetic polymorphisms at the IL-10 and TNF loci in early onset periodontitis. *J Periodont Res* (1999); **34**: 1-8

**Klaus GGB, Bijsterbosch MK, O'Garra A, Rigley KP:** Receptor signalling and crosstalk in B lymphocytes. *Immuno. Rev* (1987); **99**: 19.

**Kobayashi T, Westerdal NA, Miyazaki A, Van de Pol WL, Suzuki T, Yoshie H, Van de Winkel JG, Hara K:** Relevance of IgG Fc receptor polymorphism to recurrence of adult periodontitis in Japanese patients. *Infect Immun* (1997); **65**: 3556-3560.

**Kobayashi T, Sugita N, van der Pol WL, Nunokawa Y, Westerdal NA, Yamamoto K, van de Winkel JG, Yoshie H:** The Fc $\gamma$  receptor genotype as a risk factor for generalized early-onset periodontitis in Japanese patients. *J Periodontol* (2000); **71**: 1425-1432.

**Kobayashi T, Yamamoto K, Sugita N, van de Pol WL, Yasuda K, Kaneko S, van de Winkel JG & Yoshi H:** The Fc $\gamma$  receptor genotype as a severity factor for chronic periodontitis in Japanese patients. *J Periodontol* (2001); **72**: 1324-1331.

**Konradsen HB:** Quantity and avidity of pneumococcal antibodies before and up to five years after pneumococcal vaccination of elderly persons. *Clin Infect Dis* (1995); **21**: 616-620.

**Kornman KS, Crane A, Wang HY, Di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG, Higginbottom FL, Duff GW:** The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* (1997); **24**: 72-77.

**Kurashima C, Utsuyama M, Kasai M, Ishijima SA, Hirokawa K:** The role of thymus in the aging of TH cell subpopulations and age-associated alteration of cytokine production by these cells. *Int Immunol* (1995); **7**: 97-104.

**Kwok PY & Gu Z:** SNP libraries: why and how are we building them? *Mol Med Today* (1999); **12**: 538-543.

**Lang N:** Consensus Report: Aggressive Periodontitis. *Ann Periodont* (1999); **4**: 53.

**Lang N, Tonetti MS, Suter J, Sorrell J, Duff GW, Kornman KS:** Effect of interleukin-1 gene polymorphisms on gingival inflammation assessed by bleeding on probing in a periodontal maintenance population. *J Periodontal Res* (2000); **35**: 102.

**Lauener RP, Goyert SM, Geha RS, Vercelli D:** IL-4 down-regulates the expression of CD 14 in normal human monocytes. *Eur J Immunol* (1990); **20**(11): 2375-2381.

**Leino L, Huritta HM, Sorvajärvi K, Sewon LA:** Increased respiratory burst activity is associated with normal expression of IgG-Fc-receptors and complement receptors in peripheral neutrophils from patients with juvenile periodontitis. *J Periodont Res* (1994); **29**: 179-184.

**Ligthart GJ, Schuit HRE, Hijmans W:** Subpopulations of mononuclear cells in ageing: expansion of the null cell compartment and decrease in the number of T and B cells in human blood. *Immunol* (1985); **55**: 15-21.

**Ligthart GJ, Schuit HRE, Hijmans W:** Natural killer cell function is not diminished in the healthy aged and is proportional to the number of NK cells in the peripheral blood. *Immunol* (1989); **68**: 396-402.

**Ligthart GJ, Radl J, Corberand TX, Hijmans W:** Monoclonal gammopathies in human aging: increased occurrence with age and correlation with health status. *Mech Ageing Dev* (1990); **52**: 235-243.

**Ligthart GJ, Corberand JX, Founier C, Garanaud P, Kennes B, Steinmann GG:** Admission criteria for immunogerontological studies in man: the SENIEUR protocol. *Mech Ageing Dev* (1984); **28**: 47-55.

**Ligthart GJ, Corberand JX, Geertzen HG, Meinders AE, Hijmans W:** Necessity of the assessment of health status in human immunogerontological studies: evaluation of the SENIEUR protocol. *Mech Ageing Dev* (1990); **55**: 89-97.

**Lindhe J, Okamoto H, Yoneyama T, Haffajee A, Socransky SS:** Periodontal loser sites in untreated adult subjects. *J Clin Periodontol* (1989); **16**: 671-678.

**Lindhe J, Okamoto H, Yoneyama T, Haffajee A, Socransky SS:** Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjects. *J Clin Periodontol* (1989); **16**: 662-670.

**Lindhe J:** Consensus Report: Chronic Periodontitis. *Ann Periodontol* (1999); **4**: 38.

**Locker D & Leake JL:** Risk indicators and risk markers for parodontal older adults living independently in Ontario, Canada. *J Dent Res* (1993); **72**: 9-17.

**Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E:** Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol* (1986); **5**: 431-445.

**Löffler G:** Basiswissen Biochemie. Springer-Verlag, Heidelberg 1999.

**Loos BG, Leppers-Van der Straat FG, Van de Winkel JG, Van der Velden U:** Fc gamma receptor polymorphisms in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* (2003); **30**: 595-602.

**Loos BG, John RP, Laine ML:** Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action. *J Clin Periodontol* (2005); **32** Suppl 6: 159-179.

**Lyngbye J & Kroll J:** Quantitative immunoelectrophoresis of proteins in serum from a normal population: season-, age- and sex related variations. *Clin Chem* (1971); **17**: 495-500.

**Mangan DF, Robertsen B, Wahl SM:** IL-4 enhances programmed cell death (apoptosis) in stimulated human monocytes. *J Immunol* (1992); **148**: 1812-1816.

**Marazita ML, Burmeister JA, Gunsolley JC, Koertge TE, Lake K, Schenkein HA:** Evidence for autosomal dominant inheritance and race-specific heterogeneity in early-onset periodontitis. *J Periodontol* (1994); **65**: 623-630.

**Matsuki Y, Yamamoto T, Hara K:** IL-1 mRNA-expression macrophages in human chronically inflamed gingival tissues. *Am J Pathol* (1991); **138**: 1299-1305.

**McArthur WP, Bloom K, Taylor M, Wheeler T, Smith J, Magnusson NI:** Antibody responses to suspected periodontal pathogens in elderly subjects with periodontal disease. *J Clin Periodontol* (1995); **22**: 842-849.

**McArthur WP, Bloom K, Taylor M, Wheeler T, Smith J, Magnusson NI:** Peripheral blood leukocyte populations in the elderly with and without periodontal disease. *J Clin Periodontol* (1996); **23**: 846-852.

**McDevitt MJ, Wang NY, Knobelman C, Newman MG, Di Giovine FS, Timms J, Duff GW, Kornman KS:** Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol* (2000); **71**: 156-163.

**McKenzie ANJ, Largaespada DA, Sato A, Kanda A, Zurawski SM, Jenkis NA, Zurawski G:** Structural comparison and chromosomal localization of human and mouse IL-13 genes. *J Immunol* (1993); **150**: 5436

**McKenzie ANJ, Culpepper JA, de Waal Malefyt R, Punnonen J, de Vries JE, Zurawski G:** IL-13, a T-cell-derived cytokine that regulates human monocyte and B-cell function. *Proc Natl Acad Sci USA* (1993); **90**: 3735.

**McKenzie AN, Li X, Largaespada DA, Sato A, Kaneda A, Zurawski SM, Doyle EL, Milatovich M, Francke U, Copeland NG:** Structural comparison and chromosomal localization of the human and mouse IL-13 genes. *J Immunol* (1993a); **150**: 5436-5444.

**Meisel P, Carlson LE, Sawaf H, Fanghaenel J, Greinacher H, Kocher T:** Polymorphisms of Fc gamma-receptor RIIa, RIIIa and RIIIb in patients with adult periodontal diseases. *Genes Immun* (2001); **5**: 258-262.

**Meisel P, Siegemund A, Dombrowa S, Sawaf H, Fanghaenel J, Kocher T:** Smoking and Polymorphisms of the Interleukin-1 Gene Cluster (IL-1 alpha, IL-1 beta and IL-1 RN) in Patients with Periodontal Disease. *J Periodontol* (2002); **73**: 27-32.

**Meisel P, Schwahn C, Gensch D, Bernhardt O, John U, Kocher T:** Dose-Effect Relation of Smoking and the Interleukin-1 Gene Polymorphism in Periodontal Disease. *J Periodontol* (2004) ; **75** : 236-242.

**Meyle J & Gonzales JR:** Influences of systemic diseases on periodontitis in children and adolescents. *Periodontol 2000* (2001); **26**: 92-112.

**Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG, Segal NL, Bouchard TJ, Philstrom BL:** Periodontal findings in adult twins. *J Periodontol* (1991); **62**: 293-299

**Michalowicz BS:** Genetic and inheritance consideration in periodontal disease. *Curr Opin Periodontol* (1993); 11-17.

**Michalowicz BS:** Genetic and heritable risk factors in periodontal disease. *J Periodontol* (1994); **65**: 479-488.

**Michel J, Gonzales JR, Wunderlich D, Diete A, Hermann JM, Meyle J:** Interleukin-4 polymorphism in early onset periodontitis. *J Clin Periodontol* (2001); **28**: 483-488.

**Minty A, Chalon P, Derocq JM, Loison G, Shire D, Caput D:** IL-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature* (1993); **362**:248.

**Miyasaki KT:** The neutrophil: Mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J Periodontol* (1991); **62**: 761-774.

**Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H:** Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* (1986); **51**: 263-273.

**Nafziger J, Bessege JP, Guillosson JJ, Da Mais C, Lesourd B:** Decreased capacity of IL-1 production by monocytes of infected elderly patients. *Aging Immunol Infect Dis* (1993); **4**: 25-34.

**Nagel JE, Chopra RK, Powers DC, Adler W:** Effect of age on the human high affinity IL-2 receptor of phytohemagglutinin stimulated peripheral blood lymphocytes. *Clin Exp Immunol* (1989); **75**: 286-291.

**Nakajima T, Yamazaki K, Cullinan MP, Seymour GJ:** T-cell antigen specificity in humans following stimulation with *P. gingivalis*. *Arch Oral Biol* (1999); **44**(12): 1045-1053.

**Nicklin MJH, Weith A, Duff GW:** A physical map of the region encompassing the human interleukin-1 alpha, beta and the interleukin-1 receptor antagonist genes. *Genomics* (1994); **19**: 382-384.

**Nielsen H, Blom J, Larsen SO:** Human blood monocytes function in relation to age. *APMIS* (1984); **92**: 5-10.

**Offenbacher S, Collins JG, Yalda B, Haradon G:** Role of prostaglandins in high risk periodontitis patients. *Washington DC: ASM Press* (1994): 203-214.

**Offenbacher S, Katz VL, Fertik GS:** Periodontal infection as a risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* (1996); **2**: 19-25.

**O'Leary TJ, Darke RB, Naylor JE:** The plaque control record. *J Periodont Res* (1972); **43**: 38.

**Orino E, Sone S, Nii A, Ogura T:** IL-4 up regulates IL-1 receptor antagonist gene expression and its production in human blood monocytes. *J Immunol* (1992); **149** (3): 925-931.

**Page RC & Schroeder HE:** Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* (1976); **33**: 235-249.

**Page RC, Davies P, Allison AC:** The macrophage as a secretory cell. *Int Rev Cytol* (1978); **52**: 119-157.

**Page RC, Geissler TJ, Altman F, Baab DA:** Abnormal leukocyte motility in patients with early onset periodontitis. *J Periodontal Res* (1984); **19**: 591-594.

**Page RC:** The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* (1991); **26**: 230-242.

**Papapanou PN, Neiderud AM, Sandros J, Dahlen G:** Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case control study. *J Clin Periodontol* (2001); **28**:389-396.

**Papapanou PN, Lindhe J, Sterrett JD, Eneroth L:** Considerations on the contribution of ageing to loss of periodontal tissue support. *J Clin Periodontol* (1991); **18**: 611-615.

**Papapanou PN, Wennström JL, Grondahl K:** Periodontal status in relation to age and tooth type. A cross-sectional radiographic study. *J Clin Periodontol* (1988); **15**: 469-478.

**Papapanou PN:** Periodontal diseases: Epidemiology. *Ann Periodontol* (1996); **1**: 1-36.

**Parkhill JM, Hennig BJ, Chapple IL, Heasman PA, Taylor JJ:** Association of interleukin-1 gene polymorphisms with early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* (2000); **27**: 682-689.

**Payne JB, Peluso JFJ, Nichols FS:** Longitudinal evaluation of peripheral blood monocyte secretory function in periodontitis-resistant and periodontitis-susceptible patients. *Arch Oral Biol* (1993); **38**: 309-317.

**Plombas M, Gobert B, March DE, Bene MC, Miller N, Faure GC:** Isotypic antibody response to plaque anaerobes in periodontal disease. *J Periodontol* (2002); **12**: 1507-1511.

**Post DJ & Carter KC:** The effect of aging on constitutive mRNA levels and lipopolysaccharide inducibility of acute phase genes. *Ann N Y Acad Sci* (1991); **621**: 66-77.

**Powers DC & Belshe RB:** Effect of age on cytotoxic T-lymphocyte memory as well as serum and local antibody responses elicited by inactivated influenza virus vaccine. *J Infect Dis* (1993); **167**: 584-592.

**Preiss DS & Meyle J:** Interleukin-1 beta concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol* (1994); **65**: 423-428.

**Pschyrembel** klinisches Wörterbuch: Walter de Gruyter, Berlin, New York 2002.

**Qiu WQ, de Bruin B, Brownstein BH, Pearse R, Ravetch JV:** Organization of the human and mouse low-affinity FcγR genes: duplication and recombination. *Science* (1990); **248**: 732.

**Roberts FA, McCaffery KA, Michalek SM:** Profile of cytokine mRNA expression in chronic adult periodontitis. *J Dent Res* (1997); **76**(12): 1833-1839.

**Rogers MA, Figliomeni L, Baluchova K, Tan AES, Davis G, Henry PJ, Price P:** Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? *J Periodontol Res* (2002); **37**: 37-41.

**Ross RD & Frengley JD:** Elevated C-reactive protein in older people. *J Am Geriatr Soc* (1992); **40**: 104-105.

**Rouzer CA, Scott WA, Hamill AL, Cohn ZA:** Dynamics of leukotriene C production by macrophages. *J Exp Med* (1980); **152**: 1236.

**Rouzer CA, Scott WA, Kempe J, Cohn ZA:** Prostaglandin synthesis by macrophages requires a specific receptor-ligand interaction. *Proc Natl Acad Sci USA* (1980); **77**: 4279.

**Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, Sherry S, Mortimore BJ, Hunt SE, Cole SG, Rice CM, Rogers J, Bentley DR, Kwok PY, Schultz B, Cook L, Gilman B, Schaffner S, Reich D, Blumenstiel B, Zody MC, Linton L:** A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* (2001); **409**: 928-933.

**Salvi GE, Collins JG, Yalda B, Lang NP, Offenbacher S:** Monocytic TNF alpha secretion patterns in IDDM patients with periodontal disease. *J Clin Periodontol* (1997); **24**(1): 8-16.

**Sanders LA, Feldman RG, Voorhorst-Ogink MM:** Human immunoglobulin G (IgG) Fc receptor IIA (CD32) polymorphism and IgG2-mediated bacterial phagocytosis by neutrophils. *Infect Immun* (1995); **65**: 73-81.

**Saito I, Komiyama K, Moro I, et al.:** Ultrastructural and immunocytochemical characterization of polymorphonuclear leukocytes from gingival crevice in man. *J Periodontol* (1987); **58**: 493-497.

- Saxby M:** Prevalence of juvenile periodontitis in a British school population. *Community Dent Oral Epidemiol* (1984); **12**: 185-187.
- Saxe SR, Greene C, Bohannon HM, Vermillion JR:** Oral debris, calculus and periodontal disease in the beagle dog. *Periodontics* (1967); **5**: 217-224.
- Saxer UP & Mühlemann HP:** Motivation und Aufklärung. *Schweiz Mschr Zahnheilk* (1975); **85**: 905.
- Scarel-Caminaga RM, Trevilato PC, Souza AP, Brito RB, Line SR:** Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* (2002); **29**: 587-591.
- Scarel-Caminaga RM, Trevilato PC, Souza AP, Brito RB, Line SR:** Investigation of IL-4 gene polymorphisms in individuals with different levels of chronic periodontitis in a Brazilian population. *J Clin Periodontol* (2003); **30**(4): 341-345.
- Schurch EJ, Minder CE, Lang NP, Geering AH:** Periodontal conditions in a randomly selected population in Switzerland. *Community Dent Oral Epidemiol* (1988); **16**: 181-186.
- Seymour GJ:** Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol* (1991); **18**: 421-426.
- Shapira L, van Dyke TE, Hart TC:** A localized absence of interleukin 4 triggers periodontal disease activity: a novel hypothesis. *Medical Hypotheses* (1992); **39**: 319-322.
- Shapira L, Soskolne WA, Sela MN:** The secretion of PGE<sub>2</sub>, IL-1 beta, IL-6 and TNF alpha by adherent mononuclear cells from early onset periodontitis patients. *J Periodontol* (1994); **65**: 139-146.
- Ship JA & Wolff A:** Gingival and periodontal parameters in a population of health adults, 22-90 years of age. *Gerodontology* (1988); **7**: 55-60.
- Slots J:** Subgingival mikroflora and periodontal disease. *J Clin Periodont* (1979); **6**: 351-382.
- Smedly LA, Tonnensen MG, Haslett C, et al.:** Enhancement by endotoxin and essential role of neutrophil elastase. *J Clin Invest* (1986); **77**: 1233-1243.
- Smith MA, Braswell LD, Collins JG:** Changes in inflammatory mediators in experimental periodontitis in the rhesus monkey. *Infect Immun* (1993); **61**: 1453-1459.
- Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Duff GW:** Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* (2000); **27**: 810-818.

**Southerland JH, Tayler GN, Moss K, Beck JD, Offenbacher S:** Commonality in chronic inflammatory disease: periodontitis, diabetes, and coronary artery disease. *Periodontol 2000* (2006); **40**: 130-143.

**Stashenko P, Dewhirst FE, Kent RL:** Synergistic interactions between interleukin-1, tumor necrosis factor alpha and lymphotoxin in bone resorption. *J Immunol* (1987); **138**: 1468-1484.

**Stashenko P & Jandinski JJ:** Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol* (1991); **62**: 504-509.

**Stashenko P & Obernesser MS:** Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* (1991); **18**: 548-554.

**Steinmann GG:** In: Müller-Hermelink: Der Thymus: Histophysiologie und Pathologie. Heidelberg: *Springer Verlag*, (1984).

**Stephens JC, Schneider JA, Tanguay DA, Choi J, Acharya T, Stanley SE, Jiang RE, Messer CJ, Chew A, Han JH, Duan I, Carr JL, Lee MS, Koshy B, Schulz V, Kalbfleisch TS, Nandabalan KS, Aldred RS, Bartold MJ & PM:** Genetic disorders of gingivae and periodontium. *Periodontol 2000* (1998); **18**: 7-20.

**Sugita N, Kobayashi T, Ando Y, Yoshihara A, Yamamoto K, Van de Winkel JGJ, Miyazaki H, Yoshi H:** Increased Frequency of FcγRIIIb-NA1 Allele in Periodontitis-resistant Subjects in an Elderly Japanese Population. *J Dent Res* (2001); **80**(3): 914-918.

**Sugiyama E, Baehni P, Cimasoni G:** An in vitro study of polymorphonuclear leukocyte-mediated injury to human gingival keratinocytes by periodontopathic bacterial extracts. *J Periodontal Res* (1992); **37**: 1007-1012.

**Swain SL:** Regulation of the development of distinct subsets of CD4 T-cells. *Res Immunol* (1991); **142** (1): 14-18.

**Takahashi K, Takigawa H, Takashiba S:** Role of cytokine in the induction of adhesion molecules on cultured human gingival fibroblasts. *J Periodontol* (1994); **65**: 230-235.

**Tanner AC, Kent RL, Maiden MF, Taubman MA:** Serum IgG reactivity to subgingival bacteria in initial periodontitis, gingivitis and healthy subjects. *J Clin Periodontol* (2000); **7**: 473-480.

**Te Velde AA, Huijbens RJF, De Vris JE, Figador CG:** IL-4 decrease FcγR membrane expression and FcγR-mediated cytotoxic activity of human monocytes. *J Immunol* (1990); **144**: 3046.

**Tonetti MS:** Early-Onset Periodontitis. *Ann Periodont* (1999); **4**: 39-52.

**Tosi P, Kraft R, Luzi P, Frankhauser G, Hess MW, Cottier H:** Involution patterns of the human thymus. I. Size of the cortical area as a function of age. *Clin Exp Immunol* (1982); **47**: 497-504.

**Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, De Brito RB, de Souza AP, Line SRP:** Polymorphism at position -174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. *J Clin Periodontol* (2003); **30**: 438-442.

**Van de Winkel JGJ & Capel PJA:** Human IgG Fc receptor heterogeneity: molecular aspects and clinical implications. *Immunol Today* (1993); **14**: 215-221.

**Van de Winkel JGJ, van Ommen R, Huizinga TW, Capel PJA, Koene RAP, Tax WJM:** Proteolysis induces increased binding affinity of the monocyte type II FcR for human IgG. *J Immunol* (1989); **143**: 571.

**Van Dyke TE, Schweinebraten M, Offenbacher S, Genco RJ:** Neutrophil chemotaxis in families with localized juvenile periodontitis. *J Periodont Res* (1985); **20**: 503-541.

**Van Dyke TE & Sheilesh D:** Risk factors for periodontitis. *J Int Acad Periodontol* (2005); **7**(1) : 3-7.

**Van Leeuwen BH, Martinson ME, Webb GC, Young IG:** Molecular organization of the cytokine gene cluster, involving the human IL-3, IL-4, IL-5 and GM-CSF genes, on human chromosome. *Blood* (1989); **73** (5): 1142-1148.

**Wang B, Kraig E, Kolodrubetz D:** Use of defined mutants to assess the role of the *Campylobacter rectus* S-layer in bacterium-epithelial cell interaction. *Infect Immun* (2000); **68**(3): 1465-1473.

**Warmerdam PA, van de Winkel JG, Vlug A:** A single amino acid in the second Ig-like domain of the human Fcγ receptor II is critical for human IgG2 binding. *J Immunol* (1991); **147**: 1338-1343.

**Warmerdam PA, van de Winkel JG, Gosselin FJ, Capel PJ:** Molecular basis for a polymorphism of human Fcγ receptor II (CD32). *J Exp Med* (1990); **172**: 19-25.

**Wei J, Xu H, Davies JL, Hemmings GP:** Increase of plasma IL-6 concentration with age in healthy subjects. *Life Sci* (1992); **51**: 1953-1056.

**Wheeler TT, Arthur WP, Magnusson I, Marks RG, Smith J, Sarrett DC, Bender DC, Clark WB:** Modeling the relationship between clinical, microbiologic and immunologic parameters and alveolar bone levels in an elderly population. *J Periodontol* (1994); **65**: 68-78.

**Whisler RL, Chen JR, Newhouse YG:** Identification of age-related changes in the activation/proliferation of human B cell independent from T cell influences. *Aging Immunol Infect Dis* (1990); **2**: 82-90.

**Whisler RL, Beiqing L, Chen M:** Age related decreases in IL-2 production by human T cells are associated with impaired activation of nuclear transcriptional factors AP-1 and NF-AT. *Cell Immunol* (1996); **169**: 185-195.

**Wiedmann W, Lahrsov J, Naujoks R:** Originalarbeit über den Einfluss der parodontalen Resistenz auf die experimentelle Gingivitis. *Dtsch Zahnärztl Z* (1979); **34**: 6-9.

**Wilson ME & Kalmar JR:** Fc-gamma RIIa (CD32) a potential marker defining susceptibility to localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* (1996); **67**: 323.

**Winkel EG, Abbas F, van der Velden U, Vroom TM, Scholte G, Hart AMM:** Experimental gingivitis in relation to age in individuals not susceptible to periodontal destruction. *J Clin Periodontol* (1987); **14**: 499-507.

**Wolff LF, Aeppli DM, Philstrom B, Anderson L, Stoltenberg J:** Natural distribution of 5 bacteria associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol* (1993); **20**: 699-706.

**Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC:** A receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* (1990); **249**: 1431-1433.

**Yamamoto M, Fujihashi K, Hiroi T, McGhee JR, Van Dyke TE, Kiyono H:** Molecular and cellular mechanisms for periodontal diseases: role of Th1 and Th2 type cytokines in induction of mucosal inflammation. *J Periodont Res* (1997); **32**: 115-119.

**Yamamoto M, Kobayashi T, Grossi S, Ho AW, Genco RJ, Yoshi H & De Nardin E :** Association of Fc gamma receptor IIA genotype with chronic periodontitis in Caucasians. *J Periodontol* (2004); **75**: 517-522.

**Yamazaki K, Nakajima T, Kubota Y, Gemmell E, Seymour GJ, Hara K:** Cytokine messenger RNA expression in chronic inflammatory periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* (1997); **12** (5):281-287.

**Young JDE, Ko SS, Cohn ZA:** The increase in intracellular free calcium associated with IgG2b/γ1 Fc receptor-ligand interactions: role in phagozytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* (1984); **81**: 5430.

**Yssel H, de Waal Malefyt R, Roncarolo MG:** IL-10 is produced by subsets of human CD4+ T-cell clones and peripheral blood T-cells. *J Immunol* (1992); **149**: 2378-2384.

**Zambon JJ, Grossi SG, Machtei EE:** Cigarette smoking increases the risk of subgingival infection with periodontal pathogens. *J Periodontol* (1996); **67**: 1050-1054.

**Zambon JJ, Lally ET, Demuth DR:** The microbiology of early onset periodontitis. *J Periodontol* (1996); **67**: 282-290.

## 10.0 Anhang

Im Folgenden sind sowohl die klinischen Parameter und auch die Genotypen tabellarisch erfasst und nach den Gruppen aufgliedert.

Gruppe AP: Patienten mit aggressiver Parodontitis

Gruppe J: Junge, gesunde Probanden

Gruppe O: Parodontitisresistente Probanden

Die Identifikationsnummer wurde jedem Probanden bzw. Patienten vor Beginn der Untersuchungen zugewiesen, so dass die Anonymität gewahrt blieb. Die Numerierung bei Probanden und Patienten erfolgte getrennt.

Zum Zeitpunkt der Untersuchung wurde das Alter der Patienten notiert. Die in Gruppe AP integrierten Personen sollten jünger als 35 Jahre sein, die der Gruppe J jünger als 30 Jahre und die der Gruppe O älter als 55 Jahre.

Das Geschlecht der Patienten wurde mit 1, gleichbedeutend mit männlich, und 2, gleichbedeutend mit weiblich, definiert.

Neben der Anzahl der Zähne (Zähne) wurden in den Tabellen der Plaqueindex (PLI), der Papillenblutungsindex (PBI) und die Sondierungsblutung (BOP) dargestellt.

Weiterhin erfasst wurden der Mittelwert der Sondierungstiefen (MWST) und der Mittelwert des Attachmentlevels (MWAL).

Die Genotypen wurden für die Interleukinpolymorphismen folgendermaßen definiert: Der nichtpolymorphe/nichtpolymorphe Genotyp entspricht der Ziffer 1, der nichtpolymorphe/polymorphe Genotyp entspricht der Ziffer 2 und der polymorphe/polymorphe Genotyp entspricht der Ziffer 3. Die Genotypen des FcγRIIa-Tests wurden wie folgt definiert: Der Genotyp H/H-131 entspricht der Ziffer 1, der Genotyp H/R-131 entspricht der Ziffer 2 und der Genotyp R/R-131 entspricht der Ziffer 3.

Tabellarische Darstellung der klinischen Parameter der Patienten (Gruppe AP)

Gruppe	ID	Geschlecht	Alter	Zähne	PLI	PBI	BOP	MWST	MWAL
AP	1	2	20	31	0,800	0,310	0,290	4,33	4,81
AP	6	2	34	27	0,650	0,410	0,710	3,98	3,98
AP	9	1	35	28	0,661	0,357	0,980	5,66	5,79
AP	10	2	35	28	1,000	0,250	0,678	3,30	3,30
AP	12	2	22	28	0,125	0,050	0,610	3,84	3,92
AP	13	2	32	26	0,730	0,115	0,350	2,58	2,66
AP	14	1	25	31	0,140	0,420	0,160	2,83	2,99
AP	15	1	34	31	0,500	0,107	0,590	3,23	3,32
AP	18	2	23	31	1,000	0,377	0,099	2,83	2,83
AP	23	2	22	32	0,085	0,000	0,196	2,58	2,59
AP	37	2	25	28	0,490	0,154	0,205	2,63	2,63
AP	39	2	33	28	0,230	0,170	0,200	2,70	2,84
AP	44	2	25	28	0,590	1,000	0,976	4,98	4,98
AP	45	2	18	28	0,610	0,000	0,083	2,21	2,21
AP	47	1	34	26	1,000	1,000	1,000	6,75	8,49
AP	48	1	20	28	0,215	0,330	0,327	1,51	1,70
AP	49	2	24	25	0,750	0,040	0,327	2,78	2,79
AP	53	2	27	28	0,630	0,210	0,830	4,23	4,48
AP	54	2	38	20	1,000	0,560	0,537	4,97	4,97
AP	56	2	21	28	1,000	0,500	0,589	3,29	3,29
AP	58	2	29	30	0,120	0,040	0,840	3,42	3,42
AP	64	1	34	27	0,560	0,480	0,679	3,83	3,83
AP	72	2	44	20	0,230	0,192	0,516	4,05	4,87
AP	73	2	32	30	0,625	0,150	0,205	3,13	3,13
AP	74	2	36	23	0,065	0,090	0,144	5,04	5,05
AP	75	2	25	31	0,210	0,520	0,752	3,23	3,23
AP	78	2	28	28	0,183	0,070	0,101	4,16	4,16
AP	79	2	34	27	0,205	0,080	0,314	2,76	2,92
AP	80	2	31	28	0,319	0,560	0,530	4,04	4,17
AP	81	1	31	32	0,219	0,000	0,530	2,78	2,78
AP	82	2	37	28	0,545	0,478	0,540	4,07	5,73
AP	83	2	27	31	0,260	0,040	0,290	3,83	3,87
AP	84	2	33	28	1,000	0,660	0,910	6,52	8,58
AP	86	2	34	27	0,360	0,050	0,271	3,61	3,62
AP	95	2	20	32	0,453	0,000	0,697	2,69	2,73

Tabellarische Darstellung der Genotypen der Patienten (Gruppe AP)

Gruppe	ID	IL-1 $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-4Promotor	IL-4Intron	IL-13Exon	IL-13Promotor	Fcy-Test
AP	1	2	2	2	2	3	3	1
AP	6	2	1	1	1	1	2	3
AP	9	1	1	2	2	1	2	1
AP	10	2	1	2	2	2	2	2
AP	12	1	3	2	2	2	2	1
AP	13	2	2	2	2	1	2	1
AP	14	2	2	1	1	2	3	2
AP	15	2	2	3	3	1	3	1
AP	18	1	3	2	2	1	1	2
AP	23	1	1	2	2	2	3	1
AP	37	1	1	3	3	1	2	1
AP	39	1	1	3	3	2	2	2
AP	44	2	1	1	1	2	2	2
AP	45	1	1	1	1	2	2	2
AP	47	1	1	3	3	1	3	2
AP	48	1	1	3	3	3	3	2
AP	49	2	2	1	1	2	2	2
AP	53	1	1	3	2	2	2	1
AP	54	1	1	2	2	3	3	2
AP	56	2	3	2	2	2	2	3
AP	58	2	2	3	2	2	3	2
AP	64	1	2	2	2	2	3	1
AP	72	1	1	2	2	2	2	2
AP	73	1	1	3	1	2	2	2
AP	74	2	2	3	2	2	3	2
AP	75	1	1	2	2	3	2	2
AP	78	2	2	2	1	2	3	2
AP	79	2	2	2	2	2	2	3
AP	80	3	1	1	1	1	1	2
AP	81	2	1	2	2	1	2	2
AP	82	1	1	2	2	2	2	2
AP	83	1	1	1	1	3	2	1
AP	84	2	3	2	2	2	2	1
AP	86	2	2	1	1	2	2	2
AP	95	2	1	2	1	2	2	2

Tabellarische Darstellung der klinischen Parameter der jungen, gesunden Probanden (Gruppe J)

Gruppe	ID	Geschlecht	Alter	Zähne	PLI	PBI	BOP	MWST	MWAL
J	2	1	26	32	0,169	0,050	0,020	1,69	1,69
J	3	1	28	28	0,430	0,120	0,038	1,65	1,65
J	4	1	26	28	0,260	0,000	0,010	1,57	1,57
J	5	1	24	32	0,400	0,050	0,060	1,53	1,53
J	6	1	22	28	0,687	0,050	0,119	1,70	1,70
J	7	1	23	32	0,460	0,000	0,010	1,96	1,96
J	8	2	18	28	0,250	0,393	0,060	1,49	1,49
J	9	2	22	26	0,491	0,000	0,013	1,42	1,42
J	12	1	24	28	0,285	0,070	0,000	1,85	1,85
J	13	1	26	28	0,535	0,070	0,155	1,76	1,76
J	14	2	22	28	0,251	0,360	0,060	1,45	1,59
J	15	1	25	28	0,370	0,080	0,000	1,94	1,94
J	16	1	25	28	0,473	0,050	0,042	1,67	1,67
J	17	1	28	32	0,470	0,150	0,161	2,06	2,06
J	19	1	27	32	0,695	0,000	0,162	1,94	1,94
J	21	1	24	29	0,310	0,000	0,052	1,74	1,74
J	22	2	26	28	0,170	0,070	0,059	1,97	2,00
J	24	1	24	28	0,640	0,020	0,060	1,51	1,51
J	26	2	25	28	0,470	0,000	0,030	1,82	1,82
J	29	1	25	31	0,350	0,000	0,000	1,66	1,66
J	30	1	24	28	0,470	0,040	0,200	2,17	2,17
J	31	1	22	28	0,240	0,035	0,042	1,79	1,79
J	35	2	22	26	0,644	0,042	0,179	2,12	2,12
J	36	1	24	28	0,290	0,070	0,077	1,71	1,91
J	37	1	25	28	0,286	0,035	0,000	1,95	1,95
J	38	1	24	28	0,460	0,245	0,245	2,42	2,42
J	39	1	25	28	0,150	0,000	0,059	1,76	1,76
J	40	1	23	28	0,475	0,080	0,041	2,20	2,22
J	41	1	23	28	0,160	0,070	0,052	1,76	1,76

Tabellarische Darstellung der Genotypen der jungen, gesunden Probanden  
(Gruppe J)

Gruppe	ID	IL-1 $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-4Promotor	IL-4Intron	IL-13Exon	IL-13Promotor	Fcy-Test
J	2	2	2	2	2	1	2	2
J	3	2	2	1	1	2	2	2
J	4	1	1	1	1	1	2	3
J	5	3	3	1	1	1	1	2
J	6	1	1	1	1	2	2	2
J	7	1	1	1	1	1	2	3
J	8	3	2	1	1	1	1	2
J	9	1	2	1	1	2	2	2
J	12	1	1	1	2	1	2	2
J	13	1	1	2	2	2	2	2
J	14	2	3	1	2	2	1	1
J	15	2	3	1	1	2	2	2
J	16	2	2	2	2	2	2	2
J	17	1	1	2	2	1	1	1
J	19	2	1	2	2	2	2	1
J	21	1	3	2	1	1	2	2
J	22	1	1	2	2	2	2	2
J	24	1	2	2	2	1	2	2
J	26	1	1	2	2	2	2	2
J	29	1	1	2	1	3	2	3
J	30	1	1	2	1	1	1	3
J	31	1	1	3	1	1	2	3
J	35	2	2	3	1	1	2	2
J	36	2	1	2	2	2	2	1
J	37	1	1	3	3	3	3	2
J	38	1	2	3	2	3	3	3
J	39	1	1	3	2	1	2	2
J	40	1	1	3	2	1	2	1
J	41	1	1	3	2	1	2	3

Tabellarische Darstellung der klinischen Parameter der parodontitisresistenten Probanden (Gruppe O)

Gruppe	ID	Geschlecht	Alter	Zähne	PLI	PBI	BOP	MWST	MWAL
O	85	1	63	27	0,360	0,280	0,317	2,04	2,24
O	127	1	68	28	0,340	0,120	0,220	2,12	2,18
O	136	1	56	27	0,390	0,070	0,132	2,02	2,02
O	137	2	68	26	0,290	0,070	0,100	2,06	2,06
O	138	1	65	22	0,450	0,230	0,253	2,05	2,05
O	139	2	57	32	0,280	0,100	0,222	1,88	1,88
O	140	2	58	24	0,420	0,180	0,210	2,04	2,04
O	141	1	62	26	0,310	0,110	0,190	1,92	1,92
O	142	1	55	31	0,570	0,390	0,412	2,06	2,06
O	143	2	69	28	0,600	0,250	0,300	1,97	1,97
O	144	1	63	31	0,540	0,140	0,170	2,04	2,15
O	145	2	60	28	0,550	0,210	0,270	1,99	1,99
O	146	2	58	28	0,400	0,140	0,232	2,02	2,02
O	147	1	59	30	0,350	0,100	0,096	1,99	1,99
O	148	1	61	29	0,510	0,180	0,191	2,26	2,26
O	149	2	58	28	0,210	0,070	0,106	1,88	1,88
O	150	1	61	31	0,510	0,180	0,180	2,11	2,11
O	153	1	77	26	0,490	0,140	0,177	2,00	2,00
O	154	1	61	29	0,540	0,100	0,147	2,20	2,20
O	155	2	68	23	0,540	0,320	0,304	2,20	2,20
O	156	2	67	24	0,490	0,110	0,147	2,14	2,14
O	157	1	67	30	0,730	0,220	0,267	2,79	2,84

Tabellarische Darstellung der Genotypen der parodontitisresistenten Probanden  
(Gruppe O)

Gruppe	ID	IL-1 $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-4Promotor	IL-4Intron	IL-13Exon	IL-13Promotor	Fcy-Test
O	85	2	2	1	1	1	2	2
O	127	1	1	1	1	1	2	2
O	136	1	1	1	1	1	2	2
O	137	1	1	1	1	1	3	3
O	138	1	1	1	1	3	2	1
O	139	1	1	1	1	2	2	2
O	140	2	2	1	1	2	2	3
O	141	2	1	2	2	1	2	3
O	142	2	2	1	1	1	2	2
O	143	1	1	1	1	1	2	1
O	144	2	2	1	1	2	3	2
O	145	2	2	1	1	2	3	2
O	146	1	1	2	2	2	2	2
O	147	2	3	1	1	1	2	3
O	148	3	2	1	1	3	2	3
O	149	1	1	1	1	2	3	1
O	150	2	1	1	1	1	2	2
O	153	1	2	1	1	1	2	2
O	154	1	1	2	2	1	2	2
O	155	2	1	1	1	1	2	3
O	156	2	1	1	1	1	2	1
O	157	2	1	1	1	2	3	3

## Einverständniserklärung

Labor für DNA Diagnostik  
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Klinikum der Justus – Liebig – Universität  
Gießen  
Poliklinik für Parodontologie  
Direktor: Prof. Dr. J. Meyle  
Schlangenzahl 14  
D – 35392 Gießen  
Tel.: +49 641 99 46165  
Fax: +49 641 99 46189

Sehr geehrte/r Patient/in:

Die Parodontose ist eine entzündliche, durch bakterielle Beläge verursachte Erkrankung des Zahnhalteapparates. Bei dieser Entzündung ist der Zustand des Abwehrsystems (Immunsystems) von großer Bedeutung. Interleukin-1 und 4 sind Bestandteile unseres Immunsystems, die bei entzündlichen Prozessen eine wichtige Rolle spielen. Einige Individuen erben ein verändertes Gen, das für eine erhöhte Produktion von Interleukin-1 verantwortlich ist. Dies wird als genetischer Polymorphismus bezeichnet. Klinische Studien in den USA, Grossbritannien und der Schweiz haben gezeigt, dass ein genetischer Polymorphismus mit einem raschen Knochenabbau einhergeht, der bei diesen Patienten dazu führt, dass sie langfristig mehr Zähne verlieren. Ein Polymorphismus des Interleukin-4 Gens wurde bei einer Form der Parodontitis in unserem Labor nachgewiesen. Diese Form wird als aggressive Parodontitis bezeichnet, da sie sich trotz einer guten Mundhygiene im jugendlichen Alter manifestiert.

Ziel ist es herauszufinden, ob bei Ihnen diese Veränderung nachweisbar ist. Dieses Gen lässt sich einfach aus dem Blut nachweisen und deswegen bitten wir Sie um ihre Bereitschaft zur Blutentnahme. Wir garantieren, dass das Blut zu rein wissenschaftlichen Untersuchungen analysiert wird. Die zu diesem Zwecke gespeicherten persönlichen Daten unterliegen dem geltenden Datenschutz und der Geheimhaltung. Ihre Teilnahme ist absolut freiwillig und Sie können die Einwilligung jederzeit widerrufen.

Bitte bestätigen Sie Ihr Einverständnis und den Empfang dieser Information mit Ihrer Unterschrift auf dem beiliegenden Blatt.

Vielen Dank!

Prof. J. Meyle

Dr. J. Gonzales

F. Rathe

**Information für die verschiedenen Abteilungen des Hauses:**

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

es ist vielleicht schon einigen bekannt, dass in der Abteilung für Parodontologie seit einiger Zeit genetische Faktoren bei Parodontitis untersucht werden.

Besonders Zytokine, wie Interleukin 1 (IL-1) und Interleukin 4 (IL-4), die bei entzündlichen Prozessen unseres Immunsystems eine Rolle spielen, wurden im Zusammenhang mit Polymorphismen in unserer Abteilung untersucht.

Einige Ergebnisse haben gezeigt, dass spezielle Polymorphismen des IL-1 und IL-4 Gens eine klinische Assoziation mit der frühbeginnenden- oder der Erwachsenen-Parodontitis herzustellen ist.

Weitere klinische Studien haben gezeigt, dass dieser genetische Polymorphismus bei diesen Patienten dazu führt, dass sie langfristig mehr Zähne verlieren. In dem Fall einer frühbeginnenden Parodontitis (aggressive Form) manifestiert sich die Erkrankung auch trotz sorgfältiger Mundhygiene.

Ziel der von der Abteilung für Parodontologie zur Zeit durchgeführte Studie ist es, die Assoziation des IL-4 und IL-1 Polymorphismus bei einer Gruppe von älteren Patienten, die keine klinischen Zeichen der chronischen Parodontitis, d.h. keinen Attachmentverlust aufweisen, zu untersuchen. Diese Gruppe wird mit einer Gruppe von Patienten jeden Alters verglichen, die unter einer chronischen Parodontitis leiden.

Aus diesem Grunde möchten wir Sie bitten, Patienten, die unten aufgeführte Kriterien erfüllen, an die Abteilung für Parodontologie zu überweisen.

Für Ihre Unterstützung danken wir Ihnen.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. J. Meyle

Dr. J. Gonzales

F. Rathe

## Information für kooperierende Praxen:

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

es ist vielleicht schon einigen bekannt, dass in der Abteilung für Parodontologie seit einiger Zeit genetische Faktoren bei Parodontitis untersucht werden.

Besonders Zytokine, wie Interleukin 1 (IL-1) und Interleukin 4 (IL-4), die bei entzündlichen Prozessen unseres Immunsystems eine Rolle spielen, wurden im Zusammenhang mit Polymorphismen in unserer Abteilung untersucht.

Einige Ergebnisse haben gezeigt, dass spezielle Polymorphismen des IL-1 und IL-4 Gens eine klinische Assoziation mit der frühbeginnenden- oder der Erwachsenen-Parodontitis herzustellen ist.

Weitere klinische Studien haben gezeigt, dass dieser genetische Polymorphismus bei diesen Patienten dazu führt, dass sie langfristig mehr Zähne verlieren. In dem Fall einer frühbeginnenden Parodontitis (aggressive Form) manifestiert sich die Erkrankung auch trotz sorgfältiger Mundhygiene.

Ziel der von der Abteilung für Parodontologie zur Zeit durchgeführte Studie ist es, die Assoziation des IL-4 und IL-1 Polymorphismus bei einer Gruppe von älteren Patienten, die keine klinischen Zeichen der chronischen Parodontitis, d.h. keinen Attachmentverlust aufweisen, zu untersuchen. Diese Gruppe wird mit einer Gruppe von Patienten jeden Alters verglichen, die unter einer chronischen Parodontitis leiden.

Aus diesem Grunde möchten wir Sie bitten, uns über Patienten, die unten aufgeführte Kriterien erfüllen, in Kenntnis zu setzen.

Ihr Ansprechpartner – Dr. J.Gonzales – wird Ihnen unter der Tel.Nr. 0641/99-46192 für Auskünfte zur Verfügung stehen.

Der molekularbiologische Test ist für Patienten, die an der Studie teilnehmen, kostenlos; er würde normalerweise für DGP-Mitglieder 185,-DM und für Nichtmitglieder des DGP 195,-DM kosten.

Für Ihre Unterstützung danken wir Ihnen.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. J. Meyle

Dr. J. Gonzales

F. Rathe

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

Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Geb.-Datum: \_\_\_\_\_

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient!

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

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 zurzeit in ärztlicher Behandlung? Wenn ja, weshalb?
- Nehmen Sie zurzeit irgendwelche Medikamente? Wenn ja, welche und seit wann? \_\_\_\_\_
- Leiden Sie an Allergien (z.B. Heuschnupfen, Hautausschlag nach Medikamenteneinnahme, etc.) ? Allergiepaß?
- Wurden im letzten Jahr Röntgenbilder angefertigt? 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"/> rheumat. Arthritis       |
| <input type="radio"/> Leukämien (andere Blutsystemerkrankungen) | <input type="radio"/> Syst. Lupus Erytematodes |
| <input type="radio"/> Zuckerkrankheit                           | <input type="radio"/> Sjögren-Syndrom          |
| <input type="radio"/> Schilddrüsenerkrankheit                   | <input type="radio"/> HIV / AIDS               |
| <input type="radio"/> Osteoporose                               | <input type="radio"/> Hepatitis                |

Leiden Sie an irgendwelchen Erkrankungen, die das Immunsystem betreffen?  
Wenn ja welche?

Nehmen Sie zur Zeit Hormonpräparate?

Rauchen Sie?

Wenn ja, wieviel Zigaretten täglich? \_\_\_\_\_

Seit wann?  5 Jahre     5-10 Jahre     10-15 Jahre     länger

Fragen zur Zahngesundheit!

Bitte kurz angeben!

Leiden Sie an Zahnfleischbluten?  
Wenn ja, seit wann? \_\_\_\_\_

Haben Sie eine Lockerung Ihrer Zähne festgestellt?  
Wenn ja, seit wann? \_\_\_\_\_

Haben Sie Ihre Zähne überwiegend durch Lockerung statt durch Karies verloren?

Seit welchem Lebensjahr leiden Sie an Parodontitis? \_\_\_\_\_

Sind weitere Fälle mit gleicher Schwere der Erkrankung innerhalb der Familie bekannt?

Knirschen oder pressen Sie mit den Zähnen?

Wurde bei Ihnen schon einmal eine Zahnfleischbehandlung durchgeführt?  
Wenn ja, durch wen? Gibt es davon Dokumente (z.B. Röntgenbilder)?

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

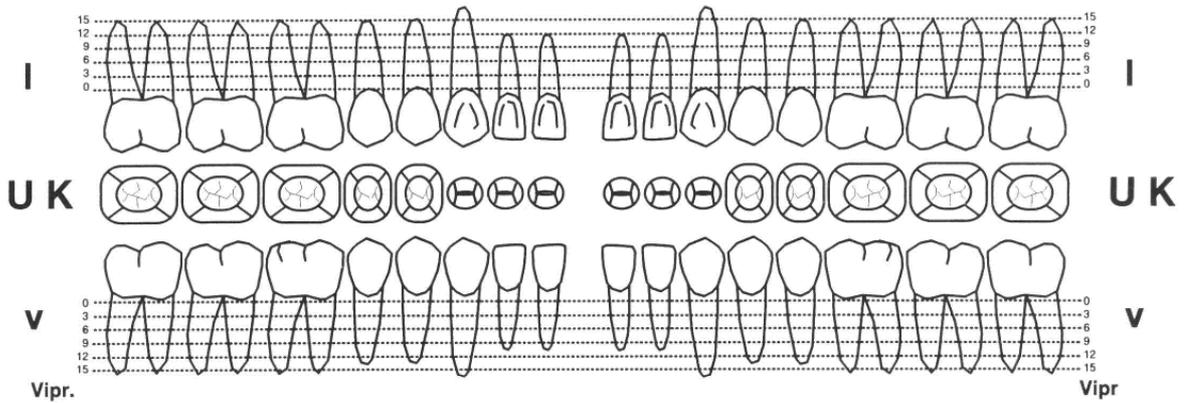
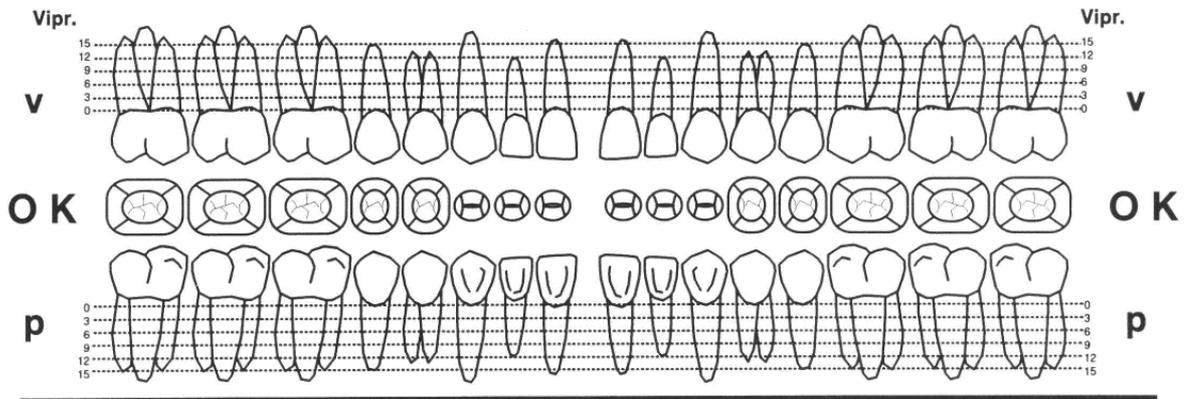
Welche Hilfsmittel verwenden Sie zur Zahnreinigung?  
Bitte ankreuzen!

	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

<b>Name :</b>	<b>Vorname :</b>	<b>Geb.dat.:</b>
---------------	------------------	------------------

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



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

Weitere Befunde : \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



# HYGIENEKONTROLLE

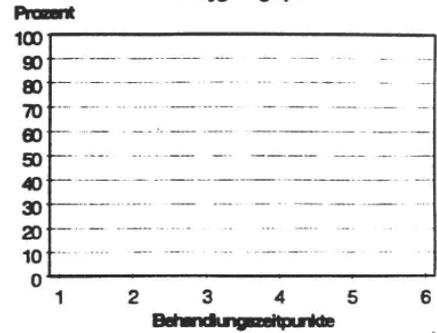
<b>Pat.:</b>	<b>Geb.dat.:</b>	<b>Behandler:</b>	<b>Aufn. Dat.:</b>
--------------	------------------	-------------------	--------------------

## Plaqueindex

The diagram shows a dental arch with 16 tooth positions. Each position is represented by a box containing a horizontal line with a central notch. Below each box are two smaller boxes labeled 'OK' and 'UK'. The diagram is numbered 1 to 6 on the right side, corresponding to the rows of teeth.

Sitzung	Datum	OK (%)	UK (%)	Ges. (%)
1				
2				
3				
4				
5				
6				

Mundhygiene-graphik



## Papillenblutungsindex

Nr		7 6 5 4 3 2 1							1 2 3 4 5 6 7							KS	GS	
1	OK																	
	UK																	
2	OK																	
	UK																	
3	OK																	
	UK																	
4	OK																	
	UK																	
5	OK																	
	UK																	
6	OK																	
	UK																	

## **Erklärung**

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, 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 mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei der von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchung 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.

Gießen, den 02.05.2007

(Florian Rathe)

## Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name: Florian Rathe  
Geburtsdatum: 09. Mai 1977  
Geburtsort: Wetzlar  
Eltern: Barbara Rathe geb. Rhein  
Dr. Christian Rathe  
Geschwister: Clemens Rathe

### Schulbildung:

1983 – 1987 Grundschule Rechtenbach-Hüttenberg  
1987 – 1993 Gesamtschule Schwingbach in Hüttenberg  
1993 – 1996 Theodor Heuss Schule in Wetzlar  
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### Dienstzeit:

07/1996-09/1997 Wehrdienst 6./PZGRBTL 342  
Heeresinfantrieschule Hammelburg

### Studium:

10/1997 Beginn des Studiums der Zahnmedizin  
Justus Liebig Universität Gießen  
07/1998 Vorphysikum  
04/2000 Physikum  
12/2002 Examen

### Berufserfahrung:

05-10/2003 Semmelweis Universität Budapest/Ungarn,  
sowie in der privat Zahnärztlichen Praxis  
Dr. Peter Windisch  
12/2003-07/2005 Vorbereitungsassistent in der Abteilung für  
Zahnerhaltungskunde und Parodontologie der  
Albert-Ludwig Universität Freiburg  
seit 1.09.2005 Postgraduiertenstudium in der Abteilung für  
Parodontologie der St. Radboud Universität  
Nijmegen, Niederlande

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. J. Meyle möchte ich für die Überlassung des Themas danken. Weiterhin danke ich Herrn Dr. Gonzales für die Betreuung meiner Arbeit, sowie den Mitarbeitern der Poliklinik für Parodontologie für ihre Hilfe.

Danken möchte ich auch für die freundliche Unterstützung durch Frau Mann und Herrn Dr. Boedecker vom Institut für Medizinische Informatik bei der statistischen Auswertung.

Besonderer Dank gilt Herrn Thomas Weber und meinem Bruder Clemens Rathe, die mir bei vielen Computerfragen eine große Hilfe waren.

Ebenfalls danke ich allen Probanden und Patienten, die sich für diese Studie zur Verfügung gestellt haben, sowie den kooperierenden Praxen für die freundliche Unterstützung.

Zuletzt noch einmal herzlichen Dank an meine Eltern, die mich immer und in jeder Hinsicht unterstützt haben.