

Untersuchung von Ghrelin in Speichel, Sulkusflüssigkeit und Blut bei Parodontitis und unterschiedlichem Körpergewicht

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med. dent.

an der Medizinischen Fakultät

der Universität Leipzig

eingereicht von:

Nicole Arnold

*09.01.1983 Leisnig

angefertigt an:

Universität Leipzig, Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie,

Funktionsbereich Parodontologie

Betreuer:

Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. Holger Jentsch

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 18.05.2021

Inhaltsverzeichnis

I Abkürzungsverzeichnis	IV
II Tabellenverzeichnis	VII
III Abbildungsverzeichnis	VIII
1. Einleitung	1
1.1 Ghrelin	1
1.1.1 Aufbau und Produktion	1
1.1.2 Funktion	4
1.2 Speichel	8
1.2.1 Aufbau und Produktion	8
1.2.2 Funktion	10
1.2.3 Speichel und Ghrelin	11
1.3 Sulkusflüssigkeit	13
1.3.1 Produktion und Funktion	13
1.3.2 Sulkusflüssigkeit und Ghrelin	14
1.4 Blutserum	15
1.4.1 Aufbau und Funktion	15
1.4.2 Serum und Ghrelin	15
1.5 Parodontitis und Abwehr	16
1.6 Körpergewicht und Entzündung	18
2. Ziele der Studie	20
3. Methoden/ Experiment	21
3.1 Patientenkollektiv	21
3.1.1 Einschlusskriterien	21

3.1.2	Ausschlusskriterien	22
3.1.3	Ethikantrag und Menschenrechtskonvention	22
3.2	Klinische Variablen	23
3.2.1	Bestimmung des Body-Mass-Index	23
3.2.2	Bestimmung des Approximalraum-Plaquerindex	23
3.2.3	Bestimmung des Sulkusblutungsindex	24
3.2.4	Bestimmung des Blutens auf Sondieren	24
3.2.5	Erhebung der Sondierungstiefen und Attachmentlevel	25
3.3	Gewinnung der Proben	26
3.3.1	Gewinnung von Speichel	26
3.3.2	Gewinnung von Sulkusflüssigkeit	26
3.3.3	Gewinnung von Blut	26
3.4	Untersuchung der Proben	27
3.4.1	Quantitative Ghrelinbestimmung durch enzymgekoppelten Immunadsorptionstest (ELISA)	27
3.4.2	Statistische Methoden	28
4.	Ergebnisse	30
4.1	Gruppeneinteilung	30
4.2	Demografische und klinische Daten	32
4.3	Gruppenvergleiche	34
4.3.1	Parodontitis vs. parodontal gesund / Gingivitis	34
4.3.2	Parodontitis übergewichtig vs. normalgewichtig	36
4.3.3	Gesund / Gingivitis übergewichtig vs. normalgewichtig	38
4.3.4	Parodontitis übergewichtig vs. gesund / Gingivitis übergewichtig	40
4.3.5	Parodontitis normalgewichtig vs. gesund / Gingivitis normalgewichtig	42

5. Diskussion	44
5.1 Methoden und klinische Durchführung	44
5.2 Bewertung und Beurteilung der Ergebnisse	45
6. Zusammenfassung	56
7. Literaturverzeichnis	60
8. Anhang	75
8.1 Anamnesebogen	76
8.2 Einwilligungserklärung	77
8.3 Formblatt Parodontalstatus	79
8.4 Tabelle Patientendaten und Ergebnisse	80
9. Selbständigkeitserklärung	82
10. Lebenslauf	83
11. Publikationen	84
12. Danksagung	85

I Abkürzungsverzeichnis

ACTH	adrenocortikotropes Hormon
AGRP	agouti-verwandtes Peptidhormon
AI	Attachmentlevel
API	Approximalraum-Plaquesindex
AS	Aminosäure
BMI	Body-Mass-Index
BOP	Blutung auf Sondieren
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CLP	Blinddarpunktion
CP	chronische Parodontitis
CRP	C-reaktives Protein
DHEA	Dehydroepiandrosteron
ELISA	enzymgebundenes Immunassay
Entn.	Entnahme
GCF	Sulkusflüssigkeit
GH	Wachstumshormon
GHS-R1a	Ghrelinrezeptor
GÜ	gesund / Gingivitis übergewichtig
GOAT	Ghrelin-O-Acyltransferase
GN	gesund / Gingivitis normalgewichtig
HDL	High density lipoprotein
HMGB1	Amphoterin
IFN	Interferon
IGF	insulinähnlicher Wachstumsfaktor

Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
i.p.	intraperitoneal
IRS-1	Insulinrezeptorsubstrat 1
ISO	internationale Organisation für Normung
i.v.	intravenös
JNK	c-jun N-terminalen Kinase
LPS	Lipopolysaccharide
MCFA	mittelkettige Triglyceride
MMP	Matrixmetalloproteinasen
MPO	Myeloperoxidase
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
N	Anzahl
NF kappa B	spezifischer Transkriptionsfaktor
P	Signifikanzwert
Pat.nr.	Patientennummer
PD	Sondierungstiefe
P. gingivalis	Porphyromonas gingivalis
PÜ	Parodontitis Übergewichtig
PMN	polymorphkernige Leukozyten
PN	Parodontitis normalgewichtig
PSI	parodontaler Screeningindex
s	Standardabweichung
SBI	Sulkusblutungsindex
TGF	transformierender Wachstumsfaktor
TIMP	Gewebeinhibitor von Matrixmetalloproteinasen
TNF	Tumornekrosefaktor

WHO	Weltgesundheitsorganisation
\bar{x}	Mittelwert

II Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Wirkungen von Ghrelin (überarbeitet nach Resl und Clodi, 2009)	7
Tabelle 2: Anteil der einzelnen Speicheldrüsen an der Speichelproduktion (Aps und Martens 2005)	9
Tabelle 3: Funktion des Speichels und einzelner Komponenten (modifiziert nach Hellwig, Klimek, Attin 2006)	11
Tabelle 4: Gruppenzuordnung	30
Tabelle 5: Adipositasgrade	31
Tabelle 6: Demografische und klinische Daten	32
Tabelle 7: Altersverteilung der Probanden	33
Tabelle 8: Klinische Variablen Parodontitis vs. gesund / Gingivitis	34
Tabelle 9: Ghrelin Parodontitis vs. gesund / Gingivitis	35
Tabelle 10: Klinische Variablen Parodontitis übergewichtig vs. normalgewichtig	36
Tabelle 11: Ghrelin Parodontitis übergewichtig vs. normalgewichtig	37
Tabelle 12: Klinische Variablen gesund / Gingivitis übergewichtig vs. normalgewichtig	38
Tabelle 13: Ghrelin gesund / Gingivitis übergewichtig vs. normalgewichtig	39
Tabelle 14: Klinische Variablen Parodontitis übergewichtig vs. gesund / Gingivitis übergewichtig	40
Tabelle 15: Ghrelin Parodontitis übergewichtig vs. gesund / Gingivitis übergewichtig	41
Tabelle 16: Klinische Variablen Parodontitis normalgewichtig vs. gesund / Gingivitis normalgewichtig	42
Tabelle 17: Ghrelin Parodontitis normalgewichtig vs. gesund / Gingivitis normalgewichtig	43
Tabelle 18: Patientendaten und Ergebnisse	80

III Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Posttranslationale Prozessierung des Präproghrelins (Zhang et al. 2005) 2

Abbildung 2: Aminosäuresequenz des humanen Ghrelins im Vergleich zum Ghrelin
der Ratte (Kojima et al. 1999) 3

Untersuchung von Ghrelin in Speichel, Sulkusflüssigkeit und Blut bei Parodontitis und unterschiedlichem Körpergewicht

1. Einleitung

1.1 Ghrelin

1.1.1 Aufbau und Produktion

Der Name Ghrelin steht für Growth hormone release inducing und ist an die protoindoeuropäischen Bezeichnungen ghre für „wachsen“ und relin, das übersetzt „freigeben“ bedeutet, angelehnt und beschreibt die Induktion der hypophysären GH-Sekretion als eine der Hauptwirkungen dieses Peptids (Kojima et al. 1999). Ghrelin wurde 1976 erstmals von Cyril Y. Bowers beschrieben und wird mit rund 80 % hauptsächlich in den Belegzellen des Magenfundus produziert. Weitere Produktionsorte sind die ϵ -Zellen des Pankreas sowie zusätzlich in einer Vorstufe im Hypothalamus (Nucleus arcuatus, Nucleus paraventricularis), in der Hypophyse, Lunge, Niere, Nebennierenrinde, den Knochen, Hoden, und der Plazenta.

Im Dezember 1999 waren Kojima et al. die Ersten, die Ghrelin aus einem Rattenmagen als endogenen Liganden für einen Ghrelinrezeptor (GHS-R1) identifizierten. Bestehend aus 28 Aminosäuren, ist es ein Peptidhormon, das durch posttranslationale Modifikation aus Präproghrelin (117 Aminosäuren) gebildet wird. Das Präproghrelin-Gen befindet sich auf dem Chromosom 3p25-26 und besteht aus fünf Exons mit vier Introns an den Positionen 141, 258 und 367 der 511 Basenpaare langen cDNA (Wajnrajch et al. 2000). Die mRNA wird in einen 117-Aminosäure-Präproghrelin-Vorläufer umgesetzt, der anschließend zu Ghrelin gespalten wird. Dabei entsteht gleichzeitig ein Molekül Obestatin, das den Gegenspieler zu Ghrelin darstellt. Es sind Splicevarianten von Ghrelin mit 27 Aminosäuren bekannt, denen die Aminosäure Glutamin an 14. Stelle bzw. Arginin an 28. Stelle fehlt, oder biologisch aktive Analoge mit Azylketten mit zehn oder elf Kohlenstoffatomen (Hosoda et al. 2000). Azylierungen des Serin 3 mit längeren aliphatischen Ketten beeinflussen die Aktivität von Ghrelin nicht, während kürzere, weniger lipophile Azygruppen die Aktivität deutlich mindern. Die N-Oktanoylierung des Serin 2 anstelle des Serin 3 ergibt ein Peptid, dessen biologische Aktivität ähnlich der des natürlichen Ghrelins ist (Tomasetto et al. 2000).

Im Magenfundus kommen die ghrelinhaltigen Zellen häufiger als am Pylorus vor und machen etwa 20 % der endokrinen Zellpopulation in erwachsenen oxyntischen Drüsen aus. Die Ghrelinkonzentration des fetalen Magens ist sehr niedrig und erhöht sich erst allmählich nach der Geburt bis zum Alter von etwa fünf Wochen (Konturek et al. 2004).

Ghrelin kommt in zwei Isoformen, der anfänglich vermutlich inaktiven desacylierten und der aktiven azylierten Form, vor. Es wird durch Abspaltung einiger Aminosäuren in die aktive Form überführt. Aktives Ghrelin hat das einzigartige Merkmal einer posttranslationalen Veresterung einer Fettsäure (n-Oktansäure oder in geringerem Maße n-dekanan) auf dem Serinrest an Position drei. Die Ghrelin-O-acyltransferase (GOAT) ist ein membrangebundenes Enzym, das für diese Oktanoylierung verantwortlich ist, indem eine 8-Kohlenstoff-mittelkettige Fettsäure (Oktanoat) an Serin 3 von Ghrelin angeheftet wird. Diese Azylierung ist für die Aktivität von Ghrelin essentiell. Tiermodelle deuten darauf hin, dass mittelkettige Triglyceride (MCFA) das Substrat für die GOAT liefern und eine Zunahme des Nährstoffoktanoats das azylierte Ghrelin erhöht (Nass et al. 2015).

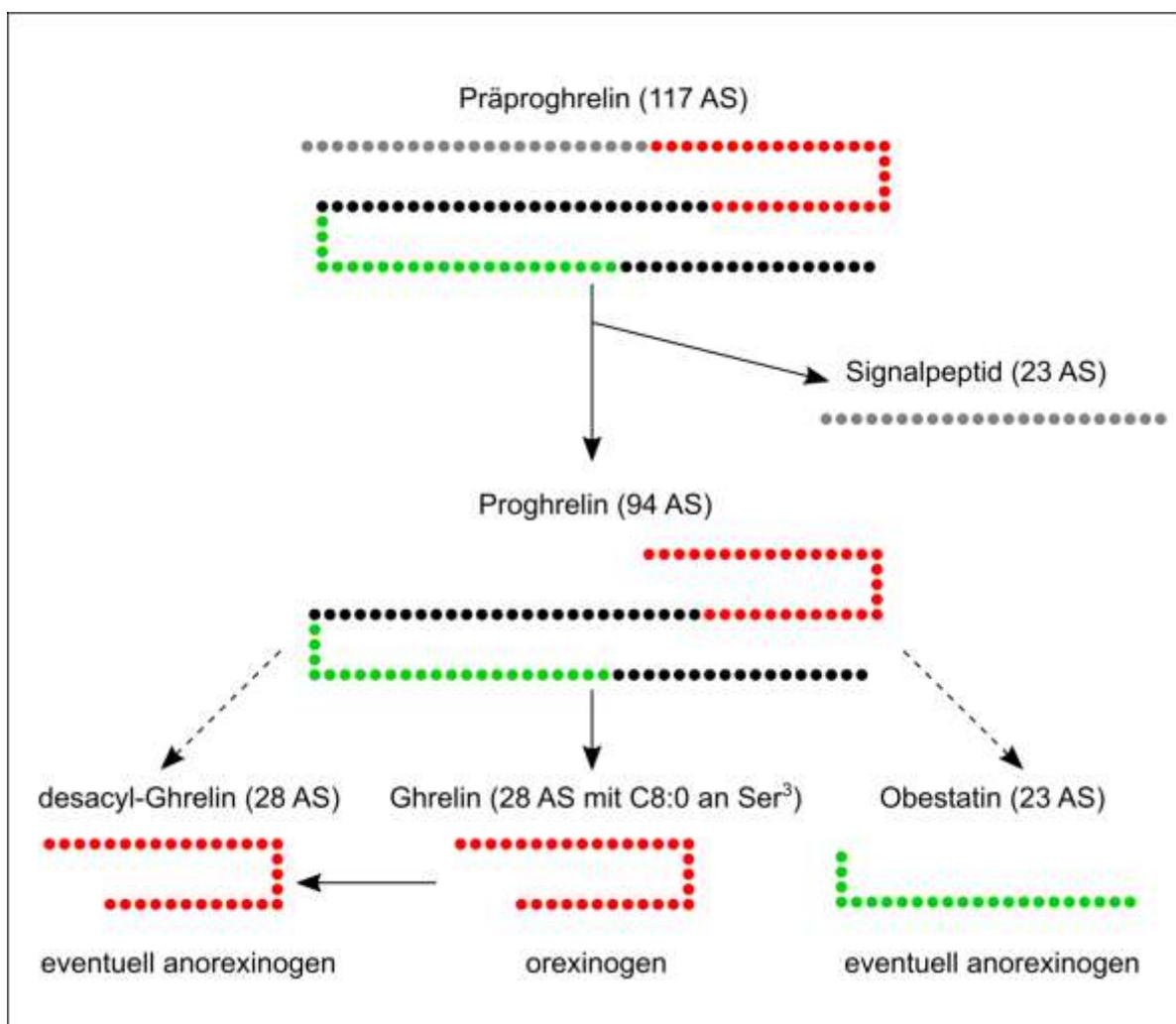


Abbildung 1: Posttranslationale Prozessierung des Präproghrelins (Zhang et al. 2005):

Durch Proteolyse (Zhu et al. 2006) und Azylierung (Yang et al. 2008) entstehen die Derivate Ghrelin und Desacyl-Ghrelin (Peptidkette jeweils rot) sowie Obestatin (grün) mit jeweils unterschiedlichen Wirkungen. (AS = Aminosäuren; C8:0 = Oktanoyl-Rest)

Die Azylierung von Ghrelin ist für ihre Aktionen über den Rezeptor GHS-R1a notwendig. Zudem ermöglicht die Azylkette den gerichteten Transport durch die Blut-Hirn-Schranke (Banks et al. 2002). Normalerweise macht das azylierte Ghrelin weniger als 10 % des gesamten Ghrelins im Umlauf aus, da die Mehrheit des zirkulierenden Ghrelins desazyliert ist (Sangiao-Alvarellos et al. 2010). In den meisten wissenschaftlichen Arbeiten beträgt die Gesamtkonzentration zwischen 150–600 pg/ml und das Verhältnis von azyliertem zu desazyliertem Ghrelin 1:5 bis 1:20 (Kosowicz et al. 2011, Sato et al. 2012).

Die Mechanismen der Ghrelin-Regulation sind äußerst komplex und die Steuerung der basalen Sekretion ist nicht vollständig geklärt. Bekannt ist, dass das sympathische Nervensystem und Insulin hierbei eine Rolle zu spielen scheinen (Gagnon und Anini 2012). Die tageszeitlichen Schwankungen der Ghrelinausschüttung stehen in engem Zusammenhang mit der Nahrungsaufnahme, wobei sich die höchsten individuellen Konzentrationen, vermittelt durch einen erhöhten efferenten Tonus des Nervus vagus, im nüchternen Zustand finden (Williams et al. 2003).

Nach der Nahrungsaufnahme wird Ghrelin unabhängig vom Nervus vagus durch einen postduodenalen Prozess supprimiert (Overduin et al. 2005). Zahlreiche Faktoren beeinflussen die Regulation des Ghrelinhaushaltes, da sich Ghrelinrezeptoren auf nahezu allen Zellreihen des Immunsystems nachweisen lassen.

Die meisten Studien zum Thema Ghrelin befassen sich mit Tierexperimenten an Ratten oder Mäusen. Das humane Ghrelin unterscheidet sich im Aufbau von dem von Ratten gebildeten lediglich durch zwei Aminosäuresequenzen. Diese Unterschiede sind in Abbildung 2 dargestellt.



Abbildung 2: Aminosäuresequenz des humanen Ghrelins im Vergleich zum Ghrelin der Ratte (Kojima et al. 1999)

1.1.2 Funktion

Ghrelin spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation der Magen-Darm-Trakt-Funktion und stimuliert die Magenkontraktilität und -säuresekretion (Date et al. 2001). Es wird auch als „Hungerhormon“ bezeichnet, da es appetitanregend wirkt und die Nahrungsaufnahme sowie die Sekretion von Wachstumshormonen reguliert. Ghrelin ist verantwortlich für eine metabolische Reaktion bei Hunger über den Ghrelinrezeptor GHS-R1a, der in der Hypophyse exprimiert wird (Papotti et al. 2000). Außerdem stimuliert Ghrelin die exokrine Pankreasenzymsekretion (Sato et al. 2003) und die Adipogenese (Choi et al. 2003, Kim et al. 2004), wohingegen es den Energieverbrauch, den Fettkatabolismus, die Lipolyse (Muccioli et al. 2004) und die Adipozyten-Apoptose im Rattenexperiment hemmt.

Während des Fastens bzw. langandauerndem Nahrungsentzuges wird azyliertes Ghrelin aus dem Magen freigesetzt, ins Gehirn transportiert und im hypothalamischen Nucleus arcuatus die Sekretion von Neuropeptid Y und Agouti-verwandtem Peptidhormon (AGRP) stimuliert. Dadurch wird Hunger ausgelöst und die Nahrungsaufnahme induziert. Bei vollem Magen sinkt die Ghrelinbildung wieder, so dass der Antrieb zur Nahrungsaufnahme nachlässt und ein Sättigungsgefühl eintritt. Die Dehnung der Magenwand entscheidet über die Ghrelinproduktion und reguliert damit das Hungergefühl. Bei drastischer Gewichtsreduktion mittels einer Reduktionskost stiegen in kontrollierten Studien die Ghrelinwerte im Blut stark an, was die geringen Erfolgsaussichten solcher Radikalkuren erklärt: Der resultierende Hungerantrieb ist in diesem Falle zu stark und führt zum sogenannten bekannten „Jo-Jo-Effekt“ (Kroke et al. 2002, Field et al. 2004). Bei einer operativen Verkleinerung des Magens über ein Magenband blieben die Ghrelin-Spiegel dagegen niedrig. Der verkleinerte Magen erbrachte bereits bei geringerer Nahrungsaufnahme das erwünschte Sättigungsgefühl (Cummings et al. 2002).

Wren et al. (2001) wiesen nach, dass eine längerfristige exogene Ghrelinzufuhr zu einer Gewichtszunahme und schließlich zu Adipositas führen kann. Sie untersuchten die Auswirkungen einer intravenösen Gabe von Ghrelin (5,0 pmol / kg / min) auf den Appetit und die Nahrungsaufnahme in einer randomisierten, doppelblinden Cross-Over-Studie bei neun gesunden Probanden. Im Vergleich zu einer Infusion mit Kochsalzlösung stieg der Appetit jedes Einzelnen deutlich an.

Des Weiteren wird die Ghrelin-Sekretion durch Änderungen der energetischen Balance und des Kohlenhydrat-Stoffwechsels beeinflusst. Es ist in den Langerhans-Inseln nachweisbar und beeinflusst die Regulation der Insulinsekretion. Zusätzlich wurde Ghrelin als negativer Regulator der Lymphozytenproliferation entdeckt (Xia et al. 2004). Gröschl et al. (2005)

fanden heraus, dass Ghrelin in der Mundhöhle von den Speicheldrüsen produziert und in den Speichel freigesetzt wird.

Es konnte nach weiteren Untersuchungen widerlegt werden, dass es sich, wie vorerst vermutet, bei dem desazylierten Ghrelin um eine inaktive Form des Ghrelins handelt (Baldanzi et al. 2002, Cassoni et al. 2004, Muccioli et al. 2004, Bedendi et al. 2003, Thompson et al. 2004). Fernerhin nimmt es je nach Verabreichung gegensätzliche Wirkweisen an. So induzierte es eine Steigerung der Nahrungsaufnahme bei intrazerebroventrikulärer Administration bei Ratten, wohingegen eine periphere Verabreichung (intraperitoneal und intravenös) bei Mäusen zu einem anorektischen Effekt führte (Chen et al. 2005, Asakawa et al. 2005). So hatten Mäuse mit einer genetisch induzierten Überexpression von desazyliertem Ghrelin einen niedrigeren Body-Mass-Index (BMI), ein vermindertes Fressverhalten, sowie einen herabgesetzten freien Fettsäure-Spiegel.

Im menschlichen Organismus, in dem desazyliertes Ghrelin im Serum in höheren Konzentrationen als azyliertes Ghrelin vorgefunden wurde, fungiert es als metabolisch, antiproliferativ und kardiovaskulär endokriner Faktor (Cassoni et al. 2001). Eine intravenöse Verabreichung von Ghrelin bei gesunden menschlichen Probanden führte zu einer signifikanten Verringerung des peripheren Gefäßwiderstandes und einer erhöhten Herzleistung ohne eine bemerkenswerte Veränderung der Herzfrequenz (Nagaya et al. 2001). Außerdem führte diese Zufuhr beim Menschen zu einer früher einsetzenden nahrungsbezogenen Insulinantwort, zu einem gesteigerten Glucosemetabolismus sowie zu einer erhöhten Insulinsensitivität (Van der Lely 2009).

Bei der Körpergewichtsregulation und dem Metabolismus des Menschen zeigten verschiedene Studien, dass zwischen der Ghrelin-Konzentration im Plasma und dem BMI eine starke negative Korrelation besteht (Ariyasu et al. 2001, Tschöp et al. 2001, Shiiya et al. 2002). So wiesen adipöse Menschen einen deutlich niedrigeren Desazyl- und Gesamtghrelinspiegel als schlanke oder gar anorektische Individuen auf (Tschöp et al. 2001, Shiiya et al. 2002). Dies ist wahrscheinlich auf eine adipositas-assoziierte Erhöhung des Leptins und Insulins zurückzuführen, welche beide hemmend auf die Ghrelinsekretion wirken (Barazzoni et al. 2007).

Zudem sind bestimmte Mutationen des Ghrelingens mit einem erhöhten Risiko der Entwicklung eines metabolischen Syndroms assoziiert (Steinle et al. 2004).

Außerdem supprimiert Ghrelin die Adiponektin-Expression um fast 50 % (Ott et al. 2002). Diese entgegengesetzte Beeinflussung der beiden Hormone lässt sich mit der unterschiedlichen Wirkweise auf den Energiehaushalt begründen. So fördert Ghrelin die Glucose-Oxidation sowie die Lipogenese und im Gegensatz dazu steigert Adiponektin die

Gluconeogenese und die β -Oxidation (Eden Engström et al. 2003). Des Weiteren stimulieren Insulin und der insulinähnliche Wachstumsfaktor (IGF-1) die Adiponektinsekretion (Beltowski 2003), wohingegen sie die Ghrelin-Sekretion hemmen. So kann ein inhibitorischer Effekt zwischen Ghrelin und dem IGF-1 beobachtet werden (Vilarrasa et al. 2005).

Zusätzlich beeinflusst Ghrelin noch weitere biologische Prozesse wie die Hormonsekretion, Glukosehomöostase, Pankreasfunktionen, gastrointestinale Motilität, kardiovaskuläre Funktionen, Zellproliferation und reproduktive Organfunktionen. Ghrelin bewirkt außerdem eine Stimulierung der Osteoblasten-Proliferation und Knochenbildung (Fukushima et al. 2005), Stimulierung der Neurogenese (Li et al. 2013) und Myogenese (Zhang et al. 2007), Stimulierung der Thymopoese (Dixit et al. 2007), des Schlaf-Wach-Rhythmus (Szentirmai et al. 2007), der Alterung (Andrews et al. 2009) und spielt eine neuroprotektive Rolle bei neurodegenerativen Erkrankungen wie der Parkinson-Krankheit (Moon et al. 2009). Ghrelin-induzierte synaptische Veränderungen im Gehirn gehen einher mit verbesserter Lernfähigkeit und einer erhöhten Gedächtnisleistung (Diano et al. 2006).

Die wachstumshormonfreisetzende Wirkung des Ghrelins erfolgt durch den direkten Einfluss auf Hypophysen-Somatotrophen (Picha et al. 2009), synergistische Wirkung mit Somatoliberin (GHRH) (Leal-Cerro et al. 1995) und durch Stimulierung vagaler Afferenzen (Date 2012). In hohen Dosen kann Ghrelin auch die Sekretion von Prolaktin, Corticotropin und Cortisol stimulieren (Coiro et al. 2011).

Ceranowicz et al. (2017) verabreichten Ratten mit Magenulkus exogenes Ghrelin, was zur Ausschüttung von Wachstumshormon und zum IGF1-Anstieg (Somatomedin C) im Serum führte. Es kam dadurch zu einer gesteigerten Zellproliferation in der Magenmucosa. Folglich besitzt Ghrelin schleimhauterneuerndes Potential, was zukünftig zusammen mit der vermuteten anti-inflammatorischen Wirkung eventuell in der Parodontitistherapie hilfreich sein könnte.

Die wichtigsten biologischen Wirkungen von Ghrelin sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Wirkungen von Ghrelin (überarbeitet nach Resl und Clodi, 2009)

System	Wirkung
endokrines System	<ul style="list-style-type: none"> - erhöht den Appetit und das Körpergewicht - steigert Freisetzung von Wachstumshormon, ACTH, Kortisol und Prolaktin
Stoffwechsel	<ul style="list-style-type: none"> - steigert den Appetit - hemmt Energieverbrauch, Fettkatabolismus, Lipolyse und Adipozyten apoptose - erhöht den Glukosespiegel - erhöht den Fettgehalt der Leber - steigert die Insulinwirkungen in der Peripherie - reduziert den muskulären Fettgehalt
gastrointestinal	<ul style="list-style-type: none"> - erhöht die gastrale Salzsäuresekretion - erhöht die gastrointestinale Motilität - steigert die exokrine Sekretionsleistung des Pankreas - steigert Turnover der Mukosa des Magendarmtrakts
kardiovaskulär	<ul style="list-style-type: none"> - steigert die kardiale Kontraktilität - induziert die periphere Vasodilatation - senkt den Blutdruck - Apoptosehemmung in Kardiomyozyten
Immunsystem	<ul style="list-style-type: none"> - erhöht die Produktion von Immunzellen - Verstärkung der Thymopoese - negativer Regulator der Lymphozytenproliferation - Modulation der Phagozytose
Knochen	<ul style="list-style-type: none"> - stimuliert die Proliferation und Differenzierung der Osteoblasten
Reproduktion	<ul style="list-style-type: none"> - reduziert die LH-Sekretion - reduziert die Testosteronsekretion - reduziert die Spermatogenese
Sonstiges	<ul style="list-style-type: none"> - stimuliert die Neurogenese - stimuliert die Myogenese - Proliferationshemmung in Mamma-Karzinomen - Verlängerung der slow-wave-Schlaf-Dauer - Abschwächung des septischen Schocks

1.2 Speichel

1.2.1 Aufbau und Produktion

Der Speichel ist ein exokrines Sekret, ein wichtiges Schutzsystem des Körpers und für die Gesunderhaltung der Mundhöhle und besonders der Zähne von immenser Bedeutung.

Ein Erwachsener sezerniert pro Tag insgesamt etwa 0,6 bis 1,5 l Speichel, wobei auch ohne Nahrungsaufnahme ständig Speichel abgesondert wird (Kidwell et al. 1998).

Seine Produktion findet zu 60 % in der Glandula submandibularis, 30 % in der Glandula parotis, ca. 5 % in der Glandula sublingualis und 5 % in den kleinen Speicheldrüsen, die sich am Zungenrand, am Gaumen und in der bukkalen und labialen Mundschleimhaut befinden, statt (Sas und Dawes 1997, Ship und Fischer 1997). Die etwa 750 kleinen Speicheldrüsen befinden sich unterhalb der Mucosa im gesamten Mund- und Rachenraum, bis hin zum paranasalen Sinus und über den Larynx bis zu der Trachea und den Bronchien. Die höchste Konzentration der kleinen Speicheldrüsen befindet sich jedoch im Mundraum. Über sie wird vornehmlich muköses Sekret abgesondert (Silvers und Som 1998). Dazu gehören auch die von-Ebner-Drüsen, die sich in topografischer Nähe zu den Papillae foliatae und vallatae befinden. Diese erfüllen mittels serösen Sekrets eine Spülfunktion und sezernieren zusätzlich Proteine, die durch Konzentration und Transport von hydrophoben Schmeckstoffen an deren Wahrnehmung durch die Schmecksinneszellen beteiligt sind (Gurkan und Bradley 1988, Schmale et al. 1990). Die Speichelbildung wird hauptsächlich über das vegetative Nervensystem reguliert. Neben taktilen Reizen wie Kauen, Berührung der Mundschleimhaut und sensorischen Reizen wie Geschmack und Geruch, wird die Speichelabsonderung auch durch erlernte Prozesse über das limbische System angeregt. Die Speichelabsonderung erfolgt dann reflektorisch über cholinerge, adrenerge und peptiderge Aktivierung des vegetativen Nervensystems, was zur Absonderung von serösem Sekret führt. Hierbei kommt es bei adäquater Stimulierung zu einer lokalen Vasodilatation der Blutgefäße im Bereich der Speicheldrüse und damit zu einer Mehrdurchblutung mit erhöhter Sekretionsrate in die Endstücke, den sogenannten Azini. Bei einer adrenergen Stimulierung kommt es zu einem gegenteiligen Effekt, zur Vasokonstriktion mit verminderter Sekretionsrate. Es kommt zur Bildung von hochviskösem muzinreichem Sekret (Silvers und Som 1998). Während der Wachzeit werden ca. 20 ml Speichel pro Stunde produziert. Für einen unstimulierten Ruhespeichel beträgt die Fließrate ca. 0,25- 0,35 ml/min (Puy 2006). Geht jedoch eine Stimulation, wie z. B. eine Kauaktivität voraus, so steigt der Wert auf 1-3 ml / min an (Nikiforuk 1985). Der Primärspeichel wird von den Azini, als isotones Sekret gebildet und gelangt von dort über intra-, inter- und extralobuläre Gänge in die Mundhöhle. Auf diesem Weg wird dieser durch Resorptions- und Sezernierungsprozesse zu hypotonem Sekundärspeichel umgewandelt. Der Speichel selbst setzt sich aus einem serösen sowie

mukösen Sekret zusammen, deren jeweilige Anteile zueinander je nach Stimulation variieren können. Bei Stimulation nimmt der seröse Anteil zu, beim Ruhespeichel überwiegt der muköse Anteil. Der Speichel und andere Bestandteile wie Zellreste, Bakterien, Nasensekret, Reste von Verdauungsflüssigkeit und von oral aufgenommenen sowie inhalierten Substanzen bilden die zu testende Matrix, die Mundflüssigkeit, die auch als gemischter Speichel bezeichnet wird (Glock et al. 1982). Die unterschiedlichen Anteile der einzelnen Speicheldrüsen an der Speichelproduktion unter bestimmten Bedingungen sind in Tabelle 2 dargestellt.

**Tabelle 2: Anteil der einzelnen Speicheldrüsen an der Speichelproduktion
(Aps und Martens 2005)**

	während des Schlafes	ohne Stimulation	mechanische Stimulation	Stimulation mit Zitronensäure
Ohrspeicheldrüse	0 %	21 %	58 %	45 %
Unterkieferspeicheldrüse	72 %	70 %	33 %	45 %
Unterzungenspeicheldrüse	14 %	2 %	2 %	2 %
kleine Speicheldrüsen	14 %	7 %	7 %	8 %

Der Hauptbestandteil des Speichels ist mit 99 % Wasser. Die organischen Bestandteile setzen sich aus Speichelenzymen, Enzymen bakterieller Herkunft, Immunglobulinen, Muzinen und serösem Sekret zusammen. Zu den Speichelenzymen gehören die α -Amylase, die im Mund mit der Hydrolyse von Stärke in Zucker beginnt, Lysozyme, die eine lytische Wirkung auf Bakterienzellwände ausüben und damit bakterizid sind, sowie Laktoferrine (Nieuw Amerongen und Veerman 2002). Außerdem enthalten sind die gelösten Elektrolyte Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Chlorid, Fluorid, Bicarbonat, Orthophosphate sowie die Spurenelemente Zink, Kupfer, Mangan, Selen, Kobalt, Cadmium und Jod (Haeckel 1989). Eine wichtige Rolle spielen auch Proteine und Glykoproteine, die von den Azinuszellen synthetisiert und sezerniert werden. Zusätzlich treten Harnstoff, Glukose, Lipide, Kohlendioxid und verschiedene Hormone auf. Der pH-Wert liegt bei Ruhesekretion zwischen 6,5 und 6,9, nach Stimulation steigt er jedoch auf etwa 7,0 bis 7,2 an, da durch den schnelleren Abfluss des Speichels weniger Zeit bleibt, aus dem zunächst plasmatisotonen Speichel Natrium-Ionen zurück zu resorbieren (Humphrey und Williamson 2001). Aufgrund

seines hohen Ionengehalts wird Speichel auch als Elektrolyt bezeichnet (Buddecke 1981). Einige dieser Ionen bilden die für den Schutz vor Säureangriffen wichtigen Puffersysteme des Speichels, den Bicarbonat- und Phosphatpuffer (Featherstone 2000).

1.2.2 Funktion

Die Hauptaufgabe des Speichels ist die Spülfunktion. In Kombination mit Bestandteilen aus Sulkusflüssigkeit, Blut und Mukosa bilden Makromoleküle des Speichels die Pellikel (Pellicula dentis). Dieser initiale Biofilm, der die Zahnoberflächen bedeckt, verringert die Demineralisation der exponierten Zahnhartsubstanzen, welche durch einen niedrigen pH-Wert, Abrasion und Attrition hervorgerufen werden kann (Hannig und Hannig 2014). Der physiologische Speichelfluss minimiert Abrasionsschäden an benachbarten oralen Strukturen. Die Gleitmittelfunktion spielt eine wichtige Rolle für Kau-, Schluck- und Sprechvorgänge. Diese wird durch das Zusammenspiel von Muzinen, prolinreichen und anderen Proteinen ermöglicht (Dawes 2012, Yakubov 2014). Weiterhin leistet der Speichel einen Beitrag zur Heilung kleinerer Läsionen innerhalb der Mundhöhle (Brand et al. 2014). Zudem wirkt er mineralisierend durch Fluorid-, Phosphat- und Kalziumionen, neutralisierend durch Puffersysteme und erreicht seine antibakterielle Wirkung durch Immunglobuline sowie wichtige Enzyme wie Lysozym und Laktoferrin. Von den Immunglobulinen befindet sich im Speichel vorwiegend Immunglobulin A (IgA). Die Immunglobuline G und M stammen aus dem Serum und kommen nur in kleineren Mengen vor. Grundsätzlich kann IgA die Adhäsion von Bakterien hemmen und IgG wie auch IgM fördern die Phagozytose. Neben seiner kariesprotektiven Funktion wirkt sich der Speichel also durch seine antibakterielle Aktivität auch auf die parodontale Gesundheit aus (Tenovuo 1998). Durch Amylasen und Proteasen erfüllt er seine einleitende Funktion bei der Verdauung, indem er die löslichen Substanzen der Nahrungsmittel auflöst, trockene Speisen zu einem feuchten Brei mischt und diese zum Schlucken und für die Magenverdauung vorbereitet. Durch seinen Gehalt an Ptyalin leitet er die Verdauung der Kohlenhydrate bereits in der Mundhöhle ein. Glykogen und Stärke können bereits durch sechs im Speichel befindliche Isoformen der α -Amylase in kleinere Einheiten gespalten werden (Kaczmarek und Rosenmund 1977). Auch unmittelbar nach einem Schluckvorgang verbleibt ein Speichelrestvolumen von ca. 0,8 – 1,1 ml im Mund (Lagerlöf und Dawes 1984).

In Tabelle 3 sind alle wichtigen Funktionen des Speichels und seiner einzelnen Komponenten dargestellt.

Tabelle 3: Funktion des Speichels und einzelner Komponenten (modifiziert nach Hellwig, Klimek, Attin 2006)

Funktion	beteiligte Speichelkomponenten
Spülfunktion	Gesamtspeichel
Pufferung von Säuren	Bikarbonat, Phosphat, Proteine
(Re-)Mineralisierung	Fluoride, Phosphat, Kalzium, Statherin
antibakterielle Wirkung	Glykoproteine, Muzine
Andauung von Nahrung	Amylase, Protease

1.2.3 Speichel und Ghrelin

In den Speicheldrüsen wird das Blut gefiltert, wobei rote Blutzellen zurückgehalten werden. Hormone hingegen gelangen aus dem Blut in den Speichel. Deshalb ist der Speicheltest für die Hormone Cortisol, Dehydroepiandrosteron (DHEA), Melatonin, Progesteron, Testosteron, Östriol und Östradiol sinnvoll, weil diese durch die Membran der Speicheldrüse passieren können. Deshalb wird Speichel als Patientenprobe dem Blut vorgezogen, da Speichelproben leichter durchzuführen sind und eine schnelle und nichtinvasive Technik darstellen (Miller 1994). Viele Biomoleküle und Hormone, die im Blut gefunden werden, sind auch im Speichel vorhanden und korrelieren oft positiv (Kaabi und Khalifa 2014). Im Einklang mit den bisher existierenden Studien von Ozbay et al. (2008) und Dynesen et al. (2008) zeigten die Daten eine positive Korrelation zwischen Blut- und Speichel-Ghrelin beim gesunden Menschen. Allerdings berichteten diese eine direkte Wirkung des Rauchens auf Ghrelin im Speichel, jedoch nicht im Blut. Daher sollte der Raucherstatus bei der Verwendung von Speichel als Probe für Ghrelinuntersuchungen berücksichtigt werden.

Wie bereits erwähnt, wird Ghrelin auch in den Speichel sezerniert und es wurde gezeigt, dass es den Geschmack der Nahrung beeinflussen kann. Zum Beispiel erhöht es den süßen (Shin et al. 2010) und reduziert den sauren Speisengeschmack. Geringe Level von Ghrelin im Speichel wurden auch in einigen medizinischen Untersuchungen bei Appetitlosigkeit z. B. bei akuter Blinddarmentzündung und epileptischen Patienten (Cetinkaya et al. 2009) nachgewiesen. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass Ghrelin im Speichel dazu beitragen könnte, einen normalen Geschmack und Appetit zu erhalten.

Aydin et al. (2006) stellten fest, dass die Speichel-Ghrelin-Level bei den weiblichen im Vergleich zu den männlichen Probanden etwas höher waren. Außerdem wurden die Werte vor jeder Mahlzeit erhöht und fielen wieder nach der Nahrungsaufnahme. Sie zeigten einen

zirkadianen Rhythmus, der während des Tages zu einem Zenit um 15 Uhr aufstieg und dann um 18 bis 21 Uhr wieder sank. Zudem wurde eine schwache Korrelation zum BMI beobachtet. Die immunhistochemische Analyse zeigte, dass Ghrelin in den gestreiften und exkretorischen Kanälen der Speicheldrüsen des Menschen lokalisiert ist. Diese Studie ist der erste Bericht des zirkadianen Rhythmus der Speichel-Ghrelin-Werte beim Menschen in Abhängigkeit von Zeit und Essen. Die Mahlzeiten spielten eine wichtige Rolle bei der Senkung der Speichel-Ghrelin-Konzentration.

1.3 Sulkusflüssigkeit

1.3.1 Produktion und Funktion

Die kleine Einsenkung am Zahn von 0,5-1 mm Tiefe wird als gingivaler Sulkus bezeichnet und von der Zahnoberfläche, dem oralen Sulkusepithel und den koronalen Zellen des Saumepithels begrenzt (Gühning und Barth 1992). Die Sulkusflüssigkeit (GCF) kommt in geringen Mengen im Parodontalspalt vor und weist sowohl Eigenschaften eines Trans- als auch eines Exsudates auf (Cimasoni 1983).

Zwischen Saumepithel und angrenzendem Bindegewebe befindet sich ein dentogingivaler Plexus, der schon bei geringsten entzündlichen Reaktionen oder einer leichten Traumatisierung eine außergewöhnliche Permeabilität aufweist. Daher stammt die Sulkusflüssigkeit von den subepithelialen Gefäßen und durchquert das entzündete gingivale Gewebe, bevor es im Sulkus bzw. in der parodontalen Tasche nachweisbar ist. Dabei nimmt sie Zytokine und zahlreiche andere Moleküle auf (Alfano 1974).

Dadurch, dass die Zellen des Saumepithels durch weniger Desmosomen als andere orale Epithelien verbunden sind, ist die Umsatzrate hoch. Bei verstärkter bakterieller Exposition weiten sich die intrazellulären Räume, es kommt zum verstärkten Sulkusflüssigkeitsausstrom sowie zur Leukozytenmigration. Schon 24 Stunden nach Plaqueakkumulation kommt es zur Vasodilatation der Arteriolen, Venolen und Kapillaren des dentogingivalen Plexus (Lamster und Ahlo 2007). Der hydrostatische Druck steigt und die Gefäßpermeabilität wird erhöht, wodurch Flüssigkeit und Proteine in das Gewebe übertreten.

Die Menge der exsudierten Flüssigkeit steigt mit dem Fortschreiten des gingivalen Entzündungsstatus (Armitage 1995). Daher ist in Abwesenheit von Plaque und Bakterien praktisch keine Sulkusflüssigkeit messbar (Bickel et al. 1985).

Die Hauptbestandteile der Sulkusflüssigkeit leiten sich vom Plasma, dem Gingivagewebe und Mikroorganismen sowie deren Stoffwechselprodukten ab (Mengel et al. 1991).

Es ist bekannt, dass in der Sulkusflüssigkeit mikrobiologische, immunologische und systemische Indikatoren gemessen werden können (Ebersole 2003, Loos und Tjoa 2005). Deshalb sind ihre Bestandteile zu einem Schwerpunkt in der Parodontitisdiagnostik geworden (Goodson 2003).

Die Sulkusflüssigkeit verhindert durch ihre Auswaschfunktion eine übermäßige Ansammlung von Bakterien und entleert den Sulkus von Fremdsubstanzen. Eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Parodontitis spielt die immunologische Wirtsantwort in Form von Botenstoffen, den Zytokinen, die sich im Sulkus befinden (Seymour 1991). Sobald die epitheliale Barriere des Sulkus mit ihren antimikrobiellen Peptiden überwunden ist, kommt der adaptiven Immunantwort eine wichtige Rolle zu. Hierbei hat das Gleichgewicht zwischen den Th1- und den Th2-Zytokinen eine zentrale Bedeutung. Die anti-inflammatorischen Th2-

Zytokine wie z. B. das Interleukin 10 (IL 10) haben dabei einen protektiven Effekt, während inflammatorische Th1-Zytokine wie IL 2 oder Interferon- γ zum Gewebeverlust und einer Verstärkung der Parodontitis führen (Gemmell und Seymour 2004).

1.3.2 Sulkusflüssigkeit und Ghrelin

Ohta et al. (2011) untersuchten an zwölf gesunden Probanden (zwischen 19-58 Jahren) in einer immunhistochemischen Analyse die Expression von Ghrelin in Speichel, gingivaler Sulkusflüssigkeit, gingivalem Epithel und der Lamina propria. Obwohl eine Ghrelin-positive Färbung in der äußeren Epithelschicht nachgewiesen wurde, wurde in der Basalschicht wenig bis keine Ghrelin-Färbung gefunden. Daher kann eine autokrine Signalisierung durch GHS-Rezeptoren nur in der äußeren Schicht von Epithelzellen auftreten. Das orale Epithel und die Fibroblasten produzieren Ghrelin, das in einer 500fach höheren Konzentration in der GCF im Vergleich zum Speichel vorkommt. Die hohe Konzentration von Ghrelin, die in der Sulkusflüssigkeit gefunden wird, hat einen größeren Einfluss auf die Regulation der IL 8-Produktion aus der Gingiva und dem oralen Epithel als das epitheliale autokrine Ghrelin. Daher geht man davon aus, dass der hohe Ghrelinlevel, der in der GCF von Fibroblasten in der Lamina propria und in geringerem Maße von Gingiva-Epithelzellen hervorgerufen wird, eine Rolle bei der IL 8-Regulation spielt. Basierend auf den Ergebnissen von Ohta et al. (2011) wird angenommen, dass Ghrelin eine Rolle bei der Aufrechterhaltung des Gingivalgewebe-Turnovers spielen kann sowie die angeborene Immunantwort reguliert.

Dies war der erste Nachweis, dass Ghrelin in der GCF vorhanden ist und die Tumornekrosefaktor-(TNF)- α - oder Lipopolysaccharid-(LPS)-induzierte IL 8-Produktion in den oralen Epithelzellen inhibieren kann. Ghrelin wirkt folglich als Immunmodulationsfaktor in der Mundschleimhaut, da es das Parodontalgewebe vor oxidativen Schäden schützt. Eine Überaktivierung von Neutrophilen kann eine parodontale Gewebsverletzung und eine daraus resultierende Entzündung verursachen (Kantarci et al. 2003, Iwata et al. 2009).

1.4 Blutserum

1.4.1 Aufbau und Funktion

Das Blut hat zahlreiche Aufgaben im Körper wie zum Beispiel Sauerstoff- und Nährstofftransport, Abwehr körperfremder Stoffe, Wundverschluss und Transport von Hormonen. Es besteht zu 55 % aus Blutplasma und 45 % aus festen Bestandteilen. Die enthaltenen Zellen werden unterschieden in Erythrozyten, auch rote Blutkörperchen genannt, in Leukozyten, die als weiße Blutkörperchen bezeichnet werden, und in Thrombozyten (Zeulner 2005). Blutplasma ohne Gerinnungsfaktoren (Fibrinogen) wird als Blutserum, kurz Serum, bezeichnet. Dieses entsteht als flüssiger Überstand beim Zentrifugieren einer geronnenen Blutprobe und hat durch gelöstes Bilirubin eine gelbliche Farbe. Mit 91 % besteht es hauptsächlich aus Wasser und zu 7 % aus Proteinen. Elektrolyte, Nähr-, Abfallsstoffe (Harnstoff) und Hormone machen die restlichen 2 % aus. Die Proteinanteile sind 62 % Albumin und 38 % Globuline, die für den Lipid-, Eisentransport und die Immunabwehr zuständig sind. Letztere werden wiederum in α_1 -, α_2 -, β - und γ -Globuline unterschieden.

1.4.2 Serum und Ghrelin

Ghrelin wird von endokrinen Drüsen in den Zellzwischenraum abgegeben. Dieser Zellzwischenraum ist von einem feinen Kapillarsystem durchzogen, worüber Ghrelin in die Blutbahn und schließlich zu den Rezeptoren der Zielzellen gelangt (Wengel 2018). Kozakowski et al. (2008) zeigten, dass die Serum-Ghrelinspiegel bei Männern mit dem Alter abnehmen und niedriger als bei Frauen sind. Bei Männern unter 30 Jahren waren die Serum-Ghrelinspiegel im Vergleich zu älteren Männern über 60 Jahren signifikant höher. Zusätzlich wurde eine signifikante negative Korrelation zwischen Ghrelinspiegel und BMI und zwischen Ghrelin und Gesamtkörperfett beobachtet. Außerdem ist die Konzentration von Ghrelin im Serum niedriger als in der GCF oder im Speichel. Andere Studien haben Unterschiede in den Magen-Ghrelin-Zellen und Ghrelinspiegeln im Serum zwischen Frauen und Männern gezeigt, was darauf hinweist, dass die Sekretion des Hormons unter der Kontrolle von Sexualhormonen oder anderer unbekannter Faktoren stehen kann (Makovey et al. 2007). Auch Benedix et al. (2011) fanden eine signifikante umgekehrte Korrelation zwischen BMI und dem Ghrelin im Serum. Außerdem korrelierten bei adipösen Probanden die Werte positiv mit dem Alter. Bei Rosicka et al. (2003) waren die Serum-Ghrelinspiegel bei adipösen Patienten signifikant niedriger, was einher ging mit der Zunahme der Serum-Leptinspiegel und nicht zur Unterdrückung des Appetites bei übergewichtigen Patienten führte.

1.5 Parodontitis und Abwehr

Das Immunsystem hat die Aufgabe körperfremde von körpereigenen Strukturen zu unterscheiden. Es gewährt dem Organismus die spezifische Abwehr gegenüber Bakterien, Viren und Giften.

Die zentralen Zellen des Immunsystems sind die Leukozyten, welche in Monozyten, Granulozyten sowie B- und T-Lymphozyten unterteilt werden (Burmester 2006).

Im Rahmen der unspezifischen Abwehr sind die polymorphkernigen Leukozyten (PMN) die Vorherrscher im Sulkus, sowohl im gesunden als auch im erkrankten Zustand. Sie wandern durch chemotaktische Stimuli der dentalen Plaque vom Blut in den Sulkus ein, wobei die Migrationsrate im erkrankten Sulkus größer als im gesunden ist. Die Einwanderung der Leukozyten aus den Gefäßen in den Sulkus wird durch Adhäsionsmoleküle kontrolliert (Moughal et al. 1992). Die PMNs im gingivalen Sulkus bilden die erste Verteidigungslinie gegen parodontale Pathogene, indem sie Bakterien phagozytieren und sie mit Hilfe von Enzymen aus ihren Lysosomen vernichten. Das führt gleichzeitig zum eigenen Tod und zur Zerstörung der umgebenden Wirtsgewebe.

Die unspezifische Abwehrreaktion ist nicht gegen alle Antigene vollständig wirksam, weshalb meist zusätzlich das spezifische Immunabwehrsystem aktiviert wird. Dieses lässt sich in ein humorales und ein zelluläres System unterteilen. Kommt der Organismus mit einem Fremdkörper (Antigen) in Kontakt, so wird eine Immunantwort ausgelöst. Die Immunglobuline (Ig) gehören zum humoralen System. Das Immunglobulin G heftet sich an Bakterien an und erleichtert deren Phagozytose (Wilson et al. 1995, Wilson und Genco 1989), wohingegen IgA die Anheftung von Bakterien auf den Mundhöhlenoberflächen hemmt (Saito et al. 1993). Das IgE heftet sich beim Erstkontakt des Wirtes mit dem Antigen an Mastzellen oder basophile Granulozyten, woraufhin die Aktivierung der B-Lymphozyten erfolgt und diese sich zu Plasmazellen differenzieren (Sanderink und Bengel 1995). Im folgenden Schritt produzieren und sezernieren die aktivierten Plasmazellen antigenspezifische Antikörper, welche durch ihre spezifische Bindung an das Antigen dieses direkt inhibieren oder die Zerstörung des Antigens durch andere Zellen des Immunsystems auslösen können. Die Aufgabe der zellulären Immunantwort ist die direkte Zerstörung infizierter Körperzellen.

Die T-Lymphozyten-vermittelten Signale stimulieren die Vermehrung und Umwandlung der B-Lymphozyten in Plasmazellen, welche weiterhin gegen spezielle Bakterienantigene gerichtete Antikörper bilden und freisetzen (Kayser et al. 1997). In Untersuchungen wurde festgestellt, dass die Gingivitis von Monozyten und T-Lymphozyten dominiert ist, während bei Parodontalläsionen die B-Lymphozyten und Plasmazellen überwiegen (Mackler et al. 1977). Der Anteil im entzündeten Parodont variiert dabei (Johannessen et al. 1990). Bei

fortgeschrittenen Läsionen mit Knochenabbau stellen die Plasmazellen den Hauptanteil des infiltrierten Bindegewebes dar (Brecx et al. 1988).

Eine Gingivitis wird nur dann zur Parodontitis, wenn die parodontopathogenen Bakterien in der Plaque einen kritischen Schwellenwert überschreiten und auf eine schwache Wirtsabwehr treffen. Mit zunehmender Taschentiefe wird die Plaque gramnegativ und anaerob. Charakteristisch für ein erkranktes Parodont ist das Vorhandensein zahlreicher parodontopathogener Bakterien, hoher Spiegel proinflammatorischer Zytokine wie IL 1 β , IL 6, IL 8, TNF- α und Interferon γ (IFN γ), Prostaglandin E2, Matrixmetalloproteinasen (MMP) und niedriger Spiegel von Gewebsinhibitoren der MMP (TIMP) und Zytokinen, die die immunitzündlichen Reaktionen unterdrücken wie IL 1ra, IL 10 und den transformierenden Wachstumsfaktor (TGF) β (Wilson et al. 1995, Wilson und Genco 1989). Bei parodontal Gesunden ist genau das Gegenteil zu finden.

Kommt es zur Entzündungsreaktion, führen die großen Aktivatoren IL 1 und TNF- α zur Freisetzung weiterer Zytokine wie IL 6, Prostaglandinen und Matrixmetalloproteinasen.

Dabei hemmen IL 1 und TNF die Knochensynthese, vermitteln dessen Abbau und unterstützen die Resorption. Das Interleukin 1 stimuliert Osteoklasten, welche übermäßig aktiviert werden und Knochensubstanz abbauen. Bei chronischen Entzündungen kann sich IL 1 in bestimmten Zellen ablagern und eine Freisetzung lytischer Enzyme bewirken.

1.6 Körpergewicht und Entzündung

Das Körpergewicht spielt eine große Rolle bei Entzündungen, da eine Zunahme inflammatorische Prozesse im Körper begünstigt. Das heißt, ein Überschuss an Nahrungsenergie und ein Mangel an Bewegung führen zu vermehrten Entzündungsreaktionen im Körper. Es wurde herausgefunden, dass das Fettgewebe proinflammatorische Zytokine ausschüttet. Arteriosklerose geht zum Beispiel mit einem erhöhten Risiko für Herzinfarkt und Schlaganfall einher und dies wiederum beruht auf Entzündungsprozessen (Döring 2009).

Übergewicht bzw. Adipositas sind zunehmende Probleme der industrialisierten Länder bedingt durch ein übermäßiges Nahrungsangebot und fehlende Bewegung. Nur etwa ein Drittel aller Männer in Deutschland ist normalgewichtig. In der Altersgruppe von 60-69 Jahren ist sogar ein Anteil von über 80% an übergewichtigen Männern zu verzeichnen. Fast 15 % der Kinder und Jugendlichen in Deutschland gelten als übergewichtig, über 6 % sind adipös. Laut IFB AdipositasErkrankungen (Universitätsklinikum Leipzig, Deutschland) bleiben als Folge rund 80 % dieser Jugendlichen auch als Erwachsene übergewichtig. Aus diesem Grund ist es wichtig, bereits früh gegen das Übergewicht aktiv zu werden.

Die Folge- und Begleiterkrankungen der Adipositas reichen von kardiovaskulären Erkrankungen und Stoffwechselstörungen über degenerative Erkrankungen des Bewegungsapparates bis hin zu erhöhtem Erkrankungsrisiko für verschiedenste maligne Tumorerkrankungen.

Verantwortlich dafür ist das Fettgewebe, ein hochkomplexes endokrines Organ, das durch hormonelle Signale das Zusammenspiel verschiedenster Zelltypen innerhalb des Gewebes steuert. Dabei reguliert es durch Adipokine nicht nur den Stoffwechsel, sondern auch eine Vielzahl anderer Prozesse wie Appetit und Entzündung.

Typische Entzündungsmarker bei Adipositas sind das C-reaktive Protein (CRP) und IL 6, aber auch TNF- α . Ebenso fand man Korrelationen mit anderen kardiovaskulären Risikomarkern wie Hypertonie und dem High-Density-Lipoprotein (HDL)-Cholesterin. Eine ähnlich starke Assoziation von CRP mit dem Body-Mass-Index (BMI) und dem Taillenumfang fand man bei einer weiblichen Population (Hak et al. 1999).

Bei der Entwicklung einer Insulinresistenz durch inflammatorische Adipokine wie TNF- α , IL 1 und IL 6 spielen die Aktivierung der c-Jun N-terminalen Kinasen (JNK), der Serin-Phosphorylierung und die Degradation des Insulinrezeptors (IRS-1) eine wesentliche Rolle.

Die Sekretion von IL-6 korreliert mit dem BMI und der Fettmasse. Bei adipösen Patienten kommt ca. 25–30 % des zirkulierenden IL 6 aus dem subkutanen Fettgewebe.

Die Fettgewebsentzündung bei Adipositas liefert einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung der Insulinresistenz und des Diabetes mellitus Typ 2, aber auch kardiovaskulärer Erkrankungen (Donath et al. 2008).

Nascimento et al. (2015) führten Recherchen zum Thema Gewichtszunahme und der Inzidenz von Parodontitis bei Erwachsenen durch. Probanden, die übergewichtig und adipös wurden, wiesen ein höheres Risiko auf, an Parodontitis zu erkranken im Vergleich zu Probanden, die bei normalem Gewicht blieben.

2. Ziele der Studie

Das Ziel der folgenden Studie ist es, den Zusammenhang zwischen Ghrelin und Parodontitis bei verschiedenen Körperkonstitutionen ($BMI < 25$ und $BMI \geq 25$) zu klären.

Dabei lautet die Hypothese: Es gibt signifikante Unterschiede der Ghrelinkonzentration im Speichel, der Sulkusflüssigkeit und / oder im Blut bei parodontal Gesunden / Gingivitis-Patienten und parodontal Erkrankten bzw. Normal- und Übergewicht / Adipositas.

Um dies zu klären, sollen in einer allgemein Zahnärztlichen Praxis 60 Probanden, die Hälfte parodontal gesund bzw. leichte Gingivitis, die andere Hälfte mit moderater bzw. schwerer chronischer Parodontitis untersucht werden.

Nach Bestimmung der klinischen Variablen werden Speichel, Sulkusflüssigkeit und Venenblut entnommen und mittels enzymgebundenem Immunassays (ELISA) auf Gesamt- bzw. aktives Ghrelin untersucht. Es folgt eine statistische Bearbeitung und Auswertung, sowie eine Einordnung in bereits vorhandene Studien.

3. Methoden/ Experiment

3.1 Patientenkollektiv

Bei der hier beschriebenen Untersuchung handelt es sich um eine Studie an 60 Patienten einer allgemein Zahnärztlichen Praxis (Zahnarztpraxis Dipl.-Stom. Holger Arnold, Fachzahnarzt für Allgemeine Zahnmedizin, Geschwister-Scholl-Str. 18, 04746 Hartha) im Rahmen einer externen Promotion, bei der Speichel, Sulkusflüssigkeit und Venenblut aus der V. cubitalis entnommen wurden.

Dabei sollte die eine Hälfte alle Kriterien für parodontale Gesundheit bzw. leichte Gingivitis und die andere für eine moderate bzw. schwere chronische Parodontitis erfüllen.

Es wurden die klinischen Variablen Anamnese, BMI, Approximalraum-Plaquesindex (API), Sulkusblutungsindex (SBI) und der Parodontalstatus mit den Sondierungstiefen (PD) und Attachmentlevel (AI) erhoben und im Anschluss die Proben gewonnen. Diese Speichel-, Sulkusflüssigkeits- und Blutproben wurden anschließend jeweils auf Gesamtghrelin bzw. azyliertes Ghrelin untersucht.

Um an dieser Studie teilnehmen zu können, mussten die Probanden die folgenden Kriterien erfüllen.

3.1.1 Einschlusskriterien

Zu den allgemeinen Einschlusskriterien zählten ein Alter ab 18 Jahren, Bereitschaft zur Teilnahme und eine schriftliche und mündliche Aufklärung über die Ziele und Gründe der Studie. Diese sollten vom Patienten verstanden und eine Einverständniserklärung musste unterschrieben werden.

Als spezifische Einschlusskriterien galten, dass der Patient zum Zeitpunkt der Untersuchungen unter keinerlei systemischen Erkrankungen (wie zum Beispiel Diabetes mellitus) leidet, die die Immunantwort beeinflussen.

Zusätzlich sollte er innerhalb der letzten drei Monate weder ein Antibiotikum eingenommen noch innerhalb der letzten zwei Jahre eine Parodontistherapie erfahren haben. Die Hälfte (30) der Patienten sollte alle Kriterien für parodontale Gesundheit bzw. leichte Gingivitis erfüllen, davon jeweils 15 Patienten einen BMI unter 25 und 15 Patienten größer gleich 25 (Adipositasgrad 0-2) haben.

Die anderen 30 Patienten sollten alle Kriterien für eine moderate bzw. schwere chronische Parodontitis erfüllen, davon wieder die Hälfte mit einem BMI unter bzw. größer gleich 25 (Adipositasgrad 0-2).

3.1.2 Ausschlusskriterien

Zu den allgemeinen Ausschlusskriterien gehörten minderjährige, nicht einwilligungsfähige, behinderte, schwangere bzw. stillende Patienten. Außerdem ausgeschlossen waren Patienten mit systemischen Erkrankungen, Infektionskrankheiten und Raucher (mehr als 5 Zigaretten / Tag).

Spezifisch ausgeschlossen wurden Patienten mit aggressiver Parodontitis bzw. schwerer Gingivitis. Eine Zahnbeweglichkeit größer gleich 2 bzw. Adipositasgrad 3 führten außerdem zum Ausschluss von dieser Studie.

3.1.3 Ethikantrag und Menschenrechtskonvention

Um die geplante Studie durchführen zu können, war die Zustimmung der Ethikkommission der Universität Leipzig erforderlich (AZ 337-14-06102014).

Vor Beginn der Untersuchungen wurde jeder Teilnehmer ausführlich mündlich aufgeklärt, dabei wurden ihm die folgenden Untersuchungen und Tests erläutert und mögliche Fragen ausführlich beantwortet.

Jeder Studienteilnehmer erklärte schriftlich sein Einverständnis zu den Untersuchungen und den nachfolgenden Entnahmen.

Bei sämtlichen Entnahmen wurden laut Menschenrechtskonvention zur Biomedizin des Europarates die Proben „nur zu dem Zweck aufbewahrt und verwendet, zu denen sie entnommen worden sind; jede andere Verwendung setzt angemessene Informations- und Einwilligungsverfahren voraus“ (Art. 22).

Durch eine weitere Unterschrift erklärten sich die Teilnehmer damit einverstanden, dass ihre persönlichen Daten bzw. klinischen Befunde, die im Rahmen dieser Studie erhoben werden / wurden, auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern gespeichert und anonymisiert verarbeitet werden dürfen.

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wurde jedem Teilnehmer eine Kennung bestehend aus den gewählten Zahlen 1 bis 61 zugeordnet.

3.2 Klinische Variablen

3.2.1 Bestimmung des Body-Mass-Index

Der Body-Mass-Index (BMI) dient zur Bewertung des Körpergewichts eines Menschen in Relation zu seiner Körpergröße. Dabei ist er jedoch nur ein grober Richtwert, da er weder Statur und Geschlecht noch die individuelle Zusammensetzung der Körpermasse aus Fett- und Muskelgewebe berücksichtigt. Der BMI wurde 1832 von Quetelet entwickelt und mit folgender Formel berechnet:

$$\text{BMI} = \frac{\text{Gewicht (kg)}}{\text{Körpergröße (m)} \times \text{Körpergröße (m)}}$$

Dabei gelten laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) Werte unter 18,5 kg/m² als untergewichtig und zwischen 18,5 und 24,99 kg/m² als normalgewichtig. Das Übergewicht wird mit BMI-Werten zwischen 25 und 29,9 kg/m² definiert. Wird bei einem Menschen ein höherer Index berechnet, so gilt er als adipös.

Die Adipositas wird zusätzlich in drei Schweregrade unterteilt, wobei Grad 1 einem BMI von 30-34,99 kg/m² und Grad 2 von 35-39,99 kg/m² entspricht. Von extremer Adipositas beziehungsweise Adipositas dritten Grades spricht man bei Werten über 40 kg/m².

Unsere Probanden wurden vor der Gewinnung von Speichel, Sulkusflüssigkeit und Blut ohne Schuhe gewogen. Dazu wurde eine handelsübliche Waage (61350 PWD Silver Sense) der Firma Soehnle verwendet (Leifheit AG, Nassau/ Lahn, Deutschland).

Die Bestimmung der Körpergröße erfolgte mit einem Maßband der Firma Mannesmann (Brüder Mannesmann Werkzeuge GmbH, Remscheid, Deutschland). Aus den daraus resultierenden Werten wurden die BMI-Werte nach oben genannter Formel berechnet und die Patienten nach Ergebnissen in die jeweiligen Gruppen eingeteilt.

3.2.2 Bestimmung des Approximalraum-Plaueindex (Lange et al. 1977)

Nach Anfärben der dentalen Plaque mit Hilfe einer Färbelösung (Mira-2-Tone, Miradent, Hager & Werken GmbH, Duisburg, Deutschland) wird in Form einer Ja- / Nein-Entscheidung beurteilt, ob Plaque im Approximalraum vorhanden ist. Da die Beseitigung dieser Plaque vom Patienten eine besonders gründliche Mundhygiene erfordert, kann durch den API die Qualität der Zahnpflege gut abgeschätzt werden. Beurteilt wird dabei im ersten und dritten Quadranten von oral, im zweiten und vierten Quadranten von vestibulär. Die Summe der plaquepositiven Flächen in Relation zur Summe aller untersuchten Flächen ergibt den aktuellen API in Prozent. Dadurch wird die Mundhygiene wie folgt eingeteilt:

- API = 70 – 100 % = unzureichende Mundhygiene
- API = 40 – 70 % = mäßige Mundhygiene
- API = 25 – 39 % = gute Mundhygiene
- API unter 25 % = optimale Mundhygiene

3.2.3 Bestimmung des Sulkusblutungsindex

Mithilfe des modifizierten Sulkusblutungsindex' (SBI) wird die Blutungsneigung der Gingiva beschrieben. Der SBI wurde 1971 erstmals von Mühlemann und Son beschrieben. Lange et al. modifizierten ihn im Jahre 1977.

Dabei wird der Zahnfleischsulkus mit einer Parodontalsonde zur Papillenspitze hin ausgestrichen. Eine Eindringtiefe von 0,5 mm in die Zahnfleischtasche sollte dabei nicht überschritten werden.

Etwa 10-30 Sekunden nach der Provokation wird beurteilt, ob eine Blutung vorliegt oder nicht. Dabei wird im ersten und dritten Quadranten von vestibulär und im zweiten und vierten Quadranten von oral gemessen. Die Summe der positiven (blutenden) Flächen in Relation zur Summe der untersuchten Flächen ergibt den aktuellen SBI in Prozent. Angestrebt wird dabei ein Wert unter 10 %.

3.2.4 Bestimmung von Bluten auf Sondieren

Bei vorsichtiger Sondierung einer entzündlichen Tasche mit einer Parodontalsonde kommt es zu einer Blutung, die sich nach spätestens 30 Sekunden als Blutung am Gingivarand manifestiert. Bluten auf Sondieren (Bleeding on probing, BOP) kann also als diagnostischer Test auf die Existenz einer Entzündung gewertet werden.

Der BOP kann als Index ausgedrückt werden, indem der prozentuale Anteil der blutenden in Relation zur Zahl der sondierten Stellen berechnet wird. Sinnvollerweise wird er bei Erhebung des Parodontalstatus bestimmt, wobei in unserem Fall ein Wert pro Zahn (+ / -) erhoben wird.

In den vorgenommenen Untersuchungen wurde der BOP prozentual nur auf die vier Entnahmestellen der Sulkusflüssigkeit, also die tiefste Stelle pro Quadrant, begrenzt. Deshalb resultieren die Werte 0, 25, 50, 75 beziehungsweise 100 %.

3.2.5 Erhebung der Sondierungstiefen und Attachmentlevel

Die Erhebung der Sondierungstiefen und des Attachmentlevels erfolgte mithilfe einer WHO-Parodontalsonde der Firma Carl Martin (Carl Martin GmbH, Solingen, Deutschland) und einem speziellen Formblatt (siehe Anhang).

Diese Werte wurden in Millimeterangabe in 6-Punkt-Messung pro Zahn festgehalten. Zusätzlich erfolgte die Erfassung der Furkations- und Mobilitätsgrade pro Zahn um die Einschlusskriterien zu überprüfen.

3.3 Gewinnung der Proben

3.3.1 Gewinnung von Speichel

Die Entnahme von Speichel wurde wie folgt durchgeführt: In den zwei Stunden vor der Gewinnung durfte keine Nahrungsaufnahme erfolgen, da dies die Ergebnisse verfälschen könnte. Der Patient stimulierte die Speichelproduktion eine Minute lang durch Kauen auf einem Stückchen Paraffinwachs (Dentsply DeTrey, Konstanz, Deutschland). Nach der Stimulation erfolgte fünf Minuten das Sammeln des Gesamtspeichels in einem Becherglas. Direkt im Anschluss an das Sammeln wurde die Probe für die spätere Untersuchung bei -20°C aufbewahrt.

3.3.2 Gewinnung von Sulkusflüssigkeit

Die Entnahme von GCF erfolgte bei jedem Probanden an der tiefsten Sondierungsstelle pro Quadrant. Um eine Kontamination der Sulkusflüssigkeit mit Speichel zu vermeiden, wurde das Untersuchungsgebiet vor Entnahme der GCF mit einem Luftbläser und Watterollen in den Umschlagfalten relativ trocken gelegt. Im Anschluss wurde Periopaper (Vetter, Ravensburg, Deutschland) bis zum Fundus der Tasche eingebracht und für 30 Sekunden dort belassen. Darauf folgte die Lagerung dieser Proben in Eppendorf-Reaktionsgefäßen mit je 500 µl physiologischer (0,9 %) Kochsalzlösung über Nacht bei 4°C. Danach wurden sie für die Untersuchungen bei -20°C gelagert.

3.3.3 Gewinnung von Blut

Die Gewinnung von Blut erfolgte mittels Serum-Monovetten und Sicherheitskanüle 20Gx1 der Firma Sarstedt (Sarstedt AG&Co, Nümbrecht, Deutschland) aus der V. cubitalis nach dem Unterdruckprinzip. Dazu wurde das Blut in der Vene mittels am Arm angelegtem Gummischlauch gestaut und dann entnommen.

Danach erfolgte die zehnminütige Behandlung in einer Tischzentrifuge Z200A der Firma Hermle (Maschinenfabrik Berthold Hermle AG, Gosheim, Deutschland) im Labor des Medizinischen Versorgungszentrums Rochlitz des Landkreises Mittweida Krankenhaus GmbH (Gärtnerstraße 2, 09306 Rochlitz) bei 2000g. Dort wurden pro Patient ein Milliliter Serum in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß gefüllt und bei -20°C für weitere Untersuchungen gelagert.

3.4 Untersuchung der Proben

3.4.1 Quantitative Ghrelinbestimmung durch enzymgekoppelten

Immunadsorptionstest (ELISA)

Die Untersuchung von Speichel, Sulkusflüssigkeit und Blut auf Gesamt- und azyliertes Ghrelin erfolgte im Labor für Orale Mikrobiologie an der Medizinischen Fakultät in der Klinik für Parodontologie der Universität Bern (Hochschulstr. 6, 3012 Bern) unter Leitung von Frau Prof. Dr. Eick mittels ELISA-Test.

ELISA ist ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren, das zur Gruppe der Immunassay-Verfahren gehört und auf einer enzymatischen Farbreaktion basiert. Er gehört zu den enzymatischen Immunadsorptionsverfahren und wurde im Jahr 1971 von Perlmann und Engvall in Schweden entwickelt. Das nachzuweisende Antigen wird über einen Erstantikörper an eine Mikrotiterplatte adsorptiv gebunden und angereichert, ein Enzymgekoppelter Zweitantikörper führt zur Reaktion eines Farbstoffsubstrates. Die Signalstärke ist eine mit einem Photometer bestimmbare Funktion der Antigenkonzentration.

Der Nachweis des menschlichen Gesamtghrelins im Serum erfolgte mithilfe eines ELISA KIT (Cat. # EZGRT-89K) der Firma EMD Millipore (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) als Einzelbestimmung. Das aktive Ghrelin wurde mittels ELISA KIT (Cat. # EZGRA-88K) derselben Firma bestimmt.

Es handelt sich bei beiden Methoden um ein Sandwich-ELISA basierend auf der Erfassung menschlicher Ghrelinmoleküle in der Probe mittels Mikrotiterplatte. Die Enzymaktivität wird spektrophotometrisch bei 450 nm und 590 nm gemessen.

Die unterste Nachweisgrenze, die dabei aus einer 20 µl Probe gemessen werden kann, liegt beim Gesamtghrelin bei 50 pg/ml und beim aktiven bei 15 pg/ml.

Beim Sandwich-ELISA (oder auch Antigen-ELISA) werden zwei Antikörper verwendet, die beide spezifisch an das nachzuweisende Antigen binden (DocCheck Flexikon, Internet). Wichtig ist hierbei, dass beide Antikörper an unterschiedlichen Stellen an das Antigen binden, da sie sich sonst gegenseitig behindern würden. Der erste Antikörper wird an eine feste Phase (meist Mikrotiterplatten mit Vertiefungen) gebunden. Die Probe mit dem nachzuweisenden Antigen wird dann in die Vertiefungen gegeben und eine Zeit lang inkubiert. Während dieser Zeit bindet der an die Platte gebundene Antikörper das in der Probe vorhandene Antigen. Nach Ablauf der Inkubationsphase wird die Platte gewaschen, wodurch die ungebundenen Bestandteile der Probe entfernt werden und nur das am Antikörper gebundene Antigen zurück bleibt. Ein zweiter primärer, unmarkierter Detektionsantikörper wird hinzugefügt, um das Sandwich zu vervollständigen. Durch

erneutes Waschen der Platte wird der überschüssige Detektionsantikörper ausgewaschen. Das Ergebnis kann quantifiziert werden, indem ein markierter sekundärer Antikörper hinzugefügt wird, der an den zweiten primären Antikörper bindet und die enzymatische Farbreaktion katalysiert. Für quantitative Nachweise wird üblicherweise eine Serie mit bekannten Antigenkonzentrationen durchgeführt, um eine Kalibrierungskurve für das optisch gemessene Signal zu erhalten.

3.4.2 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Datenanalysesystem Statistical Program for the Social Sciences Version 22.0 (SPSS 22.0, SPSS GmbH Software, München, Deutschland) für Windows.

Es wurde der arithmetische Mittelwert \bar{x} und die Standardabweichung s für alle numerischen Meßgrößen berechnet.

Die demografischen und klinischen Daten wurden mit Post-Hoc-Spannweitentests ausgewertet (siehe Tabelle 6). Wenn es Abweichungen zwischen den Mittelwerten gibt, kann man mit Post-Hoc-Spannweitentests und paarweisen multiplen Vergleichen untersuchen, welche Mittelwerte sich unterscheiden. Spannweitentests ermitteln homogene Untergruppen von Mittelwerten, die nicht voneinander abweichen. Mit paarweisen Mehrfachvergleichen testet man die Differenz zwischen gepaarten Mittelwerten. Die Ergebnisse werden in einer Matrix angezeigt, in der Gruppenmittelwerte, die auf einem Alpha-Niveau von 0,05 signifikant voneinander abweichen, durch Sterne markiert sind.

Bonferroni führt paarweise Vergleiche zwischen Gruppenmittelwerten mit t-Tests aus, regelt dabei jedoch auch die Gesamtfehlerrate, indem die Fehlerrate für jeden Test auf den Quotienten aus der experimentellen Fehlerrate und der Gesamtzahl der Tests gesetzt wird. Dadurch wird das beobachtete Signifikanzniveau an Mehrfachvergleiche angepasst.

Es wurde außerdem für die Ghrelinauswertung der U-Test nach Mann und Whitney als nichtparametrisches Verfahren herangezogen. Mit diesem Test kann man die zentrale Tendenz (Mittelwert) zweier Gruppen auch dann vergleichen, wenn die abhängige Variable nur ordinalskaliert ist (Regorz 2017). Als verteilungsfreies Verfahren muss auch die Voraussetzung der Normalverteilung nicht erfüllt sein. Um diesen Test durchzuführen, müssen also keine Parameter (Mittelwert, Varianz) geschätzt werden. Stattdessen werden die Ränge der einzelnen Messwerte miteinander verglichen. Dazu werden alle Werte der abhängigen Variable der Größe nach geordnet, beginnend mit dem kleinsten Wert. Diese Rangfolge wird gemeinsam für beide Gruppen aufgestellt. Anschließend werden für jede der beiden zu vergleichenden Gruppen getrennt die Ränge in der Gruppe aufsummiert. Wenn die beiden Gruppen im Wesentlichen gleich sind, dann sollten ungefähr gleich viele hohe

und niedrige Ränge auftreten und damit auch in etwa gleich hohe Rangsummen. Wenn aber die zentrale Tendenz (Mittelwert, Median) der beiden Gruppen unterschiedlich ist, dann wird in der Regel die Gruppe mit dem kleineren Mittelwert mehr niedrige Ränge haben und die Gruppe mit dem größeren Mittelwert mehr hohe Ränge. Damit werden sich in diesem Fall auch die Rangsummen deutlich unterscheiden. Sie können frühestens ab $N = 12$ von einer näherungsweise (asymptotische) Normalverteilung ausgehen (Gibbons und Chakraborti 2003), wobei außerdem beide Gruppen jeweils mindestens 6 Einheiten aufweisen sollten. Andere Autoren empfehlen jedoch, erst ab einem wesentlich größeren N mit den asymptotischen Werten zu rechnen, (Field 2013) beispielsweise ab $N = 50$.

Das Statistikprogramm SPSS weist bei kleinen Stichproben beides aus: den exakten Wert und den asymptotischen Wert, bei großen Stichproben standardmäßig nur den asymptotischen Wert. Bei kleinen Stichproben sollte der exakte Wert verwendet werden. Das gilt vor allem auch, wenn sich exakte Signifikanz und asymptotische Signifikanz deutlich unterscheiden. Es wird ein p -Wert $\leq 0,05$ als signifikant gewertet, bei $p < 0,1$ kann man von einer Tendenz sprechen.

Die Voraussetzungen beim Mann-Whitney-Test sind vor allem die drei folgenden:

- Voraussetzung 1: Beide Gruppen haben die gleiche Streuung (Varianzhomogenität im Fall von intervallskalierten Daten).
- Voraussetzung 2: Für beide Gruppen hat die Verteilung die gleiche Form. Man kann also beispielsweise mit dem U-Test schiefe Verteilungen testen, aber es muss dann die Verteilung in beiden Gruppen rechtsschief sein oder in beiden Gruppen linksschief.
- Voraussetzung 3: Alle Untersuchungseinheiten innerhalb einer Gruppe sind unabhängig voneinander. Das gilt sowohl für alle Gruppenvergleiche, also auch für ANOVA, t-Test usw.

4. Ergebnisse

4.1 Gruppeneinteilung

Die untersuchten 60 Patienten wurden nach Wiegen des Körpergewichtes, Messen der Körpergröße und anschließender Berechnung des BMI nach Gesundheits- und Körperzustand in vier Gruppen zu jeweils 15 Probanden eingeteilt:

GN = parodontal gesund / Gingivitis, normalgewichtig (BMI < 25)

GÜ = parodontal gesund / Gingivitis, übergewichtig (BMI ≥ 25)

PN = Parodontitis, normalgewichtig

PÜ = Parodontitis, übergewichtig

In Tabelle 4 ist die Gruppenzuordnung der einzelnen Patientennummern dargestellt. Tabelle 5 zeigt die Einteilung der Adipositasgrade der adipösen Patienten.

Tabelle 4: Gruppenzuordnung

	GN	GÜ	PN	PÜ
Patientennummer	2, 4, 5	1, 3, 8	7, 17, 20	9, 10, 11
	6, 12, 15	13, 14, 23	25, 26, 27	19, 21, 22
	16, 18, 33	24, 32, 36	31, 42, 44	28*, 29, 30
	34, 35, 39	41, 43, 45	47, 50, 51	37, 38, 46
	40, 52, 54	55, 56, 57	58, 59, 60	48, 49, 53, 61

Tabelle 5: Adipositasgrade

Pat.Nr.	m/w	Alter (Jahre)	Größe (m)	Körpergewicht (kg)	BMI	Adipositas-grad
1	m	33	1,83	105	31,3	1
23	w	27	1,61	78	30,2	1
24	w	48	1,71	100	34,2	1
28*	w	52	1,59	82	32,4	1
29	m	64	1,82	110	33,2	1
30	w	56	1,6	90	35,2	2
41	m	49	1,87	138	39,4	2
43	w	45	1,65	85	31,3	1
46	w	39	1,52	75	32,5	1
49	m	49	1,75	100	32,7	1
53	w	56	1,61	82	31,6	1
56	w	34	1,65	95	34,9	1
57	w	55	1,68	90	31,9	1
61	m	53	1,91	120	32,9	1

*zum Zeitpunkt der Gewinnung von Sulkusflüssigkeit, Speichel und Blut unter Antibiose, deshalb bei den Ergebnissen nicht berücksichtigt (siehe auch Ausschlusskriterien)

Von insgesamt 30 übergewichtigen Patienten (BMI \geq 25) zählten 14 zu Adipositas (BMI \geq 30), davon wiederum 12 Probanden zu Adipositas ersten und zwei Probanden zweiten Grades. Eine Adipositas dritten Grades wurde von den Untersuchungen ausgeschlossen (siehe Ausschlusskriterien).

4.2 Demografische und klinische Daten

In Tabelle 6 sind die demografischen und klinischen Daten der einzelnen Gruppen dargestellt.

Tabelle 6: Demografische und klinische Daten

	chronische Parodontitis		gesund/ Gingivitis		ANOVA (p)
	BMI < 25	BMI ≥ 25	BMI < 25	BMI ≥ 25	
	N = 15	N = 15	N = 15	N = 15	
Alter (Jahre)	46,7 ± 14,7	50,3 ± 12,3	37,2 ± 12,6	38,9 ± 13,4	0,025
w/m	2 / 13	8 / 7	3 / 12	9 / 6	
BMI	22,9 ± 1,6 ^{AE}	29,9 ± 2,9 ^{AD}	21,4 ± 1,3 ^{DF}	29,3 ± 4,4 ^{EF}	< 0,001
mittlerer AL (mm)	2,58 ± 0,25 ^{BC}	2,68 ± 0,44 ^{DE}	0,00 ± 0,00 ^{BD}	0,00 ± 0,00 ^{CE}	< 0,001
mittlere PD (mm)	2,24 ± 0,23 ^{BC}	2,39 ± 0,35 ^{DE}	1,82 ± 0,18 ^{BD}	1,93 ± 0,13 ^{CE}	< 0,001
Stellen mit PD > 4 mm	12,3 ± 8,83 ^{BC}	16,8 ± 13,4 ^{DE}	0,00 ± 0,00 ^{BD}	0,00 ± 0,00 ^{CE}	< 0,001
BOP (%)	43,3 ± 17,6 ^{BC}	40,0 ± 20,7 ^{DE}	6,7 ± 11,4 ^{BD}	11,7 ± 16,0 ^{CE}	< 0,001
API (%)	30,9 ± 9,8 ^B	27,9 ± 9,8 ^d	15,3 ± 9,04 ^{Bef}	26,2 ± 13,4 ^f	0,001

Post-hoc Bonferroni:

^A p < 0.01	CP BMI < 25 vs. CP BMI ≥ 25
^B p < 0.01	CP BMI < 25 vs. Kontrollen BMI < 25
^C p < 0.01	CP BMI < 25 vs. Kontrollen BMI ≥ 25
^d p < 0.05, ^D p < 0.01	CP BMI ≥ 25 vs. Kontrollen BMI < 25
^E p < 0.01	CP BMI ≥ 25 vs. Kontrollen BMI ≥ 25
^f p < 0.05, ^F p < 0.01	Kontrollen BMI ≥ 25 vs. Kontrollen BMI < 25

- (A) azyliertes Ghrelin,
- (B) Gesamtghrelin,
- (C) Chemerin (für unsere Studie nicht relevant) und
- (D) IL-1 β in GCF bei Patienten mit chronischer Parodontitis (CP) mit BMI < 25 und BMI \geq 25 und parodontal gesunden/ Gingivitis- Probanden mit BMI < 25 und BMI \geq 25

Es gab keine deutlich messbaren Unterschiede zwischen den beiden BMI-Untergruppen, aber signifikante Unterschiede zwischen den vier Gruppen hinsichtlich ihres Alters ($p = 0,025$) und des Geschlechts ($p = 0,014$).

Die mittlere Sondierungstiefe, die Anzahl der Stellen mit PD ≥ 4 mm, der mittlere AI, der BOP und der API unterschieden sich signifikant zwischen den vier Gruppen. Die mittlere PD, die Anzahl der Stellen mit PD ≥ 4 mm, der mittlere AI und der BOP waren bei den Parodontitisgruppen signifikant höher als bei den parodontal gesunden / Gingivitis-Gruppen (jeweils $p < 0,01$). Der API war in den Parodontitis-Gruppen signifikant höher im Vergleich zur normalgewichtigen parodontal gesunden / Gingivitis-Gruppe ($p = 0,001$, $p = 0,040$). Innerhalb der gesunden / Gingivitis-Probanden unterschied sich der API signifikant ($p = 0,040$) zwischen den übergewichtigen und normalgewichtigen Gruppen.

Die Tabelle 7 zeigt die Altersverteilung der Probanden in den einzelnen Gruppen.

Tabelle 7: Altersverteilung der Probanden

Alter (Jahre)	PÜ	PN	GÜ	GN
18-35	1	5	9	7
36-60	11	6	5	8
61-99	3	4	1	0

Der Hauptanteil der Probanden war im Alter zwischen 36 und 60 Jahren. Der Altersgruppe ab 61 gehörten die wenigsten Patienten (8) an. Die meisten Teilnehmer dieser Altersgruppe waren parodontal (7) erkrankt. Es gab keinen Probanden im Alter zwischen 61 und 99, der der normalgewichtigen parodontal gesunden / Gingivitis-Gruppe angehörte.

4.3 Gruppenvergleiche

4.3.1 Parodontitis vs. parodontal gesund / Gingivitis

Es folgt in den Tabellen 8 und 9 die Gegenüberstellung der 30 parodontal gesunden / Gingivitis- mit den 30 parodontal erkrankten Patienten. Dabei wurde vorerst nur nach parodontalem Zustand und nicht nach BMI unterschieden.

Tabelle 8: Klinische Variablen Parodontitis vs. gesund / Gingivitis

	Parodontitis N = 30	Gesund / Gingivitis N = 30	U-Test
Alter	51 ± 25	46 ± 28	
Geschlecht	m = 10 w = 20	m = 12 w = 18	
BMI	\bar{x} = 27 s = 3 Ø = 26	\bar{x} = 25 s = 3 Ø = 25	p = 0,204
API (%)	\bar{x} = 30 s = 10 Ø = 33	\bar{x} = 21 s = 11 Ø = 18	p = 0,004
SBI (%)	\bar{x} = 8 s = 5 Ø = 7	\bar{x} = 6 s = 7 Ø = 6	p = 0,094
BOP (%)	\bar{x} = 42 s = 20 Ø = 38	\bar{x} = 10 s = 14 Ø = 0	p = 0,001
PD gesamt (mm)	\bar{x} = 2,32 s = 0,29 Ø = 2,27	\bar{x} = 1,88 s = 0,16 Ø = 1,89	p = 0,001
PD Entnahme (mm)	\bar{x} = 4,11 s = 0,61 Ø = 4,00	\bar{x} = 2,84 s = 0,26 Ø = 3,00	p = 0,001

Die Parodontitisgruppe war mit einem mittleren Alter von 51 fünf Jahre älter als die gesunde / Gingivitis-Gruppe. Der BMI war bei ihnen mit durchschnittlich 26 auch leicht höher und schon im Übergewichtsbereich. Bei beiden Gruppen überwog der Anteil an weiblichen Patienten.

Statistisch gesehen waren signifikante Unterschiede (p= 0,004) nur beim API sichtbar. Er war bei der Parodontisgruppe signifikant höher als bei der parodontal gesunden / Gingivitis-Gruppe. Das heißt, die Erkrankten wiesen interdental mehr Plaque auf und betrieben eine schlechtere Mundhygiene als die parodontal Gesunden / Gingivitispatienten. Auch der SBI war in der Parodontitisgruppe mit 7 % etwas höher, jedoch nicht signifikant erhöht. Hingegen

signifikant höher war der BOP (38 %) der parodontal Erkrankten, auch die mittleren Sondierungstiefen (insgesamt und an den Entnahmestellen) waren deutlich höher.

Tabelle 9: Ghrelin Parodontitis vs. gesund / Gingivitis

	Parodontitis	Gesund / Gingivitis	U-Test
Ghrelin total Speichel (pg)	$\bar{x} = 197,15$ $s = 156,32$ $\emptyset = 132,90$	$\bar{x} = 149,32$ $s = 126,83$ $\emptyset = 108,64$	$p = 0,139$
Ghrelin aktiv Speichel (pg)	$\bar{x} = 35,70$ $s = 10,16$ $\emptyset = 35,72$	$\bar{x} = 36,60$ $s = 15,76$ $\emptyset = 31,32$	$p = 0,459$
Ghrelin total GCF (pg)	$\bar{x} = 158,71$ $s = 99,20$ $\emptyset = 129,72$	$\bar{x} = 241,17$ $s = 193,72$ $\emptyset = 133,44$	$p = 0,211$
Ghrelin aktiv GCF (pg)	$\bar{x} = 32,60$ $s = 7,02$ $\emptyset = 31,73$	$\bar{x} = 31,85$ $s = 4,73$ $\emptyset = 32,12$	$p = 0,923$
Ghrelin total Serum (pg)	$\bar{x} = 337,84$ $s = 299,84$ $\emptyset = 279,65$	$\bar{x} = 341,75$ $s = 230,97$ $\emptyset = 324,39$	$p = 0,682$
Ghrelin aktiv Serum (pg)	$\bar{x} = 35,21$ $s = 47,01$ $\emptyset = 21,56$	$\bar{x} = 52,82$ $s = 64,32$ $\emptyset = 28,02$	$p = 0,170$

Die höchsten Gesamtghrelinwerte waren in beiden Gruppen im Serum vorhanden. Die Probanden mit Parodontitis zeigten im Speichel etwas höhere Gesamtghrelinwerte als die Gesunden / Gingivitis-Patienten. In der Sulkusflüssigkeit verhielt es sich umgekehrt. Es gab jedoch bei der Gegenüberstellung der Ghrelinwerte keine signifikanten Ergebnisse. Die Mittelwerte bewegten sich alle im ähnlichen Bereich.

4.3.2 Parodontitis übergewichtig vs. normalgewichtig

In den Tabellen 10 und 11 werden die übergewichtigen mit den normalgewichtigen Parodontitispatienten verglichen.

Tabelle 10: Klinische Variablen Parodontitis übergewichtig vs. normalgewichtig

	PÜ N = 15	PN N = 15	U-Test
Alter (Jahre)	50,3 ± 12,3	46,7 ± 14,7	
Geschlecht (m/w)	m = 8 w = 7	m = 2 w = 13	
BMI	$\bar{x} = 30$ s = 3 Ø = 29	$\bar{x} = 23$ s = 2 Ø = 23	p = 0,001
API (%)	$\bar{x} = 28$ s = 10 Ø = 30	$\bar{x} = 31$ s = 10 Ø = 36	p = 0,318
SBI (%)	$\bar{x} = 10$ s = 6 Ø = 7	$\bar{x} = 6$ s = 4 Ø = 7	p = 0,049
BOP (%)	$\bar{x} = 40$ s = 21 Ø = 25	$\bar{x} = 43$ s = 18 Ø = 50	p = 0,496
PD gesamt (mm)	$\bar{x} = 2,39$ s = 0,35 Ø = 2,33	$\bar{x} = 2,24$ s = 0,23 Ø = 2,21	p = 0,361
PD Entnahme (mm)	$\bar{x} = 4,12$ s = 0,60 Ø = 4,00	$\bar{x} = 4,10$ s = 0,61 Ø = 4,00	p = 0,833

Die Übergewichtigen waren mit einem Mittelwert von 50 Jahren drei Jahre älter als die Normalgewichtigen. In der übergewichtigen Gruppe war der Geschlechteranteil ausgeglichen, bei den normalgewichtigen überwogen mit 13:2 die Frauen sehr stark. Die übergewichtige Gruppe wies mit $\bar{x} = 30$ einen signifikant ($p = 0,001$) höheren BMI auf. Der API und der BOP waren bei den Normalgewichtigen durchschnittlich etwas höher, jedoch nicht signifikant. Statistisch signifikant höher ($p = 0,049$) war hingegen der SBI bei den übergewichtigen Probanden. Die Sondierungstiefen waren annähernd im gleichen Bereich.

Tabelle 11: Ghrelin Parodontitis übergewichtig vs. normalgewichtig

	PÜ	PN	U-Test
Ghrelin total Speichel (pg)	$\bar{x} = 206,71$ $s = 187,56$ $\emptyset = 110,64$ min = 40,81 max = 688,67	$\bar{x} = 187,58$ $s = 125,08$ $\emptyset = 155,15$ min = 51,99 max = 531,08	p = 0,406
Ghrelin aktiv Speichel (pg)	$\bar{x} = 37,80$ $s = 12,93$ $\emptyset = 37,32$ min = 21,46 max = 65,9	$\bar{x} = 33,51$ $s = 7,39$ $\emptyset = 34,11$ min = 19,13 max = 51,1	p = 0,533
Ghrelin total GCF (pg)	$\bar{x} = 117,67$ $s = 31,51$ $\emptyset = 118,49$ min = 51,99 max = 165,48	$\bar{x} = 199,79$ $s = 166,88$ $\emptyset = 140,94$ min = 114,59 max = 645,21	p = 0,032
Ghrelin aktiv GCF (pg)	$\bar{x} = 31,39$ $s = 7,29$ $\emptyset = 27,75$ min = 23,81 max = 46,21	$\bar{x} = 33,72$ $s = 6,75$ $\emptyset = 35,71$ min = 23,02 max = 47,83	p = 0,262
Ghrelin total Serum (pg)	$\bar{x} = 386,26$ $s = 387,74$ $\emptyset = 354,71$ min = 106,63 max = 1679,5	$\bar{x} = 289,42$ $s = 211,94$ $\emptyset = 204,58$ min = 62,29 max = 688,67	p = 0,561
Ghrelin aktiv Serum (pg)	$\bar{x} = 27,77$ $s = 33,32$ $\emptyset = 12,98$ min = 0 max = 102,76	$\bar{x} = 42,65$ $s = 60,69$ $\emptyset = 30,13$ min = 0,62 max = 253,25	p = 0,271

Beim Gesamtghrelin in der Sulkusflüssigkeit konnte man Signifikanzen ($p = 0,032$) nachweisen, wobei es bei der normalgewichtigen Gruppe in der Sulkusflüssigkeit signifikant höher als bei der übergewichtigen Gruppe war. Das Gesamtghrelin im Serum war bei den Übergewichtigen etwas höher als bei den Normalgewichtigen, jedoch nicht signifikant. Auch hier waren die höchsten Gesamtghrelinwerte im Serum zu finden. Alle weiteren Ghrelinwerte bewegten sich im ähnlichen Bereich.

4.3.3 Gesund / Gingivitis übergewichtig vs. normalgewichtig

In den Tabellen 12 und 13 erfolgt die Gegenüberstellung der normal- und übergewichtigen parodontal Gesunden / Gingivitispatienten. Bei einem Probanden war das Serum im Labor nicht auswertbar.

Tabelle 12: Klinische Variablen gesund / Gingivitis übergewichtig vs. normalgewichtig

	GÜ N = 15	GN N = 15	U-Test
Alter (Jahre)	38,9 ± 13,4	37,2 ± 12,6	
Geschlecht (m/w)	m = 9 w = 6	m = 3 w = 12	
BMI	$\bar{x} = 29$ s = 4 $\emptyset = 27$	$\bar{x} = 21$ s = 1 $\emptyset = 22$	p = 0,001
API (%)	$\bar{x} = 26$ s = 13 $\emptyset = 21$	$\bar{x} = 15$ s = 9 $\emptyset = 15$	p = 0,025
SBI (%)	$\bar{x} = 7$ s = 8 $\emptyset = 7$	$\bar{x} = 5$ s = 5 $\emptyset = 4$	p = 0,203
BOP (%)	$\bar{x} = 12$ s = 16 $\emptyset = 0$	$\bar{x} = 7$ s = 11 $\emptyset = 0$	p = 0,392
PD gesamt (mm)	$\bar{x} = 1,93$ s = 0,13 $\emptyset = 1,93$	$\bar{x} = 1,82$ s = 0,18 $\emptyset = 1,85$	p = 0,046
PD Entnahme (mm)	$\bar{x} = 2,85$ s = 0,25 $\emptyset = 3,00$	$\bar{x} = 2,82$ s = 0,26 $\emptyset = 3,00$	p = 0,736

Das Alter war bei beiden Gruppen ausgeglichen. Bei den Normalgewichtigen überwog mit 12:3 der Anteil der Frauen stark. Der BMI der übergewichtigen Gruppe war signifikant höher ($p = 0,001$) als der der normalgewichtigen Probanden. Beim Mann-Whitney-U-Test traten signifikante Unterschiede beim API ($p = 0,025$) auf, womit die Gruppe der Übergewichtigen einen signifikant erhöhten API und somit eine schlechtere Mundhygiene aufwies. Auch der SBI und BOP waren etwas höher als bei Normalgewicht, jedoch nicht signifikant. Weiterhin waren die Sondierungstiefen mit $p = 0,046$ signifikant erhöht. Die übergewichtige Gruppe wies mit $\bar{x} = 1,93$ mm signifikant höhere Sondierungstiefen auf.

Tabelle 13: Ghrelin gesund / Gingivitis übergewichtig vs. normalgewichtig

	GÜ (Serum N = 14)	GN	U-Test
Ghrelin total Speichel (pg)	$\bar{x} = 124,31$ s = 100,44 $\emptyset = 110,64$ min = 21,11 max = 466,93	$\bar{x} = 174,32$ s = 153,22 $\emptyset = 106,63$ min = 71,96 max = 645,21	p = 0,604
Ghrelin aktiv Speichel (pg)	$\bar{x} = 33,50$ s = 14,71 $\emptyset = 30,92$ min = 11,46 max = 78,37	$\bar{x} = 37,69$ s = 16,81 $\emptyset = 31,72$ min = 20,68 max = 88,42	p = 0,506
Ghrelin total GCF (pg)	$\bar{x} = 306,97$ s = 238,95 $\emptyset = 144,54$ min = 98,43 max = 888,61	$\bar{x} = 175,37$ s = 148,48 $\emptyset = 122,34$ min = 102,56 max = 669,05	p = 0,067
Ghrelin aktiv GCF (pg)	$\bar{x} = 32,44$ s = 6,10 $\emptyset = 34,11$ min = 19,9 max = 40,54	$\bar{x} = 31,25$ s = 3,36 $\emptyset = 30,13$ min = 26,17 max = 37,32	p = 0,442
Ghrelin total Serum (pg)	$\bar{x} = 333,63$ s = 227,85 $\emptyset = 315,97$ min = 89,95 max = 669,05	$\bar{x} = 349,87$ s = 234,09 $\emptyset = 332,80$ min = 21,11 max = 888,61	p = 0,948
Ghrelin aktiv Serum (pg)	$\bar{x} = 50,86$ s = 65,49 $\emptyset = 19,90$ min = 5,52 max = 236,42	$\bar{x} = 54,77$ s = 63,14 $\emptyset = 36,13$ min = 1,28 max = 252,36	p = 0,485

Das Gesamtghrelin in der Sulkusflüssigkeit war bei Übergewicht etwas höher als bei Normalgewicht, im Speichel war dies genau umgekehrt. Die höchsten Gesamtghrelinwerte konnten im Serum nachgewiesen werden. Alle weiteren Ghrelinwerte bewegten sich in ähnlichen Bereichen und wiesen keine Signifikanzen auf.

4.3.4 Parodontitis übergewichtig vs. gesund / Gingivitis übergewichtig

Die Tabellen 14 und 15 stellen die beiden übergewichtigen Gruppen gegenüber.

Tabelle 14: Klinische Variablen Parodontitis übergewichtig vs. gesund / Gingivitis übergewichtig

	PÜ N = 15	GÜ N = 15	U-Test
Alter (Jahre)	46,7 ± 14,7	38,9 ± 13,4	
Geschlecht (m/w)	m = 8 w = 7	m = 9 w = 6	
BMI	$\bar{x} = 30$ s = 3 $\emptyset = 29$	$\bar{x} = 29$ s = 4 $\emptyset = 27$	p = 0,272
API (%)	$\bar{x} = 28$ s = 10 $\emptyset = 30$	$\bar{x} = 26$ s = 13 $\emptyset = 21$	p = 0,547
SBI (%)	$\bar{x} = 10$ s = 6 $\emptyset = 7$	$\bar{x} = 7$ s = 8 $\emptyset = 7$	p = 0,129
BOP (%)	$\bar{x} = 40$ s = 21 $\emptyset = 25$	$\bar{x} = 12$ s = 16 $\emptyset = 0$	p = 0,001
PD gesamt (mm)	$\bar{x} = 2,39$ s = 0,35 $\emptyset = 2,33$	$\bar{x} = 1,93$ s = 0,13 $\emptyset = 1,93$	p = 0,001
PD Entnahme (mm)	$\bar{x} = 4,12$ s = 0,60 $\emptyset = 4,00$	$\bar{x} = 2,85$ s = 0,25 $\emptyset = 3,00$	p = 0,001

Die Parodontitisgruppe war mit einem Mittelwert von 47 Jahren sieben Jahre älter als die gesunde / Gingivitis- Gruppe. Bei Parodontitis war das Geschlechterverhältnis ausgeglichen, bei den Gesunden / Gingivitispatienten hingegen überwog der weibliche Anteil. Der BMI bewegte sich in ähnlichen Bereichen.

Der API und SBI waren bei den übergewichtigen Parodontitispatienten etwas höher, allerdings nicht deutlich messbar. Der BOP bei Parodontitis war signifikant (p = 0,001) höher und auch die Sondierungstiefen (insgesamt und an den Entnahmestellen) fielen mit p = 0,001 statistisch auf.

Tabelle 15: Ghrelin Parodontitis übergewichtig vs. gesund / Gingivitis übergewichtig

	PÜ	GÜ	U-Test
Ghrelin total Speichel (pg)	$\bar{x} = 206,71$ s = 187,56 $\emptyset = 110,64$ min = 40,81 max = 688,67	$\bar{x} = 124,31$ s = 100,44 $\emptyset = 110,64$ min = 21,11 max = 466,93	p = 0,519
Ghrelin aktiv Speichel (pg)	$\bar{x} = 37,80$ s = 12,93 $\emptyset = 37,32$ min = 21,46 max = 65,9	$\bar{x} = 33,50$ s = 14,71 $\emptyset = 30,92$ min = 11,46 max = 78,37	p = 0,361
Ghrelin total GCF (pg)	$\bar{x} = 117,67$ s = 31,51 $\emptyset = 118,49$ min = 51,99 max = 165,48	$\bar{x} = 306,97$ s = 238,95 $\emptyset = 144,54$ min = 98,43 max = 888,61	p = 0,014
Ghrelin aktiv GCF (pg)	$\bar{x} = 31,39$ s = 7,29 $\emptyset = 27,75$ min = 23,81 max = 46,21	$\bar{x} = 32,44$ s = 6,10 $\emptyset = 34,11$ min = 19,9 max = 40,54	p = 0,493
Ghrelin total Serum (pg)	$\bar{x} = 386,26$ s = 387,74 $\emptyset = 354,71$ min = 106,63 max = 1679,5	$\bar{x} = 333,63$ s = 227,85 $\emptyset = 315,97$ min = 89,95 max = 669,05	p = 0,885
Ghrelin aktiv Serum (pg)	$\bar{x} = 27,77$ s = 33,32 $\emptyset = 12,98$ min = 0 max = 102,76	$\bar{x} = 50,86$ s = 65,49 $\emptyset = 19,90$ min = 5,52 max = 236,42	p = 0,206

Beim Mann-Whitney-U-Test traten beim Gesamtghrelin signifikante Unterschiede in der Sulkusflüssigkeit (p = 0,014) auf, wobei die parodontal gesunde / Gingivitis-Gruppe deutlich höhere totale Ghrelinwerte in der GCF als die Gruppe mit Parodontitis aufwies.

Das Gesamtghrelin im Serum und Speichel bei den Probanden mit Parodontitis war etwas höher als bei den Gesunden / Gingivitis-Patienten. Deren aktives Ghrelin im Serum war tendenziell etwas höher, jedoch nicht signifikant. Allgemein waren die höchsten Gesamtghrelinwerte im Serum zu finden. Die weiteren Ghrelinwerte bewegten sich annähernd im gleichen Bereich.

4.3.5 Parodontitis normalgewichtig vs. gesund / Gingivitis normalgewichtig

In den Tabellen 16 und 17 erfolgt die Gegenüberstellung der beiden normalgewichtigen Gruppen.

Tabelle 16: Klinische Variablen Parodontitis normalgewichtig vs. gesund / Gingivitis normalgewichtig

	PN N = 15	GN N = 15	U-Test
Alter (Jahre)	46,7 ± 14,7	37,2 ± 12,6	
Geschlecht (m/w)	m = 2 w = 13	m = 3 w = 12	
BMI	$\bar{x} = 23$ s = 2 $\emptyset = 23$	$\bar{x} = 21$ s = 1 $\emptyset = 22$	p = 0,014
API (%)	$\bar{x} = 31$ s = 10 $\emptyset = 36$	$\bar{x} = 15$ s = 9 $\emptyset = 15$	p = 0,001
SBI (%)	$\bar{x} = 6$ s = 4 $\emptyset = 7$	$\bar{x} = 5$ s = 5 $\emptyset = 4$	p = 0,378
BOP (%)	$\bar{x} = 43$ s = 18 $\emptyset = 50$	$\bar{x} = 7$ s = 11 $\emptyset = 0$	p = 0,001
PD gesamt (mm)	$\bar{x} = 2,24$ s = 0,23 $\emptyset = 2,21$	$\bar{x} = 1,82$ s = 0,18 $\emptyset = 1,85$	p = 0,001
PD Entnahme (mm)	$\bar{x} = 4,10$ s = 0,61 $\emptyset = 4,00$	$\bar{x} = 2,82$ s = 0,26 $\emptyset = 3,00$	p = 0,001

Die normalgewichtigen Parodontitispatienten waren mit einem Mittelwert von 47 Jahren zehn Jahre älter als die parodontal gesunden / Gingivitis-Patienten. In beiden Gruppen überwog der Frauenanteil stark. Der BMI war bei der Parodontitisgruppe mit $p = 0,014$ signifikant höher. Auch der API, BOP und die Sondierungstiefen (insgesamt und an den Entnahmestellen) waren signifikant höher ($p = 0,001$) als bei den Gesunden / Gingivitispatienten. Der SBI war bei beiden Gruppen annähernd gleich.

**Tabelle 17: Ghrelin Parodontitis normalgewichtig vs. gesund / Gingivitis
normalgewichtig**

	PN	GN	U-Test
Ghrelin total Speichel (pg)	$\bar{x} = 187,58$ $s = 125,08$ $\emptyset = 155,15$ min = 51,99 max = 531,08	$\bar{x} = 174,32$ $s = 153,22$ $\emptyset = 106,63$ min = 71,96 max = 645,21	p = 0,271
Ghrelin aktiv Speichel (pg)	$\bar{x} = 33,51$ $s = 7,39$ $\emptyset = 34,11$ min = 19,13 max = 51,1	$\bar{x} = 37,69$ $s = 16,81$ $\emptyset = 31,72$ min = 20,68 max = 88,42	p = 0,967
Ghrelin total GCF (pg)	$\bar{x} = 199,79$ $s = 166,88$ $\emptyset = 140,94$ min = 114,59 max = 645,21	$\bar{x} = 175,37$ $s = 148,48$ $\emptyset = 122,34$ min = 102,56 max = 669,05	p = 0,359
Ghrelin aktiv GCF (pg)	$\bar{x} = 33,72$ $s = 6,75$ $\emptyset = 35,71$ min = 23,02 max = 47,83	$\bar{x} = 31,25$ $s = 3,36$ $\emptyset = 30,13$ min = 26,17 max = 37,32	p = 0,243
Ghrelin total Serum (pg)	$\bar{x} = 289,42$ $s = 211,94$ $\emptyset = 204,58$ min = 62,29 max = 688,67	$\bar{x} = 349,87$ $s = 234,09$ $\emptyset = 332,80$ min = 21,11 max = 888,61	p = 0,471
Ghrelin aktiv Serum (pg)	$\bar{x} = 42,65$ $s = 60,69$ $\emptyset = 30,13$ min = 0,62 max = 253,25	$\bar{x} = 54,77$ $s = 63,14$ $\emptyset = 36,13$ min = 1,28 max = 252,36	p = 0,337

Das totale und aktive Ghrelin im Serum war bei den parodontal Gesunden / Gingivitis-Patienten etwas höher, jedoch nicht bedeutsam. Alle weiteren Ghrelinwerte bewegten sich im ähnlichen Bereich und wiesen keine Signifikanzen auf.

5. Diskussion

5. 1 Methoden und klinische Durchführung

Die vorliegende Studie untersuchte Ghrelin in Speichel, Sulkusflüssigkeit und Blutserum als möglichen Biomarker bei Parodontitis und / oder Übergewicht. Die Parodontitis- und parodontal gesunden / Gingivitis- Gruppen wurden weiter nach BMI in Normal- und Übergewicht unterteilt. Patienten mit erhöhtem BMI aufgrund eines höheren Muskelvolumens, resultierend aus intensivem Kraftsport, wurden dabei nicht berücksichtigt. Einzelpersonen mit einem BMI ≥ 25 wurden nicht zusätzlich in Übergewicht und Adipositas unterteilt, was eine Einschränkung der Studie bedeuten könnte. Eine weitere Einschränkung könnte das jüngere Alter in der parodontal gesunden / Gingivitis- Gruppe im Vergleich zu den parodontal Erkrankten sein. Dies kann mit der Tatsache zusammenhängen, dass die Prävalenz der Parodontitis in Deutschland hoch ist und mit steigendem Alter zunimmt (Schutzhold et al. 2015).

Bei der Studie lautete die Hypothese: Es gibt signifikante Unterschiede bei der Ghrelinkonzentration in Speichel, Sulkusflüssigkeit und / oder Blutserum bei parodontal gesunden / Gingivitis-Patienten und parodontal Erkrankten bzw. Normal- und Übergewicht. Diese galt es zu bestätigen oder zu widerlegen.

Da eine absolute Entzündungsfreiheit der Gingiva bei Erwachsenen eher selten ist, wurde nur eine schwere Gingivitis ausgeschlossen. Patienten mit positiven BOP-Werten wurden dementsprechend mit bewertet. Hinzu kommt, dass die untersuchten Parodontitispatienten größtenteils nur niedrige Sondierungstiefen und somit nicht ausschließlich eine moderate bis schwere chronische Parodontitis aufwiesen.

Meßfehler bei Sondierungstiefen bzw. der Körpergröße und dem -gewicht sind vernachlässigbar gering, da alle Werte von einem einzigen Behandler gemessen und dokumentiert wurden. Lediglich bei der Entnahme von Sulkusflüssigkeit kann ein striktes Abhalten des Speichels mittels Watterollen nicht garantiert werden, was zum Vermischen von Sulkusflüssigkeit und Speichel und somit zur Verfälschung der Ergebnisse führen könnte.

Das zum Ghrelinnachweis angewandte ELISA-Verfahren unterliegt zusätzlich möglichen Fehlerquellen. Häufig treten Kreuzreaktionen, unspezifische Bindungen und Matrixeffekte auf. Störer können in mehr oder weniger großen Konzentrationen in Realproben vorkommen und direkt mit den Analyten oder mit den Fänger- bzw. Detektorantikörpern interagieren (Rauch und Zellmer 2005). Bei ELISAs kann man einen hohen Background bei der Leerwertkontrolle oder falschpositive beziehungsweise falschnegative Meßsignale erhalten.

5.2 Bewertung und Beurteilung der Ergebnisse

Grundsätzlich kann man feststellen, dass die Mundhygiene bei den parodontal gesunden bzw. Gingivitis-Probanden mit einem BMI ≥ 25 schlechter war als bei BMI < 25 . In der vorliegenden Studie ergaben sich zwischen den vier untersuchten Gruppen signifikante Unterschiede hinsichtlich des Alters ($p = 0,025$) und des Geschlechts ($p = 0,014$). Außerdem unterschieden sich die mittlere Sondierungstiefe, die Anzahl der Stellen mit PD ≥ 4 mm, der mittlere AI, BOP und der API signifikant zwischen den Gruppen. Der API war bei der Parodontitisgruppe signifikant höher als bei der parodontal gesunden / Gingivitis-Gruppe. Wesentlich höher war der BOP der parodontal Erkrankten, auch die Sondierungstiefen (insgesamt und an den Entnahmestellen) waren deutlich erhöht. Beim Vergleich der beiden normalgewichtigen Gruppen war der BMI bei der Parodontitisgruppe (PN) mit $p = 0,014$ signifikant höher.

Die Werte von Gesamtghrelin wurden mit azyliertem Ghrelin im Speichel assoziiert ($R = 0,538$; $p < 0,001$), jedoch nicht im Sulkus. Die niedrigsten Werte von azyliertem Ghrelin in der Sulkusflüssigkeit wurden bei den parodontal gesunden / Gingivitis-Probanden mit einem BMI ≥ 25 gemessen, wobei es jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen gab.

Beim Vergleich der PN-Gruppe (140 pg / Stelle im Median) mit der GÜ-Gruppe (145 pg / Stelle im Median) unterschied sich die Konzentration des Gesamtghrelins in der Sulkusflüssigkeit signifikant zwischen den Gruppen ($p = 0,038$). Die parodontal gesunden / Gingivitis-Patienten (GÜ) wiesen signifikant höhere Gesamtghrelinwerte ($p = 0,014$) in der Sulkusflüssigkeit als die Gruppe mit vorliegender Parodontiserkrankung (PÜ) auf. Die Ghrelinausschüttung in die parodontale Tasche scheint bei Übergewicht im parodontal gesunden / Gingivitis-Zustand höher als bei parodontal erkrankten Patienten zu sein.

Bei der normalgewichtigen Gruppe war das Gesamtghrelin in der Sulkusflüssigkeit signifikant höher als bei der übergewichtigen Gruppe ($p = 0,032$). Liegt eine chronische Parodontitis vor, scheint die Ghrelinausschüttung bei Normalgewicht höher als bei Übergewicht zu sein. Jedoch zeigte sich dies in unserer Studie nur in der Sulkusflüssigkeit und nicht im Speichel bzw. Serum.

Es wurden bei unseren Untersuchungen niedrigere Werte von Gesamtghrelin bei parodontal erkrankten Patienten mit BMI ≥ 25 gefunden. Diese Ergebnisse sind ähnlich einer Studie von Mohamed et al. (2015), die 50 adipöse Personen ohne Diabetes Typ 2 und die Rolle von Ghrelin, Leptin und Insulinresistenz bei der Entwicklung des metabolischen Syndroms untersuchten. Dabei entdeckten sie eine negative Korrelation zwischen Plasma-Ghrelin und BMI.

Es ist bekannt, dass in der Sulkusflüssigkeit sowohl mikrobiologische als auch immunologische und systemische Parameter gemessen werden können (Armitage 2004). Dabei konnte gezeigt werden, dass sich Papierstreifen zur simultanen Messung von immunologischen und mikrobiellen Ergebnissen am Besten eignen (Guentsch et al. 2013).

Aus unseren Ergebnissen geht hervor, dass hauptsächlich in der Sulkusflüssigkeit signifikante Unterschiede bei den Ghrelinkonzentrationen auftraten. Sie scheint durch ihre Spülfunktion eine wichtige Rolle bei der Parodontitisgenese einzunehmen. Dies bestätigen auch Untersuchungen von Stadler et al. (2016), die nachweisen konnten, dass Patienten mit chronischer Parodontitis signifikant mehr Sulkusflüssigkeit als parodontal gesunde Probanden aufweisen. Außerdem wurden signifikante Unterschiede bei den proinflammatorischen Zytokinen (IL 1 β , IL 4, IL 6, IL 17 und IFN-c) zwischen parodontal gesunden und erkrankten Patienten in der GCF entdeckt.

Bei unseren Untersuchungen wiesen die normalgewichtigen Parodontitispatienten eine höhere Konzentration Gesamtghrelin in der Sulkusflüssigkeit auf. Zusätzlich zeigten die übergewichtigen parodontal gesunden / Gingivitis-Patienten eine höhere Ghrelinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit als die parodontal Erkrankten. Dies könnte dadurch bedingt sein, dass das azylierte Ghrelin auch in den Speicheldrüsen der Mundhöhle produziert und freigesetzt wird, laut Ohta et al. (2011) in der Sulkusflüssigkeit vorkommt und eine entzündungshemmende Wirkung auf Gingivazellen zu haben scheint. Es wird zusätzlich vermutet, dass Ghrelin die Proliferation von oralen Keratinozyten unterstützt. Hinzu kommt, dass Ghrelin eine zellschützende Funktion vor Alkohol-Toxizität durch Aktivierung der Azinuszellen der Speicheldrüsen haben soll (Slomiany und Slomiany 2010).

Laut Ohta et al. (2011) wird Ghrelin auch im Gingivaepithel und in Fibroblasten der Lamina propria exprimiert. Sie entdeckten bei einer Untersuchung an zwölf parodontal gesunden Probanden, dass Ghrelin durch die Unterdrückung der Produktion von IL 8 und TNF- α das parodontale Gewebe vor oxidativer Zerstörung durch Anhäufung von Neutrophilen schützt. Zusätzlich steigert es die intrazelluläre Calcium-Mobilisation und das cAMP-Level in den oralen Epithelzellen. Das azylierte und Gesamtghrelin war bei übergewichtigen Parodontitispatienten in der Sulkusflüssigkeit am niedrigsten, was sich mit unseren Ergebnissen deckt. So weisen adipöse Probanden einen niedrigeren Desazyl- und Gesamtghrelinspiegel auf, im Gegensatz dazu ist der Azyl-Ghrelin-Gehalt im Vergleich zur normalgewichtigen Vergleichsgruppe signifikant erhöht. Es wird angenommen, dass die hohe Ghrelinkonzentration in der GCF einen größeren Einfluss auf die Regulierung der IL 8-Produktion der Gingiva und des oralen Epithels hat als epitheliales autokrines Ghrelin. Daher wird außerdem vermutet, dass der hohe Ghrelinspiegel durch die Fibroblasten in der Lamina propria und in geringerem Maße durch Gingiva-Epithelzellen, nicht aber aus den Serum-

Exsudaten, eine Rolle bei der IL 8-Regulation spielt. Ohta et al. (2011) stellten außerdem fest, dass Ghrelin in der Sulkusflüssigkeit in 500-fach höherer Konzentration als im Speichel oder Plasma auftritt. Dies können unsere Untersuchungen nicht bestätigen, was an unterschiedlichen Einschlusskriterien liegen könnte. Bei Ohta et al. (2011) wurde ein positiver BOP als Ausschlusskriterium angesehen, wobei in unseren Untersuchungen nur eine schwere Gingivitis ausgeschlossen wurde. Darüber hinaus war die Ghrelinkonzentration im Serum niedriger als die in der Sulkusflüssigkeit bzw. dem Speichel. Dieses Ergebnis wird durch eine Studie mit einem höheren Ghrelinspiegel im Speichel im Vergleich zum Plasma an 30 gesunden Probanden unterstützt (Aydin et al. 2006). Die Speichelgewinnung erfolgte bei Aydin et al. (2006) nach einem Fasten über Nacht und die Ghrelinkonzentration wurde ebenfalls mittels ELISA bestimmt.

Auch Gröschl et al. (2005) führten Studien an Ghrelin durch, bei denen der Vergleich der Gesamtghrelin-Werte für gesunde Probanden signifikant niedrigere Konzentrationen im Speichel als im Serum zeigte. Die Inkubation von Keratinozyten mit Ghrelin führte zu einer signifikant erhöhten Zellproliferation. Dies könnte bedeuten, dass Ghrelin im Speichel Potential hat die Proliferation von oralen Keratinozyten zu fördern.

Im Serum wurden bei unseren Untersuchungen keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt, was im Gegensatz zu den Befunden von Yilmaz et al. (2014) mit höheren Werten von sowohl azyliertem als auch Gesamtghrelin bei chronischer Parodontitis steht. Bei Yilmaz et al. (2014) wurden die Plasmaspiegel von Gesamt- und azyliertem Ghrelin bei Patienten mit chronischer Parodontitis untersucht. Des Weiteren untersuchten sie die Beziehung zwischen Gesamt- und azyliertem Ghrelinspiegel im Plasma, klinischen parodontalen Parametern und Serummarkern von Knochenumsatz und Entzündung. Die Plasmaspiegel von Gesamt- und azyliertem Ghrelin waren in der Parodontitisgruppe im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöht. Dieser Unterschied war nur zwischen Männern der parodontal gesunden und erkrankten Gruppe zu erkennen. In unserer Studie entdeckten wir keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bei den Ghrelinwerten, was durch unseren hohen Frauenanteil bedingt sein könnte.

In der Literatur finden sich widersprüchliche Ergebnisse über die Auswirkungen der Geschlechtszugehörigkeit auf die Ghrelinspiegel. Einige dieser Studien haben gezeigt, dass das Geschlecht keinen Einfluss auf die Ghrelinlevel hat (Purnell et al. 2003, Vendrell et al. 2004), während andere darauf hinwiesen, dass die Ghrelinspiegel bei Frauen höher waren (Ingelsson et al. 2008, Makovey et al. 2007). So fanden Aydin et al. (2006) höhere Speichel-Ghrelin-Werte bei den weiblichen im Vergleich zu den männlichen Probanden. Außerdem erhöhten sich die Werte vor jeder Mahlzeit und fielen wieder nach dem Essen. Sie zeigten einen zirkadianen Rhythmus, der während des Tages zu einem Zenit um 15 Uhr aufstieg und

dann um 18 bis 21 Uhr wieder sank. Zudem wurde eine schwache Korrelation zum BMI beobachtet.

Bei Yilmaz et al. (2014) waren die azylierten Ghrelinspiegel bei Frauen mit chronischer Parodontitis niedriger als in der gesunden Gruppe, jedoch nicht statistisch bedeutsam. Die geringe Anzahl von weiblichen Probanden in den Gruppen stellte hierbei eine Einschränkung der Studie dar.

Kozakowski et al. (2008) fanden mit dem Alter abnehmende Serum-Ghrelinspiegel bei Männern und niedrigere als bei Frauen. In ihren Untersuchungen wiesen Männer unter 30 Jahren höhere Serum-Ghrelinspiegel im Vergleich zu Männern über 60 Jahren auf.

Trotz widersprüchlicher Ergebnisse wurde azyliertes Ghrelin bei Parodontitispatienten signifikant mit dem Geschlecht assoziiert. Dieses Ergebnis legt nahe, dass die Ghrelinspiegel durch Sexualhormone beeinflusst werden können und dass die Stärke der Entzündung durch verschiedene Mechanismen bei Männern und Frauen reguliert wird. Ähnlich den Untersuchungen von Yilmaz et al. (2014) entdeckte Cicero et al. (2011), dass Ghrelin spezifische Wechselwirkungen mit Sexualhormonen hat und dass das Verhältnis von Testosteron zu Östrogen eine der Hauptdeterminanten der Ghrelinspiegel bei Frauen ist.

Viele dieser Studien berichteten von zirkulierenden Ghrelinspiegeln, die von Entzündungen und Zytokinen beeinflusst werden können. Es ist jedoch immer noch unbekannt, wie die Schwere der Entzündung und / oder die Phase des Krankheitsverlaufs Auswirkungen auf die Ghrelinspiegel haben könnte. Beziehungsweise könnten auch die Ghrelinspiegel Auswirkungen auf die Schwere der Entzündung haben, was plausibler erscheint. Darüber hinaus wurden in den meisten Studien nur Gesamtghrelinspiegel ausgewertet und selten Versuche durchgeführt um die azylierten oder desazylierten Mengen zu bestimmen. Die Azylierung von Ghrelin ist jedoch entscheidend für die Entzündungshemmung (Baatar et al. 2011). Daher wurden bei unserer Studie zusätzlich zu Gesamtghrelin auch die azylierten Ghrelinspiegel berücksichtigt.

In zahlreichen Untersuchungen an Nagetieren wurde herausgefunden, dass Ghrelin ein vielversprechendes Therapeutikum bei der Behandlung von entzündlichen Krankheiten und Verletzungen zu sein scheint, da es die Lymphozytenentwicklung in den primären Lymphorganen fördert (Taub et al. 2010, Li et al. 2004, Hattori 2009, Smith et al. 2005).

Die Ergebnisse können bestätigen, dass das Level und die Azylierung von Ghrelin eng reguliert sind. Bakteriell LPS reduziert die Mengen an desazyliertem Ghrelin und die Expression des Ghrelin-Azylierungsenzyms Ghrelin-O-Azyltransferase (GOAT), was zu einer signifikanten Abnahme von azyliertem Ghrelin im Tiermodell führt (Stengel et al. 2010).

Auch IL 1 β vermindert die Plasma-Ghrelin Spiegel (Wang et al. 2006). Eine Verabreichung von Ghrelin inhibiert die Entzündungsreaktion, die durch verminderte Spiegel von IL 1 β und TNF- α (Huang et al. 2009) gezeigt wird, verstärkt die entzündungshemmende Wirkung (Au et al. 2017) und setzt vermehrt entzündungshemmendes Zytokin IL 10 frei (Waseem et al. 2008). Seine vermutete anti-inflammatorische Wirkung scheint Ghrelin auf verschiedenen Wegen zu entfalten. Es hemmt NF- κ B (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells), einen essentiellen Transkriptionsfaktor vieler inflammatorischer Zytokine, vor allem Interleukin 1 β (IL 1 β), Interleukin 6 (IL 6) und den Tumornekrosefaktor- α (TNF- α). Außerdem schwächt es eine vom T-Helferzell-Typ-1 induzierte Immunreaktion ab. Die durch azyliertes Ghrelin ausgeschütteten Hormone (GH) und IGF-1 wirken ebenfalls inhibitorisch auf das Immunsystem (Hattori et al. 2001, Gonzalez-Rey et al. 2006, Miyake und Yamamura 2009). Daher kann die potenzielle Wirkung von Ghrelin bei der Parodontitis ein positiver modulatorischer Effekt auf das Immunsystem sein.

Eine weitere Rolle bei der Pathogenese der chronischen Parodontitis scheint die Matrix-Metallo-Proteinase 8 (aMMP8) zu spielen (Ingman et al. 1996, Kiili et al. 2002), welche bei unseren Studien nicht untersucht wurde. Die aMMP8 steht am Ende der granulozytären Entzündungskaskade und ist verantwortlich für den Gewebeabbau, weil sie die Kollagenfasern des Zahnhalteapparates zerstört. Diverse Studien belegen einen Rückgang der zuvor erhöhten aMMP-8 Konzentration nach der Behandlung der Parodontitis (Chen et al. 2000, Mäntylä et al. 2006). Eine weitere, noch nicht vollständig beantwortete Frage bei der Pathogenese der Parodontitis ist das Zusammenspiel immunologischer Botenstoffe miteinander.

Es wurde nachgewiesen, dass das Ghrelinlevel bei vielen akuten und chronischen Entzündungen oder Autoimmunerkrankungen wie ulzerativer Kolitis, Sepsis, Pankreatitis und rheumatoider Arthritis steigt und oft im Zusammenhang mit Kachexie und Anorexie steht (Jacob et al. 2010, Otero et al. 2005). In ähnlicher Weise haben Chow et al. (2009) angegeben, dass Ghrelin einen entzündungshemmenden Einfluss auf die LPS in humanen vaskulären glatten Muskel- und Endothelzellen hat.

Die therapeutische Wirkung von Ghrelin wird hauptsächlich durch die Verringerung der Sekretion von High Mobility Group Box Protein 1 (HMGB1), einem DNA-bindenden Faktor, der als später Entzündungsfaktor für die Sepsis-Progression wirkt, vermittelt (Chorny et al. 2008). Dabei scheinen Makrophagen die Hauptzellziele in der Hemmung der HMGB1-Sekretion zu sein, in der Ghrelin seine zytoplasmatische Translokation blockiert.

Interessanterweise berichten Chorny et al. (2008) außerdem, dass Ghrelin eine starke antibakterielle Aktivität bei septischen Mäusen und in vitro zeigt. Es verringert auch die Schwere der experimentellen Arthritis und die Freisetzung von HMGB1 im Serum. Daher ist

durch die Regulierung der Produktion von frühen und späten Entzündungsmediatoren durch Makrophagen und die mikrobielle Belastung Ghrelin ein mögliches therapeutisches Mittel bei Sepsis und andere entzündliche Erkrankungen.

Auch Min et al. (2012) untersuchten die antimikrobielle Aktivität von Ghrelin. Dabei fanden sie heraus, dass die Menge an azyliertem und desazyliertem Ghrelin im Serum mit antimikrobieller Wirkung fast 10-fach höher ist als die Menge, die für hormonelle Effekte aktiv ist. Ghrelin besitzt antimikrobielle Aktivitäten gegen grampositive Bakterien, wohin gegen diese bei gramnegativen Bakterien nur minimal zu sein scheinen. Dafür ist vermutlich seine kationische Eigenschaft verantwortlich.

Zusammenfassend zeigten diese Ergebnisse, dass die bakteriziden Wirkungen von Ghrelin durch seine ladungsabhängige Bindung an Bakterien und damit unabhängig von der Ghrelin-Azyl-Modifikation vermittelt werden.

Mafra et al. (2011) stellten dar, dass die Gesamtghrelin-Konzentration im Serum positiv mit den TNF- α - und IL 6-Spiegel korrelierte. Wu et al. (2007) haben dagegen festgestellt, dass Ghrelin TNF- α und IL 6 verringert und die akute Lungenschädigung (ALI) z. B. nach Lungenentzündung bei septischen Ratten verbessert. Diese Effekte sind teilweise mit der Stimulierung des Vagusnervs und der Hemmung der sympathischen Nervenaktivität durch Ghrelin verbunden.

Die biologische Wirkung von Ghrelin auf das Immunsystem umfasst die Dämpfung septischer Schocks, die Förderung der Thymopoese während des Alterns bei Mäusen sowie die Hemmung der Expression von proinflammatorischen Zytokinen durch humane Monozyten und T-Lymphozyten (Chang et al. 2003, Dixit et al. 2004). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass Ghrelin auch die Lymphozytenentwicklung in den primären lymphoiden Organen (Knochenmark und Thymus) fördert und die altersbedingte Thymusrückbildung hemmt (Baatar et al. 2011).

Verschiedene Untersuchungen (Rigamonti et al. 2002, Akamizu et al. 2006, Nass et al. 2007) bestätigten, dass die Ghrelinproduktion altersabhängig ist und mit steigendem Alter abnimmt. Beim Menschen sinken die Wachstumshormon-Spiegel nach dem 25. Lebensjahr pro Jahrzehnt um etwa 15 % (Sherlock and Toogood 2007). Der Rückgang des GH mit dem Alter ist mit vielen negativen Auswirkungen wie der Abnahme des Appetits sowie der Energieaufnahme verbunden (Akamizu et al. 2006, Nass et al. 2007). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Plasmaspiegel von azyliertem Ghrelin die altersbedingten Veränderungen der Wachstumshormons-/ IGF-I-Regulation, des Blutdrucks und der Darmmotilität beeinflussen können.

Rigamonti et al. (2002) untersuchten zwölf junge (27-39 Jahre) und sieben ältere (67-91 Jahre) gesunde Probanden mit normalem Gewicht, sieben Patienten mit krankhafter Adipositas (im Alter von 16–36 Jahren) und sechs Patienten mit aktiver Anorexie (17–18

Jahre). Durch diese Studie wurde ein altersbedingter Rückgang der Plasma-Ghrelin-Konzentrationen nachgewiesen, der in Verbindung mit der verminderten GH-Ausschüttung und / oder der Anorexie älterer Menschen stehen könnte. Ob die Abnahme der Ghrelinspiegel auf die Alterung an sich zurückzuführen ist oder ob es sich lediglich um eine altersbedingte Folge der Veränderungen in anderen Parametern handelt, wurde dabei nicht geklärt.

Auch Dixit et al. (2009) untersuchten den Einfluss von Ghrelin auf die immunologischen Veränderungen im Alter. Dabei wurde alten Mäusen azyliertes Ghrelin unter Verwendung von subkutan implantierten osmotischen Minipumpen für einen Zeitraum von zwei Wochen verabreicht. Die Ghrelin-Infusion führte zu einer signifikanten Reduktion von proinflammatorischen Zytokinen wie IL 6, TNF- α , IL 12 und IL 17 im Serum und Gewebe der alten Mäuse. Die Ghrelin-Expression in den T-Zellen spielt eine wichtige Rolle bei der Hemmung proinflammatorischer Zytokine. Somit scheint Ghrelin tatsächlich eine regulatorische Funktion auf das Immunsystem zu haben.

Außerdem wurde nachgewiesen, dass die Ernährung und das Körpergewicht modifizierende Faktoren bei Parodontitis sind. So stellten Palik et al. (2005) eine negative lineare Korrelation zwischen Gesamtghrelin im Serum und dem BMI fest, was unsere Studie nicht bestätigen konnte. Es gab bei Palik et al. (2005) keinen Unterschied zwischen den Ghrelinspiegeln bei Diabetikern und Nicht-Diabetikern. Auch Kozakowski et al. (2008) fanden eine signifikante negative Korrelation zwischen Ghrelinspiegel und BMI und zwischen Ghrelin und Gesamtkörperfett. Laut Moura-Grec et al. (2014) geht erhöhtes Körpergewicht und ein hoher BMI bzw. Taillenumfang mit einer höheren Parodontitisinzidenz einher. Ähnlich der Studie von Mohamed et al. (2015) wurden auch bei Tschöp et al. (2001) und Shiya et al. (2002) bei adipösen Menschen ein deutlich niedrigerer Desazyl- und Gesamtghrelinspiegel gefunden als bei schlanken oder gar anorektischen Probanden. Dies deckt sich zusätzlich mit den Studien von Ohta et al. (2011) und unseren. Es wurden bei unseren Untersuchungen niedrigere Werte von Gesamtghrelin bei parodontal erkrankten Patienten mit BMI \geq 25 gefunden. Das ist scheinbar auf eine übergewichtsassoziierte Erhöhung des Leptins und Insulins zurückzuführen, welche beide hemmend auf die Ghrelinsekretion wirken (Barazzoni et al. 2007). Zudem sind bestimmte Mutationen des Ghrelingens mit einem erhöhten Risiko der Entwicklung eines metabolischen Syndroms assoziiert (Steinle et al. 2004).

Bei mehreren klinischen Studien wurden positive Effekte nach Verabreichung von Ghrelin berichtet, so z. B. bei Krebs, Kachexie, chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung, chronischem Nierenversagen und chronischen Atemwegserkrankungen (Ashitani et al. 2009, Laviano et al. 2008). Bei Kachexie erfolgt eine erhöhte Freisetzung von

proinflammatorischen Zytokinen, was zum Appetitverlust führt und den physiologischen Zustand der Grunderkrankungen verschlimmert.

Eine Erhöhung des Gewichts sowie eine Verbesserung des Ernährungszustandes der kachektischen Patienten wurde bei klinischen Studien am Menschen mit synthetischen Formen von azyliertem Ghrelin bei einer zweiwöchigen Behandlung mit der Formel erreicht (Ashitani et al. 2009). Auch Laviano et al. (2008) verabreichten exogen Ghrelin bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, was zu einer Verbesserung der Nahrungsaufnahme und des Allgemeinzustandes führte.

Kodama et al. (2008) führten eine Studie mit Patienten mit chronischen Atemwegserkrankungen durch. Dabei wurde die Wirkung von Ghrelin auf neutrophiler Ebene und pro-inflammatorischen Zytokinen und CRP-Expression untersucht. Hier verabreichte man bei sieben kachektischen Patienten (3 Frauen, 4 Männer, Alter 62-80 Jahre) mit chronischen Atemwegserkrankungen für drei Wochen synthetisiertes Ghrelin intravenös für 30 Minuten kontinuierlich vor dem Frühstück und Abendessen. Es verringerte die Neutrophilen und die Mengen an IL-8, TNF- α und Myeloperoxidase (MPO) im Speichel verglichen mit den Mengen vor der Ghrelingabe. Die MPO hat antibakterielle Eigenschaften, da sie die Anhaftung von Streptokokken beeinträchtigt und bakterielle Enzyme inhibiert. Sie synthetisiert zudem antimikrobiell wirksames Hypothiocyanat (Hannig et al. 2008). Zusätzlich verringerte Ghrelin auch deutlich das CRP im Serum.

Eine Gewichtsreduktion ist mit erhöhten Ghrelin-Konzentrationen assoziiert (Olszanecka-Glinianowicz et al. 2008), aber auch bei präeklampsischen Frauen gab es keinen Unterschied zwischen adipösen und nicht-adipösen Patienten (Turgut et al. 2015) wie in unserer Studie. Die Werte von Gesamtghrelin wurden mit azyliertem Ghrelin im Speichel assoziiert ($R = 0,538$; $p < 0,001$), jedoch nicht im Parodontium.

Dem gegenüber stehen die Studien von Ozkan et al. (2013), die azyliertes und desazyliertes Ghrelin, Leptin und weitere Hormone in Abhängigkeit vom BMI untersuchten. Dabei wurde festgestellt, dass erhöhte Konzentrationen von azyliertem Ghrelin, die bei Adipositas beobachtet werden, eine physiologische Anpassung an die Regulierung der Energiebilanz bei Adipositas darstellen könnten. Das azylierte Ghrelin nahm mit dem BMI zu, wohingegen die desazylierten Ghrelinspiegel im Serum mit zunehmendem BMI abnahmen. Die Abnahme der desazylierten Ghrelinspiegel im Serum bei adipösen Personen war statistisch signifikant im Vergleich zu niedrigeren Werten bei Normalgewichtigen. Erhöhtes Leptin könnte eine Verringerung von desazyliertem neben azyliertem Ghrelin verursachen, wie hier berichtet. In dieser Studie waren die desazylierten Ghrelinspiegel bei Adipositas verringert, während die Leptinspiegel erhöht und die Wirkungen von desazyliertem Ghrelin auf die Energiehomöostase denen von Leptin und azyliertem Ghrelin entgegengesetzt waren.

Guo et al. (2008) entdeckten nach einer immunhistochemischen Studie an Ratten, dass auch übergewichtige Menschen sowohl prä- als auch postprandial einen niedrigeren Plasma-Ghrelinspiegel aufweisen als Normalgewichtige. So könnte, anders als bei uns, eine Beteiligung des Ghrelins an der Entstehung der Adipositas bezweifelt werden. Aber das erhöhte Ghrelin/Obestatin-Verhältnis weicht bei übergewichtigen Menschen zu Gunsten des hungerfördernden Ghrelins stärker voneinander ab (Zhang et al. 2007).

Eine elektronische Recherche in vier Datenbanken von Nascimento et al. (2015) zielte auf eine systematische Überprüfung der Auswirkungen einer Gewichtszunahme auf die Häufigkeit von Parodontitis bei Erwachsenen ab. Alle Studien (insgesamt 42.198 Probanden) sollten eine klare Beschreibung des Ernährungsstatus (BMI, Taillenumfang) sowie eine genaue Falldefinition von Parodontitis enthalten. Es wurde ein deutlicher, positiver Zusammenhang zwischen Gewichtszunahme und neuen Fällen von Parodontitis gefunden.

Im Rahmen einer weiteren Studie untersuchten Jenzsch et al. (2008) 20 weibliche Probanden mittleren Alters mit dem metabolischen Syndrom und leichter bis mäßiger chronischer Parodontitis. Diese nahmen zwölf Monate an einem geführten Ernährungsprogramm teil. Der Mundhygienestatus änderte sich nicht. Es konnte sowohl eine Reduktion der klinischen Sondierungstiefen und der Entzündungszeichen als auch reduzierte Konzentrationen von IL 1 β sowie IL 6 in der Sulkusflüssigkeit festgestellt werden. Daraus kann geschlossen werden, dass eine gesunde Ernährung mit Reduktion des BMI bei Patienten mit dem metabolischen Syndrom die Entzündungsparameter bei chronischer Parodontitis reduzieren und die parodontale Gesundheit verbessern kann.

Barazzoni et al. (2010) stellten fest, dass die Behandlung mit Ghrelin die Aktivität von mitochondrialen Enzymaktivitäten der unteren Muskelzellen bei urämischen Ratten normalisierte. Dieser Effekt war mit einem niedrigeren Muskeltriglyceridgehalt und einer höheren Proteinkinase- (AKT-) Phosphorylierung verbunden. Die Auswirkungen von Ghrelin die auf Mitochondrien sind unabhängig von Veränderungen der Nahrungsaufnahme, während eine kombinierte Ghrelin-Behandlung und eine höhere Nahrungsaufnahme erforderlich sind, um die AKT-Phosphorylierung zu verstärken.

Einige Studien haben berichtet, dass Ghrelin die Differenzierung und Proliferation von Osteoblasten induziert (Fukushima et al. 2005). Auf der Grundlage dieser Ergebnisse kam man zu dem Schluss, dass Ghrelin eine Rolle beim Knochenaufbau spielen kann (Kim et al. 2005, Maccarinelli et al. 2005). Laut Untersuchungen von Warzecha et al. (2013) soll Ghrelin sogar die Wundheilung von oralen Schleimhauttumoren beschleunigen. Dieses Ergebnis war mit einer signifikanten Zunahme der Schleimhaut-Durchblutung und der Zellproliferation sowie einer Abnahme der Konzentration von pro-inflammatorischem IL 1 β in der gingivalen und lingualen Schleimhaut verbunden. Die therapeutische Wirkung von Ghrelin bei der

Heilung von oralen Ulzera beinhaltet eine Stimulation der Zellerneuerung sowie eine Reduktion der lokalen Entzündung. Diese Effekte können auch bei Vorhandensein einer Parodontitis hilfreich sein.

In Zukunft könnte Ghrelin in vielerlei Hinsicht eine Rolle in der modernen Medizin spielen. Als Therapeutikum bei Ulkusleiden, Sepsis oder zur Gewichtsregulation scheint es vielversprechende Wirkung zu haben. Auch als mögliches Medikament bei Entzündungen ist ein Einsatz in Zukunft denkbar.

Schlussfolgernd aus diesen Erkenntnissen sollten auch Zahnärzte zusätzlich zum Allgemeinmediziner auf Übergewicht bei Patienten hinweisen und sie motivieren ihre Ernährungsgewohnheiten zu ändern sowie ihr Körpergewicht zu reduzieren und damit ihren BMI zu verbessern. Durch Ernährungsumstellung und Gewichtsverlust können Gingivaentzündungen und das Parodontitisrisiko reduziert werden (Jenzsch et al. 2008).

Abschliessend kann unsere anfangs gestellte Hypothese nicht bestätigt werden. Niedrige Ghrelinspiegel in der Sulkusflüssigkeit können mit Parodontalerkrankungen, Übergewicht und Adipositas auftreten, sind jedoch nicht beweisführend dafür. Es deuten sich nur einige Tendenzen an, die zeigen, dass Ghrelin in der Sulkusflüssigkeit antimikrobielle und antiinflammatorische Wirkung haben könnte. Eine genauere Spezifikation erfordert weiterführende Untersuchungen.

6. Zusammenfassung

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med. dent.

Titel:

Untersuchung von Ghrelin in Speichel, Sulkusflüssigkeit und Blut bei Parodontitis und unterschiedlichem Körpergewicht

Eingereicht von:

Nicole Arnold

Angefertigt an:

Zahnmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Betreut von:

Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. Holger Jentsch

Eingereicht: Juli 2020

Die Parodontitis zählt zu den häufigsten chronischen Erkrankungen weltweit. Es wird immer deutlicher, dass die Ernährung und das Körpergewicht modifizierende Faktoren bei der Parodontitisgenese sind (Raindi 2016, Van der Velden et al. 2011, Nascimento et al. 2015). Ein erhöhtes Körpergewicht, ein Body-Mass-Index (BMI) über 25, ein großer Taillenumfang oder ein ungünstiges Taille-Hüft-Verhältnis werden mit einer höheren Inzidenz der Parodontitis (Moura-Grec et al. 2014) assoziiert. Diese systemischen Bedingungen modifizieren den Verlauf sowie die Art der Wirtsreaktion auf die bakterielle Besiedlung. Als Folge der erwähnten Wechselwirkung wurden Hormone, die in Verbindung mit der Nahrungsaufnahme und Adipositas freigesetzt werden, so zum Beispiel Ghrelin, das sogenannte Hungerhormon, zum Mittelpunkt des Interesses. Dieses wird hauptsächlich in Zellen des Magens produziert, regt den Appetit an und kontrolliert damit die Nahrungsaufnahme und die Energiebilanz (Gavrieli et al. 2016). Die Plasmaspiegel von Ghrelin sind nach Gewichtsreduktion mit dem BMI negativ korreliert (Olszanecka-Glinianowicz et al. 2008).

In unserer Studie lautete die Hypothese: Es gibt signifikante Unterschiede bei der Ghrelinkonzentration in Speichel, Sulkusflüssigkeit und / oder Blutserum bei parodontal

gesunden / Gingivitis-Patienten und parodontal Erkrankten bzw. Normal- und Übergewicht. Es ergaben sich zwischen den vier untersuchten Gruppen signifikante Unterschiede hinsichtlich des Alters ($p = 0,025$) und des Geschlechts ($p = 0,014$). Außerdem unterschieden sich die mittlere Sondierungstiefe (PD), die Anzahl der Stellen mit $PD \geq 4\text{mm}$, der mittlere Attachmentlevel (AI), Bleeding on probing (BOP) und der Approximalraum-Plaqueindex (API) signifikant zwischen den Gruppen. Der API war bei der Parodontitisgruppe signifikant höher als bei der parodontal gesunden / Gingivitis-Gruppe. Wesentlich höher war sowohl der BOP der parodontal Erkrankten, als auch die Sondierungstiefen (insgesamt und an den Entnahmestellen) waren deutlich erhöht. Beim Vergleich der beiden normalgewichtigen Gruppen war der BMI bei der Parodontitisgruppe (PN) mit $p = 0,014$ signifikant höher. Die Werte von Gesamtghrelin wurden mit azyliertem Ghrelin im Speichel assoziiert ($R = 0,538$; $p < 0,001$). Beim Vergleich der PN-Gruppe (140 pg / Stelle im Median) mit der GÜ-Gruppe (145 pg / Stelle im Median) unterschied sich die Konzentration des Gesamtghrelins in der Sulkusflüssigkeit signifikant zwischen den Gruppen ($p = 0,038$). Die parodontal gesunden / Gingivitis-Patienten (GÜ) wiesen signifikant höhere Gesamtghrelinwerte ($p = 0,014$) in der GCF als die Gruppe mit vorliegender Parodontiserkrankung (PÜ) auf. Bei der normalgewichtigen Gruppe war das Gesamtghrelin in der Sulkusflüssigkeit signifikant höher als bei der übergewichtigen Gruppe ($p = 0,032$). Es gab weder im Speichel noch im Serum Signifikanzen beim Ghrelin. Aus unseren Ergebnissen geht hervor, dass hauptsächlich in der Sulkusflüssigkeit signifikante Unterschiede bei den Ghrelinkonzentrationen auftraten. Sie scheint durch ihre Spülfunktion eine wichtige Rolle bei der Parodontitisgenese einzunehmen.

In unseren Untersuchungen wiesen die normalgewichtigen Parodontitispatienten eine höhere Konzentration Gesamtghrelin in der Sulkusflüssigkeit auf. Zusätzlich zeigten die übergewichtigen parodontal gesunden / Gingivitis-Patienten eine höhere Ghrelinkonzentration in der Sulkusflüssigkeit als die parodontal Erkrankten. Dies könnte dadurch bedingt sein, dass das azylierte Ghrelin auch in den Speicheldrüsen der Mundhöhle produziert und freigesetzt wird, laut Ohta et al. (2011) in der Sulkusflüssigkeit vorkommt und eine entzündungshemmende Wirkung auf Gingivazellen zu haben scheint. Es wird zusätzlich vermutet, dass Ghrelin die Proliferation von oralen Keratinozyten unterstützt.

Über die Auswirkungen der Geschlechtszugehörigkeit auf die Ghrelinspiegel finden sich in der Literatur widersprüchliche Ergebnisse. Einige Studien zeigten, dass das Geschlecht keinen Einfluss auf die Ghrelinlevel hat (Purnell et al. 2003, Vendrell et al. 2004), während andere darauf hinwiesen, dass die Ghrelinspiegel bei Frauen höher waren (Ingelsson et al. 2008, Makovey et al. 2007). Bei Aydin et al. (2006) resultierten höhere Speichel-Ghrelin-Werte bei den weiblichen im Vergleich zu den männlichen Probanden. Außerdem erhöhten

sich die Werte vor jeder Mahlzeit und fielen wieder ab nach dem Essen. Sie zeigten somit einen zirkadianen Rhythmus, der während des Tages zu einem Zenit um 15 Uhr aufstieg um dann gegen 18 bis 21 Uhr wieder zu sinken. Zusätzlich wurde eine schwache Korrelation zum BMI beobachtet. Trotz widersprüchlicher Ergebnisse wurde azyliertes Ghrelin bei Parodontitispatienten signifikant mit dem Geschlecht assoziiert. Die Ghrelinspiegel können somit durch Sexualhormone beeinflusst werden und die Stärke der Entzündung wird durch verschiedene Mechanismen bei Männern und Frauen reguliert.

Zahlreiche Studien an Nagetieren (Taub et al. 2010, Li et al. 2004, Hattori 2009, Smith et al. 2005) zeigten, dass Ghrelin ein vielversprechendes Therapeutikum bei der Behandlung von entzündlichen Krankheiten und Verletzungen zu sein scheint, da es die Lymphozytenentwicklung in den primären Lymphorganen fördert. Bakteriell LPS reduzierte die Mengen an desazyliertem Ghrelin und die Expression des Ghrelin-Azylierungsenzyms Ghrelin-O-Azyltransferase (GOAT), was zu einer signifikanten Abnahme von azyliertem Ghrelin im Tiermodell führte (Stengel et al. 2010).

Seine vermutete anti-inflammatorische Wirkung scheint Ghrelin auf verschiedenen Wegen zu entfalten. Es hemmt NF- κ B (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells), einen essentiellen Transkriptionsfaktor vieler inflammatorischer Zytokine, vor allem Interleukin 1 β (IL 1 β), Interleukin 6 (IL 6) und den Tumornekrosefaktor- α (TNF- α). Zusätzlich schwächt es eine vom T-Helferzell-Typ-1 induzierte Immunreaktion ab. Die durch azyliertes Ghrelin ausgeschütteten Hormone (GH) und IGF-1 wirken ebenfalls inhibitorisch auf das Immunsystem (Hattori et al. 2001, Gonzalez-Rey et al. 2006, Miyake und Yamamura 2009). Auch IL 1 β vermindert die Plasma-Ghrelinspiegel (Wang et al. 2006). Eine direkte Verabreichung von Ghrelin inhibiert die Entzündungsreaktion, die durch verminderte Spiegel von IL 1 β und TNF- α (Huang et al. 2009) gezeigt wird, verstärkt die entzündungshemmende Wirkung (Au et al. 2017) und setzt vermehrt entzündungshemmendes Zytokin IL 10 frei (Waseem et al. 2008).

Min et al. (2012) untersuchten die antimikrobielle Aktivität von Ghrelin. Dabei fanden sie heraus, dass die Menge an azyliertem und desazyliertem Ghrelin im Serum mit antimikrobieller Wirkung fast 10-fach höher ist als die Menge, die für hormonelle Effekte aktiv ist. Ghrelin besitzt antimikrobielle Aktivitäten gegen grampositive Bakterien, wohin gegen diese bei gramnegativen Bakterien nur minimal zu sein scheinen. Verantwortlich dafür ist vermutlich seine kationische Eigenschaft. Zusammenfassend zeigten diese Ergebnisse, dass die bakteriziden Wirkungen von Ghrelin durch seine ladungsabhängige Bindung an Bakterien und damit unabhängig von der Ghrelin-Azyl-Modifikation vermittelt werden.

Palik et al. (2005) fanden eine negative lineare Korrelation zwischen Gesamtghrelin im Serum und dem BMI, was unsere Studie nicht bestätigen konnte.

Laut Moura-Grec et al. (2014) geht erhöhtes Körpergewicht und ein hoher BMI bzw. Taillenumfang mit einer höheren Parodontitisinzidenz einher. Ähnlich einer Studie von Mohamed et al. (2015) wurden auch bei Tschöp et al. (2001) und Shiiya et al. (2002) bei adipösen Menschen deutlich niedrigere Desazyl- und Gesamtghrelinspiegel als bei schlanken oder gar anorektischen Probanden gefunden. Dies deckt sich zusätzlich mit den Studien von Ohta et al. (2011) und unseren. Es wurden bei unseren Untersuchungen niedrigere Werte von Gesamtghrelin bei parodontal erkrankten Patienten mit $\text{BMI} \geq 25$ gefunden. Das ist scheinbar auf eine Übergewichtsassoziierte Erhöhung des Leptins und Insulins zurückzuführen, welche beide hemmend auf die Ghrelinsekretion wirken (Barazzoni et al. 2007). Zudem sind bestimmte Mutationen des Ghrelingens mit einem erhöhten Risiko der Entwicklung eines metabolischen Syndroms assoziiert (Steinle et al. 2004).

Laut Untersuchungen von Warzecha et al. (2013) soll Ghrelin sogar die Wundheilung von oralen Schleimhauttumoren beschleunigen. Dieses Ergebnis zeigte sich mit einer signifikanten Zunahme der Durchblutung der Schleimhaut und der Zellproliferation sowie einer Abnahme der Konzentration von pro-inflammatorischem IL 1 β in der gingivalen und lingualen Schleimhaut. Die therapeutische Wirkung von Ghrelin bei der Heilung von oralen Ulzera beinhaltet eine Stimulation der Zellerneuerung sowie eine Reduktion der lokalen Entzündung. Diese Effekte könnten auch bei Vorhandensein einer Parodontitis hilfreich sein.

Jenzsch et al. (2008) fanden heraus, dass durch eine Ernährungsumstellung, Gewichtsverlust und Verminderung des BMI Gingivaentzündungen und das Parodontitisrisiko reduziert werden können. Schlussfolgernd sollten zusätzlich zum Allgemeinmediziner auch die Zahnärzte auf Übergewicht bei Patienten hinweisen und sie motivieren ihre Ernährungsgewohnheiten zu verändern sowie ihr Körpergewicht zu reduzieren und damit ihren BMI zu verbessern.

Abschliessend kann unsere Hypothese nicht bestätigt werden. Niedrige Ghrelinspiegel in der Sulkusflüssigkeit können mit Parodontalerkrankungen, Übergewicht und Adipositas auftreten, sind jedoch nicht beweisführend dafür. Eine genauere Spezifikation erfordert weiterführende Untersuchungen.

7. Literaturverzeichnis

1. Akamizu, T., Murayama, T., Teramukai, S., Miura, I., Bando, K., Irako, T., Iwakura, H., Ariyasu, H., Hosoda, H., Tada, H., Matsuyama, A., Kojima, S., Wada, T., Wakatsuki, Y., Matsubayashi, K., Kawakita, T., Shimizu, A., Fukushima, M., Yokode, M., Kangawa, K. (2006): Plasma ghrelin levels in healthy elderly volunteers: The levels of acylated ghrelin in elderly females correlate positively with serum IGF-I levels and bowel movement frequency and negatively with systolic blood pressure. *Journal of Endocrinology* 188, 333-344.
2. Alfano, M. C. (1974): The origin of gingival fluid. *Journal of Theoretical Biology* 47, 127-136.
3. Andrews, Z. B., Erion, D., Beiler, R., Liu, Z. W., Abizaid, A., Zigman, J., Elsworth, J. D., Savitt, J. M., DiMarchi, R., Tschoep, M., Roth, R. H., Gao, X. B., Horvath, T. L. (2009): Ghrelin promotes and protects nigrostriatal dopamine function via a UCP2-dependent mitochondrial mechanism. *Journal of Neuroscience* 29, 14057–14065.
4. Aps, J. K. M., Martens, L. C. (2005): Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Science International* 150, 119-131.
5. Ariyasu, H., Takaya, K., Tagami, T., Ogawa, Y., Hosoda, K., Akamizu, T., Suda, M., Koh, T., Natsui, K., Toyooka, S., Shirakami, G., Usui, T., Shimatsu, A., Doi, K., Hosoda, H., Kojima, M., Kangawa, K., Nakao, K. (2001): Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86, 4753-4758.
6. Armitage, G. C. (1995): Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontology* 2000 7, 39-53.
7. Asakawa, A., Inui, A., Fujimiya, M., Sakamaki, R., Shinfuku, N., Ueta, Y., Meguid, M.M., Kasuga, M. (2005): Stomach regulates energy balance via acylated ghrelin and desacyl ghrelin. *Gut* 54, 18–24.
8. Ashitani, J., Matsumoto, N., Nakazato, M. (2009): Effect of octanoic acid-rich formula on plasma ghrelin levels in cachectic patients with chronic respiratory disease. *Nutrition Journal* 16, 25.
9. Au, C. C., Docanto, M. M., Zahid, H., Raffaelli, F. M., Ferrero, R. L., Furness, J. B., Brown, K. A. (2017): Des-acyl ghrelin inhibits the capacity of macrophages to stimulate the expression of aromatase in breast adipose stromal cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 170, 49-53.
10. Aydin, S., Ozercan, H. I., Aydin, S., Ozkan, Y., Dagl, F., Oguzoncul, F., Geckil, H. (2006): Biological rhythm of saliva ghrelin in humans. *Biological Rhythm Research* 37, 169-177.
11. Baatar, D., Patel, K., Taub, D. (2011): The effects of ghrelin on inflammation and the immune system. *Molecular and Cellular Endocrinology* 340, 44-58.

12. Baldanzi, G., Filigheddu, N., Cutrupi, S., Catapano, F., Bonisconi, S., Fubini, A., Malan, D., Baj, G., Granata, R., Broglio, F., Papotti, M., Surico, N., Bussolino, F., Isgaard, J., Deghenghi, R., Sinigaglia, F., Prat, M., Muccioli, G., Ghigo, E., Graziani, A. (2002): Ghrelin and de-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *Journal of Cellular Biology* 159, 1029–1037.
13. Banks, W. A., Tschöp, M., Robinson, S. M., Heiman, M. L. (2002): Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapies* 302, 822-827.
14. Barazzoni, R., Zanetti, M., Ferreira, C., Vinci, P., Pirulli, A., Mucci, M., Dore, F., Fonda, M., Ciocchi, B., Cattin, L., Guarnieri, G. (2007): Relationships between desacylated and acylated ghrelin and insulin sensitivity in the metabolic syndrome. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism* 92, 3935-3940.
15. Barazzoni, R., Zhu, X., Deboer, M., Datta, R., Culler, M. D., Zanetti, M., Guarnieri, G., Marks, D.L. (2010): Combined effects of ghrelin and higher food intake enhance skeletal muscle mitochondrial oxidative capacity and AKT phosphorylation in rats with chronic kidney disease. *Kidney International* 77, 23-28.
16. Bedendi, I., Allatti, G., Marcantoni, A., Malan, D., Catapano, F., Ghe, C., Deghenghi, R., Ghigo, E., Muccioli, G. (2003): Cardiac effects of ghrelin and its endogenous derivatives des-octanoyl ghrelin and des-Gln14-ghrelin. *European Journal of Pharmacology* 476, 87–95.
17. Beltowski, J. (2003): Adiponectin and resistin-new hormones of white adipose tissue. *Medical Science Monitor* 9, 55-61.
18. Benedix, F., Westphal, S., Patschke, R., Luley, C., Lippert, H., Wolff, S. (2011): Comparison of serum and salivary ghrelin in healthy adults, morbidly obese and patients with metastatic carcinoma. *Obesity Surgery* 21, 1265-1271.
19. Bickel, M., Munoz, J. L., Giovannini, P. (1985): Acid-base properties of human gingival crevicular fluid. *Journal of Dental Research* 64, 1218.
20. Brand, H. S., Ligtenberg, A. J. M., Veerman, E. C. I. (2014): Saliva and Wound Healing. *Monographs in Oral Science* 24, 52–60.
21. Brex, M. C., Lehmann, B., Siegwart, C. M., Gehr, P., Lang, N. P. (1988): Observations on the initial stages of healing following human experimental gingivitis. A clinical and morphometric study. *Journal of Clinical Periodontology* 15, 123-129.
22. Buddecke, E. (1981): *Biochemische Grundlagen der Zahnmedizin*. Vol. 1. Walter de Gruyter, Berlin, New York.
23. Burmester, G.-R. (2006): *Taschenatlas der Immunologie*. Grundlagen, Labor, Klinik. 2. Auflage, Thieme, Stuttgart.
24. Cassoni, P., Papotti, M., Ghè, C., Catapano, F., Sapino, A., Graziani, A., Deghenghi, R., Reissmann, T., Ghigo, E., Muccioli, G. (2001): Identification, characterization, and

- biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86, 1738-1745.
25. Cassoni, P., Gehe, C., Marrocco, T., Tarabra, E., Allia, E., Catapano, F., Deghenghi, R., Ghigo, E., Capotti, M., Muccioli, G. (2004): Expression of ghrelin and biological activity of specific receptors for ghrelin and des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell line. *European Journal of Endocrinology* 150, 173–184.
 26. Ceranowicz, P., Warzecha, Z., Cieszkowski, J., Ceranowicz, D., Kuśnierz-Cabala, B., Bonior, J., Jaworek, J., Ambroży, T., Gil, K., Olszanecki, R., Pihut, M., Dembiński, A. (2017): Essential role of growth hormone and IGF-1 in therapeutic effect of ghrelin in the course of acetic acid-induced colitis. *International Journal of Molecular Science* 18, 1118.
 27. Cetinkaya, Z., Aydin, S., Cerrahoglu, Y. Z., Ayten, R., Erman, F., Aygen, E. (2009): Changes in appetite hormone (ghrelin) levels of saliva and serum in acute appendicitis cases before and after operation. *Appetite* 52, 104–107.
 28. Chang, L., Du, J. B., Gao, L. R., Pang, Y. Z., Tang, C. S. (2003): Effect of ghrelin on septic shock in rats. *Acta Pharmacologica Sinica* 24, 45-49.
 29. Chen, C., Imui, A., Asakawa, A., Fujino, K., Kato, I., Chen, C., Ueno, N., Fujimiya, M. (2005): Des-acyl ghrelin acts by CRF type 2 receptors to disrupt fasted stomach motility in conscious rats. *Gastroenterology* 129, 8–25.
 30. Chen, H.Y., Cox, S. W., Eley, B. M., Mäntylä, P., Rönkä, H., Sorsa, T. (2000): Matrixmetalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology* 27, 366-369.
 31. Choi, K., Roh, S.G., Hong, Y.H., Shrestha, Y.B., Hishikawa, D., Chen, C., Kojima, M., Kangawa, K., Sasaki, S. (2003): The role of ghrelin and growth hormone secretagogues receptor on rat adipogenesis. *Endocrinology* 144, 754–759.
 32. Chorny, A., Anderson, P., Gonzalez-Rey, E., Delgado, M. (2008): Ghrelin protects against experimental sepsis by inhibiting High-Mobility Group Box 1 release and by killing bacteria. *Journal of Immunology* 180, 8369-8377.
 33. Chow, K. B., Cheng, C. H., Wise, H. (2009): Anti-inflammatory activity of ghrelin in human carotid artery cells. *Inflammation* 32, 402–409.
 34. Cicero, A. F., Magni, P., Lentini, P., Ruscica, M., Dozio, E., Strollo, F. (2011): Brisighella heart study staff. Sex hormones and adipokines in healthy pre-menopausal, post-menopausal and elderly women and in age-matched men. *Journal of Endocrinological Investigation* 34, 158–162.
 35. Cimasoni, G. (1983): Crevicular fluid updated. *Monographs in Oral Science*, 1-151.
 36. Coiro, V., Volpi, R., Stella, A., Cataldo, S., Chiodera, P. (2011): Oxytocin does not modify GH, ACTH, cortisol and prolactin responses to Ghrelin in normal men. *Neuropeptides* 45, 139–142.

37. Cummings, D. E., Weigle, D. S., Frayo, R. S., Breen, P. A., Ma, M. K., Dellinger, E. P., Purnell, J. Q. (2002): Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *New England Journal of Medicine* 346, 1623-1630.
38. Date, Y., Nakazato, M., Murakami, N., Kojima, M., Kangawa, K., Matsukur, S. (2001): Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 280, 904-907.
39. Date, Y. (2012): Ghrelin and the vagus nerve. *Methods in Enzymology* 514, 261–269.
40. Dawes, C. (2012): Salivary clearance and its effects on oral health. *Saliva and oral health* 4, 81–96.
41. Diano, S., Farr, S.A., Benoit, S. C., McNay, E. C., Da Silva, I., Horvath, B., Gaskin, F. S., Nonaka, N., Jaeger, L. B., Banks, W. A., Morley, J. E., Pinto, S., Sherwin, R. S., Xu, L., Yamada, K. A., Sleeman, M. W., Tschöp, M. H., Horvath, T. L. (2006): Ghrelin controls hippocampal spine synapse density and memory performance. *Nature Neuroscience* 9, 381–388.
42. Dixit, V. D., Schaffer, E. M., Pyle, R. S., Collins, G. D., Sakthivel, S. K., Palaniappan, R., Lillard, J. W. Jr., Taub, D. D. (2004): Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *Journal of Clinical Investigations* 114, 57–66.
43. Dixit, V. D., Yang, H., Sun, Y., Weeraratna, A. T., Youm, Y. H., Smith, R. G., Taub, D. D. (2007): Ghrelin promotes thymopoiesis during aging. *Journal of Clinical Investigation* 117, 2778–2790.
44. Dixit, V. D., Yang, H., Cooper-Jenkins, A., Giri, B. B., Patel, K., Taub, D. D. (2009): Reduction of T-cell-derived ghrelin enhances proinflammatory cytokine expression: implications for age-associated increases in inflammation. *Blood* 113, 5202–5205.
45. Döring, F. (2009): Ernährung und Entzündung. *Exzellenzcluster Entzündungsforschung*
46. Donath, M. Y., Schumann, D. M., Faulenbach, M., Ellingsgaard, H., Perren, A., Ehses, J. A. (2008): Islet inflammation in type 2 diabetes: From metabolic stress to therapy. *Diabetes Care* 31, 161–164.
47. Dynesen, A.W., Bardow, A., Astrup, A., Petersson, B., Holst, J. J., Nauntofte, B. (2008): Meal-induced compositional changes in blood and saliva in persons with bulimia nervosa. *American Journal of Clinical Nutrition* 87, 12–22.
48. Ebersole, J. L. (2003): Humoral immune responses in gingival crevice fluid: Local and systemic implications. *Periodontology* 2000 31, 135-166.
49. Edén Engström, B., Burman, P., Holdstock, C., Karlsson, F.A. (2003): Effects of growth hormone (GH) on ghrelin, leptin, and adiponectin in GH-deficient patients. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88, 5193-5198.

50. Engvall, E., Perlmann, P. (1971): Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8, 871-874.
51. Featherstone, J. D. B. (2000): The science and practice of caries prevention. *Journal of American Dental Association* 131, 887-899.
52. Field, A. E., Manson, J. E., Taylor, C. B., Willett, W. C., Colditz, G. A. (2004): Association of weight change, weight control practices, and weight cycling among women in the Nurses' Health Study II. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 28, 1134–1142.
53. Field, A. (2013): *Discovering statistics using IBM SPSS Statistics*. 4th Edition, Sage Publications
54. Fukushima, N., Hanada, R., Teranishi, H. (2005): Ghrelin directly regulates bone formation. *Journal of Bone Miner Research* 20, 790–798.
55. Gagnon, J., Anini, Y. (2012): Insulin and norepinephrine regulate ghrelin secretion from a rat primary stomach cell culture. *Endocrinology* 15, 3646-3656.
56. Gavrieli, A., Mantzoros, C. S. (2016): Novel molecules regulating energy homeostasis: Physiology and regulation by macronutrient intake and weight loss. *Endocrinology and Metabolism* 31, 361-372.
57. Gemmell, E., Seymour, G. J. (2004): Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology* 2000 35, 21-41.
58. Gibbons, J. D., Chakraborti, S. (2011): *Nonparametric Statistical Inference*. *Journal of the Royal Statistical Society Series A* 174, 508-509.
59. Glock, M. H., Heller, P.A., Malamud, D. (1982): Saliva as diagnostic fluid. *NLM Bibliography* 92-5, 1-102.
60. Gonzalez–Rey, E., Chorny, A., Delgado, M. (2006): Therapeutic action of ghrelin in a mouse model of colitis. *Gastroenterology* 130, 1707-1720.
61. Goodson, J. M. (2003): Gingival crevice fluid flow. *Periodontology* 2000 31, 43-54.
62. Gröschl, M., Topf, H.G., Bohlender, J., Zenk, J., Klussmann, S., Dötsch, J., Rascher, W., Rauh, M.: Identification of ghrelin in human saliva: Production by the salivary glands and potential role in proliferation of oral keratinocytes. *Clinical Chemistry* 51, 997-1006.
63. Guentsch, A., Hirsch, C., Pfister, W., Vincents, B., Abrahamson, M., Sroka, A., Potempa, J., Eick, S. (2013): Cleavage of IgG1 in gingival crevicular fluid is associated with the presence of *Porphyromonas Gingivalis*. *Journal of Periodontal Research* 48, 458-465.
64. Gühring, W., Barth, J. (1992): *Anatomie. Spezielle Biologie des Kausystems*. 3. Auflage, Neuer Merkur, München.
65. Guo, Z.F., Ren, A. J., Zheng, X., Qin, Y. W., Cheng, F., Zhang, J., Wu, H., Yuan, W. J., Zou, L. (2008): Different responses of circulating ghrelin, obestatin levels to

- fasting, re-feeding and different food compositions, and their local expressions in rats. *Peptides* 29, 1247-1254.
66. Gurkan S., Bradley R. M.(1988): Secretions of von Ebner's glands influence responses from taste buds in rat circumvallate papilla. *Chemical Senses* 13, 655–661.
 67. Haeckel, R. (1989): Interpretation of salivary drug concentrations. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 27, 223-226.
 68. Hannig, C., Spitzmüller, B., Knausenberger, S., Hoth-Hannig, W., Hellwig, E., Hannig, M.(2008): Detection and activity of peroxidase in their situ formed enamel pellicle. *Archives of Oral Biology* 53, 849-858.
 69. Hannig, M., Hannig, C. (2014): The pellicle and erosion. *Monographs in Oral Science* 25, 206–214.
 70. Hattori, N., Saito, T., Yagyū, T., Jiang, B.-H., Kitagawa, K., Inagaki, C. (2001): GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86, 4284-4291.
 71. Hattori, N. (2009): Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. *Growth Hormone & IGF Research* 19, 187-197.
 72. Hellwig, E., Klimek, J., Attin, T. (2006): Einführung in die Zahnerhaltung. Vol. 4., Urban & Fischer Verlag, München, Jena.
 73. Hermann, P., Gera, I., Borbély, J., Fejérdy, P., Madléna, M. (2009): Periodontal health of an adult population in Hungary: Findings of a national survey. *Journal of Clinical Periodontology* 6, 449-457.
 74. Hosoda, H., Kojima, M., Matsuo, H., Kangawa, K. (2000): Ghrelin and des-acyl ghrelin: Two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 279, 909-913.
 75. Huang, C.X., Yuan, M.J., Huang, H., Wu, G., Liu, Y., Yu, S. B., Li, H. T., Wang, T. (2009): Ghrelin Inhibits post-infarct myocardial remodeling and improves cardiac function through antiinflammation effect. *Peptides* 30, 2286-2291.
 76. Humphrey, S. P., Williamson, R. T. (2001): A Review of Saliva: Normal composition, flow and function. *Journal of Prosthetic Dentistry* 85, 162-169.
 77. Ingelsson, E., Larson, M. G., Yin, X., Wang, T. J., Meigs, J. B., Lipinska, I., Benjamin, E. J., Keaney, J. F. Jr., Vasan, R. S. (2008): Circulating ghrelin, leptin and soluble leptin receptor concentrations and cardiometabolic risk factors in a community-based sample. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 93, 3149–3157.
 78. Ingman, T., Tervahartiala, T., Ding, Y., Tschesche, H., Haerian, A., Kinane, D. F., Konttinen, Y. T., Sorsa, T. (1996): Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology* 23,1127-1132.

79. Iwata, T., Yamato, M., Tsuchioka, H., Takagi, R., Mukobata, S., Washio, K., Okano, T., Ishikawa, I. (2009): Periodontal regeneration with multi-layered periodontal ligament-derived cell sheets in a canine model. *Biomaterials* 30, 2716-2723.
80. Jacob, A., Wu, R., Zhou, M., Coppa, G. F., Wang, P. (2010): Mechanism of the inhibitory effect of ghrelin in sepsis. *Hepatic Medicine* 2, 33–38.
81. Jenzsch, A., Eick, S., Rassoul, F., Purschwitz, R., Jentsch, H. (2009): Nutritional intervention in patients with periodontal disease- clinical, immunological and microbiological variables during 12 months. *The British Journal of Nutrition* 101, 879-885.
82. Johannessen, A. C., Nilsen, R., Kristoffersen, T., Knudsen, G. E. (1990): Variation in the composition of gingival inflammatory cell infiltrates. *Journal of Clinical Periodontology* 17, 298-305.
83. Kaabi, Y. A., Khalifa, M. A. (2014): Acute one-cigarette smoking decreases ghrelin hormone in saliva: A pilot study. *International Journal of Endocrinology*, 575671.
84. Kaczmarek, M. J., Rosenmund, H. (1977): The action of human pancreatic and salivary isoamylases on starch and glycogen. *Clinica Chimica Acta International Journal of Clinical Chemistry* 79, 69–73.
85. Kantarci, A., Oyaizu, K., Van Dyke, T. E. (2003): Neutrophil-mediated tissue injury in periodontal disease pathogenesis: Findings from localized aggressive periodontitis. *Journal of Periodontology* 74, 66-75.
86. Kayser, F., Bienz, K.A., Eckert, J., Lindemann, J. (1997): *Medizinische Mikrobiologie*, Stuttgart, 38-45.
87. Kidwell, D. A., Holland, J. C., Athanasis, S. (1998): Testing for drugs of abuse in sweat and saliva. *Journal of Chromatography B Biomedical Sciences and Applications* 21, 111-135.
88. Kiili, M., Cox, S. W., Chen, H. Y., Wahlgren, J., Maisi, P., Eley, B. M., Salo, T., Sorsa, T. (2002): Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: Molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue 29, 224-232.
89. Kim, M., Yoon, C., Jang, P., Park, Y., Shin, C., Park, H., Ryu, J., Pak, Y., Park, J., Lee, K., Kim, S., Lee, H., Kim, Y., Park, K. (2004): The mitogenic and antiapoptotic actions of ghrelin in 3T3–L1 adipocytes. *Molecular Endocrinology* 18, 2291–2301.
90. Kim, S. W., Her, S. J., Park, S. J., Kim, D., Park, K. S., Lee, H. K., Han, B. H., Kim, M. S., Shin, C. S., Kim, S.Y. (2005): Ghrelin stimulates proliferation and differentiation and inhibits apoptosis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Bone* 37, 359–369.
91. Kodama, T., Ashitani, J., Matsumoto, N., Kangawa, K., Nakazato, M. (2008): Ghrelin treatment suppresses neutrophil-dominant inflammation in airways of patients with chronic respiratory infection. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics* 21, 774-779.

92. Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K. (1999): Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 9, 656-660.
93. Konturek, P.C., Brzozowski, T., Pajdo, R. (2004): Ghrelin-a new gastroprotective factor in gastric mucosa. *Journal of Physiology and Pharmacology* 55, 325–336.
94. Kosowicz, J., Baumann-Antczak, A., Zamysłowska, H., Sowiński, J. (2011): Technological difficulties in ghrelin and obestatin assays. *Endokrynologia Polska* 62, 336-339.
95. Kozakowski, J., Rabijewski, M., Zgliczyński, W. (2008): Ghrelin - growth hormone releasing and orexigenic hormone in men declines with age, insulin and with decrease in testosterone concentration. *Neuro Endocrinology Letters* 29, 100-106.
96. Kroke, A., Liese, A. D., Schulz, M., Bergmann, M. M., Klipstein-Grobusch, K., Hoffmann, K., Boeing, H. (2002): Recent weight changes and weight cycling as predictors of subsequent two year weight change in a middle-aged cohort. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 26, 403–409.
97. Lagerlöf, F., Dawes, C. (1984): The volume of saliva in the mouth before and after swallowing. *Journal of Dental Research* 63, 618–621.
98. Lamster, I. B., Ahlo, J. K. (2007): Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Annals of the New York Academy of Science* 1098, 216-229.
99. Lange, D. E., Plagmann, H.C., Eenboom, A., Promesberger, A. (1977): Klinische Bewertungsverfahren zur Objektivierung der Mundhygiene. *Deutsche Zahnärztliche Zeitung* 32, 44-47.
100. Laviano, A., Inui, A., Marks, D. L., Meguid, M. M., Pichard, C., Rossi Fanelli, F., Seelaender, M. (2008): Neural control of the anorexia-cachexia syndrome. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism* 295, E1000-E1008.
101. Leal-Cerro, A., Garcia, E., Astorga, R., Casanueva, F. F., Dieguez, C. (1995): Growth hormone (GH) responses to the combined administration of GH-releasing hormone plus GH-releasing peptide 6 in adults with GH deficiency. *European Journal of Endocrinology* 132, 712–715.
102. Li, W. G., Gavrilu, D., Liu, X., Wang, L., Gunnlaugsson, S., Stoll, L. L., McCormick, M. L., Sigmund, C. D., Tang, C., Weintraub, N. L. (2004): Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor- κ B activation in human endothelial cells. *Circulation* 109, 2221-2226.
103. Li, E., Chung, H., Kim, Y. (2013): Ghrelin directly stimulates adult hippocampal neurogenesis: implications for learning and memory. *Endocrinology Journal* 60, 781–789.
104. Loos, B., Tjoa, S. (2005): Host-derived diagnostic markers for periodontitis: Do they exist in gingival crevice fluid. *Periodontology* 2000 39, 53-72.

105. Maccarinelli, G., Sibilia, V., Torsello, A., Raimondo, F., Pitto, M., Giustina, A., Netti, C., Cocchi, D. (2005): Ghrelin regulates proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *Journal of Endocrinology* 184, 249–256.
106. Mackler, B. F., Frostad, K. B., Robertson, P. B., Levy, B. M. (1977): Immunoglobulin bearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. *Journal of Periodontal Research* 12, 37-45.
107. Mäntylä, P., Stenman, M., Kinane, D., Salo, T., Suomalainen, K., Tikanoja, S., Sorsa, T. (2006): Monitoring periodontal disease status in smokers and nonsmokers using a gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8-specific chair-side test. *Journal of Periodontal Research* 41, 503-512.
108. Mafra, D., Farage, N. E., Lobo, J. C., Stockler-Pinto, M. B., Leal, V. O., Carvalho, D. P., Leite, M. Jr. (2011): Relationship between total ghrelin and inflammation in hemodialysis patients. *Peptides* 32, 358–361.
109. Makovey, J., Naganathan, V., Seibel, M., Sambrook, P. (2007): Gender differences in plasma ghrelin and its relations to body composition and bone—an opposite-sex twin study. *Clinical Endocrinology* 66, 530–537.
110. Mengel, R., Stelzel, M., Tsalikis, L., Zimmermann, A. (1991): Anwendung von Indizes in der täglichen Zahnarztpraxis. *Parodontologie* 2, 173-180.
111. Miller, S. M. (1994): Saliva testing: A nontraditional diagnostic tool. *Clinical Laboratory Science* 7, 39–44.
112. Min, Ch., Ohta, K., Kajiya, M., Zhu, T., Sharm, K., Shinb, J., Mawardi, H., Howait, M., Hirschfeld, J., Bahammam, L., Ichimonji, I., Gantae, S., Amijie, M., Kawai, T. (2012): The antimicrobial activity of the appetite peptide hormone ghrelin. *Peptides* 36, 151-156.
113. Miyake, S., Yamamura, T. (2009): Ghrelin: Friend or foe for neuroinflammation. *Discovery Medicine* 8, 64-67.
114. Mohamed, H.G., Idris, S.B., Mustafa, M. (2015): Impact of chronic periodontitis on levels of glucoregulatory biomarkers in gingival crevicular fluid of adults with and without type 2 diabetes. *PLoS One* 10, e0127660.
115. Moon, M., Kim, H.G., Hwang, L., Seo, J. H., Kim, S., Hwang, S., Kim, S., Lee, D., Chung, H., Oh, M. S., Lee, K. T., Park, S. (2009): Neuroprotective effect of ghrelin in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease by blocking microglial activation. *Neurotoxicity Research* 15, 332–347.
116. Moughal, N. A., Adonogianaki, E., Thornhill, M. H., Kinane, D. F. (1992): Endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in gingival tissue during health and experimentally-induced gingivitis. *Journal of Periodontal Research* 27, 623-630.
117. Moura-Grec, P.G., Marsicano, J.A., Carvalho, C.A., Sales-Peres, S.H. (2014): Obesity and periodontitis-systematic review and meta-analysis. *Cien Saude Colet* 19, 1763-1772.

118. Muccioli, G., Pons, N., Ghe, C., Catapano, F., Granata, R., Ghigo, E. (2004): Ghrelin and des-acyl ghrelin both inhibit isoproterenol-induced lipolysis in rat adipocytes via a non-type 1a growth hormone secretagogue receptor. *European Journal of Pharmacology* 13, 27-35.
119. Mühlemann, H. R., Son, S. (1971): Gingival sulcus bleeding-a leading symptom in initial gingivitis. *Helvetica Odontologica Acta* 15, 107-113.
120. Nagaya, N., Kojima, M., Uematsu, M., Yamagishi, M., Hosoda, H., Oya, H., Hayashi, Y., Kangawa, K. (2001): Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *American Journal of Physiology* 280, R1483-R1487.
121. Nascimento, G. G., Leite, F. R., Do, L. G., Peres, K. G., Correa, M. B., Demarco, F. F., Peres, M. A. (2015): Is weight gain associated with the incidence of periodontitis? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology* 42, 495-505.
122. Nass, R., Park, J., Thorner, M. O. (2007): Growth hormone supplementation in the elderly. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America* 36, 233–245.
123. Nass, R., Nikolayev, A., Liu, J. (2015): The level of circulating octanoate does not predict ghrelin O-acyl transferase (GOAT)- mediated acylation of ghrelin during fasting. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 100, E110–113.
124. Nieuw Amerongen, A. V., Veerman, E. C. I. (2002): Saliva - The Defender of the Oral Cavity. *Oral Discovery* 8, 12-22.
125. Nikiforuk, G. (1985): Understanding dental caries: etiology and mechanisms, basic and clinical aspects: Prevention, Basic and Clinical Aspects. Vol. 2, Karger, Basel.
126. Ohta, K., Laborde, N.J., Kajiya, M., Shin, J., Zhu, T., Thondukulam, A.K., Min, C., Kamata, N., Karimbux, N. Y., Stashenko, P., Kawai, T. (2011): Expression and possible immune-regulatory function of ghrelin in oral epithelium. *Journal of Dental Research* 90, 1286–1292.
127. Olszanecka-Glinianowicz, M., Zahorska-Markiewicz, B., Kocelak, P., Janowska, J., Semik-Grabarczyk, E. (2008): The effect of weight reduction on plasma concentrations of ghrelin and insulin-like growth factor 1 in obese women. *Endokrynologia Polska* 59, 301-304.
128. Otero, M., Nogueiras, R., Lago, F., Dieguez, C., Gomez-Reino, J. J., Gualillo, O. (2005): Chronic inflammation modulates ghrelin levels in humans and rats. *Rheumatology* 43, 306–310.
129. Ott, V., Fasshauer, M., Dalski, A. (2002): Direct peripheral effects of ghrelin include suppression of adiponectin expression. *Hormone Metabolic Research* 34, 640–645.
130. Overduin, J., Frayo, R. S., Grill, H. J., Kaplan, J. M., Cummings, D. E. (2005): Role of the duodenum and macronutrient type in ghrelin regulation. *Endocrinology* 146, 845-850.

131. Ozbay, Y., Aydin, S., Dagli, A.F. (2008): Obestatin is present in saliva: alterations in obestatin and ghrelin levels of saliva and serum in ischemic heart disease. *BMB Reports* 41, 55–61.
132. Ozkan, Y., Timurkan, E. S., Aydin, S., Sahin, I., Timurkan, M., Citil, C., Kalayci, M., Yilmaz, M., Aksoy, A., Catak, Z. (2013): Acylated and desacylated ghrelin, preptin, leptin and nesfatin-1 peptide changes related to the body mass index. *International Journal of Endocrinology* 236085.
133. Palik, E., Birkas, K. D., Faludi, G., Karadi, I., Cseh, K. (2005): Correlation of serum ghrelin levels with body mass index and carbohydrate metabolism in patients treated with atypical antipsychotics. *Diabetes Research and Clinical Practice* 68, 60-64.
134. Papotti, M., Ghè, C., Cassoni, P., Catapano, F., Deghenghi, R., Ghigo, E., Muccioli, G. (2000): Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 85, 3803-3807.
135. Picha, M.E., Strom, C. N., Riley, L. G. Walker, A. A., Won, E. T., Johnstone, W. M., Borski, R. J. (2009): Plasma ghrelin and growth hormone regulation in response to metabolic state in hybrid striped bass: Effects of feeding, ghrelin and insulin-like growth factor-I on in vivo and in vitro GH secretion. *General and Comparative Endocrinology* 161, 365–372.
136. Purnell, J. Q., Weigle, D. S., Breen, P., Cummings, D. E. (2003): Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88, 5747–5752.
137. Puy, C. L. (2006): The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal* 11, E449-455.
138. Quételet, A. (1832): Recherches sur le poids de l'homme aux different âges. *Nouveaux Memoires de l'Academie Royale des Sciences et Belle-Lettres de Bruxelles* 7.
139. Raindi, D. (2016): Nutrition and Periodontal Disease. *Dental Update* 43, 66-68, 71-72.
140. Rauch, P., Zellmer, A. (2005): Assayoptimierung: Störeffekte bei Immunoassays erkennen und vermeiden. *Laborwelt* 6, 2-7.
141. Regorz, A. (2017): Aufruf Mann-Whitney-U-Test in SPSS. *Regorz Statistik*
142. Resl, M., Clodi, M. (2009): Ein Hormon stellt sich vor: Ghrelin. *Journal für Klinische Endokrinologie und Stoffwechsel* 2, 26-27.
143. Rigamonti, A. E., Pincelli, A. I., Corra, B., Viarengo, R., Bonomo, S. M., Galimberti, D., Scacchi, M., Scarpini, E., Cavagnini, F., Müller, E. E. (2002): Plasma ghrelin concentrations in elderly subjects: Comparison with anorexic and obese patients. *Journal of Endocrinology* 175, R1–R5.

144. Rosicka, M., Krek, M., Matoulek, M., Jarkovski, Z., Marek, J., Justov, V., Lacinov, Z. (2003): Serum ghrelin levels in obese patients: the relationship to serum leptin levels and soluble leptin receptors levels. *Physiological Research* 52, 61-66.
145. Saito, A., Hosaka, Y., Nakagawa, T., Seida, K., Yamada, S., Takazoe, I., Okuda, K. (1993): Significance of serum antibody against surface antigens of *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* in patients with adult periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* 8, 146-153.
146. Sanderink, R., Bengel, W. (1995): Mikrobiell bedingte Destruktionen im marginalen Parodont – eine Übersicht. *Parodontologie* 2, 97-120.
147. Sangiao-Alvarellos, S., Cordido, F. (2010): Effect of ghrelin on glucose- insulin homeostasis: Therapeutic implications. *International Journal of Peptides* 234709, 25.
148. Sas, R., Dawes, C. (1997): The intra-oral distribution of unstimulated and chewinggum-stimulated parotid saliva. *Archives of Oral Biology* 42, 469-474.
149. Sato, N., Kanai, S., Takano, S., Kurosawa, M., Funakoshi, A., Miyasaka, K. (2003): Central administration of ghrelin stimulates pancreatic exocrine secretion via the vagus in conscious rats. *Japanese Journal of Physiology* 53, 443–449.
150. Sato, T., Nakamura, Y., Shiimura, Y., Ohgusu, H., Kangawa, K., Kojima, M. (2012): Structure, regulation and function of ghrelin. *Journal of Biochemistry* 151, 119-128.
151. Schmale, H., Holtgreve-Grez, H., Christiansen, H. (1990): Possible role for salivary gland protein in taste reception indicated by homology to lipophilic-ligand carrier proteins. *Nature* 343, 366–369.
152. Schutzhold, S., Kocher, T., Biffar, R., Hoffmann, T., Schmidt, C. O., Micheelis, W., Jordan, R., Holtfreter, B. (2015): Changes in prevalence of periodontitis in two german population-based studies. *Journal of Clinical Periodontology* 42, 121-130.
153. Seymour, G. J. (1991): Importance of the host response in the periodontium. *Journal of Clinical Periodontology* 18, 421-426.
154. Sherlock, M., Toogood, A. A. (2007): Aging and the growth hormone/insulin like growth factor-I axis. *Pituitary* 10, 189-203.
155. Shiiya, T., Nakazato, M., Mizuta, M., Date, Y., Mondal, M.S., Tanaka, M., Nozoe, S., Hosoda, H., Kangawa, K., Matsukura, S. (2002): Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 87, 240-244.
156. Shin, Y. K., Martin, B., Kim, W. White, C. M., Ji, S., Sun, Y., Smith, R. G., Sévigny, J., Tschöp, M. H., Maudsley, S., Egan, J. M. (2010): Ghrelin is produced in taste cells and ghrelin receptor null mice show reduced taste responsivity to salty (NaCl) and sour (citric acid) tastants. *PLoS ONE* 5, e12729.

157. Ship, J. A., Fischer, D. J. (1997): The relationship between dehydration and parotid salivary gland function in young and older adults. *Journal of Gerontology and Medical Sciences* 52A, M310-M319.
158. Silvers, A. R., Som, P. M. (1998): Salivary glands. *Radiologic Clinics of North America* 36, 941-966.
159. Slomiany, B. L., Slomiany, A. (2010): Constitutive nitric oxide synthase-mediated caspase-3 S-nitrosylation in ghrelin protection against *Porphyromonas gingivalis*-induced salivary gland acinar cell apoptosis. *Inflammopharmacology* 18, 119-125.
160. Smith, R. G., Jiang, H., Sun, Y. (2005): Developments in ghrelin biology and potential clinical relevance. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 16, 436-442.
161. Stadler, A. F., Angst, P. D. M., Arce, R. M., Gomes, S. C., Oppermann, R.V., Susin, C. (2016): Gingival crevicular fluid levels of cytokines/ chemokines in chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 43, 727-745.
162. Steinle, N. I., Kazlauskaitė, R., Imumorin, I. G., Hsueh, W., Pollin, T. I., O'Connell, J. R., Mitchell, B. D., Shuldiner, A. R. (2004): Variation in the Lamin A/C Gene. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 24, 1708-1713.
163. Stengel, A., Goebel, M., Wang, L., Reeve, J. R. Jr., Tache, Y., Lambrecht, N. W. (2010): Lipopolysaccharide differentially decreases plasma acyl and desacyl ghrelin levels in rats: Potential role of the circulating ghrelin-acylating enzyme GOAT. *Peptides* 31, 1689-1696.
164. Szentirmai, E., Kapás, L., Sun, Y., Smith, R. G., Krueger, J. M. (2007): Spontaneous sleep and homeostatic sleep regulation in ghrelin knockout mice. *American Journal of Physiology, Regulatory, integrative and comparative Physiology* 293, R510–517.
165. Taub, D. D., Murphy, W. J., Longo, D. L. (2010): Rejuvenation of the aging thymus: Growth hormone-mediated and ghrelin-mediated signaling pathways. *Current Opinion in Pharmacology* 10, 408-424.
166. Tenovuo, J. (1998): Antimicrobial function of human saliva- How important is it for oral health? *Acta Odontologica Scandinavica* 56, 250-256.
167. Thompson, N., Gill, D., Davies, R., Loveridge, N., Houston, P., Robinson, I., Wells, T. (2004): Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly in vivo by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology* 145, 234–242.
168. Tomasetto, C., Karam, S. M., Ribieras, S., Masson, R., Lefebvre, O., Staub, A., Alexander, G., Chenard, M.-P., Rio, M.-C. (2000): Identification and characterization of a novel gastric peptide hormone: The motilin-related peptide. *Gastroenterology* 119, 395-405.
169. Tschöp, M., Weyer, C., Tataranni, P.A., Devanarayan, V., Ravussin, E., Heiman, M.L. (2001): Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50, 707-709.

170. Turgut, A., Ozler, A., Goruk, N.Y., Tunç, S. Y., Sak, M. E., Evsen, M. S., Evliyaoglu, O., Gul, T. (2015): Serum levels of the adipokines, free fatty acids, and oxidative stress markers in obese and non-obese preeclamptic patients. *Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology* 42, 473-479.
171. Van der Lely, A. (2009): Ghrelin and new metabolic frontiers. *Hormone Research* 71, 129-133.
172. Van der Velden, U., Kuzmanova, D., Chapple, I. L.C. (2011): Micronutritional approaches to periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* 38, 142–158.
173. Vendrell, J., Broch, M., Vilarrasa, N., Molina, A., Gomez, J. M., Gutierrez, C., Simon, I., Soler, J., Richart, C. (2004): Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: Relationships in obesity. *Obesity Research* 12, 962–971.
174. Vilarrasa, N., Vendrell, J., Maravall, J., Broch, M., Estepa, A., Megia, A., Soler, J., Simón, I., Richart, C., Gómez, J. (2005): Distribution and determinants of adiponectin, resistin and ghrelin in a randomly selected healthy population. *Clinical endocrinology* 63, 329-335.
175. Wajnrach, M.P., T. I. S., Gertner, R. L., Leibel, R. (2000): Genomic organisation of the human ghrelin gene. *Journal of Endocrine Genetics*, 2000; 231-233
176. Wang, L., Basa, N. R., Shaikh, A., Luckey, A., Heber, D., St-Pierre, D. H., Taché, Y. (2006): LPS inhibits fasted plasma ghrelin levels in rats: role of IL-1 and PGs and functional implications. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal Liver Physiology* 291, G611-620.
177. Warzecha, Z., Kownacki, P., Ceranowicz, P., Dembinski, M., Cieszkowski, J., Dembinski, A. (2013): Ghrelin accelerates the healing of oral ulcers in non-sialoadenectomized and sialoadenectomized rats. *Journal of Physiology and Pharmacology* 64, 657-668.
178. Waseem, T., Duxbury, M., Ito, H., Ashley, S.W., Robinson, M.K. (2008): Exogenous ghrelin modulates release of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in LPS-stimulated macrophages through distinct signaling pathways. *Surgery* 143, 334-342.
179. Wengel, A. (2018): Wirkungsweise der Hormone. Planet Wissen, www.planet-wissen.de
180. Williams, D. L., Grill, H. J., Cummings, D. E., Kaplan, J. M. (2003): Vagotomy dissociates short – and long-term controls of circulating ghrelin. *Endocrinology* 144, 5184-5187.
181. Wilson, M. E., Bronson, P. M., Hamilton, R. G. (1995): Immunoglobulin G2 antibodies promote neutrophil killing of *actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infection and Immunity* 63, 1070-1075.
182. Wilson, M. E., Genco, R. J. (1989): The role of antibody, complement and neutrophils in host defense against *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *Immunological Investigations* 18, 187-209.

183. Wren, A. M., Seal, L. J., Cohen, M., Brynes, A., Frost, G., Murphy, K., Dhillon, W., Ghatei, M., Bloom, S. (2001): Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86, 5992.
184. Wu, R., Dong, W., Cui, X., Zhou, M., Simms, H., Ravikumar, T. S., Wang, P. (2007): Ghrelin down-regulates proinflammatory cytokines in sepsis through activation of the vagus nerve. *Annals of Surgery* 245, 480–486.
185. Xia, Q., Pang, W., Pan, H., Zheng, Y., Kang, J.S., Zhu, S.G. (2004): Effects of ghrelin on the proliferation and secretion of splenic T-lymphocytes in mice. *Regulatory Peptides* 15, 173-178.
186. Yakubov, G. E. (2014): Lubrication. *Monographs in Oral Sciences* 24, 71–87.
187. Yang, J., Brown, M. S., Liang, G., Grishin, N. V., Goldstein, J. L. (2008): Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell* 8, 387-396.
188. Yilmaz, G., Kirzioglu, F. Y., Doguc, D. K., Kocak, H., Orhan, H. (2014): Ghrelin levels in chronic periodontitis patients. *Odontology* 102, 59-67.
189. Zeulner, B. (2005): Blut - Kurze Zusammenfassung. Doc Check Publish
190. Zhang, J. V., Ren, P. G., Avsian-Kretchmer, O., Lou, C. W., Rauch, R., Klein, C., Hsueh, A. J. (2005): Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 310, 996-999.
191. Zhang, J., Klein, C., Pei-Gen, R., Kass, S., Ver Donck, L., Moechars, D., Hsueh, A. J. W. (2007): Response to comment on Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 315, 766.
192. Zhu, X., Cao, Y., Voogd, K., Steiner, D. F. (2006): On the processing of proghrelin to ghrelin. *Journal of Biological Chemistry* 281, 38867-38870.

8. Anhang

8.1 Anamnesebogen

8.2 Einwilligungserklärung

8.3 Formblatt Parostatus

8.4 Tabelle Patientendaten und Ergebnisse

8.1 Anamnesebogen

Im Rahmen meiner Promotion bitte ich Sie um einige wichtige Informationen zu Ihrem Gesundheitszustand, da dies für die Ergebnisse wichtig ist.

Name: _____

Geburtsdatum: _____

Körpergröße: _____

Gewicht: _____

1. Leiden Sie an systemischen Erkrankungen (Z.B. Diabetes, Rheuma etc.)? Ja Nein

2. Leiden Sie an Infektionskrankheiten (Hepatitis, HIV etc.)? Ja Nein

3. Nehmen Sie dauerhaft bzw. momentan Medikamente ein? Ja Nein

Wenn ja, welche: _____

4. Mussten Sie innerhalb der letzten 3 Monate Antibiotika einnehmen? Ja Nein

5. Hatten Sie innerhalb der letzten 2 Jahre eine Parodontitisbehandlung? Ja Nein

6. Sind Sie schwanger bzw. stillen Sie? Ja Nein

7. Rauchen Sie mehr als 5 Zigaretten pro Tag? Ja Nein

Datum: _____

Unterschrift: _____

8.2 EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG ZUR TEILNAHME AN DER STUDIE

-Ghrelinuntersuchung in Speichel, Sulkusflüssigkeit und Blut -

Hiermit erkläre ich, Frau/ Herr:

geboren am:

wohnhaft in:

Patientennummer: _____

von **ZÄ Nicole Arnold** (Zahnarztpraxis DS Holger Arnold, Geschwister-Scholl-Str. 18, 04746 Hartha) mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der Studie „Ghrelinuntersuchung in Speichel, Sulkusflüssigkeit und Blut“

die von der wissenschaftlichen Einrichtung „Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, Funktionsbereich Parodontologie, Universitätsklinikum Leipzig AöR“ und dem Institut für medizinische Mikrobiologie der Universität Bern durchgeführt werden, informiert wurde und ausreichend Gelegenheit hatte, meine Fragen hierzu in einem Gespräch mit dem/der Prüfarzt/in zu klären. Ich habe den Inhalt verstanden, bestehende Fragen wurden besprochen und beantwortet. Die schriftliche Patienteninformation und eine Kopie der Einverständniserklärung wurden mir ausgehändigt.

Einwilligungserklärung zur Datenverarbeitung

1) Ich erkläre mich damit einverstanden, daß im Rahmen dieser klinischen Prüfung erhobene Daten/ Angaben/ über meine Gesundheit auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und ohne Namensnennung (pseudonymisiert) weitergegeben werden an:

- a) den Auftraggeber* der Studie zur wissenschaftlichen Auswertung
- b) die zuständige Überwachungsbehörde (Landesamt oder Bezirksregierung) oder Bundesbehörde (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn) zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Studie.

***Auftraggeber der Studie**

Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. Holger Jentsch
Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Funktionsbereich Parodontologie
Universitätsklinikum Leipzig AöR
Liebigstr. 12, Haus 1, 04103 Leipzig

Institut für medizinische Mikrobiologie
Universität Bern
Hochschulstrasse 4, 3012 Bern, Schweiz

2) Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, daß ein autorisierter und zur Verschwiegenheit verpflichteter Beauftragter des Auftraggebers, der zuständigen inländischen (und ausländischen) Überwachungsbehörde oder der zuständigen Bundesbehörde in meine beim Prüfarzt vorhandenen personenbezogenen Daten Einsicht nimmt, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist. Für diese Maßnahme entbinde ich den Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht.

Mir ist bekannt, dass meine Teilnahme freiwillig ist und ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich zurückziehen kann.

Ich bin bereit, an der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie teilzunehmen.

Ich bin darüber informiert, dass im Rahmen der Studie kein zusätzlicher Versicherungsschutz besteht.

Unterschrift des Patienten/der Patientin

Datum, Ort

Ich habe heute Frau/ Herrn _____ bestmöglich und verständlich über die Teilnahmebedingungen der wissenschaftlichen Studie „Ghrelinuntersuchung in Speichel, Sulkusflüssigkeit und Blut“ im obigen Sinne aufgeklärt.

Unterschrift des aufklärenden Arztes bzw. des behandelnden Arztes

Datum,

Ort

Bitte dem Patienten eine Kopie nach Unterschrift aushändigen!

8.4 Patientendaten und Ergebnisse

Tabelle 18:

Pat.	m/w	Alter	Gr.	Gew.	BMI	API	SBI	BOP	PD ges	PD Entn	Grup.	G_tot_GCF	g_act_GCF	G_tot_ser	g_act_ser	G_tot_Sali	g_act_Sali
1	m	33	1,83	105	31,3	21	7	25	2,02	3	GÜ	144,54	32,52	567,30	19,90	126,15	25,38
2	w	60	1,6	60	23,4	18	18	0	1,62	2,33	GN	140,94	29,33	888,61	24,59	81,15	26,17
3	m	31	1,8	85	26,2	14	4	0	1,87	3	GÜ	129,91	32,52	669,05	60,94	94,23	29,33
4	m	26	1,98	87	22,2	7	7	0	1,69	2,75	GN	106,63	28,54	645,21	17,58	98,43	20,68
5	w	28	1,76	62	20	15	4	25	1,85	3	GN	137,30	29,33			344,54	88,42
6	w	27	1,64	60	22,3	4	4	0	1,65	2,75	GN	122,34	26,17	466,93	31,72	299,95	45,40
7	w	64	1,7	70	24,2	38	8	75	2,62	5,25	PN	140,94	26,96	688,67	6,25	51,99	34,11
8	m	74	1,69	74	25,9	33	33	0	1,98	2,5	GÜ	106,63	27,75	500,51	5,52	110,64	32,52
9	m	50	1,9	100	27,7	31	15	75	2,85	4,5	PÜ	118,49	23,81	411,12	0,00	98,43	24,59
10	m	36	1,8	86	26,5	21	4	50	2,25	4	PÜ	122,34	23,81	379,64	1,28	144,54	30,92
11	w	73	1,6	76,4	29,8	30	20	25	2,02	3,25	PÜ	98,43	27,75	315,97	3,36	40,81	21,46
12	w	47	1,69	65	22,7	22	13	0	1,97	3	GN	122,34	26,96	349,64	4,79	85,60	30,92
13	m	24	1,92	93	25,2	11	7	0	1,71	2,75	GÜ	133,62	19,90	645,21	142,92	98,43	11,46
14	m	40	1,8	88	27,2	14	7	0	1,82	3	GÜ	126,15	26,17	439,37	20,68	62,29	24,59
15	w	38	1,68	64	22,7	17	4	0	1,67	3	GN	110,64	30,13	315,97	1,28	89,95	25,38
16	w	41	1,7	65	22,5	12	8	0	1,87	3	GN	118,49	29,33	531,08	30,92	168,87	43,77
17	w	43	1,58	62	24,8	40	16	50	2,13	3,5	PN	118,49	23,02	509,32	37,32	155,15	30,13
18	w	46	1,68	63	22,3	15	0	25	1,81	2,75	GN	122,34	29,33	269,67	50,28	71,96	26,96
19	m	32	1,83	94	28,1	33	7	25	2,33	4	PÜ	114,59	34,11	573,60	81,71	85,60	46,21
20	w	30	1,8	64	19,8	25	4	50	2,21	4,25	PN	158,62	47,83	339,42	56,01	172,23	32,52
21	w	49	1,62	75	28,6	39	8	25	2,42	4,25	PÜ	140,94	27,75	261,18	3,36	81,15	24,59
22	w	71	1,56	67	27,5	28	4	75	2,91	4,5	PÜ	102,56	25,38	364,76	1,28	81,15	26,96
23	w	27	1,61	78	30,2	21	4	0	1,73	3	GÜ	126,15	34,11	558,86	77,53	21,11	27,75
24	w	48	1,71	100	34,2	28	8	25	2,01	3	GÜ	126,15	37,32	509,32	97,69	110,64	25,38
25	w	55	1,65	63	23,1	41	7	25	2,14	3,25	PN	114,59	29,33	567,30	0,62	102,56	19,13
26	m	32	1,72	72	24,3	21	11	50	2,16	3,75	PN	118,49	28,54	204,58	30,13	162,07	23,81
27	m	51	1,73	71	23,7	39	7	50	2,21	4,25	PN	118,49	38,12	382,09	35,71	118,49	51,10
28*	w	52	1,59	82	32,4	12	8	50	2,19	4	PÜ	133,62	28,54	286,34	2,66	114,59	27,75
29	m	64	1,82	110	33,2	32	23	75	3,17	5,75	PÜ	137,30	26,96	354,71	0,00	94,23	30,13
30	w	56	1,6	90	35,2	36	14	50	2,49	4	PÜ	148,11	25,38	126,15	23,81	144,54	30,13
31	w	51	1,63	57	21,4	36	7	50	2,49	5	PN	567,30	23,81	81,15	42,16	140,94	26,96
32	m	33	1,88	93	26,3	12	4	25	1,99	3	GÜ	888,61	24,59	94,23	236,42	129,91	40,54
33	w	47	1,72	60	20,3	39	4	0	1,97	3	GN	669,05	37,32	98,43	40,54	106,63	53,55
34	w	25	1,64	54	20	7	0	0	1,92	3	GN	151,65	35,71	137,30	62,59	645,21	44,58
35	m	25	1,8	62,5	19,3	4	0	0	1,64	2,5	GN	344,54	30,92	122,34	106,15	172,23	31,72
36	m	25	1,75	77	25,1	38	4	25	1,93	2,75	GÜ	299,95	35,71	140,94	10,71	466,93	78,37
37	w	44	1,58	71	28,4	29	7	25	2,15	4,5	PÜ	51,99	30,13	106,63	54,37	688,67	37,32
38	m	45	1,83	85	25,4	7	4	25	2,1	4	PÜ	140,94	26,17	500,51	12,98	110,64	47,83
39	m	18	1,64	59	21,9	13	4	0	1,52	2,25	GN	118,49	32,52	411,12	72,53	98,43	38,12
40	w	41	1,63	52	19,6	19	4	0	1,98	3	GN	122,34	33,31	379,64	30,13	144,54	33,31
41	m	49	1,87	138	39,4	21	4	0	2,12	3	GÜ	98,43	40,54	315,97	7,72	40,81	34,11
42	w	61	1,7	66	22,8	20	0	25	2,4	3,75	PN	133,62	34,91	85,60	58,47	122,34	37,32

43	w	45	1,65	85	31,3	44	9	25	1,9	3	GÜ	349,64	39,73	98,43	42,16	133,62	34,91
44	w	45	1,67	59	21,2	11	0	25	2,16	3,75	PN	645,21	29,33	62,29	19,13	126,15	34,91
45	w	35	1,58	63	25,3	14	0	0	1,77	2,25	GÜ	439,37	38,93	89,95	14,50	110,64	30,92
46	w	39	1,52	75	32,5	18	18	25	2,35	4	PÜ	165,48	46,21	118,49	44,58	315,97	38,12
47	w	76	1,62	64	24,4	39	0	50	2,41	4,25	PN	168,87	35,71	118,49	17,58	531,08	41,35
48	m	38	1,68	80	28,3	32	5	25	1,94	3,25	PÜ	155,15	41,35	122,34	61,77	509,32	48,65
49	m	49	1,75	100	32,7	11	7	25	2,07	4	PÜ	71,96	42,96	114,59	16,81	269,67	65,90
50	w	34	1,73	62	20,7	39	7	75	2,58	5	PN	151,65	35,71	573,60	36,52	85,60	31,72
51	w	33	1,72	63	21,3	25	4	50	2,26	4,25	PN	158,62	38,12	339,42	11,46	172,23	34,91
52	w	32	1,68	59	20,9	12	0	25	2,21	3	GN	140,94	35,71	261,18	41,35	81,15	25,38
53	w	56	1,61	82	31,6	42	11	50	2,33	3,5	PÜ	102,56	33,31	364,76	8,46	81,15	37,32
54	w	57	1,63	57	21,5	25	4	25	1,9	3	GN	102,56	34,11	21,11	252,36	126,15	30,92
55	m	30	1,68	72	25,5	25	0	0	1,89	2,5	GÜ	558,86	34,91	110,64	6,98	126,15	28,54
56	w	34	1,65	95	34,9	44	8	50	2,03	3	GÜ	509,32	34,91	102,56	6,98	114,59	31,72
57	w	55	1,68	90	31,9	53	12	0	2,13	3	GÜ	567,30	26,96	162,07	12,22	118,49	47,02
58	w	39	1,6	62	24,2	19	7	25	1,78	4	PN	168,87	37,32	118,49	19,13	204,58	33,31
59	w	26	1,7	66	22,8	32	4	25	1,99	3,25	PN	118,49	40,54	133,62	253,25	382,09	37,32
60	w	61	1,7	71	24,6	39	4	25	2,05	4	PN	114,59	36,52	137,30	16,04	286,34	34,11
61	m	53	1,91	120	32,9	29	7	25	2,43	4,25	PÜ	94,23	35,71	1679,50	102,76	354,71	56,83

* AB

9. Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

Datum

Unterschrift

10. Lebenslauf

Name: Arnold **Vorname:** Nicole Annette
Geburtsdatum: 09.01.1983 **Geburtsort:** Leisnig

10/2001 – 10/2006	Studium der Zahnmedizin an der Universität Leipzig, Abschluss Staatsexamen
02/2007 – 01/2008	Ausbildungsassistentin in Chemnitz
02/2008 – 06/2008	Ausbildungsassistentin in Döbeln
09/2008 – 03/2009	Ausbildungsassistentin in Hartha
seit 04/2009	Angestellte Zahnärztin in Hartha
2014-2019	Spezialisierung Parodontologie LZK Sachsen
12/2018 – 12/2019	Elternzeit
Seit 01/2020	Angestellte Zahnärztin in Hartha

Hartha, _____

11. Publikationen

- Juli 2006 Ziegelhöffner-Milhalovicova, B., Arnold, N., Marx, G., Tannapfel, A.,
Zimmer, H.-G., Rassler, B.: Effects of salt loading and various
therapies on cardiac hypertrophy and fibrosis in young spontaneously
hypertensive rats. Elsevier Life Sciences Vol. 79; 838-848
- Dezember 2017 Jentsch, H., Arnold, N., Richter, V., Deschner, J., Kantyka, T., Eick, S.:
Salivary, GCF and serum levels of ghrelin und chemerin in periodontitis
and overweight. Journal of Periodontal Research, 52; 1050-1057

12. Danksagung

Bedanken möchte ich mich ganz besonders bei Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. Jentsch für das Thema der Arbeit und für die freundliche und geduldige Unterstützung, ohne die die Fertigstellung der Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Mein herzlichster Dank gilt Frau Prof. Dr. Eick und ihren Mitarbeitern vom Labor für Orale Mikrobiologie an der Medizinischen Fakultät in der Klinik für Parodontologie der Universität Bern (Hochschulstr. 6, 3012 Bern) für die laborseitige Arbeit und die statistische Auswertung.

Mein außerordentlicher Dank gilt allen Freiwilligen, die sich bereitwillig als Probanden für diese Studie zur Verfügung gestellt haben. Ganz besonders erwähnen möchte ich hierbei meine Eltern, die mir die Untersuchungen in unserer Zahnarztpraxis finanziell und zeitlich möglich gemacht haben. Weiterhin bedanke ich mich bei Frau Marina Klemmt, die mir sehr hilfreich bei der Untersuchung und Dokumentation der zahlreichen Patienten zur Seite stand. Ein besonderes Dankeschön geht auch an meinen Bruder Dr.-Ing. MSc. Benjamin Arnold für die tatkräftige Unterstützung bei den Abbildungen und Grafiken.

Darüber hinaus danke ich meinem Lebensgefährten für seine Geduld, die liebevolle Unterstützung und den nötigen Antrieb, den es brauchte diese Arbeit zu beenden.